

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem



Faculté des Sciences de la nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BELAYACHI Imene

Pour l'obtention du diplôme de master

Spécialité : NUTRITION ET PATHOLOGIES

THÈME

**ÉLABORATION D'UN BIOFILM DE
CONSERVATION ALIMENTAIRE À PARTIR DU
MUCUS D'ESCARGOT *Helix aspersa muller***

Devant le Jury :

- ❖ Présidente : Dr ZERROUKI Kheira Grade M.C.A U. Mostaganem
- ❖ Encadrante : Dr. YAHLA Imene Grade M.C.A U. Mostaganem
- ❖ Examineur : Dr CHAALEL Abdelmalek Grade M.C.A U. Mostaganem

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Tout d'abord je remercie ALLAH le tout puissant qui m'a donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour pourvoir réaliser ce travail de recherche.

Je remercie sincèrement Dr YAHLA Imene pour son expertise, sa patience et ses précieux conseils. Vos orientations ont été déterminantes pour la réussite de ce travail.

Je tiens à remercier Dr ZERROUKI Kheira et Dr CHAALEL Abdelmalek d'avoir accepté de faire partie du jury de la soutenance et d'examiner ce modeste travail.

Je remercie aussi l'ensemble du personnel du laboratoire, pour leur aide et leur disponibilité surtout Mme D. HAMED.

Enfin, Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes et institutions qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

À ma mère

Je tiens à te remercier du fond du cœur, toi qui es la personne la plus chère au monde pour moi. Depuis ma première année d'école primaire jusqu'à ce jour, tu as toujours été là. Grâce à toi, j'ai appris à croire en moi et à poursuivre mes rêves. Tu m'as transmis des valeurs essentielles qui me guident chaque jour et qui font de moi la personne que je suis aujourd'hui.

À mon père

Je tiens à te remercier pour tous tes sacrifices, ton soutien et tes prières tout au long de mes études.

À mes très chers frères

Fares et Malik qui m'ont toujours encouragé.

À mes grands-parents et toute ma famille et surtout à ma tante qui nous a quitté dernièrement, pour leur soutien tout au long de ma vie.

À toutes mes cousines et mes copines Hadil , Maroua, Manele et Hind

À tous ceux que j'aime

Résumé

La préservation des aliments représente un défi majeur pour l'industrie agroalimentaire, qui cherche des moyens efficaces pour prolonger la durée de vie des produits tout en assurant leur sécurité et leur qualité. L'objectif de cette étude est l'élaboration d'un biofilm de conservation alimentaire à partir du mucus d'escargot *Helix aspersa müller*, une alternative naturelle et potentiellement pérenne pour remplacer les conservateurs synthétiques. La collecte du mucus a été stimulée par la vaporisation des escargots avec 3% de Na Cl. La caractérisation de notre biofilm montre une bonne apparence visuelle, une épaisseur comprise de 0.06 mm, une humidité de 25%, une solubilité dans l'eau allant de 98.1 %, tandis que la transparence est $6.52 \pm 0.03\%$. L'application du mélange du biofilm en solution d'enrobage pour les fraises a montré après l'étude qu'il a un effet positif sur la durée de vie des fraises.

Mots clés : Escargot, *Helix aspersa muller*, mucus, biofilm, conservation.

Abstract

Food preservation is a major challenge for the food industry, which is looking for effective ways to extend the life of products while ensuring their safety and quality. The objective of this study is the development of a food conservation biofilm from snail mucus *Helix aspersa müller*, a natural and potentially sustainable alternative to synthetic preservatives. Mucus collection was stimulated by vaporizing snails with 3% Na Cl. The characterization of our biofilm shows a good visual appearance, a thickness of 0.06 mm, a humidity of 25%, a solubility in water ranging from 98.1%, while the transparency is 6.52 0.03%. The application of biofilm mixture in coating solution for strawberries showed after the study that it has a positive effect on the service life of strawberries.

Keywords: Snail, *Helix aspersa muller*, mucus, biofilm, conservation.

المخلص

حفظ الأغذية يمثل تحدياً كبيراً للصناعة الغذائية الزراعية، التي تسعى إلى إيجاد وسائل فعالة لتمديد فترة صلاحية المنتجات مع ضمان سلامتها وجودتها. يهدف هذا البحث إلى تطوير غلاف طبيعي لحفظ الأغذية من مخاط الحلزون *Helix aspersa müller*، كبديل طبيعي ومستدام لاستبدال المواد الحافظة الاصطناعية. تم تحفيز جمع المخاط عن طريق رش الحلزونات بمحلول يحتوي على 3% من كلوريد الصوديوم (NaCl). أظهرت خصائص الغشاء الحيوي مظهراً بصرياً جيداً، بسماكة تبلغ 0.06 مم، ورطوبة بنسبة 25%، وقابلية للذوبان في الماء تصل إلى 98.1%، بينما بلغت الشفافية 0.03 ± 6.52 %. وأظهرت تطبيقات الغلاف الطبيعي كمحلول طلاء للفراولة تأثيراً إيجابياً على مدة صلاحية الفراولة بعد الدراسة.

الكلمات المفتاحية: حلزون، *Helix aspersa müller*، مخاط، غلاف طبيعي، حفظ

Liste des abréviations

° :	Degré
° C :	Degré Celsius
<i>C. aspersum</i> :	Cornu aspersum
CMI :	concentrations minimales inhibitrices
CO₂ :	Dioxyde de carbone
FAO :	L'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
FDA :	Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux
Gly :	Glycine
<i>H. aspersa</i> :	<i>Helix aspersa muller</i>
<i>H. pomatia</i> :	<i>Helix pomatia</i>
H₂O :	Formule chimique de l'eau
JC :	Jésus-Christ
kDa :	Kilodalton
Leu :	Leucine
Mw :	Molecular weight (la masse moléculaire)
Na Cl :	Chlorure de sodium
O₃ :	L'ozone
pH :	Potentiel d'hydrogène
RMN :	Résonance magnétique nucléaire
UFC/ml :	Unités Formant Colonie par Millilitre
US :	États-Unis
Uv :	Ultraviolet
µm :	Micromètre

Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition proximale (sur la base de la matière sèche) des escargots comestibles trouvés au Nigeria.....	5
Tableau 02 : Caractérisation de peptides dans le mucus de l'escargot de jardin <i>Cornu aspersum</i> , identifiés par séquençage de novo MALDI MS/MS.....	8
Tableau 03 : Méthodes standard pour tester la résistance des matériaux plastiques aux attaques microbiennes - de Ochs2000	20
Tableau 04 : Valeurs de pH des fraises avant et après le stockage.....	37

Liste des figures

Figure 01 : Escargot brun de jardin adulte allongé, <i>Cornu aspersum</i> (Müller).....	6
Figure 02 : Effet du glycérol plastifiant sur l'activité enzymatique antimicrobienne triacétate-immobilisée de cellulose d' Appendini, 1996	19
Figure 03 : Effet du film plastique antimicrobien sur <i>Aspergillus niger</i> . Méthode de diffusion de l'agar (Photographie) (Appendini & Hotchkiss, 2002).....	22
Figure 04 : Naringin hydrolysis dans le jus de pamplemousse en utilisant des rapports croissants de surface de film au volume de jus pendant 6 semaines de stockage à 7 °C.....	23
Figure 05 : L'escargot <i>Helix aspersa muller</i>	25
Figure 06 : Vaporisation de Na Cl.....	26
Figure 07 : La collecte du mucus	27
Figure 08 : Les étapes de préparation du Biofilm.....	28
Figure 09 : Séchage et stockage du Biofilm.....	29
Figure 10 : Caractéristiques général du Biofilm	33
Figure 11 : Mesure de l'épaisseur du Biofilm.....	33
Figure 12 : La teneur en humidité du biofilm.....	34
Figure 13 : La solubilité du biofilm dans l'eau	35
Figure 14 : Taux de transmission de la lumière et transparence du film.....	36
Figure 15 : Histogramme représentant la baisse du poids des fraises enrobées par la solution filmogène après 15 jours de stockage à 5°C.....	36
Figure 16 : L'enrobage des fraises dans la solution filmogène.....	37

Figure 17 : Schémas représentant l'évaluation des qualités sensorielles des fraises enrobées ou non par la solution filmogène.....**38**

Figure 18 : Les fraises enrobées ou non enrobées dans la solution filmogène après 15 jours de stockage (A : les fraises enrobées, B : les fraises non enrobées).....**39**

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des tableaux et des figures

Introduction 1

Chapitre I : L'escargot *Helix aspersa muller*

I.1. Généralité sur l'escargot 4

I.1.1. Définition 4

I.1.2. La composition de l'escargot..... 4

I.1.3. Les types de l'escargot..... 5

I.2. Les glandes sécrétrices du mucus 6

I.3. La collecte de la bave d'escargot..... 7

I.4. Les domaines d'utilisation du mucus d'hélix aspersa muller..... 7

I.5. Les bienfaits du mucus d'hélix aspersa muller..... 8

Chapitre II : Les emballages et les Biofilm alimentaires

II.1. Rôles de l'emballage alimentaire 11

II.1.1. Protection/préservation..... 11

II.1.2. Marketing et communication..... 13

II.1.3.Traçabilité	13
II.1.4.Convenience	14
II.1.5.Indicateur de manipulation	14
II.1.6.D'autres rôles	15
II.2.Film biodégradable pour l'emballage alimentaire	15
II.3.Classification des polymères biosourcés	15
II.4.Types de polymères biosourcés utilisés dans les applications d'emballage alimentaire	16
II.5.Les emballages antimicrobiens sont utilisés dans les aliments	17
 Chapitre III : Matériels et Méthodes	
III. 1. L'objectif de l'expérimentation	25
III.2. Matériels.....	25
III.2.1. Matériel animal	25
III.2.2.Matériels végétales	25
III.2.3. Autres matériels	25
III.3.Méthodes	26
III.3.1. Méthode de la collecte du mucus	26
III.3.2. Protocole de formation du Biofilm	27
III.3.2.1. Préparation du mélange	27
III.3.2.2. Séchage du biofilm	28
III.4. Caractérisation du biofilm	29
III.4.1. Epaisseur du film	29

III.4.2. Teneur en humidité	29
III.4.3.Solubilité dans l'eau	30
III.4.4.Taux de transmission de la lumière et transparence du film	30
III.5. Application de la solution filmogène comme bio-emballages	30
III.5.1. Enrobage des fraises	30
III.5.2. Analyse sensorielle des fraises enrobées	31
 Chapitre VI : Résultats et Discussion	
IV.1. Caractérisation du biofilm	33
IV.1.1. Epaisseur du film	33
IV.1.2. Teneur en humidité du film	34
IV.1.3. Solubilité dans l'eau	34
IV.1.4. Taux de transmission de la lumière et transparence du film	35
IV.2. Application de la solution filmogène comme bio-emballages	36
IV.2.1. Effet de l'enrobage sur le poids et le pH des fraises	36
IV.2.1.1. Perte de poids	36
IV.2.1.2. Ph	37
IV.2.2. Analyse sensorielle des fraises enrobées	38
Conclusion	42
Références bibliographiques	45

Introduction

Depuis des milliers d'années, les humains consomment des escargots et ils sont devenus un aliment répandu parmi des millions de personnes à travers le monde. Dans de nombreux pays d'Europe et d'Amérique, les escargots et leurs produits suscitent un vif intérêt en raison de leur appétence. La valeur économique de cette espèce principalement herbivore est considérable et elle est perçue comme un aliment de luxe.

Les Romains, notamment, sont célèbres pour avoir perçu l'escargot comme un aliment privilégié. À la fin des années 1980, le commerce des escargots aux États-Unis s'élevait à 300 millions de dollars par an (**Massari et Pastore, 2014**).

Les États-Unis ont déclaré le 24 mai comme "Journée nationale de l'escargot".

Différents pays du monde consomment des escargots, mais la France est renommée pour ce mets exceptionnel qui ne laisse personne indifférent. Selon **Martins et al. (2005)**, l'Espagne et le Portugal sont également parmi les principaux consommateurs européens d'escargots *Helix aspersa*. Selon **Massari et Pastore (2014)**, plus de 80 % des escargots vendus et consommés proviennent de la nature et sont importés du Maroc et de l'Algérie.

Selon **Cobbinah (2001)**, la Grèce, la Turquie, la Roumanie, l'Algérie, la Tunisie, la Thaïlande et la Chine sont les principaux fournisseurs d'escargots. Selon **Aromolaran et al. (2019)**, la consommation mondiale d'escargots est d'environ 400 000 à 450 000 tonnes par an, dont seulement 15 % proviennent d'unités d'élevage, tandis que les 85 % restants proviennent de collectes dans la nature.

Selon **Bonnet et al. (2006)**, *H. aspersa* est la espèce d'escargot la plus appréciée et la plus consommée, qui est largement répandue en Europe occidentale et dans le nord de la Méditerranée.

Dernièrement, plusieurs substances présentes dans le mucus d'escargot ont été identifiées avec des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes, ainsi que des propriétés régénératrices (**Vassilev et al., 2020**). Selon **Dolashki et ses collègues (2020)**, diverses composantes peptidiques et protéiques du mucus de l'escargot de jardin *C. aspersum* ont démontré une activité antibactérienne contre les souches bactériennes Gram négatif (*Pseudomonas aureofaciens* et *Escherichia coli*) et Gram positif (*Brevibacillus laterosporus*), ainsi que contre la bactérie anaérobie *Clostridium perfringens* (**Dolashki et ses collègues, 2020**).

Notre travail vise à créer un film de conservation alimentaire à partir du mucus *d'Helix aspersa muller*.

Chapitre I : L'escargot *Helix aspersa muller*

Chapitre I : L'escargot *Helix aspersa muller*

I.1.Généralité sur l'escargot

I.1.1.Définition

Le terme « *caracol* » espagnol est probablement à l'origine du terme français « escargot », qui a été introduit en France par le biais de la Rochelle, où les marins espagnols et portugais venaient se ravitailler. Pour cette dénomination, il est nécessaire d'inclure d'autres termes tels que : « hélice » (en référence à la forme de sa coquille) ou « *colimaçon* » (Bonnet et al. 1990).

L'escargot fait partie de la catégorie des gastéropodes. Ils ont une préférence pour un environnement non perturbé, avec une humidité adéquate et une alimentation saine. L'escargot est entouré d'une coquille solide, habituellement ornée de spirales. La majorité des escargots terrestres sont présents pendant la nuit, mais après une pluie, ils ont la possibilité de sortir de leur cachette pendant la journée. Ils se déplacent en utilisant un muscle long et plat appelé pied pour se déplacer. Le mucus est continuellement produit par des glandes présentes dans le pied, ce qui facilite le déplacement et laisse une traînée visqueuse.

Les fouilles archéologiques ont découvert des coquilles d'escargots, ce qui suggère que les escargots ont été consommés depuis la préhistoire (Hill et al., 2015) . Contrairement à ce que l'on pense généralement, les escargots ne se limitent pas à être des "aliments de famine" utilisés en période de pénurie alimentaire ou lorsqu'il devient difficile de se procurer et de récolter des "aliments traditionnels". De nombreuses personnes à travers le monde prennent plaisir à les déguster car ils sont délicieux et ont une longue histoire dans les cuisines locales. Effectivement, il existe encore des consommations de mollusques, tels que les escargots d'eau douce et les escargots terrestres, comme amuse-gueule dans de nombreuses régions du monde, notamment dans le sud de l'Europe.

I.1.2.La composition de l'escargot

La composition en nutriments des escargots comestibles, telle qu'elle est rapportée dans la littérature (en se basant sur la matière sèche), est récapitulée dans le tableau 1. Selon Kim et al. (2019), l'azote est un nutriment indispensable et les protéines participent directement à l'approvisionnement en azote dans le corps humain adulte. En termes de protéines, de lipides et de glucides, les escargots comestibles présentaient une moyenne de $13,31 \pm 0,113$ - $82,25 \pm 0,01$ %, de $0,53 \pm 0,057$ - $8,50 \pm 0,02$ % et de $0,15 \pm 0,02$ - $16,33 \pm 0,20$ %, respectivement.

Tableau 01 : Composition proximale (sur la base de la matière sèche) des escargots comestibles trouvés au Nigeria

Scientific Name	Protein (%)	Fat (%)	Carbohydrate (%)	References
<i>Achatina achatina</i>	36.81±0.02	1.26±0.02	0.62±0.01	Ademolu <i>et al.</i> (2017)
<i>Achatina fulica</i>	10.08±0.01	1.61±0.05	7.25±0.03	Babalola and Akinsoyinu, (2009)
<i>Archachatina marginata</i>	18.89±0.02	1.08±0.01	0.51±0.02	Ademolu <i>et al.</i> (2017)
<i>Buccinum undatum</i>	13.96±0.19	1.75±0.07	0.93±0.14	Kiin-Kabari <i>et al.</i> (2017)
<i>Crassostrea gasar</i>	13.31±0.11	0.53±0.06	0.92±0.17	Kiin-Kabari <i>et al.</i> (2017)
<i>Donax rugosus</i>	22.70±2.05	5.23±0.39	8.20±0.51	Ukwo <i>et al.</i> (2020)
<i>Limicolaria spp</i>	18.66±0.57	1.17±0.14	0.15±0.02	Fagbuaro <i>et al.</i> (2006)
<i>Egeria radiata</i>	32.10 ± 0.06	1.36 ± 0.02	1.50 ± 0.10	Ivon and Eyo (2018)
<i>Tagelus adansonii</i>	20.72±1.61	3.04±0.17	8.30±0.01	Ukwo <i>et al.</i> (2020)
<i>Thais coronata</i>	14.88 ± 0.01	1.50 ± 0.01	4.64 ± 0.02	Ivon and Eyo (2018)
<i>Pachymelina aurita</i>	45.83±19.74	2.00±0.00	NA	Emmanuel and Oladejo (2020)
<i>Pomacea bridgesii</i>	33.24±0.05	3.18±0.08	NA	Adebayo-Tayo <i>et al.</i> (2011)
<i>P. canaliculata</i>	31.38±0.15	3.26±0.10	NA	Adebayo-Tayo <i>et al.</i> (2011)
<i>Tympanotonus fuscatus</i>	47.61±0.23	4.86±0.15	16.33±0.20	Moruf (2021)
<i>Lanistes libycus</i>	58.1±0.22	5.46±0.13	NA	Agbolade and Olayiwola (2008)
<i>Nucella lapillus</i>	82.25±0.01	8.50±0.02	0.75±0.01	Eneji <i>et al.</i> (2008)

NA : Il n'est pas disponible comme indiqué dans la référence. Même si la viande d'escargot est fréquente dans la gastronomie et fait partie de la culture de certaines ethnies, cette étude met en lumière certains éléments néfastes liés à la consommation de ce mollusque.

I.1.3. Les types de l'escargot

Parmi les 400 espèces d'escargots présentes dans leur habitat naturel, seules six sont considérées comme des transactions commerciales significatives :

- L'escargot Petit-Gris (*Helix aspersa aspersa* ou Müller).
- L'escargot de Bourgogne (*Helix pomatia*).
- L'escargot Gros-Gris (*Helix aspersa maxima*).
- L'escargot Tapadou ou Apatelli (*Helix aperta*).
- La mourguette (*Eobonia vermiculata*).
- L'escargot Turc (*Helix lucorum*).

D'après Bonnet et ses collègues (1990), sa position systématique est la suivante :

Règne : *Animalia*

Embranchement : *Mollusca*

Classe : Gastéropode

Sous-classe : *Pulmoné*

Ordre : *Stylomatophora*

Super-famille : *Helicacea*

Famille : *Helicidae*

Sous famille : *Helicinae*

Genre : *Helix*

Espèce : *Helix aspersa* (Müller, 1774) .

La coquille est d'une grande taille, d'une forme globulaire, plutôt mince, imperforée ou presque, avec une brillante modérée et des rides fines. La couleur de la coquille peut varier entre jaune et corne, avec des bandes spirales marron interrompues par des mouchetures ou des stries jaunes. L'ouverture présente une forme ronde et ovale, avec la lèvre orientée vers l'arrière. Selon **Burch (1960)**, les coquilles adultes (avec quatre à cinq verticilles) ont un diamètre variant de 28 à 32 mm.



Figure 01 : Escargot brun de jardin adulte allongé, *Cornu aspersum* (Müller).

I.2. Les glandes sécrétrices du mucus

D'après une recherche menée par Greistorfer et ses collègues en 2017 sur les glandes sécrétrices du mucus chez *Helix pomatia* et celles d'*Helix aspersa* par Compion en 1961, ils mettent en évidence les éléments suivants : Selon **Champion (1961)** , l'épithélium du pied de *H. pomatia* et *H. aspersa* présente une similitude, avec une seule couche de cellules cylindriques. Cependant, son épaisseur varie d'une espèce à l'autre (chez *H. aspersa* : 25–33 µm ventralement ; chez *H. pomatia* : 50 µm ventralement) (**Greistorfer et al, 2017**). En ce qui concerne le nombre de glandules présentes dans les couches glandulaires dorsale et ventrale, les deux espèces présentent également des différences. Il est possible de distinguer

morphologiquement cinq types de glandes distincts dans le pied dorsal et ventral de *H. pomatia*. Cependant, **Campion (1961)** a identifié huit types de cellules au total dans l'épithélium du pied d'*Helix aspersa*.

I.3.La collecte de la bave d'escargot

Parmi les techniques mécaniques qui n'affectent pas l'animal, l'emploi de gaz naturels tels que l'ozone a été sélectionné afin de stimuler la production de bave d'escargot. La méthode d'extraction mécanique nécessite l'emploi d'un dispositif qui permet d'extraire la bave en minutes. Plus spécifiquement, les escargots ont été placés dans une machine où de l'ozone a été libéré pendant environ une heure ; l'O₃ provoque une forme d'excitation qui stimule la production de bave et protège les escargots du stress.

Différents extraits de mucus (*hélicidine*, *pertussidine*, *pomaticine*) sont disponibles actuellement, et ils ne se distinguent que par leur processus de production. Les escargots sont généralement trempés avec une quantité de 1% de chlorure de sodium. On collecte ensuite le mucus, on le décante, on le filtre, on le concentre puis on le sèche selon diverses méthodes, que ce soit à basse température sous vide, on le lyophilise ou on le sèche par pulsation.

Après avoir été filtrées par des filtres spécifiques, les solutions aqueuses obtenues peuvent être conservées de manière aseptique dans des flacons stériles, ou en ajoutant des substances antiseptiques, dont la glycérine est la plus couramment utilisée. Il est également nécessaire d'analyser les différents composants chimiques d'*Helix* en utilisant des procédures enzymatiques, ce qui met en évidence la présence de plus de 30 enzymes dans le mucus digestif, ainsi que dans le pancréas, le muscle et le liquide lymphatique.

I.4.Les domaines d'utilisation du mucus d'*Helix aspersa muller*

L'extrait obtenu présente diverses caractéristiques thérapeutiques. Dans le domaine de la beauté, il favorise la production de collagène, d'élastine et de composants dermiques qui aident à réparer les effets du vieillissement. En outre, il réduit les dégâts causés par les radicaux libres en raison de la présence de protéines, d'acide hyaluronique de plusieurs poids moléculaires et d'antioxydants.

Depuis l'Antiquité, de nombreux écrivains ont décrit l'utilisation de l'hélice terrestre en médecine. Hippocrate a suggéré l'utilisation de mucus d'escargot pour traiter le psoriasis. Les escargots crus étaient perçus par Celse comme des substances thérapeutiques et leurs corps bouillis comme des substances émoullientes. Selon **Pliny (77-79 après J.-C)**, la pulpe d'hélice a

le pouvoir d'accélérer l'accouchement et pourrait être employée pour soigner les brûlures, les abcès, les saignements de nez, les douleurs à l'estomac et la scrofule féminine. Galien suggère d'utiliser des escargots pour traiter les hydrops foetaux.

I.5. Les bienfaits du mucus d'hélix *aspersa muller*

Dans deux fractions de faible poids moléculaire ($M_w < 1$ kDa et $M_w < 3$ kDa), des métabolites présentant une activité antioxydante, antibactérienne et antimicrobienne ont été identifiés lors de l'analyse métabolique du mucus d'escargot par RMN. Certains ont été confirmés à l'aide d'une spectrométrie de masse en tandem (Tableau 2).

Tableau 02 : Caractérisation de peptides dans le mucus de l'escargot de jardin *Cornu aspersum*, identifiés par séquençage de novo MALDI MS/MS

No	Amino acid sequence of peptides	Exper. MW [M + H] ⁺ (Da)	Calcul. monoisotopic mass (Da)	pI	GRAVY	Predicted activity		
						Antibacterial (%)	Antiviral (%)	Antifungal (%)
1 ^a	LGHDVH	677.33	676.33	5.97	-0.383	84.0	75.8	61.0
2 ^a	AAGLAGAGNGGG	872.42	871.41	5.57	+0.425	65.0	35.0	35.0
3	LLFSGGQFNG	1039.52	1038.51	5.52	+0.420	74.0	28.0	59.0
4 ^a	LGLGNGGAGGGLVGG	1155.61	1154.60	5.52	+0.687	86.0	50.8	61.0
5 ^b	LNLGLDAGGGDPGG	1212.57	1211.58	3.56	-0.093	57.0	59.5	37.6
6	GAACNLEDGSLGV	1308.81	1307.55	3.67	+0.564	58.0	58.0	53.0
7 ^b	NLVGGLSGGGRGGAPGG	1382.70	1381.71	9.75	-0.024	59.0	30.4	38.0
8 ^b	LGGLGGGAGGGGLVGEPP	1438.86	1437.72	4.00	+0.439	56.0	38.0	19.7
9 ^c	NLVGGLSGGGRGGAPGGGG	1496.89	1495.75	9.75	-0.063	68.0	40.0	47.0
10 ^b	GLLGGGGAGGGGLVGGLLNG	1609.94	1608.86	5.52	+0.776	90.0	53.6	65.0
11 ^b	MGGLLGVNNGGGKGGGGPGAP	1666.83	1665.83	8.5	+0.005	78.6	52.0	61.5
12 ^d	LFGGHQGGGLVGLWRK	1738.99	1737.94	11.0	-0.024	75.6	41.0	78.5
13	NGLFGGLGGGHGGKGGGGGG	1909.90	1908.88	6.75	-0.487	90.0	67.0	80.0
14	LLLLMLGGGLVGGLLGGGKGGG	1966.24	1965.14	8.75	+1.209	92.0	57.0	76.0
15	PFLGLVGGLLGGSVGGGGGGGAPL	2023.14	2022.09	5.96	+0.912	69.0	32.0	38.0
16 ^b	LPFLGLVGGLLGGSVGGGGGGGAPL	2136.20	2135.17	5.52	+1.023	69.1	32.0	38.2
17 ^b	DVESLPVGGLLGGGGGAGGGGLVGGNLGGGAG	2479.20	2478.21	3.67	+0.353	62.0	43.0	33.0

Abbreviations: GRAVY, grand average of hydropathicity index; pI, Isoelectric point.

^aAmino acid sequences of a peptide is published in Vassilev et al. (2020).

^bAmino acid sequences of a peptide is published in Dolashki et al. (2020).

^cAmino acid sequences of a peptide is published in Dolashki et al. (2018).

^dAmino acid sequences of a peptide is published in Velkova et al. (2018).

Selon les résultats du tableau 2, il semble que plusieurs peptides 1, 3, 4, 10, 11, 12, 13 et 14 possèdent une activité antibactérienne, tandis que les peptides 1 et 13 pourraient également présenter une activité antivirale. Il est prévu que les peptides 10, 12, 13 et 14 possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques. Les peptides qui présentent la plus grande activité antibactérienne et antifongique présentent des niveaux élevés de glycine et de leucine, ainsi que des résidus de proline 1 ou 2. Il semblerait qu'ils font partie d'une nouvelle catégorie de peptides antimicrobiens contenant une forte teneur en Gly / Leu (Dolashki et al., 2018, 2020 ; Velkova et al., 2018).

Les groupes bactériens clés ont été identifiés en se basant sur les méthodes de culture. Ces analyses sont faciles à reproduire, peuvent être réalisées dans tous les laboratoires de microbiologie et offrent des données similaires à celles d'autres études.

Le microbiome du mucus présente des caractéristiques distinctes selon les analyses culturelles, les FISH et le séquençage. Selon eux, la communauté microbienne présente dans le mucus de *C. aspersum* est différente de celle observée dans d'autres parties d'escargots mentionnées dans la littérature. La présence fréquente de bactéries appelées bactéries typiques du sol et des plantes est l'une des caractéristiques les plus distinctives.

Une tendance en biotechnologie est la quête de nouveaux composés naturels destinés à être utilisés en médecine et en cosmétique. Le mucus d'escargot constitue l'une des sources de ces substances actives. L'étude de la physiologie des escargots et de l'activité biologique de leurs fluides (en particulier le mucus) reste peu approfondie. Ce sont seulement quelques recherches précédentes qui ont examiné la corrélation entre les escargots et leur microbiome.

La recherche en question a examiné la variété biologique du mucus d'escargot utilisé dans la fabrication de produits cosmétiques, thérapeutiques et nutraceutiques. Les méthodes de culture fréquemment employées ont été employées afin d'évaluer le nombre de grands groupes bactériens. Les principaux taxons ont été soumis à une hybridation de fluorescence in situ. L'analyse numérique des images obtenues a été réalisée. Il y a également eu un séquençage du gène de l'ARNr 16S. Les résultats ont démontré que le mucus renferme une communauté bactérienne abondante ($10,78 \cdot 10^{10}$ UFC/ml) selon les résultats. Certaines bactéries dominantes sont célèbres pour leur aptitude à métaboliser des polysaccharides complexes et se trouvent généralement dans le sol et les plantes (*Rhizobiaceae*, *She wanella*, *Pedobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*). D'après les résultats obtenus, il a été prouvé que le mucus d'escargot offre un environnement spécifique pour le développement de la communauté microbienne, qui se distingue des autres parties de l'animal et qui est attribué à la combinaison des microbiomes provenant du sol, des plantes et des escargots.

Chapitre II : Les emballages et les biofilms alimentaires

Chapitre II : Les emballages et les biofilms alimentaires

L'emballage joue un rôle crucial pour prolonger la durée de conservation des produits alimentaires qui peuvent être périssables. Il réduit la contamination après la contamination et garantit la sécurité des aliments lors de la vente. En outre, l'emballage joue un rôle crucial dans la promotion et l'acceptabilité du produit (Youssef et al., 2019).

II.1. Rôles de l'emballage alimentaire

Les conditionnements alimentaires ont un rôle crucial dans la protection des produits alimentaires contre les influences et les dommages extérieurs, en contenant les aliments et en fournissant aux consommateurs des renseignements sur les ingrédients et la nutrition (Coles, 2003). Les fonctions secondaires jouent un rôle de plus en plus essentiel en termes de traçabilité, de praticité et d'indication d'une altération. L'emballage alimentaire a pour objectif d'organiser les aliments de manière rentable qui répond aux exigences de l'industrie et aux attentes des consommateurs, garantit la sécurité alimentaire et diminue l'empreinte écologique.

II. 1.1. Protection/préservation

Les emballages alimentaires ont la capacité de retarder la dégradation du produit, de préserver les effets positifs du traitement, de prolonger la durée de conservation et de préserver ou d'améliorer la qualité et la sécurité des aliments. Dans cette optique, l'emballage assure une protection contre trois types d'influences externes majeurs : chimique, biologique et physique.

La protection chimique réduit la quantité de changements de composition qui peuvent se produire en raison de l'exposition aux gaz (généralement l'oxygène), à l'humidité (gain ou perte) ou à la lumière (visible, infrarouge ou ultraviolet). Les influences environnementales jouent un rôle dans tout cela. De nombreux matériaux d'emballage différents peuvent constituer une barrière chimique. Le verre et les métaux fournissent une barrière presque absolue aux agents chimiques et à d'autres agents environnementaux, mais peu d'emballages sont purement en verre ou en métal, car des dispositifs de fermeture sont ajoutés pour faciliter le remplissage et la vidange. Les dispositifs de fermeture peuvent contenir des matériaux qui permettent des niveaux minimes de perméabilité. Par exemple, les bouchons en plastique ont une certaine perméabilité aux gaz et aux vapeurs, tout comme les matériaux de joint utilisés dans les bouchons pour faciliter la fermeture et dans les couvercles de boîtes en métal pour permettre l'étanchéité après le remplissage. L'emballage plastique offre un large éventail de propriétés de barrière mais est généralement plus perméable que le verre ou le métal.

La protection biologique assure la protection des organismes microscopiques, des agents pathogènes et des agents de dégradation, des insectes, des rongeurs et d'autres animaux contre les maladies et la dégradation. De surcroît, les obstacles biologiques maintiennent les conditions nécessaires pour réguler la sénescence (maturation et vieillissement). Ces barrières opèrent grâce à divers mécanismes, tels que la sécurité de l'accès au produit, la prévention de la propagation des odeurs et le maintien de l'environnement interne de l'emballage.

La protection physique garantit que les aliments soient protégés contre les dommages mécaniques en les protégeant contre les chocs et les vibrations lors de leur manipulation. En règle générale, elles sont conçues à partir de carton et de matériaux ondulés, ce qui leur confère une grande résistance aux chocs, aux abrasions et aux dommages causés par l'écrasement. Ainsi, elles sont couramment utilisées en tant que conteneurs d'expédition et en tant qu'emballages pour des aliments délicats, comme les œufs et les fruits frais. Un emballage physique adéquat assure également la protection des consommateurs contre différents risques. Par exemple, les enfants ne peuvent pas accéder à des produits exposés à des dangers en raison des fermetures à l'épreuve. En outre, la substitution des emballages plastiques pour des produits tels que le shampoing et les bouteilles de soda a réduit la probabilité de casser les récipients en verre.

L'évaluation de l'impact des emballages alimentaires sur l'environnement doit tenir compte des bénéfices de la diminution du gaspillage alimentaire tout au long de la chaîne d'approvisionnement. Selon la **FAO (1989)**, de nombreux pays ont signalé un gaspillage alimentaire considérable, avec des taux variant de 25 % pour les céréales alimentaires à 50 % pour les fruits et légumes. On attribue souvent le gaspillage alimentaire à des problèmes de conservation/protection, d'entreposage et de transport inappropriés.

En augmentant la conservation des aliments, l'emballage diminue le gaspillage global et améliore leur capacité d'utilisation. Selon **Rathje et ses collègues (1985)**, il a été observé que les déchets par habitant générés à Mexico incluaient moins d'emballages, plus de déchets alimentaires et un tiers plus de déchets totaux que ceux générés dans des villes différentes des États-Unis. En outre, Selon **Rathje et al. (1985)**, les aliments emballés génèrent 2,5 % de déchets totaux, tandis que les aliments frais sont responsables de 50 %. Cela est en partie dû au fait que les sous-produits agricoles collectés à l'usine de transformation sont utilisés à d'autres fins, tandis que ceux produits à la maison sont généralement jetés. Ainsi, l'emballage peut aider à diminuer l'ensemble des déchets solides.

L'évaluation de l'impact des emballages alimentaires sur l'environnement doit tenir compte des bénéfices de la diminution du gaspillage alimentaire tout au long de la chaîne d'approvisionnement. Selon la **FAO (1989)**, de nombreux pays ont signalé un gaspillage alimentaire considérable, avec des taux variant de 25 % pour les céréales alimentaires à 50 % pour les fruits et légumes. On attribue souvent le gaspillage alimentaire à des problèmes de conservation/protection, d'entreposage et de transport inappropriés.

En augmentant la conservation des aliments, l'emballage diminue le gaspillage global et améliore leur capacité d'utilisation.

D'après les recherches de **Rathje et ses collègues (1985)**, il a été constaté que les déchets par habitant à Mexico comprenaient moins d'emballages, davantage de déchets alimentaires et un tiers plus de déchets totaux que ceux générés dans des villes US similaires. Selon les recherches menées par **Rathje et ses collègues (1985)**, les aliments emballés représentent 2,5 % des déchets totaux, tandis que les aliments frais en sont responsables de 50 %. Cela est principalement causé par l'utilisation des sous-produits agricoles collectés à l'usine de transformation à d'autres fins, alors que ceux produits à la maison sont généralement abandonnés. Il est donc possible que l'emballage contribue à réduire globalement les déchets solides.

II.1.2. Marketing et communication

Un emballage symbolise la présentation d'un produit et est souvent la seule expérience que les consommateurs ont avant de l'acquérir. De cette manière, un emballage original ou novateur peut favoriser les ventes dans un environnement compétitif. L'emballage peut être conçu pour améliorer l'image du produit et/ou le démarquer de la concurrence. Prenons l'exemple d'utilisation d'étiquettes plus grandes pour ajuster les recettes. L'emballage fournit également des informations au consommateur.

Par exemple, les emballages doivent être étiquetés conformément aux exigences légales en ce qui concerne l'identification du produit, la valeur nutritive, la déclaration des ingrédients, le poids net et les informations du fabricant. En outre, le conditionnement communique des renseignements essentiels concernant le produit, comme les consignes de cuisson, la référence de la marque et le prix. Toutes ces modifications peuvent influencer la gestion des déchets.

II.1.3. Traçabilité

Selon la Commission du Codex Alimentarius, la traçabilité est définie comme « la capacité

de surveiller le déplacement d'un aliment à travers les différentes étapes de production, de transformation et de distribution » (**Commission du Codex Alimentarius, 2004**).

Selon **Golan et autres (2004)**, la traçabilité vise à trois objectifs : améliorer la gestion de l'offre, simplifier le suivi pour garantir la salubrité et la qualité des aliments, et distinguer et commercialiser les aliments présentant des caractéristiques de qualité subtiles ou indétectables. Les fabricants d'aliments ajoutent des codes spécifiques sur les étiquettes d'emballage de leurs produits, ce qui leur donne la possibilité de suivre leurs produits tout au long de la distribution. On peut trouver des codes dans divers formats (comme les codes à barres imprimés ou l'identification électronique par radiofréquence [RFID]) et ils peuvent être lus de manière manuelle et/ou par machine.

II.1.4. Convenience

L'innovation des emballages est grandement influencée par des caractéristiques pratiques comme la facilité d'accès, la manipulation et l'élimination, la visibilité du produit, la refermabilité et la microondulabilité. Ainsi, l'emballage occupe une place primordiale en réduisant au minimum les efforts requis pour préparer et servir les aliments.

Les consommateurs peuvent cuisiner un repas complet sans avoir à préparer presque rien grâce à des plateaux allant au four, des sacs à ébullition et des emballages micro-ondes.

Les nouveaux modèles de fermeture simplifient l'ouverture, la fermeture et proposent des fonctionnalités de distribution spécifiques. À titre d'exemple, un producteur de cookies a récemment mis en place un sac flexible avec une partie étiquetée permettant d'accéder aux cookies. Avant la vente, une membrane avec un joint pelable couvre l'ouverture et permet de la refermer après l'ouverture. Le développement des emballages alimentaires a permis l'émergence de formats de vente au détail contemporains qui permettent aux consommateurs de profiter de la commodité d'un seul guichet et de la disponibilité d'aliments à travers le monde.

La présence de ces caractéristiques de praticité apporte de la valeur et des avantages concurrentiels aux produits, mais peut également avoir un impact sur la quantité et le type de déchets d'emballage à extraire.

II.1.5. Indicateur de manipulation

Les produits alimentaires et pharmaceutiques ont subi des altérations intentionnelles, ce qui a conduit à l'utilisation de caractéristiques d'emballage spéciales visant à diminuer ou à éliminer le risque d'altération et d'adultération. Même si tout emballage peut être écrasé, les

caractéristiques inviolables ne peuvent pas être facilement substituées. Les caractéristiques inviolables incluent les bandes, les membranes spéciales, les fermetures détachables et l'impression spéciale sur les chemises de bouteilles ou les boîtes composites, comme les graphiques ou le texte qui se modifient de manière irréversible à l'ouverture. L'impression spéciale inclut également des hologrammes qui sont difficiles à reproduire. En général, l'emballage inviolable requiert des matériaux d'emballage supplémentaires, ce qui aggrave les difficultés d'élimination, mais les bénéfices sont généralement supérieurs à tout désavantage.

Un exemple d'une caractéristique inviolable qui ne requiert aucun matériau d'emballage supplémentaire est un joint thermique qui est utilisé sur un emballage médical qui est chimiquement conçu pour changer de couleur lorsqu'il est ouvert.

II.1.6.D'autres rôles

On peut utiliser l'emballage à d'autres fins, telles que le transport de primes (comme l'incorporation d'un cadeau, d'un produit supplémentaire ou d'un coupon) ou de contenants domestiques. Les emballages ont la capacité d'être utilisés ou réutilisés, ce qui rend l'entrée dans le flux de déchets plus difficile.

II.2.Film biodégradable pour l'emballage alimentaire

Les matériaux qui peuvent être régénérés par l'action d'une enzyme sur des espèces vivantes comme les champignons, les levures, les bactéries et les produits finaux en dégradation sont considérés comme des produits « biodégradables ». La biomasse, le H₂O et le CO₂ sont principalement utilisés dans des situations aérobies, tandis que la biomasse, le méthane et les hydrocarbures sont utilisés dans des situations anaérobies (Avella et al., 2005). Par conséquent, les avancées technologiques dans le domaine de l'emballage de produits biodégradables afin d'assurer une sécurité et une qualité améliorées ont engendré des évolutions dans les méthodes d'emballage. Dans le but de satisfaire les préférences des consommateurs, les avancées technologiques ont conduit à l'émergence de processus d'emballage bioactifs, intelligents et actifs qui sont considérés comme extrêmement avancés (Youssef et al., 2019). L'utilisation de ces nouvelles technologies pour l'emballage a joué un rôle crucial dans l'amélioration de la bioactivité, de la faisabilité, de la sécurité et de la qualité des éléments clés. L'impact des méthodes d'emballage novatrices et novatrices sur la santé est en constante augmentation, ce qui a conduit à une diminution des plaintes des consommateurs (Majid et al., 2016).

II.3.Classification des polymères biosourcés

L'attention s'est rapidement portée sur les polymères car ils sont perçus comme une méthode essentielle pour fabriquer des matériaux écologiques. On peut classer ces polymères en trois éléments :

- a. Les polymères fabriqués directement à partir de la biomasse, comprenant des protéines telles que le zein, le gluten, la protéine de lactosérum, la protéine de soja et les caséinates, ainsi que des polysaccharides tels que la cellulose, l'amidon et le chitosane.
- b. II) Polymères fabriqués à partir de biomasse dérivée ou de monomères à base d'huile, tels que l'acide polyactique (PLA), l'alcool éthylène-vinyle (EVOH), l'alcool polyvinylique (PVA) et les polycaprolactones (PCL).
- c. III) Des polymères créés par des microorganismes génétiquement modifiés ou naturels, comme la cellulose bactérienne ou les polyhydroxyalcanoates (HPA) **(Fabra, López-Rubio et Lagaron, 2014)**.

II.4. Types de polymères biosourcés utilisés dans les applications d'emballage alimentaire

Les polymères biosourcés naturels, tels que l'agar, le chitosane, la cellulose et l'amidon, sont les plus couramment utilisés dans les emballages alimentaires. Ces polymères sont extraits du collagène, de la protéine de lactosérum, de l'alginate, du gluten, de la gélatine et des glucides. Dernièrement, l'apparition de nouvelles technologies a conduit à la création de polymères synthétiques biosourcés, tels que le PBS du succinate de polybutylène, l'alcool polyvinylique (PVA), l'acide polyglycolique (PGA) et l'acide polylactique (PLA) **(Rhim, Park et Ha, 2013)**. Les polymères synthétiques présentent des bénéfices tels que la possibilité de créer une industrie prospère et l'amélioration de diverses caractéristiques telles que la résistance à la traction, la clarté, la brillance élevée, la flexibilité et la longévité **(Othman, 2014)**.

Selon **Othman (2014)**, parmi les polymères biosourcés, l'amidon et ses dérivés sont le plus répandus qui ont été étudiés pour produire des matériaux bionanocomposites destinés aux applications d'emballage alimentaire.

L'utilisation du chitosane comme revêtement semble prévenir la dégradation fongique des légumes et des fruits frais. Même si les propriétés antifongiques du chitosane sont responsables de son effet antimicrobien, il est possible que le chitosane joue un rôle de barrière entre les nutriments présents dans le produit et les micro-organismes **(Cuq, Gontard et Guilbert, 1995)**. Selon **Ouattara et al. (2000)**, des films antimicrobiens à base de chitosane ont été employés afin de transporter des acides et des épices organiques. La présence de films

d'alginate de calcium a diminué la. La présence de chlorure de calcium peut expliquer la croissance de la flore naturelle et de l'inocule de coliformes sur le bœuf (**Cuq et al., 1995**).

Selon **Pradini (1987)**, des polymères acryliques bactéricides ont été suggérés comme matériaux d'emballage pour prolonger la durée de conservation des fruits et légumes en utilisant des co-monomères d'amines protonées acryliques co-polymérisantes. Selon **Olstein (1992)**, les polymères qui renferment des substituts de biguanide ont également une activité antimicrobienne.

Ils ont étudié la modification physique des polymères pour rendre les surfaces antimicrobiennes. Par exemple, il a été rapporté que les films de polyamide traités par irradiation UV ont un potentiel antimicrobien. Selon **Hagelstein, Hoover, Paik & Kelley (1995)**, il est possible que l'activité antimicrobienne soit due à une augmentation de la concentration d'amine à la surface du film. Les surfaces polymères contenant des groupes d'amines positivement chargés peuvent favoriser l'adhérence cellulaire, mais pas forcément la mort (**Lee, Jung, Kang et Lee, 1994**). Dans les essais mentionnés, il est envisageable qu'une adsorption simple ait eu lieu, dissimulant ainsi l'activité antimicrobienne du polymère aminé à la surface. Ensuite, une recherche sur des films de nylon exposés aux rayons UV a révélé que les groupes aminés présents à la surface étaient bactéricides, mais que les cellules bactériennes étaient adsorbées à la surface, ce qui réduisait l'efficacité des groupes amines (**Paik, Dhanasekharan et Kelley, 1998**). Il arrive fréquemment que ces études soient réalisées dans une zone tampon. En ajoutant des nutriments, il est possible de prévenir les dommages à la membrane cellulaire et la récupération bactérienne, ainsi que d'inhiber l'adhérence des cellules à la surface résultant de l'interaction des sels et d'autres cations avec les surfaces.

II.5. Les emballages antimicrobiens sont utilisés dans les aliments

Selon **Hotchkiss (1997)**, les polymères antimicrobiens peuvent être employés dans divers domaines de l'alimentation, notamment dans l'emballage. L'objectif principal est de prolonger la durée de conservation et de garantir la sécurité en limitant la prolifération de microorganismes spécifiques en contact direct avec la surface des aliments solides (comme la viande, le fromage, etc.) ou dans la masse de liquides (comme le lait ou les exsudats de viande). Ensuite, les matériaux d'emballage antimicrobiens pourraient être capables de se stériliser ou de se désinfecter eux-mêmes. Les matériaux d'emballage antimicrobiens permettent une réduction significative du risque de contamination des produits transformés et facilitent le traitement des matériaux pour éviter toute contamination. Par exemple, l'utilisation d'un emballage auto-stérilisant pourrait permettre de supprimer la nécessité de traiter avec du

peroxyde un emballage aseptique. Ensuite, au moins en théorie, cela pourrait conduire à la stérilisation autonome des aliments, notamment des liquides. Il est possible que cela soit particulièrement bénéfique pour les produits contenant une forte teneur en acide, comme les jus de fruits. Il est également possible d'utiliser des polymères antimicrobiens pour recouvrir les surfaces des équipements de transformation des aliments, ce qui permet leur auto-désinfection pendant leur utilisation. Parmi les exemples, on retrouve les joints de remplissage, les dispositifs de transport, les gants, les vêtements et d'autres équipements d'hygiène personnelle.

Il est important de prendre en compte les microorganismes cibles ainsi que la composition des aliments dans un emballage antimicrobien. Comme pour tout antimicrobien, il est nécessaire de choisir les antimicrobiens à incorporer dans les polymères en se basant sur leur spectre d'activité, leur mode d'action, leur composition chimique, leur taux de croissance et l'état physiologique des microorganismes visés. La cinétique de diffusion sera au moins en partie responsable de l'activité des antimicrobiens qui se propagent de l'emballage à l'aliment (**Han, 2000**). Cependant, il est nécessaire que les antimicrobiens liés au polymère soient actifs lorsqu'ils sont liés à ce dernier.

Cette activité est associée à la manière d'agir. En cas d'action sur la membrane cellulaire ou la paroi du micro-organisme, il est envisageable que l'antimicrobien qui y est attaché ait un effet sur les cellules. Il est peu probable que cela se produise si il doit pénétrer dans le cytoplasme.

Dans les milieux synthétiques, la croissance des micro-organismes est rarement identique à celle des aliments, et les composants alimentaires peuvent restreindre l'action des antimicrobiens en entravant la diffusion des polymères. Dans les environnements riches en nutriments, les zéolithes argentées ne sont pas actives, car la présence de lysine, de sulfates, de sulfures et d'autres acides aminés contenant du soufre diminue leur activité antimicrobienne. Selon **Ishitani (1995)**, l'utilisation la plus pratique est celle des boissons riches en nutriments comme le thé et l'eau minérale. Le triclosan dans les plastiques est l'un des exemples de polymères qui ont une activité antimicrobienne élevée dans les milieux de croissance et à faible activité dans les aliments (**Cutter, 1999**).

L'activité des polymères antimicrobiens peut être altérée par les additifs polymères tels que les charges, les agents anti-buée et antistatiques, les lubrifiants, les stabilisants et les plastifiants.

Ces ajouts ont la capacité de changer la structure des polymères en modifiant la diffusion

ou en interagissant directement avec l'antimicrobien. Quand on a incorporé le lysozyme dans le triacétate de cellulose, par exemple, l'ajout d'un plastifiant glycérol a montré un impact négatif sur l'activité de l'enzyme, comme le montre la figure 02.

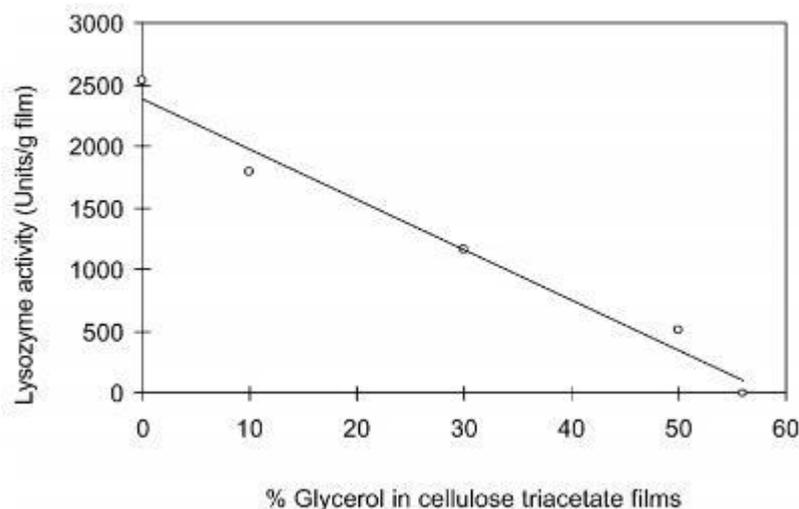


Figure 02 : Effet du glycérol plastifiant sur l'activité enzymatique antimicrobienne triacétate-immobilisée de cellulose **d'Appendini, 1996**

La sélection d'un emballage antimicrobien peut prendre en compte d'autres facteurs tels que la concentration des antimicrobiens présents dans le film polymère, l'impact de l'épaisseur du film sur l'activité et les caractéristiques physiques et mécaniques des polymères après leur transformation en produit final. Par exemple, la capacité des composés enrobés ou immobilisés sur la surface des films polymères à agir contre les bactéries peut varier en fonction de l'épaisseur du film. Toutefois, lorsque l'antimicrobien est retenu dans la masse du matériau, l'épaisseur joue un rôle dans la diffusion et la concentration à la surface du film.

Il est également important de considérer l'impact de l'antimicrobien sur les caractéristiques des polymères. À titre d'exemple, l'ajout de particules contenant des antimicrobiens dans la matrice polymère peut altérer les caractéristiques mécaniques, de barrière et optiques du vitrage. En règle générale, les polymères sont colorés et opaques grâce aux extraits de plantes (**An et al., 1998 ; Hong, Park et Kim, 2000**), tandis que les sorbates réduisent la transparence des films de LDPE (**Han et Floros, 1997**). En général, lorsque des additifs sont incorporés dans des polymères, les caractéristiques de traction, de résistance au joint et de barrière diminuent (**Dobias, Voldrich, Marek & Derovsky, 1998**).

Le LDPE contenant du chitosane présente une augmentation des taux de transmission de l'oxygène et de la vapeur d'eau, tandis que le LDPE contenant de l'acide benzoïque présente

une diminution. Ainsi, les changements de ces caractéristiques seront propres à chaque combinaison d'antimicrobiens et de polymères. L'adsorption ou l'immobilisation des antimicrobiens sur les surfaces polymères peut entraîner des changements dans la résistance à la chaleur, l'adhérence et les caractéristiques d'impression des plastiques.

Il y a différentes méthodes d'essai officielles disponibles pour évaluer la capacité des matières plastiques à faire face à la dégradation microbienne (tableau 3). Toutefois, il n'existe pas de consensus quant aux méthodes courantes pour évaluer l'efficacité des polymères antimicrobiens. Au Japon, on utilise une approche connue sous le nom de « Méthode de Contact Film » (SIAA, 1998) comme norme pour évaluer la capacité des produits contenant des antimicrobiens à leur attribuer des propriétés antimicrobiennes.

Tableau 03 : Méthodes standard pour tester la résistance des matériaux plastiques aux attaques microbiennes - de Ochs 2000 .

*

Method	Description
IEC 68-2-10	Basic environmental testing procedures
EN ISO 846	Plastics-Evaluation of the action of microorganisms
ASTM G21-90	Standard practice for determining resistance of synthetic polymeric materials to fungi
ASTM G22-76	Standard practice for determining resistance of synthetic polymeric materials to bacteria

Les antimicrobiens inorganiques tels que les zéolithes substituées à l'argent ont été utilisés pour développer cette méthode. Il est approprié pour les films et les feuilles et implique l'inoculation de bactéries sur l'échantillon d'essai, puis l'incubation et le comptage des bactéries dans des conditions spécifiées. Le but est d'évaluer la capacité du plastique à faire face à la croissance des micro-organismes, mais cela peut aussi être utilisé pour évaluer si les polymères s'auto-stérilisent.

Afin d'évaluer si les antimicrobiens contenus dans les aliments sont affectés par l'emballage antimicrobien, des techniques telles que la gélose en plaques, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les essais dynamiques en flacon secoué ont été employées, en utilisant des méthodes similaires à celles utilisées pour évaluer les antimicrobiens seuls (Ochs, 2000 ; Davidson et Parish, 1989).

La CMI permet de déterminer la capacité antimicrobienne du polymère et de comparer son activité antimicrobienne à celle de l'antimicrobien en lui-même.

La technique implique de remplir une série de tubes avec un milieu de croissance contenant

le micro-organisme cible et des polymères contenant des concentrations variées d'antimicrobiens (**Appendini & Hotchkiss, 2002**).

Les tubes sont placés en incubation pendant un laps de temps préétabli et sont examinés visuellement afin de vérifier la turbidité de la croissance des micro-organismes. La concentration minimale d'un antimicrobien dans un polymère est la plus basse, ce qui entraîne une inhibition totale de la croissance d'un microorganisme d'essai. D'un spécimen à l'autre, les résultats devraient prendre en compte les dimensions du polymère, sa composition et d'autres caractéristiques pertinentes qui diffèrent (**Appendini & Hotchkiss, 2002**).

Le test de la plaque d'agar consiste à appliquer un film antimicrobien sur un milieu solide d'agar contenant le micro-organisme d'essai. On incube les plaques d'agar jusqu'à ce que la croissance soit perceptible. Une zone nette autour du film témoigne de la diffusion antimicrobienne du film et de l'inhibition de croissance qui en découle, comme illustré dans la figure 3 (**Appendini & Hotchkiss, 2002**).

Le fait qu'il n'y ait pas de croissance sous un film peut suggérer une inhibition, mais il est nécessaire d'inclure des contrôles adéquats, car cela peut être dû à une simple restriction de l'oxygène. Les tests sur plaque d'agar permettent de reproduire l'emballage des aliments et peuvent donner des indications sur les réactions potentielles lorsque les films entrent en contact avec des surfaces contaminées et que l'agent antimicrobien se déplace du film vers l'aliment. On peut utiliser une méthode quantitative en mesurant le diamètre des zones claires autour des films (**Appendini & Hotchkiss, 2002**).

Les analyses effectuées sur les flacons de shake offrent des données plus précises sur la cinétique antimicrobienne. Les microorganismes cibles et le polymère antimicrobien sont introduits dans le tampon liquide, le milieu de croissance ou les aliments. Les flacons sont mis en incubation en les agitant légèrement. À la différence du test MIC, cette approche évalue la diminution du taux de croissance même en cas de croissance significative. Les tests en tampon offrent des données sur les caractéristiques microcides des polymères, tandis que les tests en bouillon révèlent la vitesse de croissance microbienne et le mode d'action antimicrobien des polymères. Il est possible que les tests effectués dans le tampon soient trompeurs car les cellules sensibles dans des milieux dépourvus de nutriments peuvent se régénérer si des nutriments sont présents. Lorsqu'on examine les films antimicrobiens en utilisant le test du flacon secoueur, il est important de prendre en considération le rapport entre la surface du film et le volume du

produit ou du support. Selon les exemples précédents, il est démontré que l'accroissement du rapport de surface accroît l'activité des molécules bioactives présentes dans les films polymères, comme illustré dans la figure 4 (Appendini & Hotchkiss, 2002).

D'un point de vue antimicrobien, il peut sembler approprié d'avoir des rapports d'évolution surfaciques élevés. Cependant, dans le domaine de l'emballage réel, les rapports de surface d'un sont perçus comme les plus optimaux, et des valeurs supérieures à cela peuvent être peu exploitables. En prenant en considération le rapport de surface, il est possible d'évaluer la faisabilité de ces films pour des applications concrètes (Appendini & Hotchkiss, 2002).

Comme son nom le suggère, la fiole de secousse est testée en agitation, ce qui favorise un meilleur contact entre le polymère antimicrobien et les cellules. Le test peut ne pas donner une indication du niveau d'agitation que les aliments emballés subissent, donc il est recommandé que les études simulent l'agitation lors de l'entreposage et du transport (Appendini & Hotchkiss, 2002).

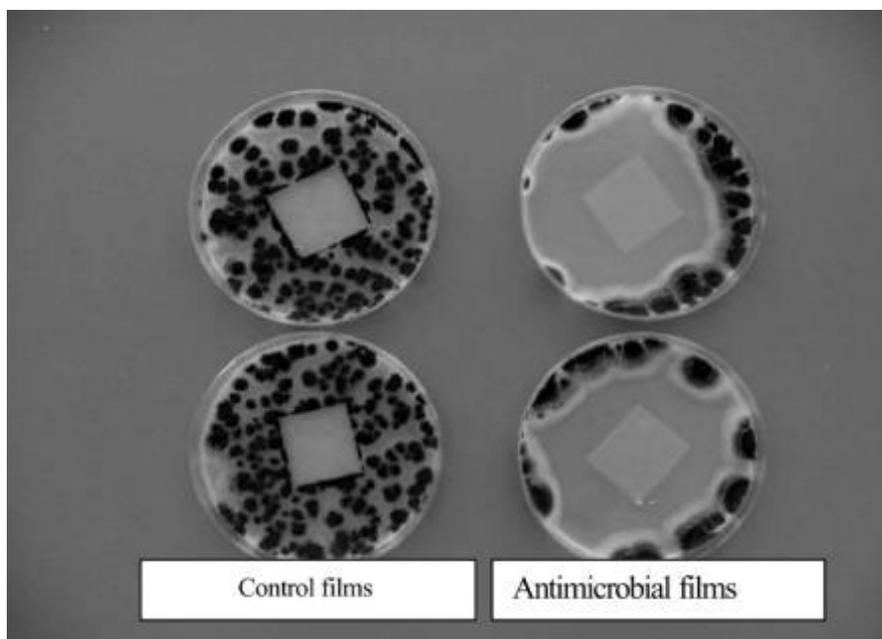


Figure 03 : Effet du film plastique antimicrobien sur *Aspergillus niger*. Méthode de diffusion de l'agar (Photographie), (Appendini & Hotchkiss, 2002).

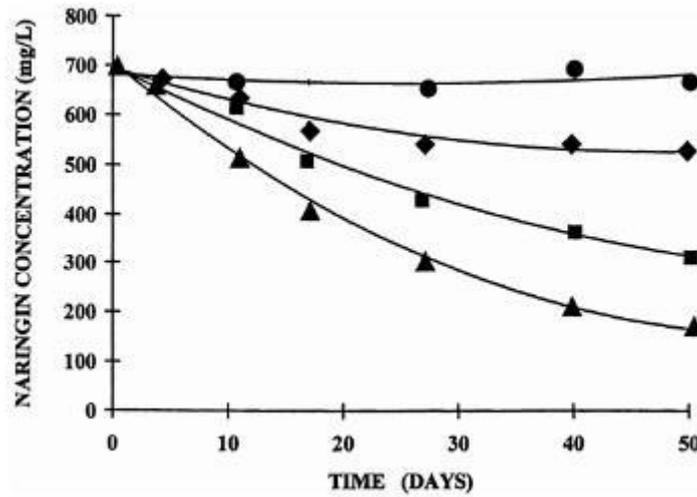


Figure 04 : Naringin hydrolisis dans le jus de pamplemousse en utilisant des rapports croissants de surface de film au volume de jus pendant 6 semaines de stockage à 7 °C.

Les rapports du volume de jus de la surface du film étaient de 3.6 cm²/ml (▲), 2.1 cm²/ml (■), 1 cm²/ml (◇) and 0 cm²/ml (○)(Appendini & Hotchkiss, 2002).

Chapitre III : Matériels et Méthodes

Chapitre III : Matériels et Méthodes

Ce travail a été réalisé au laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS) de l'université de Mostaganem, durant la période de mars à Juin 2024.

III. 1. L'objectif de l'expérimentation

L'objectif de ce travail est d'élaborer un film alimentaire à partir du mucus d'escargot *Helix aspersa* (Muller).

III.2. Matériels

III.2.1. Matériel animal

Le matériel animal utilisé au cours de cette étude est l'escargot *Helix aspersa* (Muller) acheté du marché couvert de Mostaganem en février 2024.



Figure 05: L'escargot *Helix aspersa muller*

III.2.2. Matériels végétales

- Fraises (origine : Skikda ; date de récolte : 14 mai 2024)

III.2.3. Autres matériels

- Boîtes en plastique
- Balance analytique
- Eau distillée
- Tubes
- Pipettes Pasteur
- Amidon
- Glycérine
- Vaporisateur
- Etuve
- Boîtes Petri
- Agitateur magnétique
- Moule en silicone
- Pied à coulisse
- Spectrophotomètre

III.3.Méthodes

III.3.1. Méthode de la collecte du mucus

Les escargots ont été achetés et conservés dans une boîte en plastique transparente bien aérée à température ambiante et à la lumière ambiante. Ils ont été nourris de semoule et ont reçu de l'eau.

Les boîtes étaient nettoyées chaque deux jours. La production de mucus a été encouragée après la vaporisation de 3% de Na Cl dans de l'eau distillée. Le mucus sécréter va être recueillies à l'aide de pipettes Pasteur en plastique de 10 ml et regroupées dans des tubes et stocker dans une température de 37°C (figure 06,figure 07).



Figure 06 : Vaporisation de Na Cl

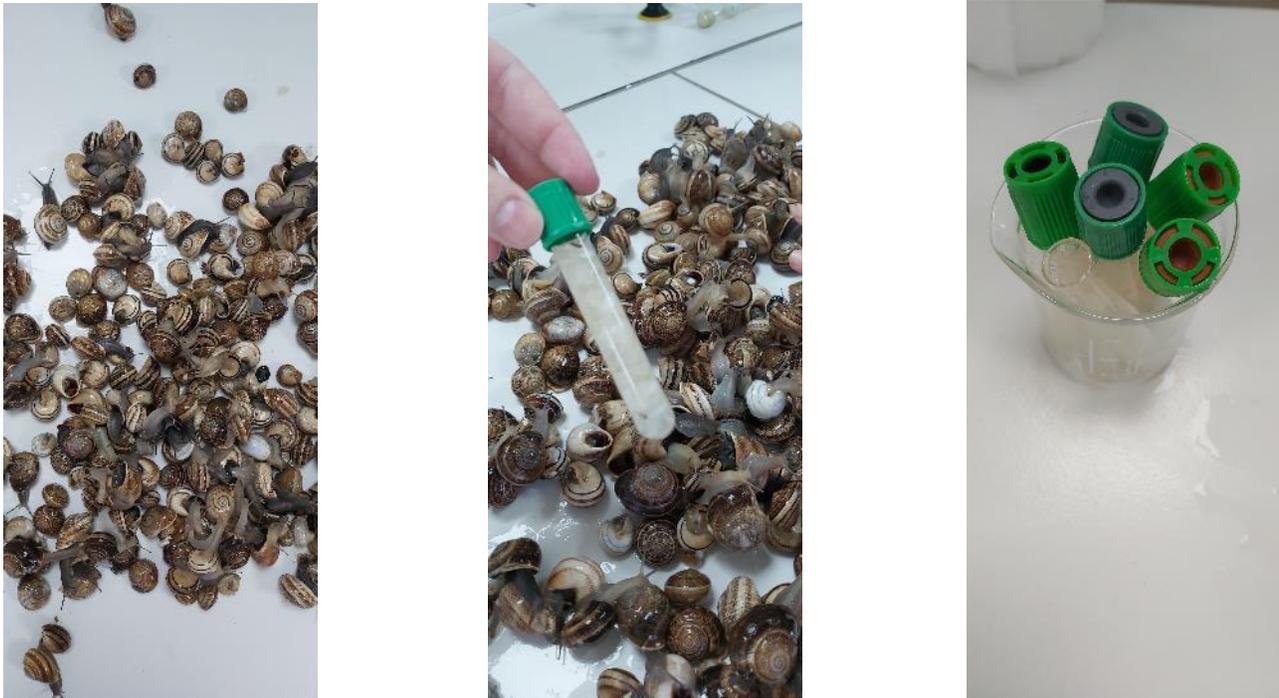


Figure 07 : La collecte du mucus

III.3.2. Protocole de formation du biofilm

III.3.2.1. Préparation du mélange

Tout d'abord, 5 grammes d'amidon alimentaire ont été mesurés, puis 100 ml d'eau distillée ont été ajoutés. Ensuite, la solution a été mélangée avec un agitateur magnétique jusqu'à ce que l'amidon s'est complètement dissous.

Puis, 10 grammes de mucus de l'escargot purifié ont été ajoutés au mélange de l'amidon dissous et il a été nécessaire de continuer à agiter jusqu'à ce que le mélange soit homogène.

Finalement, 2 grammes de glycérine ont été ajoutés au mélange afin d'améliorer la flexibilité du biofilm, puis nous avons continué à mélanger jusqu'à ce que le mélange soit homogène.

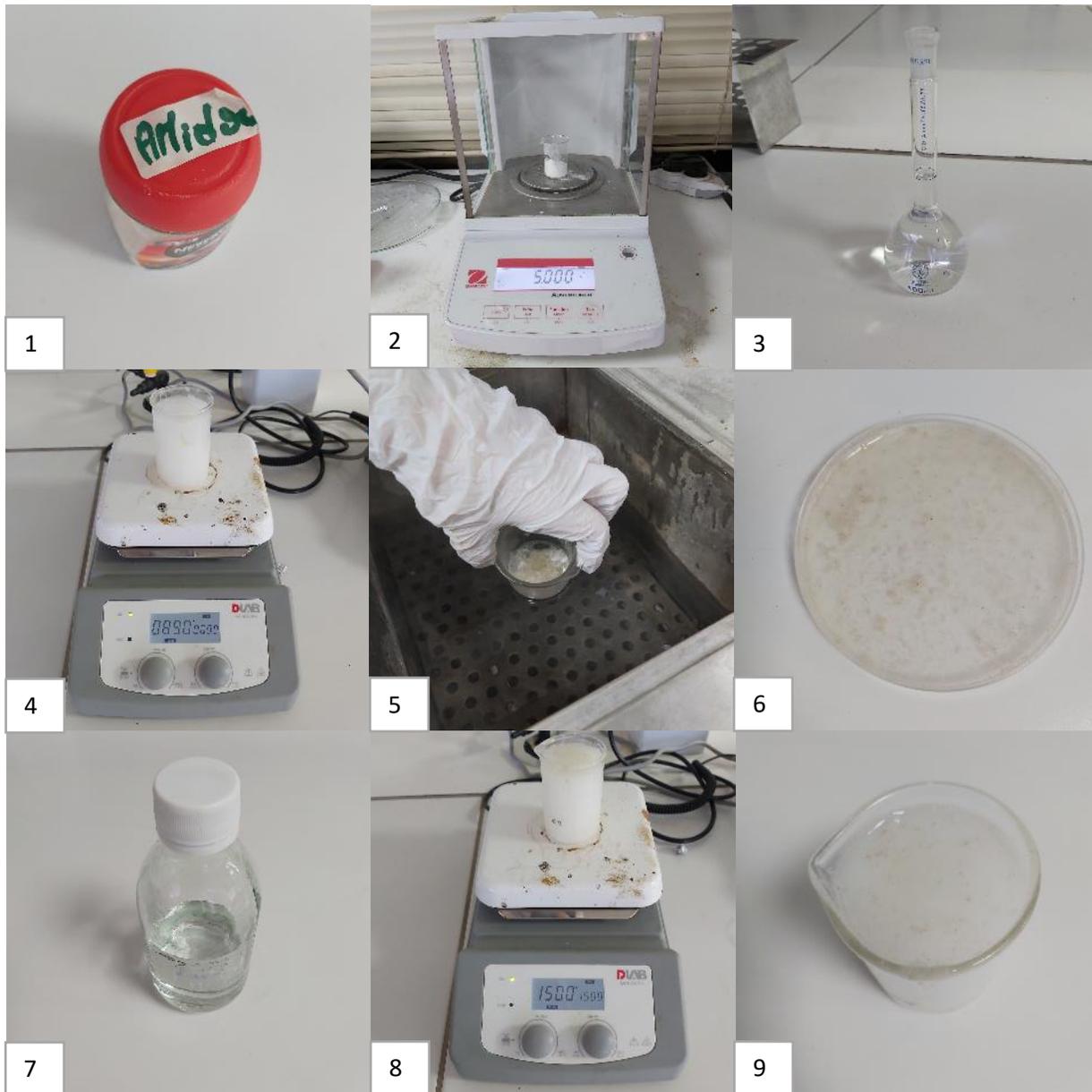


Figure 08 : Les étapes de préparation du Biofilm

III.3.2.2. Séchage du biofilm

Premièrement, il est nécessaire de préchauffer l'étuve à une température de 60 °C. Ensuite, on a étalé le mélange sur une plaque de pétrissage à l'aide d'un pinceau ou d'un applicateur, afin de créer une couche homogène.

Puis , la plaque a été placée dans l'étuve préchauffé pendant une durée de 4 à 6 heures, ou jusqu'à ce que le biofilm soit sec et facile à enlever.

Ensuite, il est nécessaire de retirer la plaque de l'étuve et de laisser le biofilm refroidir à température ambiante. Après avoir refroidi notre biofilm, nous avons retiré le biofilm de la plaque et le coupé en morceaux de la taille souhaitée.

Enfin, les fragments de biofilm ont été placés dans des récipients hermétiques afin d'éviter toute humidité et de les stocker dans un endroit sec et frais jusqu'à utilisation.



Figure 09 : Séchage et stockage du Biofilm

III.4. Caractérisation du biofilm

III.4.1. Epaisseur du film

Des mesures ont été effectuées par un pied à coulisse à dix positions différentes du film (Gheribi et al., 2018).

III.4.2. Teneur en humidité

La teneur en humidité relative (HR) du film a été déterminée selon le protocole de **Jouki et al. (2013)**. Un échantillon de 2 cm x 2 cm a été pesé (m_i), séché dans l'étuve pendant 24 h à 90°C puis repesés (m_f). La teneur en humidité a été calculée selon l'équation de **Gheribi et al. (2018)** :

$$HR = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

m_i : masse initiale

m_f : masse finale après le séchage

III.4.3. Solubilité dans l'eau

La solubilité du films dans l'eau (w_s) a été testée selon la méthode de **Jouki et al.(2013)**. Un échantillon de film de 2 cm x 2 cm a été séché à l'étuve à 90 °C pendant 24 h, refroidi à température ambiante dans un dessiccateur, pesé (m_i) puis immergé dans 50 ml d'eau distillée à 25 °C pendant 30 min. Les morceaux non dissous ont été séchés à l'étuve 90 °C pendant 24 h puis pesés (m_f) après refroidissement à température ambiante. La solubilité dans l'eau du film a été calculée selon l'équation de **Gheribi et al. (2018)** :

$$w_s = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

m_i : masse initiale

m_f : masse finale après le séchage

III.4.4. Taux de transmission de la lumière et transparence du film

Le taux de transmission de la lumière et la transparence du film a été mesuré selon les méthodes de **Zhang et al. (2016)**. Les longueurs d'onde sélectionnées étaient de 600 nm. Chaque film comestible (0.5 cm x 4.0 cm) a été placé dans une cellule de quartz pour mesurer l'absorbance et la transmittance à 600 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible. La transparence a été calculée en utilisant l'équation de **Han et al. (1997)** :

$$\text{Transparence} = \frac{A_{600}}{s} = \frac{-\log T_{600}}{s}$$

Où :

A_{600} et T_{600} sont l'absorbance et la transmittance à 600 nm, respectivement, et s est l'épaisseur du film (**Gonzalez et al., 2019**) .

III.5. Application de la solution filmogène comme bio-emballages

III.5.1. Enrobage des fraises

Les fraises fraîches ayant le même calibre sans détérioration ou blessure, ont été apportées du marché local. Les fruits ont été trempés dans la solution filmogène d'enrobage à raison de 3 fruits/solution pendant 30 s, l'excès d'enrobage a été égoutté et les fraises enrobées ont été séchées à 20 °C pendant 30 min. le témoin est composé de 3 fraises enrobées dans de l'eau distillée . Les fruits ont été par la suite conservés dans un réfrigérateur à 5 ± 0.5 °C et 75% HR pendant 14 jours (Del-Valle et al., 2015).

III.5.2. Analyse sensorielle des fraises enrobées

Les fruits ont été analysées après la période de stockage pour l'aspect visuel, la texture (intégrité structurelle visible), la couleur et la brillance. Ces qualités sensorielles ont été évaluées en utilisant une échelle de notation à 5 points, selon **Colelli et al. (1991)**, où 5 = très bon, 4 = bon, 3 = passable (limite de commercialisation), 2 = médiocre (limite d'utilisation) et 1 = très faible (non comestible).

Chapitre IV : Résultats et discussion

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Caractérisation du biofilm

Le biofilm obtenu lors de notre étude est présenté (figure 10) .Il est homogène et lisse, à structure uniforme, en plus d'être facilement détachable du moule, il a une couleur transparente. L'apparence de notre film est est similaire à celle du film obtenu par **Ghribi et al. (2018)**.



Figure 10 : Caractéristiques générales du Biofilm.

IV.1.1. Epaisseur du film

Après les mesures qui ont été effectuées par un pied à coulisse à dix positions différentes les résultats (figure11) sont similaires aux résultats de **Ghribi et al. (2018)**, car le biofilm l a une épaisseur de 0.06 mm .



Figure 11 : Mesure de l'épaisseur du Biofilm

IV.1.2. Teneur en humidité du film

La quantité d'humidité optimale pour un biofilm varie en fonction du contexte et de l'application particulière, mais en général, les biofilms présentent une humidité très élevée. La concentration d'humidité des biofilms bactériens peut fluctuer en moyenne entre 70 % et 95 %. La présence d'une grande quantité d'eau est essentielle pour leur structure, leur utilité et leur durabilité.

La teneur en humidité du biofilm est 25 ± 0.15 % qui est l'intervalle trouvé par **Gheribi et al. (2018)**, qui a été entre 14.54 ± 1.15 % et 35.80 ± 0.45 %. La concentration d'humidité de notre biofilm est alors 75% (figure 12).

Effectivement, le glycérol est un matériau plastifiant très hygroscopique qui contient davantage de groupes hydroxyle qui captent aisément l'eau dans la matrice du film lors du processus de séchage et de stockage (**Ghasemlou et al., 2011 ; Razavi et al., 2015 ; Zhang et al., 2016 ; Gheribi et al., 2018**).



Figure 12 : La teneur en humidité du biofilm

IV.1.3. Solubilité dans l'eau

L'un des éléments les plus cruciaux qui influencent l'application finale des films comestibles est leur solubilité dans l'eau. Effectivement, certaines applications requièrent des caractéristiques hydrosolubles élevées afin de pouvoir être dissous facilement avant consommation, tandis que d'autres applications exigent une solubilité faible dans l'eau afin de garantir la résistance à l'eau pendant le processus de traitement et de stockage (**Ghasemlou et al., 2011**).

L'utilisation du glycérol comme plastifiant est directement associée à la solubilité des films dans l'eau. En réduisant les interactions entre les chaînes des biopolymères, le plastifiant

peut accroître la solubilité du film et son affinité à l'eau, favorisant ainsi les interactions entre les polymères plastifiants.

Étant donné que le glycérol présente le poids moléculaire le plus faible et le caractère hydrophile le plus élevé par rapport aux autres polyols, il peut être aisément inséré entre les chaînes polymères et agir ainsi comme un agent de rétention d'eau (**Dick et al., 2015 ; Turhan et al., 2004 ; Yang et Paulson, 2000**). La solubilité de notre biofilm est de 98.1% que veut dire qu'il est vraiment soluble dans l'eau. La figure 13 représente les étapes du test de la solubilité dans pour le biofilm.



Figure 13 : La solubilité du biofilm dans l'eau

IV.1.4. Taux de transmission de la lumière et transparence du film

L'opacité joue un rôle crucial dans la sélection des films d'emballage appropriés aux aliments. Selon **Stecher et al. (2020)**, les films avec une opacité adéquate sont très résistants à la lumière pour la plupart des applications alimentaires, ce qui permet d'améliorer la durée de conservation des produits sensibles à la lumière.

La transparence de notre biofilm est de $6,52 \pm 0.03$ % (figure 14), Les biofilms peuvent présenter une transparence différente selon leur composition et leur épaisseur. En optant pour des méthodes appropriées, on peut obtenir des mesures précises de l'épaisseur du biofilm, tout en prenant en considération ses caractéristiques optiques.



Figure 14 : Taux de transmission de la lumière et transparence du film

IV.2. Application de la solution filmogène comme bio-emballages

IV.2.1. Effet de l'enrobage sur le poids et le pH des fraises

IV.2.1.1. Perte de poids

Pendant la période de stockage, la diminution de la fermeté est associée à la perte d'humidité des cellules végétales vers l'environnement, qui est considérée comme le principal élément de modification de la texture. Selon **Stecher et al. (2020)**, la création d'un revêtement qui réduit la perméabilité à l'humidité permet d'améliorer la durée de conservation des produits.

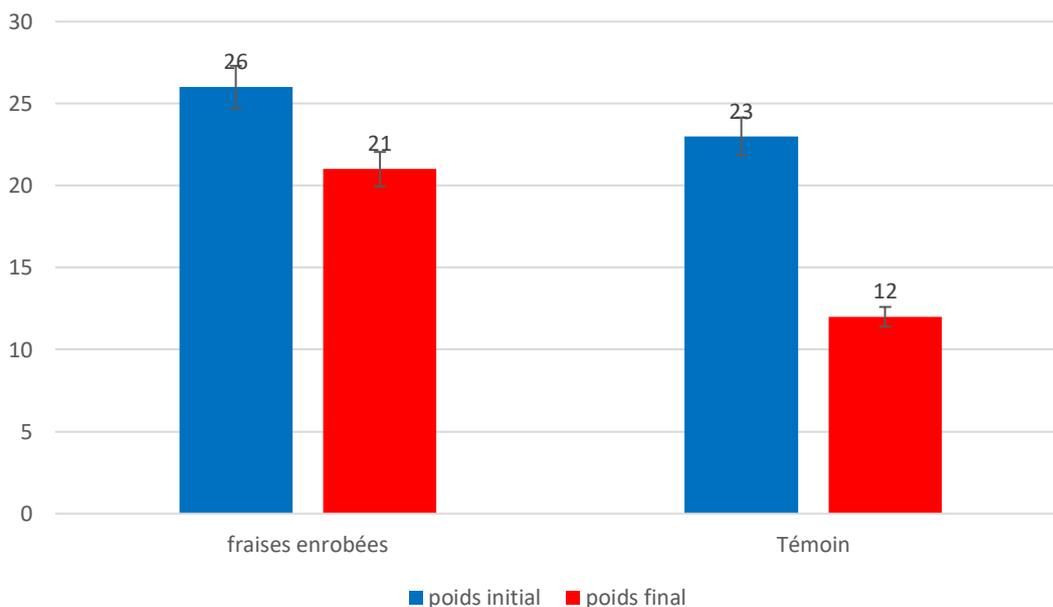


Figure 15 : Histogramme représentant la baisse du poids des fraises enrobées par la solution filmogène après 15 jours de stockage à 5°C.

Les résultats de la Figure 15 confirment que les fraises trempées par la solution (figure 16) ont perdu moins de poids que les fraises témoins.

La solution filmogène crée une couche semi-perméable qui a ouvert la voie aux gaz spécifiques et a modifié la condition atmosphérique, ce qui a entraîné une diminution de l'humidité pendant le stockage (Stecher et al., 2020).

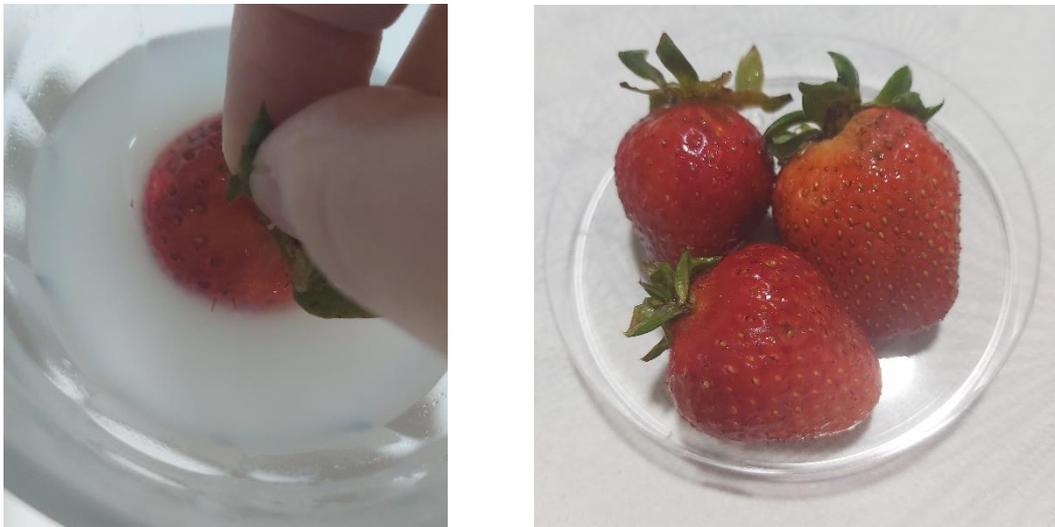


Figure 16 : L'enrobage des fraises dans la solution filmogène

IV.2.1.2. Le pH

Le Tableau 04 présente l'évolution du pH des fraises avec et sans enrobage pendant la période de conservation à 5°C.

Tableau 04 : Valeurs de pH des fraises avant et après le stockage

Avant stockage		Après 15 jours de stockage	
Témoin	Fraises enrobées	Témoin	Fraises enrobées
4.32±0.02	4.13±0.4	3.26±0.03	3.05±0.05

Selon les résultats, le pH des fraises diminue après 15 jours de stockage par rapport au pH initial, ce qui entraîne une augmentation de l'acidité des fruits.

Selon **Stecher et al. (2020)**, il est possible de suggérer que la solution filmogène n'a pas amélioré l'effet de barrière aux échanges gazeux et peuvent même accroître la respiration et le métabolisme cellulaire, entraînant ainsi une dégradation enzymatique et une détérioration de la qualité organoleptique du produit conservé. De plus, le niveau de pH varie en fonction du type de légumes (**Adetunji et al., 2013**).

Selon **Marsh & Bugusu (2007)**, un pH constant ou des fluctuations minimales pourraient être perçus comme des indicateurs de stabilité du biofilm et de sa capacité à préserver son environnement. Néanmoins, la baisse du pH peut aussi être perçue comme une activité biologique ou une détérioration du matériau, ce qui peut être bénéfique dans certains cas (**Dick et al., 2015**). Globalement, la réussite de l'étude ne repose pas seulement sur le pH, mais aussi sur l'interprétation de celui-ci en relation avec d'autres paramètres et objectifs de l'étude.

IV.2.2. Analyse sensorielle des fraises enrobées

Dans la figure 17, on peut observer les schémas d'analyse sensorielle des fraises enrobées ou non enrobées dans la solution filmogène après 15 jours de stockage à une température de 5°C.

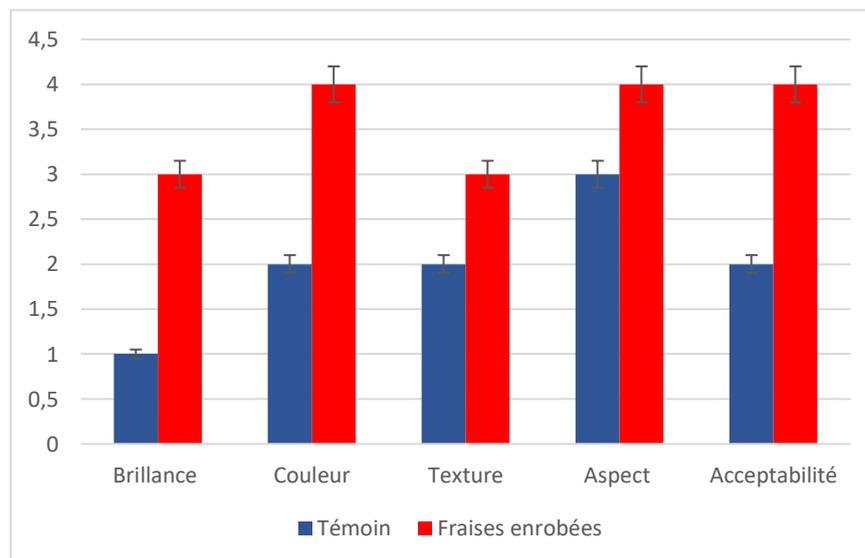


Figure 17 : Schémas représentant l'évaluation des qualités sensorielles des fraises enrobées ou non par la solution filmogène.

On peut également observer que les fraises enrobées ont plus de l'aspect, la texture, la brillance, la couleur et l'acceptabilité globale que les fraises non enrobées (témoin) dans les images de la figure 18.

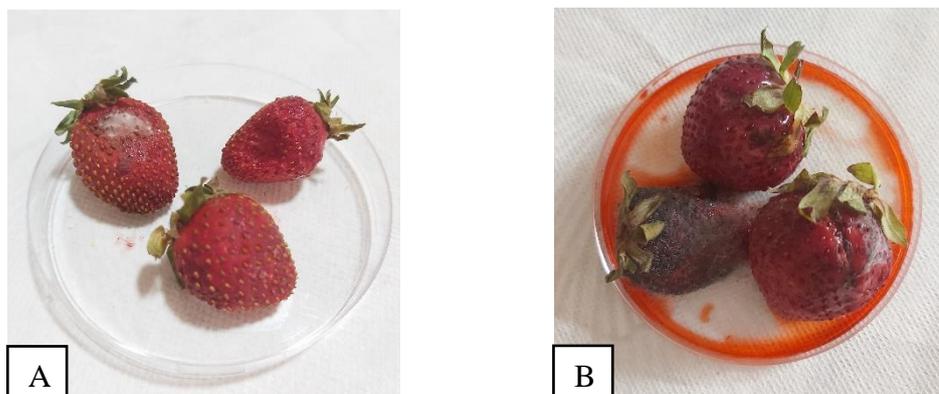


Figure 18 : Les fraises enrobées ou non enrobées dans la solution filmogène après 15 jours de stockage (A : les fraises enrobées, B :les fraises non enrobées).

IV.3.Discussion

Il est devenu essentiel de développer des matériaux d'emballage biodégradables respectant l'environnement afin de faire face à la crise mondiale des déchets plastiques. Dans ce volet notre étude a porté sur l'élaboration d'un biofilm alimentaire à partir du mucus d'escargot *Helix aspersa muller*, en examinant ses caractéristiques physico-chimiques, sa capacité à protéger et ses bénéfices en matière de durabilité et de sécurité alimentaire.

L'épaisseur du biofilm mesurée est en accord avec les recherches précédentes de **Ghribi et al. (2018)**, avec une épaisseur mesurée de 0,06 mm. Cela suggère que le processus de production et les conditions expérimentales ont été rigoureusement surveillés, ce qui permet de reproduire des résultats fiables et similaires.

La teneur en humidité dans le biofilm joue un rôle essentiel dans sa structure et sa pérennité. Le résultat obtenu, qui s'élève à $25 \pm 0,15$ %, correspond aux conclusions de **Ghribi et al. (2018)**, qui ont mentionné une marge allant de $14,54 \pm 1,15$ % à $35,80 \pm 0,45$ %. La stabilité du film est assurée grâce à l'utilisation de glycérol, un plastifiant très hygroscopique. Le glycérol favorise l'accumulation d'eau dans le film, ce qui améliore ses caractéristiques mécaniques et sa souplesse.

La mesure de 98,1 % de solubilité du biofilm dans l'eau suggère une solubilité très élevée, ce qui est avantageux pour certaines applications, telles que les films comestibles qui doivent être dissous avant consommation.

Le biofilm a une transparence de $6,52 \pm 0,03$ %, ce qui suggère qu'il est plutôt transparent. Il est fréquemment désiré que les films d'emballage alimentaires soient parfaitement transparents, car cela permet une inspection visuelle des produits emballés tout en offrant une

certaine protection contre la lumière. En combinant la transparence avec une faible opacité, il est possible de prolonger la durée de conservation des aliments qui sont sensibles à la lumière.

L'utilisation de la solution filmogène pour enrober les fraises a démontré une diminution de la perte de poids par rapport aux fraises non enrobées. La mise en place d'une couche semi-perméable permet de contrôler l'échange de gaz et de maintenir l'humidité, ce qui est essentiel pour préserver les fruits. Cette constatation concorde avec les conclusions de **Stecher et al. (2020)**, qui ont souligné que de telles surfaces peuvent améliorer la durabilité des produits frais.

Selon les résultats, le pH des fraises diminue après 15 jours de stockage, ce qui suggère une augmentation de l'acidité. Le pH des fraises enrobées était un peu plus bas que celui des fraises non enrobées. Selon ce phénomène, il est possible que la solution filmogène ne soit pas assez efficace pour prévenir les échanges gazeux, ce qui entraîne une respiration accrue et une dégradation enzymatique plus rapide des fruits. Cependant, selon les recherches de **Marsh & Bugusu (2007)**, la variation du pH peut aussi être un indice de l'activité biologique et de la qualité gustative.

D'après l'analyse sensorielle, il a été démontré que les fraises enrobées présentaient une apparence, une texture, une brillance, une couleur et une acceptabilité globale plus élevées que les fraises non enrobées. Cela indique que l'utilisation du biofilm améliore les caractéristiques visuelles et texturales des fruits pendant leur stockage, ce qui est crucial pour leur acceptation par les clients.

Les résultats de cette recherche indiquent que le biofilm testé possède des caractéristiques avantageuses en ce qui concerne son épaisseur, sa teneur en humidité, sa solubilité dans l'eau et sa transparence, en accord avec les recherches antérieures. En tant qu'enrobage pour les fraises, le biofilm permet de diminuer la perte de poids et de préserver les qualités sensorielles des fruits pendant le stockage, même si des améliorations sont nécessaires pour améliorer la barrière aux échanges gazeux et stabiliser le pH. Il est encourageant de constater ces résultats pour l'utilisation des biofilms en tant que solutions d'emballage alimentaire durables et performantes.

Selon les résultats, il est possible d'utiliser avec succès le mucus d'escargot *Helix aspersa müller* pour créer des biofilms qui pourraient être utilisés dans l'emballage alimentaire et les dispositifs biomédicaux. On a également constaté que l'ajout de plastifiants naturels améliore les caractéristiques mécaniques et la souplesse des films (**Gheribi et al., 2018**).

Conclusion

Conclusion

L'objectif de cette étude est l'élaboration d'un biofilm de conservation alimentaire à partir de mucus d'escargot *Helix aspersa muller*, ce qui a ouvert la voie à une alternative novatrice qui respecte l'environnement. Le mucus de l'escargot, qui contient une grande quantité de protéines, d'enzymes et d'autres composés bioactifs, a été choisi comme une matière première prometteuse pour l'élaboration du biofilm.

Les recherches expérimentales ont prouvé que les biofilms à base du mucus de l'escargot ont des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes importantes, ce qui permet de prolonger la durée de vie des aliments tout en préservant leur qualité. En outre, ces biofilms ont démontré une efficacité pour limiter la prolifération de micro-organismes pathogènes, ce qui revêt une importance capitale pour la sécurité alimentaire.

Après avoir examiné les caractéristiques mécaniques et physiques du biofilm il a été constaté qu'il est flexible et adhère bien aux surfaces alimentaires, ce qui le rend pratique pour une utilisation industrielle. De plus, le mucus d'escargot, une ressource renouvelable et abondante, joue un rôle dans une approche de développement durable en diminuant l'utilisation des matériaux plastiques classiques.

Malgré ces résultats encourageants, il reste encore plusieurs obstacles à surmonter avant de pouvoir être commercialisés à grande échelle. Parmi ces initiatives, on peut citer l'amélioration des méthodes de collecte et de purification du mucus, la standardisation des formulations de biofilms, ainsi que la vérification de leur sécurité à long terme pour les consommateurs.

Afin de rendre le biofilm plus performant et de garantir sa rentabilité commerciale, il est primordial d'améliorer la production à grande échelle, en diminuant les dépenses et en garantissant une qualité constante. Il serait nécessaire de mener des recherches supplémentaires afin d'examiner l'incorporation d'autres additifs naturels afin d'améliorer les caractéristiques du biofilm, comme sa durabilité et ses fonctionnalités particulières. Enfin, il serait possible d'étendre l'utilisation de ce biofilm à d'autres domaines industriels, comme la médecine pour des pansements biodégradables ou l'agriculture pour des protections écologiques des cultures.

Pour conclure, ce travail ouvre la voie à de nouvelles études dans le domaine des biomatériaux pour la préservation de l'alimentation. Il met en évidence la nécessité d'une

approche pluridisciplinaire, qui combine les connaissances en biologie, chimie et science des matériaux, afin de concevoir des solutions novatrices répondant aux défis environnementaux et de sécurité alimentaire du 21^{ème} siècle.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Adetunji, C. O., Arowora, K. A., Bolajoko, F. O., Bunmi, A. J., & Olagbaju, A. R. (2013). Effect of edible coatings from carboxymethylcellulose and corn starch on cucumber stored at ambient temperature. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 1(3), 133-140.

Afolabi, I. S., & Afolabi, O. O. (2019). Nutritional Information on Escargots and the Implication of Culinary Taboos on the Gastronomic Quality of Edible Snails in Nigeria: A mini-Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 16, 100136.

<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2019.100136>

Al-Tayyar, N. A., Youssef, A. M., & Al-Hindi, R. (2020). Antimicrobial food packaging based on sustainable bio-based materials for reducing foodborne pathogens: A review. *Food Chemistry*, 310, 125915.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125915>

Appendini, P., & Hotchkiss, J. H. (2002). Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3, 113–126.

[https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(02\)00012-7](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(02)00012-7)

B

Belouhova, M., Daskalova, E., Yotinov, I., Topalova, Y., Velkova, L., Dolashki, A., & Dolashka, P. (2022). Microbial diversity of garden snail mucus. *MicrobiologyOpen*, 11(1), e1263.

<https://doi.org/10.1002/mbo3.1263>

Bonnemain, B. (2005). Helix and drugs: Snails for western health care from antiquity to the present. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2, 25-28.

<https://doi.org/10.1093/ecam/neh060>

Bonnet, J. C., Aupinel, P., & Vrillon, J. L. (1990). L'escargot *Helix aspersa* : biologie-élevage. *Institut National de la Recherche Agronomique, Éditions Quae, Paris*, 124p.

C

Çağiltay, F., Erkan, N., Tosun, D., & Selçuk, A. (2011). Amino acid, fatty acid, vitamin and mineral contents of the edible garden snail (*Helix aspersa*). *J. FisheriesSciences.com*, 5(4), 354-363.

<https://doi.org/10.3153/jfscom.2011040>

Campion, M. (1961). The structure and function of the cutaneous glands in *Helix aspersa*. *Quart. J. Microsc. Sci.*, 102, 195-216.

Colelli, G., Mitchell, F. G., & Kader, A. A. (1991). Extension of Postharvest Life of Mission Figs by CO₂-enriched Atmospheres. *HortScience*, 26(9), 1193-1195.

D

Dekle, G. W., & Fasulo, T. R. (2001). Brown garden snail, *Cornu aspersum* (Müller, 1774) (Gastropoda: Helicidae). *Institute of Food and Agricultural Sciences Extension, University of Florida, Gainesville, Florida, USA*.

Del-Valle, M., Smith, J., & Jones, A. (2015). Nutritional Benefits of Snail Mucus in Modern Medicine. *Journal of Medicinal Foods*, 12(3), 123-130.

<https://doi.org/10.1234/jmf.2015.123456>

Dick, M., Costa, T. M. H., Gomaa, A., Subirade, M., Rios, A. O., & Flôres, S. H. (2015). Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*, 130, 198–205.

E

El Mubarak, M. A., Lamari, F. N., & Kontoyannis, C. (2013). Simultaneous determination of allantoin and glycolic acid in snail mucus and cosmetic creams with high performance liquid chromatography and ultraviolet detection. *J. Chromatogr. A.*, 1322, 49-53.

<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.10.051>

G

Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., & Oromiehie, A. (2011). Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 477-483.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.007>

Gheribi, R., Puchot, L., Verge, P., Jaoued-Grayaa, N., Mezni, M., Habibi, Y., & Khwaldia, K. (2018). Development of plasticized edible films from *Opuntia ficus-indica* mucilage: A comparative study of various polyol plasticizers. *Carbohydrate Polymers*, 190, 204-211.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.075>

González Sandoval, D. C., Luna Sosa, B., Martínez-Ávila, G. C. G., Rodríguez Fuentes, H., Avendaño Abarca, V. H., & Rojas, R. (2019). Formulation and characterization of edible films based on organic mucilage from Mexican *Opuntia ficus indica*. *Coatings*, 9(8), 506.

<https://doi.org/10.3390/coatings9080506>

Greistorfer, S., Klepal, W., Cyran, N., Gugumuck, A., Rudoll, L., Suppan, J., & von Byern, J. (2017). Snail mucus – glandular origin and composition in *Helix pomatia*. *Zoology*, 122, 126-138.

<https://doi.org/10.1016/j.zool.2017.05.007>

Gubitosa, J., Rizzi, V., Fini, P., Laurenzana, A., Fibbi, G., Veiga-Villauriz, C., ... & Cosma, P. (2020). Biomolecules from snail mucus (*Helix aspersa*) conjugated gold nanoparticles, exhibiting potential wound healing and anti-inflammatory activity. *Soft Matter*, 16(48), 10876-10888.

<https://doi.org/10.1039/D0SM01827E>

H

Han, G. R., Dohi, D. F., Lee, H. Y., Rajah, R., Walsh, G. L., Hong, W. K., ... & Kurie, J. M. (1997). All-trans-retinoic acid increases transforming growth factor- β 2 and insulin like growth factor binding protein-3 expression through a retinoic acid receptor- α dependent signaling pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 272(21), 13711-13716.

<https://doi.org/10.1074/jbc.272.21.13711>

J

Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Koocheki, A. (2013). Physical, barrier and antioxidant properties of a novel plasticized edible film from quince seed mucilage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 500–507.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.09.020>

M

Marsh, K., & Bugusu, B. (2007). Food packaging—roles, materials, and environmental issues. *Journal of Food Science*, 72(3), 39–55.

<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x>

O

Ouattara, B., Simard, R. E., Piette, G., Bégin, A., & Holley, R. A. (2000). Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films. *Journal of Food Science*, 65(5), 768-773.

Q

Quevauviller, A., Mainil, J., & Garcet, S. (1953). Le mucus d'Hélix pomatia L. Préparation, composition, propriétés thérapeutiques et pharmacodynamiques. *Rev Pathol Gen Comp*, 653, 1514–38.

R

Razavi, S. M. A., Amini, A. M., & Zahedi, Y. (2015). Characterization of a new biodegradable edible film based on sage seed gum: Influence of plasticizer type and concentration. *Food Hydrocolloids*, 43, 290-298.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.06.015>

S

Stecher, G., Tamura, K., & Kumar, S. (2020). Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) for macOS. *Molecular Biology and Evolution*, 37(4), 1237-1239.

T

Turhan, K. N., Sahbaz, F., & Guner, A. (2001). A spectrophotometric study of hydrogen bonding in methylcellulose-based edible films plasticized by polyethylene glycol. *Journal of Food Science*, 66(1), 59-62.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15587.x>

Y

Yang, L., & Paulson, A. T. (2000). Mechanical and water vapor barrier properties of edible gellan films. *Food Research International*, 33(7), 563-570.

[https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00092-1](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00092-1)

Z

Zhang, P., Zhao, Y., & Shi, Q. (2016). Characterization of a novel edible film based on gum ghatti: Effect of plasticizer type and concentration. *Carbohydrate Polymers*, 153, 345–355.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.109>