

Development of a multilayer biodegradable active packaging based on nano emulsions, for the bio preservation of food

Fatemeh BAGHI^{1,2}, Sami GHNIMI^{1,2}, Emilie DUMAS¹, Adem GHARSALLAOUI¹

1 : Université Claude Bernard Lyon 1, LAGEPP UMR 5007, F-69622, Villeurbanne, France

2 : ISARA, 23 Rue Jean Baldassini, CEDEX 07, 69364 Lyon, France

Abstract: Multi-layer biodegradable active packaging is a new class of innovative food packaging containing bioactive compounds that are able to maintain food quality and extend shelf life preservation by releasing an active agent during storage. In this context, this study aims to develop and characterize three-layer biodegradable active films: 2 outer layers of ethylcellulose (EC) and a layer internal pectin containing nanoemulsions (NE) of trans-cinnamaldehyde (TC) as an antimicrobial agent. Trans-cinnamaldehyde (NE) nanoemulsions were prepared with soy lecithin as an agent. emulsifier to stabilize the TC and protect it for the duration of the film manufacturing. The average size and the zeta potential of the nanoemulsion droplets were 103.93 nm and -46 mV, respectively. The opacity of samples of monolayer and multilayer films decreased by 15.19 ($A \cdot mm^{-1}$) for the monolayer film of pectin incorporated by nanocapsules at 2.02 for multilayer films. In addition, the multilayer technique has made it possible to improve the mechanical properties of the films compared to monolayers with greater resistance breakage and greater extensibility. Inhibition tests on four bacteria representatives of bacteria pathogens and spoilage found in food industries have confirmed the antimicrobial activity, both, mono and multilayers. The work presented in this study offers perspectives for the fabrication packaging based on antimicrobial and biodegradable multilayer films.

Développement d'un emballage actif biodégradable multicouche à base de nanoémulsions pour la biopréservation des aliments

Fatemeh BAGHI^{1,2*}, Sami GHNIMI^{1,2}, Emilie DUMAS¹, Adem GHARSALLAOUI¹

¹ Université Claude Bernard Lyon 1, LAGEPP UMR 5007, F-69622, Villeurbanne, France

² ISARA, 23 Rue Jean Baldassini, CEDEX 07, 69364 Lyon, France

* fbaghi@isara.fr

Résumé

L'emballage actif biodégradable multicouche est une nouvelle classe d'emballages alimentaires innovants contenant des composés bioactifs qui sont capables de maintenir la qualité des aliments et de prolonger leur durée de conservation en libérant un agent actif pendant le stockage. Dans ce contexte, cette étude vise à développer et à caractériser des films actifs biodégradables tricouches : 2 couches extérieures d'éthylcellulose (EC) et une couche interne de pectine contenant des nanoémulsions (NE) de trans-cinnamaldéhyde (TC) comme agent antimicrobien. Les nanoémulsions de trans-cinnamaldéhyde (NE) ont été préparées avec la lécithine de soja en tant qu'agent émulsifiant afin de stabiliser le TC et le protéger pendant la durée de la fabrication du film. La taille moyenne et le potentiel zêta des gouttelettes de la nanoémulsion étaient respectivement de 103,93 nm et -46 mV. L'opacité des échantillons de films monocouches et multicouches a diminué de 15,19 ($A \cdot mm^{-1}$) pour le film monocouche de pectine incorporé par des nanocapsules à 2,02 pour les films multicouches. De plus, la technique multicouche a permis d'améliorer les propriétés mécaniques des films par rapport aux monocouches avec une plus grande résistance à la rupture et une plus grande extensibilité. Des tests d'inhibition sur quatre bactéries représentatives de bactéries pathogènes et d'altération retrouvées en industries agroalimentaires ont confirmé l'activité antimicrobienne, à la fois, des monos et des multicouches. Le travail présenté dans cette étude offre des perspectives pour la fabrication d'emballages à base de films multicouches antimicrobiens et biodégradables.

Mots-clés : Emballage actif, biodégradable, multicouche, encapsulation, nanoémulsion.

1. Introduction

En raison de la grande préoccupation que constitue la pollution plastique, les matériaux d'emballage biodégradables suscitent de plus en plus d'intérêt pour remplacer le plastique conventionnel d'origine fossile. Les biopolymères d'origine végétale, animale ou microbienne telles que les polysaccharides, les protéines et les lipides sont des matériaux naturels prometteurs pour la production d'emballages biodégradables. Parmi les divers polysaccharides, la pectine est une source bio, renouvelable et non toxique, possédant un groupe de molécules structurellement hétérogènes largement distribuées dans les parois cellulaires primaires et la lamelle moyenne des plantes supérieures. La pectine possède une bonne capacité gélifiante qui pourrait servir pour la production de films d'emballage biodégradables (Gao et al. 2019). En outre, les consommateurs, soucieux de leur santé, souhaitent que des antimicrobiens naturels remplacent certains conservateurs synthétiques. Ces antimicrobiens naturels capables de garantir la sécurité alimentaire en prolongeant la durée de conservation des aliments peuvent avoir différentes origines : végétale, animale ou microbienne. Les huiles essentielles (HE) sont un bon exemple de composés antimicrobiens naturels obtenus à partir de différentes parties de nombreuses plantes (Cheng et al. 2019). Bien que les huiles essentielles présentent certains inconvénients tels que la volatilité, un goût et/ou une odeur indésirable dans certains produits, elles peuvent être encapsulées pour pallier à ces inconvénients. En effet, l'encapsulation

permet d'une part de protéger les composés bioactifs, et d'autre part, empêche les interactions prématurées avec les autres composants des films, ainsi qu'une libération prolongée pour un effet durable dans le temps (Assadpour and Jafari 2019). De plus, la diminution de la taille au niveau nano augmente les activités des biomolécules en disposant d'une surface plus large. Environ 3000 HE sont connues et sont composées de nombreuses molécules, parmi lesquelles le trans-cinnamaldéhyde (TC), également appelé 3-phényl-2-propénal, présent dans l'huile essentielle de cannelle (60 à 75 % de cette huile essentielle). Cette molécule est un agent antimicrobien naturel bien connu qui a démontré son efficacité contre un large éventail de micro-organismes pathogènes (Chen et al. 2016). Généralement, il est plutôt difficile de trouver un film monocouche possédant toutes les propriétés demandées. À cet égard, les emballages multicouches sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire. Les films contenant des couches de différents matériaux offrent des propriétés recherchées telles qu'une barrière au gaz et à la vapeur d'eau, une résistance mécanique ou une capacité thermoscellable plus élevées (Almasi, Jahanbakhsh Oskouie, and Saleh 2021). Néanmoins, le potentiel filmogène de la pectine doit être amélioré pour répondre aux besoins des applications d'emballage alimentaire, telles que les propriétés mécaniques et barrières appropriées. Plus important encore, la pectine est soluble dans l'eau et elle est sensible à l'humidité. Par conséquent son hydrophobicité doit également être modifiée car un film à base de pectine peut se dégrader facilement au contact d'aliments emballés humides, ce qui limite largement son application. Parmi les différents types de biopolymères, l'éthylcellulose (EC) est un polysaccharide fabriqué par substitution chimique du polymère naturel, la cellulose, qui présente d'excellentes caractéristiques filmogènes en présence de plastifiants. C'est un composé semblable à de l'éther de cellulose, insoluble dans l'eau avec des propriétés mécaniques intéressantes, un faible risque de toxicité et un coût relativement faible (Li et al. 2015). L'objectif de cette étude est de développer des films multicouches actifs en améliorant leur propriétés mécaniques et barrières pour produire des films avec des propriétés d'usage acceptables.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Matériaux

La poudre d'éthylcellulose à 48,0-49,5 % (m/m) à base d'éthoxyyle et d'éthanol a été achetée auprès de Sigma Aldrich (Merck, Allemagne). Le trans-cinnamaldéhyde (TC, 99 %) a été obtenu auprès de Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France). La lécithine de soja, sous forme de granules, a été obtenue auprès d'Acros Organics (Allemagne). La pectine à faible teneur en méthoxyyle (LMP, degré d'estérification de 22 % à 28 % et degré d'acétylation de 20 % à 23 %) avec une teneur en glucides de 81,21 % a été achetée chez Cargill (Baupre, France). Le glycérol utilisé comme plastifiant a été acheté auprès de PanReac AppliChem (ITW reagents, USA).

2.2. Méthodes de préparation des nanoémulsions et des films

Préparation des nanoémulsions (NE)

Le TC (5 % (m/m)) a été dispersé dans de l'eau distillée en présence de l'émulsifiant (lécithine de soja, 1 % (m/m)) à l'aide d'un homogénéisateur pendant 6 min à 15 000 rpm pour former des émulsions primaires. Les nanoémulsions ont été obtenues après 2 passages de l'émulsion primaire dans un microfluidizer (LM20, Microfluidics Corp, Newton, MA, USA) à une pression de 500 bar puis 1 passage à 1 000 bar. La distribution de taille des globules gras et leur potentiel zêta ont été mesurés pour vérifier la distribution granulométrique et la charge électrique des gouttelettes de TC dans les nanoémulsions.

Préparation des films multicouches actifs (EC/PNE/EC)

Tout d'abord, 6 % (m/m) d'EC et 2 % (m/m) de glycérol ont été solubilisés dans l'éthanol absolu sous agitation pendant 4 heures pour la préparation de la solution filmogène d'EC. Le glycérol est utilisé en tant qu'agent plastifiant

afin de diminuer la rigidité des films d'EC et obtenir une souplesse nécessaire à l'emballage. Ensuite, 3 % (m/m) de pectine et 1 % (m/m) de glycérol ont été solubilisés dans de l'eau distillée sous agitation pendant 2 heures. La solution de pectine a été ensuite mélangée avec la nanoémulsion à un ratio de 1:1 pendant 1 heure sous agitation pour la préparation de la solution filmogène active (PNE). Le film actif multicouche a été fabriqué « par casting » en coulant successivement les solutions filmogènes dans des boîtes de Pétri en verre dans l'ordre EC/PNE/EC. Chaque couche a été séchée dans une étuve à 60 °C pendant 2 heures pour le film monocouche de EC, 6 heures pour le film bicouche de EC/PNE et le film multicouche EC/PNE/EC (Figure 1).

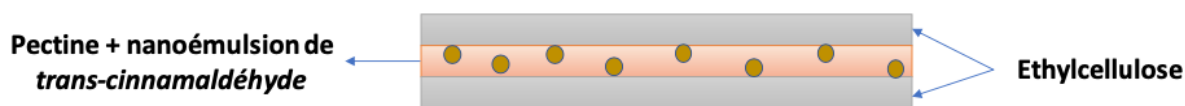


Figure 1. Films multicouches actifs (EC/PNE/EC)

2.3. Tests de caractérisation des nanoémulsions

Répartition des tailles

La taille des gouttelettes et la distribution de taille des nanoémulsions ont été déterminées par diffusion dynamique de la lumière (DLS) à l'aide d'un Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Royaume-Uni) à angle fixe de 90°. Un mL de nanoémulsion a été dilué dans 10 mL d'eau distillée et homogénéisé afin d'éliminer les effets de diffusion multiple. Après 90 s d'équilibre, la mesure a été effectuée trois fois et la taille moyenne des gouttelettes et l'indice de polydispersité moyen (PDI) ont été calculés.

Potentiel zêta (ζ)

Le potentiel zêta des particules de nanoémulsions a été mesuré par la même machine Zetasizer (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Royaume-Uni) en évaluant la mobilité électrophorétique. Les échantillons ont été préparés par dilution de 1 mL de nanoémulsion dans 10 mL d'eau distillée et homogénéisés complètement. La mesure du potentiel zêta a été réalisée en triple et la valeur moyenne a été calculée.

2.4. Tests de caractérisation des films

Épaisseur du film

L'épaisseur des échantillons de film a été déterminée à l'aide d'un micromètre électronique (WLMART 0-25 mm, 0,001 mm). Des mesures ont été effectuées à plus de cinq points différents de chaque surface de film pour calculer la valeur moyenne.

Transmission lumineuse et transparence des films

Les propriétés de barrière lumineuse des films de pectine contre la lumière visible et les rayons ultraviolets (UV) ont été déterminées selon la méthode décrite par Peng et li (2014). Des bandes de film rectangulaires (9 mm × 40 mm) ont été placées dans un spectrophotomètre (UV-3100pc, VMR, USA) et l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 600 nm. L'opacité des films a été calculée au moyen de l'équation 1.

$$O = \frac{\text{Abs } 600}{L} \quad (1)$$

Où O ($A \cdot mm^{-1}$) est l'opacité des films, Abs est la valeur de l'absorbance à 600 nm (A) et L est l'épaisseur de l'échantillon de film (mm).

Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques tel que le module de Young (YM), la résistance à la traction (TS) et l'allongement à la rupture ($EB\%$) des échantillons de film ont été mesurées par l'analyseur de traction Shimadzu EZTest avec une cellule de charge de 500 N pilotée par le logiciel Trapezium X. Les tests ont été effectués selon la méthode standard ASTM D882. Les échantillons de film ont été coupés en rectangles de 15 mm \times 100 mm, après conditionnement à une humidité relative (HR) de 55% pendant une semaine et l'absorbance a été mesurée dans une cuvette de spectrophotométrie. Les films ont été montés entre deux mors avec une longueur de référence de l'éprouvette de 50 mm puis les essais ont été effectués à une vitesse de traverse de 10 mm/min. Ces trois paramètres ont été calculés par les courbes force-déformation enregistrées par ordinateur avec les équations suivantes :

$$TS = \frac{\text{Force à la rupture}}{\text{Section de film}} \quad (2)$$

$$EB = \frac{\text{Changement de longueur}}{\text{Longueur initiale du film}} \times 100 \quad (3)$$

$$YM = \frac{\text{pente de la courbe}}{\text{section de film}} \times \text{Longueur initiale du film} \quad (4)$$

Où la section de film est la largeur \times épaisseur.

Évaluation de l'activité antimicrobienne des films

L'effet antibactérien des échantillons a été déterminé en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Les films ont été découpés en disques de 16 mm de diamètre à l'aide d'une perforatrice et déposés à la surface de milieux de culture gélosés TSA (Tryptone Soy Agar, Biokar, France) préalablementensemencés en surface avec 10^5 – 10^7 UFC d'un inoculum bactérien. L'effet sur deux bactéries Gram-positives, *Listeria innocua* DSM20649 (modèle de *Listeria monocytogenes*) et *Brochothrix thermosphacta* DSM20171 ainsi que sur deux bactéries Gram-négatives *Escherichia coli* DSM613 et *Salmonella typhimurium* DSM11320, a été testé. Des échantillons de film monocouche de pectine et d'éthylcellulose ont été utilisés pour servir de témoin négatif. De plus, l'activité antimicrobienne du TC a été étudiée afin de la comparer à celle des capsules incorporées dans les films. Pour cela, un puits d'un diamètre de 8 mm a été réalisé dans la gélose ensemencée avec une pointe stérile et un volume de 86 μ L de TC équivalant de la quantité de TC présente dans la surface des films testés (16 mm) a été introduit dans chaque puits. Les boîtes de gélose contaminées par *Brochothrix thermosphacta* ont été incubées à 30 ± 1 °C et les autres ont été incubées à 37 ± 1 °C pendant 24 h. Le diamètre des zones d'inhibition autour des disques de film a été mesuré en utilisant un pied à coulisse numérique (IHM). Les expériences ont été réalisées en triplicat pour chaque film.

2.5. Analyses statistiques

Tous les tests ont été répétés au moins trois fois. Les données ont été présentées sous forme de moyennes \pm écart type de différents échantillons. Des analyses statistiques ont été effectuées à l'aide d'une analyse de la variance unidirectionnelle (ANOVA) par le test de Fisher (F) pour comparer les moyennes. La différence était considérée comme significative à $p < 0,05$.

3. Résultats et discussion

3.1. Caractérisation des nanoémulsions

La granulométrie et l'homogénéité des nanoémulsions

Deux étapes d'homogénéisation à haute vitesse et à haute pression ont été utilisées dans cette étude pour réduire la taille à environ 100 nm. Il a été démontré que la taille nanométrique de l'agent antimicrobien pourrait pénétrer la paroi cellulaire des micro-organismes et ainsi les inactiver (Bogdanović et al. 2014). La taille moyenne des nanoparticules de TC était de $103,93 \pm 2,17$ nm. En outre, l'indice de polydispersité (PDI) est un moyen d'investigation de l'homogénéité. Une valeur inférieure à 0,5 indique une bonne stabilité de l'émulsion. Dans cette étude, l'indice de polydispersité (PDI) de la nanoémulsion TC était de $0,245 \pm 0,018$, ce qui indique donc une bonne stabilité. (Eid, Elmarzugi, and El Enshasy 2013)

Potentiel zêta (ζ)

Le potentiel zêta est le potentiel au niveau du plan de glissement entre la particule et la double couche associée avec le solvant environnant. À un potentiel zêta négatif ou positif élevé (généralement +30 et -30 mV), les particules ont tendance à se repousser et à éviter de se rassembler et de flocculer (Duffy, Larsson et Hill 2012). Le potentiel zêta moyen mesuré pour la nanoémulsion de TC était de -46 ± 2 mV, ce qui indiquait une force ionique faible et une faible attraction électrostatique entre particules. Par conséquent cette nanoémulsion possède une bonne stabilité.

3.2. Caractérisation des films

Épaisseurs et opacité des films

L'épaisseur de tous les échantillons a été calculée et est présentée dans le tableau 1. La mesure de l'épaisseur a montré une augmentation d'environ 40% de l'épaisseur du film de pectine après ajout de la nanoémulsion. Cette augmentation est attribuée à l'incorporation des nanocapsules de TC (NE) dans la matrice de pectine et l'augmentation de la matière sèche dans le même volume de solution filmogène coulée dans les boîtes de Pétri. La monocouche d'EC avait une épaisseur de $105,33 \mu\text{m}$, soit environ deux fois plus épaisse que la monocouche de pectine. Cette différence provient du fait que les pourcentages de biopolymère de pectine et d'éthylcellulose dans les solutions filmogènes sont respectivement 6% et 3%. En outre, le pourcentage de glycérol pourrait également avoir un effet sur l'épaisseur avec 2% pour la solution d'éthylcellulose et 1% pour la solution de pectine. Comme attendu, les échantillons de films multicouches étaient plus épais et l'épaisseur était d'environ $285,67 \mu\text{m}$. C'est une combinaison de l'épaisseur de deux couches d'EC et de la couche intermédiaire de PNE.

Tableau 1 : Épaisseur et opacité des films

Échantillons	Épaisseur (μm)	Opacité ($A \cdot \text{mm}^{-1}$)
P	$44,33 \pm 2,08$ ^c	$1,20 \pm 0,02$ ^b
PNE	$62,06 \pm 2,65$ ^c	$15,19 \pm 1,55$ ^a
EC	$105,33 \pm 7,02$ ^b	$0,97 \pm 0,06$ ^b
EC/PNE/EC	$285,67 \pm 18,65$ ^a	$2,02 \pm 0,14$ ^b

L'opacité des films est montrée aussi dans le tableau 1. Les films de pectine sans incorporation de NE sont apparus plus clairs et transparents. La valeur d'opacité du film de pectine a nettement augmenté après mélange avec la NE (ratio P:NE = 1:1) et le film actif (PNE) n'est pas transparent. Ce changement considérable pourrait être attribué à

l'effet de coalescence, de diffusion de la lumière et de crémage généré par la distribution de particules lipidiques, nanocapsules de TC (NE), lors du processus de séchage des films, ce qui a favorisé la rugosité de la surface des échantillons des films en raison de la présence de grosses molécules lipidique. La monocouche d'EC a démontré une opacité de 0,97. Par conséquent, on observe que l'opacité des échantillons PNE est modifiée de manière significative en l'isolant entre deux couches d'EC avec une opacité de 2,02 pour les échantillons multicouches.

Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques des films monocouches et multicouches ont été mesurées afin d'étudier l'effet de l'incorporation des nanocapsules de TC et de la technique multicouche sur les propriétés mécaniques du film de pectine. Les résultats sont résumés dans le tableau 2. L'incorporation de la nanoémulsion de TC a diminué la résistance à la traction et l'allongement à la rupture des films PNE par rapport aux films de pectine. Cependant, le module de Young a légèrement augmenté. Le film de pectine pure avait une résistance à la traction de 3,03 MPa qui a diminué à 1,61 MPa après ajout de l'émulsion. La même réduction s'est produite pour l'allongement à la rupture qui est passée de 8,16 % à 4,14 %. Cette réduction pourrait être attribuée aux discontinuités structurelles dans le réseau polymère des films à base de polysaccharides, causées par l'incorporation de la phase dispersée lipidique. Les échantillons de film d'EC ont démontré de meilleures propriétés mécaniques par rapport à la monocouche de P et PNE. Ils ont montré une résistance à la traction de 13,69 MPa et un pourcentage d'allongement à la rupture de 7,52%. Ils ont également un module d'Young considérablement plus élevé que les autres, ce qui provient de la nature rigide de l'EC.

Comme attendu, les échantillons multicouches présentent de meilleures propriétés mécaniques comparées à la fois à la monocouche de pectine et aux films de pectine contenant les nanocapsules de TC. Les films multicouches montrent une résistance à la traction significativement plus élevée par rapport aux films de pectine et aux films PNE d'environ 14,98 MPa. Ceci pourrait être attribué à l'effet de la combinaison de la couche d'EC avec le film PNE avec une faible résistance à la traction. En effet, les films multicouches combinent de préférence les propriétés mécaniques du film EC et du film PNE. Ce résultat montre une ductilité plutôt meilleure des échantillons multicouches. En effet, grâce à technique de multicouches, la résistance à la rupture du film a été fortement améliorée pour les échantillons multicouches en comparaison des échantillons monocouches. Elle est supérieure aux trois échantillons monocouches de P, PNE et EC. Le module de Young des films multicouches est inférieur à la monocouche d'EC, mais il est toujours supérieur au module de Young des échantillons P et PNE. Au regard de la formule de YM (Equation 4), la section du film augmente à cause de la plus grande épaisseur et par conséquent YM a diminué. C'est pourquoi le YM des échantillons multicouches plus épais est inférieur au YM de la monocouche d'EC. En revanche, un matériau plus rigide aura un module d'élasticité plus élevé. La rigidité du film multicouche baisse par rapport à la monocouche d'EC sous l'effet de la couche intermédiaire de pectine contenant du TC. Au cours des mesures des propriétés mécaniques, aucune séparation des couches n'a été observée dans les films multicouches indiquant une forte adhérence entre les couches.

Tableau 2 : propriétés mécaniques des films mono et multicouches

Échantillons	Résistance à la traction (MPa)	Rupture d'allongement (%)	Module de Young (MPa)
P	3,03 ± 0,27 ^b	8,16 ± 1,08 ^{ab}	42,18 ± 3,10 ^c
PNE	1,61 ± 0,28 ^b	4,14 ± 1,43 ^c	48,15 ± 11,69 ^c
EC	13,69 ± 1,38 ^a	7,52 ± 0,76 ^b	220,37 ± 24,14 ^a
EC/PNE/EC	14,98 ± 0,90 ^a	10,20 ± 0,98 ^a	179,22 ± 23,02 ^b

3.3. Activité antimicrobienne

Parmi les échantillons de film testés, la monocouche de pectine contenant des nanocapsules de TC (PNE) et les échantillons multicouches (EC/PNE/EC) ont démontré des activités antimicrobiennes contre les bactéries *L.innocua*, *E.coli*, *S.Typhimurium* et *Brochothrix thermosphacta*. Les diamètres des zones d'inhibition sont montrés dans la figure 2.

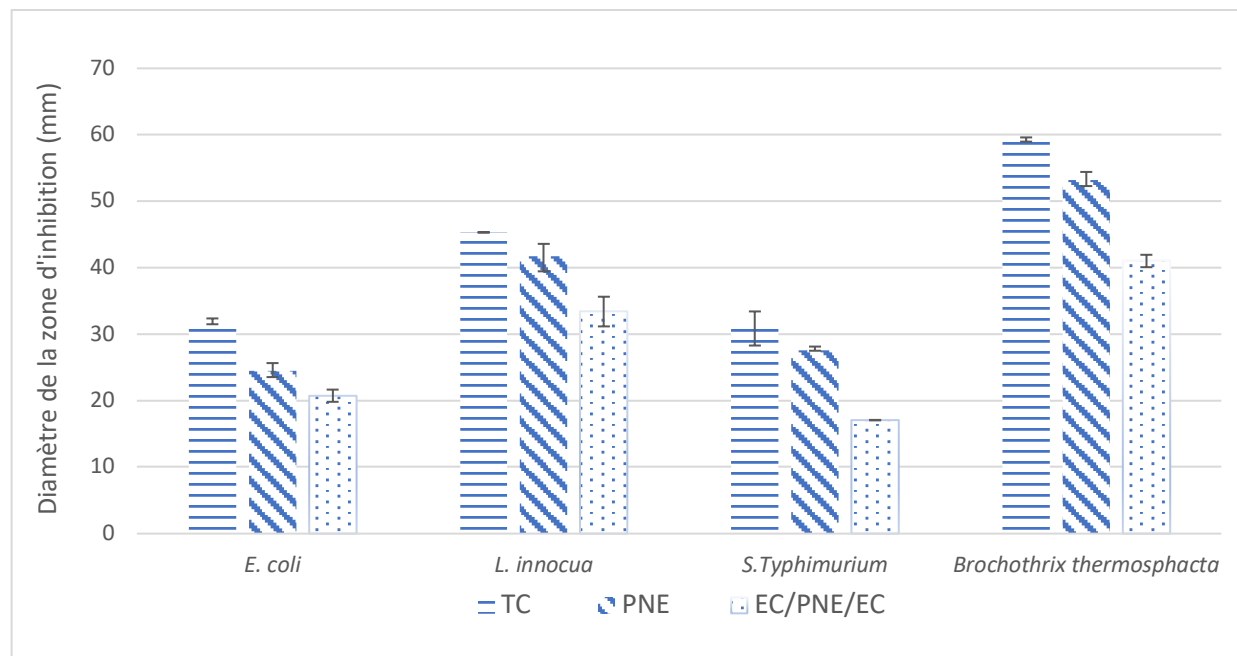


Figure 2. Activités antimicrobiennes du TC et des films contenant du TC.

TC : trans-cinnamaldéhyde, PNE : film de pectine contenant des nanocapsules de TC, EC/PNE/EC : multicouche de PNE isolée par deux couches interne et externe d'éthylcellulose.

(Les diamètres de la zone d'inhibition incluent le diamètre de la zone claire et le disque de film de 16 mm de diamètre)

Les monocouches de pectine et d'éthylcellulose sans nanoémulsion de trans-cinnamaldéhyde n'ont montré aucune zone d'inhibition, indiquant qu'elles n'ont aucune activité antimicrobienne contre les bactéries testées, c'est pourquoi elles ne sont pas mentionnées dans la figure 2. Cependant, le TC a montré une activité antimicrobienne efficace contre les quatre bactéries testées. Dans cette étude, l'activité antimicrobienne du TC a été étudiée non seulement pour évaluer son activité antimicrobienne, mais également pour explorer la capacité du film actif à libérer les nanocapsules de TC à la surface des gélose contaminées. Les zones d'inhibition pour les quatre bactéries ont montré la même tendance. Le plus grand diamètre des zones d'inhibition pour toutes les bactéries a été observé pour TC car il agit directement sur l'inhibition de la croissance bactérienne. Ensuite, les échantillons de film PNE ont montré des zones d'inhibition plus grandes que les films d'échantillons multicouches (EC/PNE/EC). Cela pourrait être attribué à l'effet de la couche d'EC qui ralentit la libération des nanocapsules de TC. En effet, pour les films multicouches, la libération d'agent antimicrobien à partir de PNE vers des gélose contaminées doit également passer par une couche d'EC, ce qui ralentit la cinétique de libération pour le film multicouche (EC/PNE/EC) par rapport au film monocouche (PNE). Les diamètres des zones d'inhibition étaient statistiquement différents ($p < 0,05$) entre les bactéries et suivaient l'ordre croissant de *S. Typhimurium* < *E. coli* < *L. innocua* < *Br. thermosphacta*. Parmi les quatre bactéries testées, les deux bactéries Gram-positives *Br. thermosphacta* et *L. innocua* ont démontré le plus grand diamètre de zone d'inhibition par rapport aux bactéries Gram-négatives *S. Typhimurium* et *E. coli*. Cela peut s'expliquer par l'existence, dans la paroi des bactéries Gram-négatives, d'une membrane externe hydrophile supplémentaire contenant des molécules de lipopolysaccharides qui font obstacle à la pénétration de composés hydrophobes tels que les huiles essentielles. L'absence de cette membrane dans le cas des bactéries Gram positives permet une pénétration

plus facile des composés actifs avec une plus grande activité inhibitrice. Il est observé que les échantillons de films PNE adhèrent à la surface de la gélose et ont tendance à se dissoudre alors que les échantillons multicouches restent intacts ce qui est dû au caractère hydrophile de la pectine.

4. Conclusion

Dans ce travail, un emballage de film actif antimicrobien biodégradable a été fabriqué via une méthode de casting couche par couche. Une comparaison entre une monocouche de film de pectine contenant des nanocapsules de trans cinnamaldéhyde et un film multicouche de cette monocouche isolée par une couche interne et une couche externe d'éthylcellulose a été réalisée. En particulier, les propriétés physiques et mécaniques du film monocouche ont été améliorées par la technique multicouche. Les activités antimicrobiennes contre des bactéries d'origine alimentaire ont montré une libération de l'agent antimicrobien à la fois à partir de la monocouche et de la multicouche. En revanche, la technique multicouche a résolu le problème de la solubilité dans l'eau du film de pectine monocouche. En effet, les couches hydrophobes d'éthylcellulose permettent de protéger la couche active de pectine au contact des aliments humides. Ainsi, cette structure multicouche pourrait être utile pour prolonger la durée de conservation des aliments frais et des légumes.

Remerciements

Nous remercions la fondation TERRA ISARA pour le financement du projet FABIONANOCAP (Films Actifs Biodégradables à base de Nanocapsules pour la Biopréservation des Aliments).

Références

Almasi, Hadi, Mahsa Jahanbakhsh Oskouie, and Ayda Saleh. 2021. "A Review on Techniques Utilized for Design of Controlled Release Food Active Packaging." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 61 (15): 2601–21. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1783199>.

Assadpour, Elham, and Seid Mahdi Jafari. 2019. "A Systematic Review on Nanoencapsulation of Food Bioactive Ingredients and Nutraceuticals by Various Nanocarriers." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59 (19): 3129–51. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1484687>.

Chen, Huanle, Xiaorong Hu, Enmin Chen, Shan Wu, David Julian McClements, Shilin Liu, Bin Li, and Yan Li. 2016. "Preparation, Characterization, and Properties of Chitosan Films with Cinnamaldehyde Nanoemulsions." *Food Hydrocolloids* 61 (December): 662–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.034>.

Eid, Ahmad, Nagib Elmarzugi, and Hesham El Enshasy. 2013. "Preparation and Evaluation of Olive Oil Nanoemulsion Using Sucrose Monoester." *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5 (January): 434–40.

Gao, Hao-Xiang, Zheng He, Qun Sun, Qiang He, and Wei-Cai Zeng. 2019. "A Functional Polysaccharide Film Forming by Pectin, Chitosan, and Tea Polyphenols." *Carbohydrate Polymers* 215 (July): 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.029>.

Li, Xing, Fatang Jiang, Xuewen Ni, Wenli Yan, Yapeng Fang, Harold Corke, and Man Xiao. 2015. "Preparation and Characterization of Konjac Glucomannan and Ethyl Cellulose Blend Films." *Food Hydrocolloids* 44 (February): 229–36. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.027>.