

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES Science Alimentaires

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**Khatem Rahma Zohra El Batoul**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES**

**Spécialité : Nutrition et Pathologie.**

THÈME

**Elaboration et caractérisation des biofilms  
biodégradables bioactifs à base d'amidon et de  
gélatine.**

Soutenue publiquement le 11/07/2019

DEVANT LE JURY

Président	Dr Chaalal Abdelmalek	Grade	MCA	U. Mostaganem
Encadreur	Dr. MOKHTAR Meriem	Grade	MCA	U. Mostaganem
Examineur	Mr Zabouri Younes	Grade	MAA	U. Mostaganem

*Thème réalisé au laboratoire des Microorganismes bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé  
(LMBAFS)*

# Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier le bon Dieu le tout Puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail, également je remercie infiniment mes parents, qui m'ont encouragé et aidé à arriver à ce stade de ma formation.

Je tiens particulièrement à remercier Mon Enseignant **DR. Mokhtar. M**

J'ai eu l'honneur d'être parmi vos étudiants et de bénéficier de votre riche enseignement. Vos qualités pédagogiques et humaines sont pour moi un modèle.

Votre gentillesse, et votre disponibilité permanente ont toujours suscité mon admiration. Veuillez bien recevoir mes remerciements pour le grand honneur que vous m'avez fait d'accepter l'encadrement de ce travail.

Je remercie spécialement, **Dr Abdelmalek CHAALEL** professeur au département de biologie, pour avoir Accepté de présider le jury et discuter ce travail.

Je remercie **Mr. Zabouri Younes**, maître-assistant « A » qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier chaleureusement, tous mes proches et tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont apporté leurs sollicitudes pour accomplir ce Travail.

## ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail...*

### ***A ma très chère mère***

*Affable, honorable, aimable : tu présente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Je te dédie ce travail en témoignages de mon profond amour. Puisse dieu, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

### ***A mon père***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A mes sœurs, et mon frère .*

*Soraya , Marwa, Asma, Anfel , Abederrazak.*

*A ma grande mère, mon oncle, mes tantes , mes cousines .*

*A tous mes amis de Nutrition et Pathologie.*

# Table des matières

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Résumé**

**Abstract**

**La liste des tableaux**

**La liste des figures**

**La liste des abréviations**

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : Partie Bibliographique .....</b>	<b>3</b>
I.1. Les bio-emballages comestibles et biodégradables .....	3
I.2. Biopolymères.....	3
I.3. Classification des biopolymères .....	5
1.3. A) - Les matériaux d'origine.....	5
1.3. B) - Des matériaux biodégradables issus de ressources pétrolières.....	6
1.3. C) -Mélange des fibres naturelles (lin, chanvre) à divers bio-polymères.....	6
I.4. Caractéristiques des biopolymères .....	6
I.5. Domaines d'application.....	6
I.6. Films à base de biopolymères naturels .....	9
I.7. L'amidon .....	10
I.7.1. Composition et structure primaire de l'amidon .....	10
I.7.2. Morphologie et structure fine de l'amidon.....	12
I.7.3. Structure cristalline des grains d'amidon .....	13
I.7.4. Comportement hydrothermique des grains d'amidon .....	13
I.8. La gélatine .....	14
I.8.1. Le collagène .....	14
I.8.2. Du collagène à la gélatine .....	15
I.8.3. Structure et composition de la gélatine .....	15

1.8.4. Propriétés technologiques et caractéristiques de la gélatine.....	17
--	----

<b>CHAPITRE II : Matériel et Méthodes.....</b>	<b>19</b>
--	-----------

II.1. Extraction d'amidon .....	19
II.2. Extraction de la gélatine.....	19
II. 3. Détermination du rendement d'extraction.....	20
II.4. Elaboration des films .....	20
II.5. Etude des caractéristiques des films.....	22
II.5.1. Epaisseur des films.....	22
II.5.2. Opacité .....	22
II.5.3. Taux d'humidité .....	22
II.5.4. Solubilité des films dans l'eau .....	23
II.5.5. Perméabilité des films à la vapeur d'eau.....	23
II.6. Sélection des films .....	24
II.7. Elaboration des films biodégradables bioactifs .....	24
II.8. Application de l'emballage .....	24
II.9. Traitement statistique des résultats .....	25

<b>CHAPITRE III : Résultat et Discussion .....</b>	<b>26</b>
--	-----------

III.1. Calcul du rendement de l'extraction .....	26
III.2. Etude des caractéristiques des films .....	26
III.2.1. Epaisseur des films .....	27
III.2.2. Opacité des films.....	28
III.2.3. Taux d'humidité des films .....	29
III.2.4. Solubilité des films dans l'eau .....	30
III.2.5. Perméabilité des films à la vapeur d'eau .....	32
III.3. Sélection du film .....	34
III.4. Incorporation de la substance active dans le film .....	34
III.5. Application de l'emballage .....	36

Conclusion et perspective.....38

**Références bibliographiques**

## Résumé

Le but de ce travail est de développer un film biodégradable bioactifs à base d'amidon et de gélatine pour la conservation des aliments. Deux sources d'amidon ont été utilisées, la pomme de terre et le maïs, et la gélatine a été obtenue à partir des pattes de poulet. Des rendements de 34.5, 16.28 ont été obtenus pour l'extraction de l'amidon à partir du maïs et de la pomme de terre respectivement, et 12.85 % pour la gélatine. Plusieurs films ont été développés avec différents concentration d'amidon, de gélatine et de glycérol. Par la suite, l'épaisseur, l'opacité, l'humidité, la solubilité dans l'eau et la perméabilité à la vapeur d'eau de ces films ont été étudiés. A partir des résultats deux films ont été sélectionnés, un film plastifiés composé d'amidon de maïs et de gélatine dans un rapport de 2/1 ; un enrobage comestible a été aussi choisi dont la formule est 1/1 d'amidon de maïs et de gélatine. Ces deux films ont été additionnés de 0.25 mg/mL de quercétine afin former un film biodégradable bioactif. Un test d'emballage des fruits de cerises nous a permis de validé la performance de ces emballages qui ont gardé le fruit intact à l'air libre pendant six jours.

**Mots clés :** film, biodégradable, conservation, amidon, gélatine, quercétine.

## Abstract

The aim of this study is to develop a bioactive biodegradable film based on starch and gelatin for food preservation. Starch was extracted from potato and corn, and gelatin was obtained from the chicken feet. Yields of 34.5, 16.28 were obtained in starch extraction from maize and potato, respectively; and 12.85% for gelatin. Multiple films were developed with different concentrations of starch, gelatin and glycerol. Thickness, opacity, moisture, solubility in water and water vapor permeability of these films were evaluated. According to the obtained results, two films were selected, a plasticized film composed of cornstarch and gelatin in a ratio of 2: 1, and an edible coating was also chosen with 1/1 of these components. These two films were supplemented with 0.25 mg / mL of quercetin to form a biodegradable bioactive film. A cherry fruit packaging test allowed us to validate the performance of these packaging which kept the fruit intact for six days.

**Keywords** : film, biodegradable, preservation, starch, gelatin, quercetin.

## LISTE DES TABLEAUX :

### CHAPITRE I :

**Tableau 1** : Propriétés des emballages biodégradables et comestibles (Krochta et De Mulder-Johnston, 1997)... ..4

**Tableau 2**: Comparaison des caractéristiques des différents types de polymères (Bewa, 2006)... ..7

**Tableau 3** : Propriétés spécifiques des biopolymères et les applications attendues (Jarroux, 2011) . ...8

**Tableau 4** : Comparaison de la composition en acides aminés des gélatines de type A, de type B et du collagène ; exprimées en résidus pour 1000 résidus d'acides aminés (Rose, 1987)... ..16

**Tableau 5** : présente quelques propriétés physiques en fonction de l'origine de la gélatine... ..18

### CHAPITRE II :

**Tableau 6** : Composition des différents films élaborés... ..21

### CHAPITRE III :

**Tableau 7** : Epaisseur et opacité des films (glycérol 40 %)... ..28

**Tableau 8** : Solubilité des films ... ..31

**Tableau 9** : perméabilité des films... ..33

**Tableau 10** : Caractéristiques du film plastifié actif... ..35

## LISTE DES FIGURES :

<b>Figure 1</b> : Structures chimiques de : (a) l'amylose, (b) D-glucofuranose. Représentation schématique de l'amylose (c) (Liu <i>et al.</i> , 2009).....	11
<b>Figure 2</b> :Structure chimique et représentation schématique de l'amylopectine(Liu <i>et al.</i> ,2009).....	12
<b>Figure 3</b> :Observationspar microscopie électronique à balayage des grains d'amidon demanioc (a) et par microscopie optique en lumière polarisée des grains de maïs cireux (b) (Valbiom, 2011).....	12
<b>Figure 4</b> :Diffractogrammes de rayons X des amidons de type cristallin A, B et C(Lafargue, 2002).....	13
<b>Figure 5</b> : La triple hélice de collagène(Farris <i>et al.</i> , 2009).....	15
<b>Figure 6</b> : film coupé à une taille de 1×4 cm.....	22
<b>Figure 7</b> : Les différents films obtenus avec les différentes combinaisons d'amidon et de la gélatine.....	27
<b>Figure 8</b> : Humidité des différents films.....	30
<b>Figure 9</b> :films plastifié contenant 0.25 mg/mL de quercétine.....	35
<b>Figure 10</b> :Cerises après 2 jours de conservation à l'aire libre.....	36
<b>Figure 11</b> :Cerises après 6 jours de conservation avec (b) et sans la quercétine (a) .....	36

## Liste des abréviations

<b>DRX</b>	:	diffraction de rayons X
<b>Mh</b>	:	matière humide
<b>Ms</b>	:	matière sèche
<b>NFC</b>	:	composites à fibres naturelles
<b>HPMC</b>	:	HydroxyPropyl MéthylCellulose
<b>PBAT</b>	:	poly butylène adipate
<b>PBS</b>	:	poly butylène succinate
<b>PCL</b>	:	poly caprolactone.
<b>PHA</b>	:	polyhydroxyalkanoates
<b>PHB</b>	:	polyhydroxybutyrate
<b>PHBV</b>	:	polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalérate
<b>PHV</b>	:	polyhydroxyvalérate
<b>PLA</b>	:	acide poly (lactique)
<b>PHB/V</b>	:	Poly(3-hydroxybutyrate)-co-(3-hydroxyvalérate)
<b>TS</b>	:	taux de solubilité
<b>WPC</b>	:	composites bois-polymères

# ***INTRODUCTION***

## Introduction

La conservation d'un aliment consiste à maintenir le plus longtemps possible ses qualités hygiéniques, nutritionnelles et organoleptiques en agissant sur les divers mécanismes d'altération pour en ralentir ou en supprimer les effets. De nombreuses technologies de conservation ont été développées basant sur le développement de matériaux d'emballage à base de bois, de papiers, de métaux, de verre et de polymères synthétiques issus de la pétrochimie (plastique) (Gontard *et al.*, 2017).

Au cours des dernières années, les emballages en matière thermoplastique ont pris un essor considérable. Ils occupent le premier rang des matériaux d'emballage (58%). Ces matériaux présentent l'avantage d'être peu coûteux (matière première), plus légers, résistants aux chocs et faciles à mettre en œuvre (températures de mise en œuvre inférieures à 300°C).

Environ 348 millions de tonnes de plastiques ont été produits en 2017 dans le monde entier, et leur production ainsi que leur consommation continuent d'augmenter. Les déchets issus de ces plastiques provoquent une grave pollution de l'environnement. Une des stratégies pour résoudre ce problème de pollution est le recyclage complet des déchets. Toutefois, le recyclage de ces matériaux est limité et consomme une quantité considérable d'énergie (Simon et Schulte, 2017).

En plus, Plusieurs types d'interactions existent entre un emballage (contenant) et le produit emballé (contenu). L'inertie d'un emballage est rarement totale ce qui peut engendrer une altération des propriétés organoleptiques de l'aliment ou éventuellement un problème toxicologique. Ce contact contenant/contenu peut également influencer les propriétés mécaniques de l'emballage.

Les défis environnementaux, économiques et de sécurité des aliments ont conduit les scientifiques de l'emballage et les producteurs à remplacer partiellement les polymères issus de la pétrochimie par d'autres biodégradables. Afin de réduire le volume de déchets des emballages synthétiques à base de polymères d'origine pétrochimique (polyéthylène PE, polystyrène PS, polyvinylchloride PVC, ...) qui posent un problème environnemental,

l'élaboration de nouveaux emballages biodégradables à usage alimentaire constitue une alternative très intéressante ([Simon et Schulte, 2017](#)).

Les emballages biodégradables sont constitués de macromolécules d'origine naturelle et renouvelables, appelées biopolymères, tels les polysaccharides (celluloses et dérivés, amidons et dérivés, chitine et chitosane, etc.), les protéines (caséine, lactosérum, collagène, gélatine, gluten, protéine de soja, etc), les composés lipidiques (cires, acides gras et dérivés, etc.).

Ces emballages peuvent également présenter un rôle actif dans le sens où ils peuvent améliorer les qualités organoleptiques, biochimiques, hygiéniques, microbiologiques et/ou physico-chimiques des aliments ainsi emballés. Ce rôle consiste à servir de support pour des substances actives (vitamines, antioxydants, antimicrobiens, etc.) ([Benbettaieb, 2015](#)).

Le présent travail a pour objectif de développer un film biodégradable à partir de biopolymères (amidon de pomme de terre, amidon de maïs et gélatine extraite de pattes de poulets) additionné de substances bioactives dotées d'activités antioxydantes et antimicrobiennes (quercétine) afin de prolonger la durée de vie des aliments.

***CHAPITRE I :***

***ÉTUDE***

***BIBLIOGRAPHIQUE***

## Chapitre I : Etude bibliographique

### I.1. Les bio-emballages comestibles et biodégradables

D'une façon générale, un film comestible est défini comme une fine couche de matériau comestible déposée sur un aliment comme un enrobage ou disposée sur ou entre différents constituants alimentaires. Les principales fonctions du film ou de l'enrobage comestible sont de limiter les migrations de vapeur d'eau, de dioxygène, de dioxyde de carbone, d'arômes, *etc.*, d'améliorer l'intégrité mécanique de l'aliment et d'être éventuellement le porteur des ingrédients ou des additifs alimentaires comme l'antioxydant, l'antimicrobien et les saveurs (Gallo *et al.*, 1999).

Dans le cas où le bio-emballage ne fait pas partie intégrante de l'aliment et ne peut pas être consommé en même temps que l'aliment, mais élaboré à partir de biomolécules, il sera alors qualifié de film. Les performances des emballages à base de biopolymères restent cependant inférieures à celles des emballages synthétiques. Les principales propriétés barrière et mécaniques des différents matériaux d'emballages biodégradables et comestibles sont présentées dans le (tableau 1).

### I.2. Biopolymères

Un biopolymère est un matériau biodégradable capable d'être décomposé sous l'action de microorganismes. On trouve aujourd'hui des polymères biodégradables issus de sources renouvelables (végétales, animales et bactériennes) et/ou du pétrole. L'utilisation du terme « bioplastique » pour qualifier ces matériaux engendre une confusion entre l'origine et la fin de vie du plastique ; le qualificatif « biodégradable » ne signifie pas que le plastique est issu de matières renouvelables, de même que les plastiques issus de sources végétales ne sont pas systématiquement biodégradables.

En fonction des conditions de dégradation (aérobie ou anaérobie) et du milieu, le matériau se décompose en H<sub>2</sub>O, en composés inorganiques, en CO<sub>2</sub> et/ou CH<sub>4</sub> et en une nouvelle biomasse.

**Tableau 1** : Propriétés des emballages biodégradables et comestibles (Krochta et De Mulder-Johnston, 1997).

Matériaux	Préparation des Films	Propriétés Barrière à		Propriétés Mécaniques
		l'Humidité	l'Oxygène	
<b>Films Biodégradables</b>				
Cellophane	Suspension aqueuse	Modérées	Bonnes	Bonnes
Acétate de Cellulose	Extrusion	Modérées	Faibles	Modérées
Amidon/PVOH	Extrusion	Faibles	Bonnes	Bonnes
PHB/V	Extrusion	Bonnes	Bonnes	Modérées
PLA	Extrusion	Bonnes	Faibles	Bonnes
<b>Films Comestibles</b>				
Methyl Cellulose	H <sub>2</sub> O-EtOH	Modérées	Modérées	Modérées
HPMC	H <sub>2</sub> O -EtOH	Modérées	Modérées	Modérées
Amidon riche en amylose	H <sub>2</sub> O	Faibles	Modérées	Modérées
Collagène	suspension aqueuse	Faibles	Bonnes	Modérées
Zein (Protéine de maïs)	EtOH 95%	Modérées	Modérées	Modérées
Gluten	H <sub>2</sub> O -EtOH	Modérées	Bonnes	Modérées
Protéine de soja	H <sub>2</sub> O	Faibles	Bonnes	Modérées
Caséine	H <sub>2</sub> O	Faibles	Bonnes	NA
Whey	H <sub>2</sub> O	Faibles	Bonnes	NA
Cire d'abeille	Emulsion aqueuse	Modérées	Faibles	Faibles
Shellac	EtOH	Modérées	Faibles	Faibles

### I.3. Classification des biopolymères

Il existe 3 grands types de matériaux, qu'on appelle bio-polymères : ceux d'origine naturelle, les artificiels et leurs composites.

**A- Les matériaux d'origine naturelle** sont ceux synthétisés par les êtres vivants : animaux, végétaux et micro-organismes. On trouve :

- **La famille des polysaccharides** (glucides) comme : l'amidon, la cellulose, la lignine, la chitine, **la famille des protéines** comme : le gluten, la caséine, le collagène et la gélatine, et **la famille des lipides** : les huiles de colza, soja, tournesol.
- **Les polymères d'origine bactérienne issus de la fermentation** des sucres et de l'amidon par des bactéries ou produits par des micro-organismes génétiquement modifiés. Selon les bactéries, on obtient divers polymères comme les polyhydroxyalcanoate (PHA), le polyhydroxybutyrate (PHB), le polyhydroxyvalérate (PHV) ou encore le polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalérate (PHBV).

Les polyhydroxyalkanoates (PHA) sont produits par *Alcaligenes eutrophus* ou *Pseudomonas oleovorans*. Ces bactéries produisent le monomère en état de stress ; ce stress peut être créé par un excès en sucre et par un manque en l'un des nutriments essentiels suivants : azote, sulfate, phosphate, fer, magnésium ou potassium.

Les polymères à base de PHA ont d'excellentes propriétés filmogènes. Ils sont non hydrosolubles et sont facilement industrialisables. Actuellement, la seule limite à leur utilisation est leur coût de production à cause de l'étape de purification après réaction dans le fermenteur. Le caractère hydrophobe des films de PHA, comparés aux films polyosidiques ou protéiques, donne de bonnes propriétés barrière à l'eau.

- **Les polymères biosynthétiques**, dont le monomère issu de la biomasse est obtenu par fermentation. La polycondensation de ces bio-monomères donne des polyesters ; le plus connu est l'acide poly (lactique) PLA.

**B-Des matériaux biodégradables issus de ressources pétrolières** obtenus par des procédés industriels de synthèse. Les plus connus sont le PBS (poly butylène succinate), le PBAT (poly butylène adipate téréphtalate), et le PCL (poly caprolactone).

**C-Il est possible de mélanger des fibres naturelles (lin, chanvre) à divers biopolymères** pour réaliser des matériaux "armés" permettant une substitution partielle des ressources non renouvelables. On trouve alors les composites à fibres naturelles (NFC) et les composites bois-polymères (WPC).

#### **I.4. Caractéristiques des biopolymères**

Les principales caractéristiques des biopolymères et celles des polymères synthétiques sont résumées dans le [tableau 2](#). Malgré les multiples avantages que présentent les biopolymères naturels (excellente biodégradabilité, absence de polluants toxiques, renouvelabilité,...) par rapport aux polymères synthétiques, ils présentent une mauvaise recyclabilité et sont encore très chers.

#### **I.5. Domaines d'application**

Les biopolymères ont de plus en plus d'applications industrielles ([tableau 3](#)) dues à une tendance dans l'industrie à substituer les polymères dérivés du pétrole par des composés biodégradables.

Trois grands domaines d'application des biopolymères émergent :

- Le domaine agricole.
- Le domaine d'emballage
- Le domaine médical.

**Tableau 2:** Comparaison des caractéristiques des différents types de polymères (Bewa, 2006)

<b>Composition</b>	<b>Polymères Synthétiques</b>	<b>Polymères biodégradables (polymères synthétiques +naturels)</b>	<b>Polymères biodégradables (Polymères naturels)</b>
<b>Matière première</b>	Renouvelable	Seule une infime partie est Renouvelable	Renouvelable
<b>Exemples</b>	Polyéthylène (PE), Polypropylène, Polystyrène, etc,	PE + Amidon, PE + Cellulose, etc,	Plastiques à base de cellulose, Plastiques à base d'amidon
<b>Biodégradabilité</b>	Pas du tout ou très Mauvaise	Seuls les polymères naturels sont attaqués par des micro-	Excellente
<b>Photo-dégradabilité</b>	Addition de pro-dégradants qui favorisent une faible attaque chimique	Organismes Addition de pro-dégradants qui provoquent la rupture chimique et permettent l'attaque des polymères naturels par des micro-	Peut contribuer à la biodégradabilité ou l'accélérer
<b>Prix</b>	Très bon marché pour les produits Courants	organismes Moyen	Très cher actuellement mais s'améliorent avec les capacités de production. Bonnes et variables selon les applications
<b>Propriétés physiques et</b>	Très bonnes à très Variables	Variables	

<b>mécaniques</b>			
<b>Pendant la combustion</b>	Des polluants toxiques peuvent être Produits	Des polluants toxiques peuvent être produits	Des polluants toxiques ne devraient pas être produits
<b>Compostabilité</b>	Nulle	Faiblement compostable	Majoritairement compostable
<b>Dans les décharges</b>	Stable, possibilité de production de polluants ou d'effluents toxiques	Moins stable, possibilité de production de polluants ou d'effluents toxiques	Instable. Des polluants ou effluents toxiques ne devraient pas être produits
<b>Recyclage</b>	Bon	Mauvais	Plutôt mauvais, mais peut être amélioré

**Tableau 3 :** Propriétés spécifiques des biopolymères et les applications attendues (Jarroux, 2011)

<b>Biopolymères</b>	<b>Propriétés particulières</b>	<b>Applications ciblées</b>
<b>Polymères à base d'amidon</b>	Antistatique, anticondensation, toucher naturel	Emballages et sacs
<b>Polymères à base de cellulose</b>	Transparences, antistatiques	Emballages Emballages
<b>Polymères à base de protéine</b>	Comestibles, perméabilité sélective aux gaz	alimentaires Emballages,
<b>Polymères de synthèse à base d'acide lactique</b>	Anti-condensations, brillances, anti-bactériens	textiles
<b>Polyesters bactériens (PHA)</b>	Propriétés piézoélectriques, anti-oxydants, insolubilité dans l'eau	Médical, matériau ostéosynthétique, emballage rigide

## **I.6. Films à base de biopolymères naturels**

Ces dernières années, on rencontre fréquemment dans la littérature liée aux emballages des mots tels que « biodégradable », « biocompatible », « compostable », « durable », « vert » et « biopolymères ». Cela reflète les préoccupations de la société sur les problèmes environnementaux causés par les déchets solides non-biodégradables et l'épuisement des ressources naturelles (d'après Tharanathan, 2003).

Bien que les produits à base de polymères synthétiques issus de la pétrochimie aient été largement utilisés dans une variété de matériaux d'emballage, ils deviennent une source importante de déchets après leur utilisation en raison de leur faible biodégradabilité. (Tharanathan, 2003).

Le système d'emballage, doté de propriétés barrières à l'eau et aux gaz et de propriétés mécaniques appropriées, empêche la détérioration du produit due à des facteurs physico-chimiques ou biologiques et maintient la qualité globale au cours du stockage et de la manutention. Après leur durée de vie utile, il est souhaitable que les matériaux d'emballage se biodégradent dans un délai raisonnable sans causer de problèmes de déchets sur l'environnement.

Dans ce sens, les matériaux d'emballage à base de biopolymères améliorent la qualité et prolongent la durée de vie du produit en réduisant au minimum la croissance microbienne dans celui-ci. Ils peuvent servir non seulement comme barrières à l'humidité, à la vapeur d'eau, aux gaz et aux solutés, mais aussi servir de vecteurs de certaines substances actives. En outre, les films biopolymères permettent l'incorporation d'une grande variété d'additifs tels que les antioxydants, les agents antimicrobiens, les couleurs et d'autres nutriments (Han, 2000).

Parmi les biopolymères naturels, l'amidon est considéré comme la matière première la plus prometteuse pour l'élaboration de nouveaux matériaux plus respectueux de l'environnement à cause de sa faible densité, de son caractère renouvelable et de sa biodégradabilité, de sa disponibilité à travers le monde sous différentes formes et à des faibles coûts. Cependant, les propriétés mécaniques et barrières à la vapeur d'eau relativement pauvres des films biopolymères sont à l'origine d'une limitation majeure à leur utilisation industrielle.

Les films à base de protéines et de polysaccharides possèdent en général de bonnes propriétés barrières à l'oxygène à faible humidité relative et ont de bonnes propriétés mécaniques, mais leurs propriétés barrières à la vapeur d'eau sont médiocres en raison de leur caractère hydrophile (Han, 2000). Des efforts de recherche portant sur l'amélioration des propriétés mécaniques et barrières à la vapeur d'eau des films à base de biopolymères naturels sont faits (Rhim, 2004a ; Rhim, 2004b).

Les avantages des films à base de biopolymères naturels sur les matériaux plastiques conventionnels sont nombreux. On peut citer entre autres leur comestibilité et leur biodégradabilité ; leur amélioration des propriétés organoleptiques des aliments telles que l'apparence, l'odeur, la saveur ; leur faible coût et leur abondance et leur renouvelabilité (Rhim et Perry, 2007).

## **I.7. L'amidon**

L'amidon est un polysaccharide d'origine végétale. C'est la principale substance glucidique de réserve des végétaux supérieurs. Il représente une fraction pondérale importante des matières premières agricoles. On le trouve dans les organes de réserve des plantes telles que les céréales (30-80% de la matière sèche (MS)), les tubercules (60-90% MS) et les légumineuses (20-25% MS).

Des études sont activement menées de par le monde sur l'amidon pour différentes applications (Mutungi et al., 2011 ; Ma et al., 2010). Grâce à sa biodégradabilité et de sa renouvelabilité, l'amidon est une solution aux problèmes d'emballages plastiques. Dans l'industrie alimentaire, l'amidon constitue la principale source d'énergie pour l'alimentation humaine et animale, c'est un composé nutritionnel abondant, renouvelable et peu coûteux.

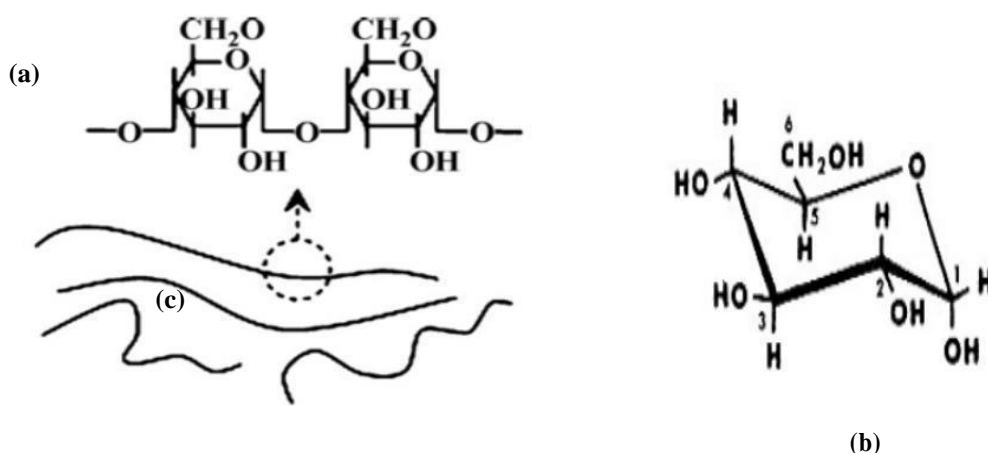
### **I.7.1. Composition et structure primaire de l'amidon**

La composition et la structure de l'amidon, qui dépendent de l'origine botanique, ont fait l'objet de nombreuses revues bibliographiques (Singh et al., 2003 ; Hoover, 2001 ; Tester et al., 2004 ; Jayakody et al., 2007 ; Liu et al., 2009).

L'amidon est un hydrate de carbone de formule brute  $C_6H_{10}O_5$ . Il est constitué à 98–99 % d'un mélange de deux polymères naturels : l'amylose et l'amylopectine qui se composent de molécules de  $\alpha$ -D-glucopyranose (ou  $\alpha$ -D-glucose ou encore anhydroglucose) et se présentent sous forme cyclisée.

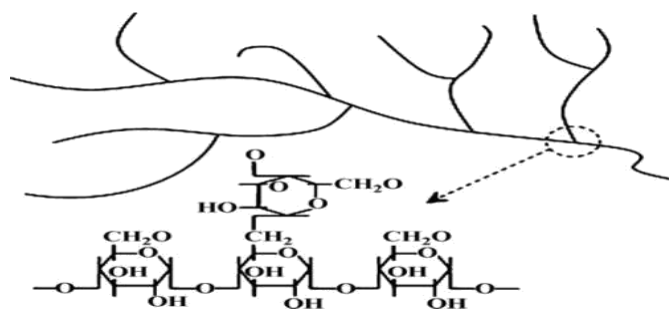
L'amylose est une macromolécule quasiment linéaire constituée d'unités D-anhydroglucopyranose liées principalement par des liaisons de type  $\alpha$  (figure 1). L'amylopectine est une macromolécule constituée de l'amylose ramifiée (figure 2), elle est constituée de 10 000 à 100 000 unités répétitives de glucose.

Les autres constituants (1-2 %) de l'amidon sont les lipides, les protéines, les minéraux et le phosphore localisés aussi bien à la surface de l'amidon qu'à l'intérieur. Ces constituants, quoique mineurs et présents en faible quantité, sont susceptibles de modifier les propriétés physico-chimiques de l'amidon.



**Figure 1** : Structures chimiques de : (a) l'amylose, (b) D-glucopyranose. Représentation schématique de l'amylose (c) (Liu et al., 2009).

Du point de vue du taux d'amylose (qui dépend de l'origine botanique), il existe trois types d'amidon : l'amidon standard (20-35 % d'amylose), l'amidon cireux (moins de 15 % d'amylose) et l'amidon mutant ou amylo (+ de 40 % d'amylose). Certaines espèces aux génotypes dits mutés ont des teneurs en amylose très faibles ou très élevées. C'est le cas du maïs cireux (*waxy maize*) (moins de 1 % d'amylose) et l'amylo maïs (près de 80 % d'amylose).

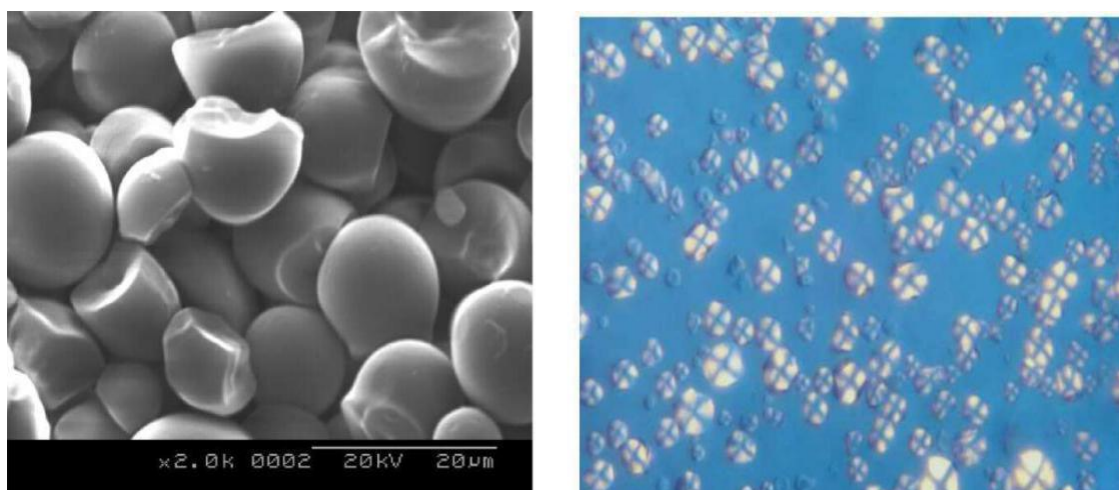


**Figure 2:** Structure chimique et représentation schématique de l'amylopectine (Liu et al.,2009) .

### I.7.2. Morphologie et structure fine de l'amidon

L'amidon se présente, après extraction et purification, sous la forme d'une poudre blanche insoluble dans l'eau froide. Cette poudre, en fonction de l'origine botanique, est constituée d'entités microscopiques denses dont la taille varie de 1 à 100  $\mu\text{m}$ . Ces entités sont appelées des grains d'amidon et leur forme varie aussi en fonction de leur origine botanique.

Observés en microscopie optique à lumière polarisée, les grains d'amidon sont biréfringents et présentent une croix de Malte dont les branches se rejoignent au niveau du hile (point de départ de la croissance du grain d'amidon) (figure 3) (Valbiom, 2011).

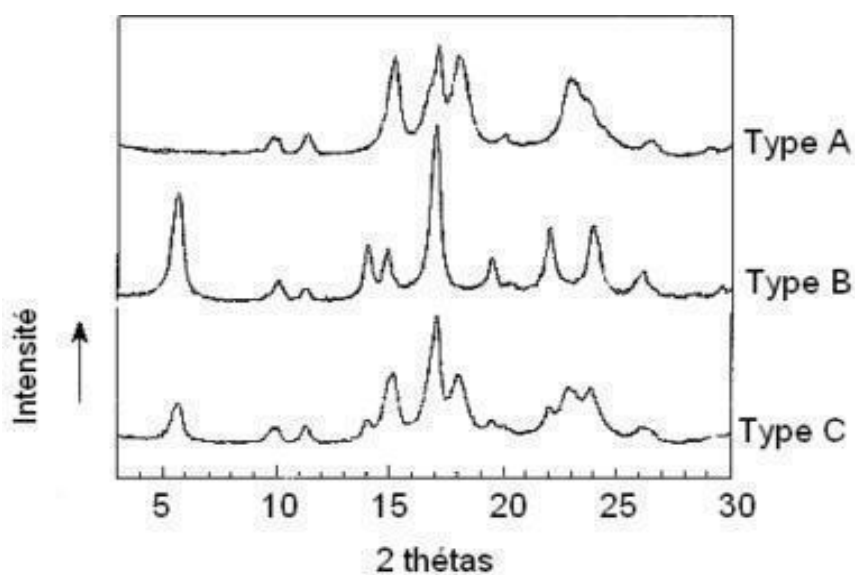


**Figure 3:** Observations par microscopie électronique à balayage des grains d'amidon de manioc (a) et par microscopie optique en lumière polarisée des grains de maïs cireux (b) (Valbiom, 2011).

### I.7.3. Structure cristalline des grains d'amidon :

L'analyse par diffraction de rayons X (**DRX**) montre que l'amidon est un polymère semi-cristallin. Les amidons peuvent être classés en trois types cristallins selon leur diagramme de diffraction : types A, B et C ([figure 4](#)).

Le type A, caractéristique des amidons de céréales (blé, maïs, riz), est favorisé par de courtes chaînes latérales et des points de ramifications proches les uns des autres. Le type B, caractéristique des amidons de tubercules et de céréales riches en amylose, est favorisé par des longues chaînes latérales et des points de ramifications distants les uns des autres. Le type C est caractéristique des légumineuses, mais aussi des céréales cultivées dans des conditions spécifiques de température. C'est un mélange des types A et B ([Sevenou et al., 2002](#)).



**Figure 4:** Diffractogrammes de rayons X des amidons de type cristallin A, B et C ([Lafargue, 2002](#)).

### I.7.4. Comportement hydrothermique des grains d'amidon

Le grain d'amidon, lorsqu'il est chauffé en présence d'un excès d'eau à une température supérieure à 60°C, passe successivement par trois états : gonflement, gélatinisation et solubilisation. Un gel physique se forme au cours du refroidissement : c'est la rétrogradation.

La gélatinisation ou l'empesage correspond à un gonflement irréversible et une solubilisation partielle du grain d'amidon en présence d'un excès d'eau et à des températures supérieures à 60°C. Lors du chauffage, les grains d'amidon absorbent de l'eau dans les zones amorphes. Ce gonflement conduit à la déstructuration du grain (rupture des liaisons hydrogène dans les zones cristallines, disparition de la Croix de Malte). (Donovan, 1979).

Au fur et à mesure de la rupture des liaisons hydrogène, l'amylose diffuse hors du grain et se solubilise dans le milieu : c'est la phase d'empesage qui conduit à l'obtention d'un empois d'amidon. Cet empois est une suspension dans laquelle les grains d'amidon gonflés constituent la phase dispersée, et les macromolécules solubilisées de l'amylose forment la phase continue (Biliaderis et al., 1986)

La rétrogradation désigne la réorganisation structurale (ou recristallisation) qui s'opère lors du refroidissement d'une suspension d'amidon déstructuré. Au cours du refroidissement, lorsque la concentration du polymère est suffisante (> 1 %), un gel blanc opaque se forme : c'est la gélification (Miles et al., 1985) .

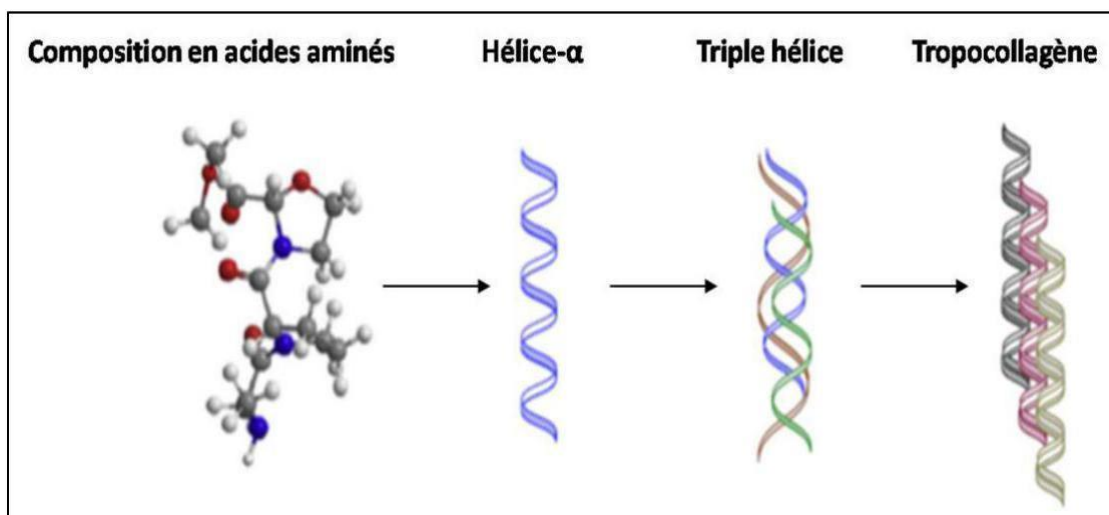
## **I.8. La gélatine**

### **I.8.1. Le collagène**

Représentant un tiers des protéines totales chez les mammifères, le collagène est une protéine fibrillaire, son rôle est primordial dans le développement des tissus, il se présente sous la forme de fibres caractérisées par une forte résistance mécanique, protégeant ainsi les muscles contre de trop fortes tensions. La composition chimique du collagène varie avec son origine (Farris et al., 2009).

Cependant, on retrouve chez toutes les espèces des similitudes qui expliquent sa fonction de tissu conjonctif et le maintien de sa structure tridimensionnelle. L'unité de base du collagène est le tropocollagène, triple hélice droite de 300 nm de longueur (figure 5). Le tropocollagène comprend 3 chaînes polypeptidiques de 100 000 g.mol<sup>-1</sup>, organisées en hélice avec environ 3 acides aminés par tour.

Il existe plusieurs types de chaînes différentes par leur composition en acides aminés dont les combinaisons sont à l'origine des différents types de collagènes.



**Figure 5** : La triple hélice de collagène (Farris *et al.*, 2009) .

### I.8.2. Du collagène à la gélatine

La conversion du collagène en gélatine se réalise en deux étapes : la solubilisation du collagène (soit en milieu acide, soit en milieu basique) et sa conversion en gélatine. Cette dernière est le résultat de la dénaturation de la structure tertiaire de la triple hélice de tropocollagène. Les chaînes se dissocient et adoptent alors une configuration pelote statistique (Jones, 1987).

La fabrication industrielle de la gélatine consiste principalement à contrôler l'hydrolyse du collagène et à convertir le produit en un matériel soluble avec des propriétés physicochimiques souhaitées, telles que la force en gel, la viscosité, le point isoélectrique, etc.

### I.8.3. Structure et composition de la gélatine

La structure primaire est semblable à celle du collagène. L'analyse de la composition en acides aminés des gélatines en fonction du prétraitement (tableau 4), montre que le prétraitement acide modifie peu la composition en acides aminés de la gélatine alors que le prétraitement alcalin transforme les résidus asparagine et glutamine en acides aspartique et glutamique. La gélatine est composée d'acides aminés hydrophobes

(proline, leucine) et hydrophiles (sérine, arginine, etc), qui lui confèrent un caractère amphiphile. La composition de la gélatine en acides aminés influe largement sur les propriétés mécaniques des films issus à partir de ce biopolymère.

**Tableau 4 :** Comparaison de la composition en acides aminés des gélatines de type A, de type B et du collagène ; exprimées en résidus pour 1000 résidus d'acides aminés (Rose, 1987).

<b>Classe d'acides aminés</b>	<b>Acides Aminés</b>	<b>Gélatine type A (acide)</b>	<b>Gélatine type B (alcalin)</b>	<b>Collagène (type I)</b>
<b>hydrophobe</b>	Alanine	112	117	114
	Hydroxyproline	91	93	104
	Isoleucine	10	11	11
	Leucine	24	2,3	24
	Méthionine	3,6	3,9	5,7
	Phénylalanine	14	14	13
	Proline	133	124	115
	Tryptophane	-	-	-
	Valine	26	22	22
<b>polaire non chargé</b>	Glycine	330	335	332
	Asparagine	16	0	16
	Glutamine	25	0	25
	Sérine	35	33	35
	Thréonine	18	18	17
	Cystéine	-	-	-
	Tyrosine	2,6	1,2	4,4
<b>chargé positivement</b>	Arginine	49	48	51
	Histidine	4	4,2	4,4
	Hydroxylysine	6,4	4,3	5,4
	Lysine	27	28	28
<b>chargé négativement</b>	Acide asparatique	29	46	29
	Acide glutamique	48	72	48

La gélatine se présente sous forme de grains, qui une fois mis dans l'eau se mettent à gonfler. Pour que la gélatine soit solubilisée, il est nécessaire de la chauffer à des températures supérieures à 40°C. Pour des températures supérieures à 40°C, la gélatine présente une structure dite désordonnée, dans laquelle on retrouve en solution, un mélange de différentes fractions, en conformation de pelotes statistiques. Le système ainsi obtenu est une solution de gélatine, on dira également que la gélatine est à l'état sol (Bigi et al., 2004).

Si l'on refroidit la solution de gélatine, un phénomène de gélification se met alors en place qui traduit une transition conformationnelle, c'est-à-dire le passage de l'état désordonné (pelote statistique) à l'état ordonné (hélice gauche).

#### **I.8.4. Propriétés technologiques et caractéristiques de la gélatine**

Le comportement physicochimique de la gélatine est principalement déterminé par la séquence en acides aminés de la molécule, par sa structure spatiale, sa distribution en masses moléculaires, ainsi que par les conditions du milieu (pH, force ionique et la réaction avec d'autres composés) (tableau 5). Les propriétés de la gélatine peuvent être divisées en deux groupes. Le premier associé aux propriétés gélifiantes de la gélatine (force en gel, viscosité...) et le second plutôt lié aux propriétés de surface de la gélatine (Hulmes et al., 2008).

Les propriétés associées à la gélification sont principalement la formation du gel, la texturation, et l'effet épaississant, sont dépendantes de la viscosité, de la structure, de la masse moléculaire et de la température du système. Le refroidissement d'une solution de gélatine conduit à la formation d'un gel réversible, théoriquement illimité. (Karim et Bhat, 2009)

Les propriétés de surface sont basées sur le fait que les chaînes latérales de la gélatine, comme celles de toutes les protéines, ont des groupements chargés des acides aminés hydrophiles ou hydrophobes. Les parties hydrophiles et hydrophobes ont tendance à migrer vers la surface, ce qui réduit la tension superficielle de la solution aqueuse. Cette propriété est utilisée dans la production et la stabilisation des mousses et émulsions. Les

différentes propriétés technologiques de la gélatine dépendent fortement de type de gélatine et du procédé d'extraction. (Bailey, 1991)

**Tableau 5** : présente quelques propriétés physiques en fonction de l'origine de la gélatine.

	<b>Bovine</b>	<b>Porc</b>	<b>Poisson</b>	<b>Références</b>
	<b>(type B)</b>	<b>(types A et B)</b>	<b>(type A)</b>	
Température de gélification (°C)	24-25	19-23,9	11-19	Karim and Bhat .(2009)
Point de fusion (°C)	29-33	31-36	14-27	Karim and Bhat .(2009)
Point isoélectrique (pH)	4-5	7-9	7-9	Saxena <i>et al.</i> (2005)
Force de gel (g)	210-239	216-295	56-323	Karim and Bhat .(2009)

## ***CHAPITRE II :***

### ***MATERIEL ET METHODE***

## Chapitre II : Matériel et Méthodes

### II.1. Extraction d'amidon

Le matériel végétal utilisé pour extraire les amidons est composé des pommes de terre blanches (*Solanum tuberosum* L.) et les graines de maïs (*Zea mays* L.) achetés d'un marché local de Mazagran (Mostaganem).

L'extraction des différents amidons a été faite suivant le protocole décrit par [Willinger \(1964\)](#) modifié par [Alves et al. \(1999\)](#). Au laboratoire, les échantillons ont été lavés à l'eau de robinet, triés, épluchés à l'aide d'un couteau en acier inoxydable et rincés trois fois à l'eau distillée avant d'être broyés. Le broyat qui en résulte est ensuite mélangé à proportion égale avec de l'eau distillée, macéré à l'aide d'une spatule et filtré sur un tissu blanc en coton.

Cette opération a été répétée plusieurs fois jusqu'à ce que le liquide qui s'écoule de la filtration soit clair. Tous les filtrats réunis constituent le lait d'amidon. Ce dernier est laissé au repos pour sédimentation pendant 4 heures à 4°C. Le culot résultant est lavé trois fois à l'eau distillée et mis à sécher à température ambiante pendant 24 heures. L'amidon sec est ensuite broyé et tamisé afin d'obtenir une granulométrie équivalente à celle de l'amidon commercial (inférieure à 50µm). Le produit final après broyage constitue l'amidon natif.

### II.2. Extraction de la gélatine

Les pattes de poulet utilisées dans notre étude nous ont été fournies par une boucherie qui se trouve à Mazagran (Mostaganem). La procédure d'extraction a été menée selon [Irwandi et al. \(2009\)](#). Les pattes de poulet ont été nettoyées avec de l'eau courante et découpées en petits morceaux (0,5 cm). Afin d'éliminer les matières non collagènes, ces morceaux ont été trempés dans de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à une concentration de 0,2% (p/v) sous une agitation continue pendant 40 min à température ambiante. Ce traitement alcalin a été répété trois fois. Après le traitement alcalin, la texture des pattes devient molle.

La solubilisation du collagène a été effectuée par l'ajout d'un volume équivalent de l'acide acétique à 0,2% (v/v) pendant 40 minutes. La solution acide est ensuite éliminée et

les pattes sont lavées. La gélatine est ensuite extraite avec de l'eau distillée 1 :9 (p/v) à 70 °C pendant 90 min. Après, l'extrait est filtré et le gel obtenu est séché et broyé afin d'obtenir une poudre de gélatine.

### II. 3. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction de l'amidon et de la gélatine a été exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R = \frac{M1}{M0} \times 100$$

**R** : rendement de l'extraction en %.

**M1** : masse en gramme de l'extrait final.

**M0** : masse en gramme de la matière végétale initiale.

### II.4. Elaboration des films

La méthode d'élaboration des films a été adaptée de celles d'[Araujo-Farro et al. \(2010\)](#). Elle comporte en deux étapes :

- **Etape 1** : D'une part, 5 g d'amidon natif (pomme de terre ou de maïs) (**A**) ou de gélatine (**G**) seul ou en combinaison (**1A+1G** ; **2A+1G** ; **1A+2G**) ont été dispersé dans 100 mL d'eau distillée et agité pour 10 min. Le mélange est chauffé (100 ° C) dans un bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, des différentes concentrations de glycérol sont ajoutés au mélange (25%, 30% ,40 %) et la solution finale est agitée pendant 10 min ([tableau 6](#)).

- **Etape 2** : La solution filmogène chaude est coulée dans des boîtes pétries (20 mL), et sont laissées à température ambiante pendant au moins 4 h pour permettre aux bulles de se dissiper, puis ils sont placés dans une étuve à 45 ° C pendant 48h. Les films secs sont démoulés et conservés.

Deux types de films ont été élaborés : - les films plastifiés- les films enrobage

**Tableau 6 :** Composition des différents films élaborés.

Type de films	Composition des films				
	Amidon (% , m/m <sub>t</sub> )		Gélatine (% , m/m <sub>t</sub> )	Glycérol (% , m/m <sub>s</sub> )	Code des films
	pomme de terre	maïs			
Films amidon natif de pomme de terre	5	0	0	20	1AP-20
				30	1AP-30
				40	1AP-40
	0	5	0	20	1AM-20
				30	1AM-30
				40	1AM-40
Films de gélatine	0	0	5	20	1G-20
				30	1G-30
				40	1G-40
	2.5	0	2.5	20	1AP+1G-20
				30	1AP+1G-30
				40	1AP+1G-40
Films d'amidon et de gélatine	0	2.5	2.5	20	1AM+1G-20
				30	1AM+1G-30
				40	1AM+1G-40
	3.33	0	1.67	20	2AP+1G-20
				30	2AP+1G-30
				40	2AP+1G-40
0	3.33	1.67	20	2AM+1G-20	
			30	2AM+1G-30	
			40	2AM+1G-40	
1.67	0	3.33	20	1AP+2G-20	
			30	1AP+2G-30	
			40	1AP+2G-40	
0	1.67	3.33	20	1AM+2G-20	
			30	1AM+2G-30	
			40	1AM+2G-40	

m<sub>t</sub> : masse totale de solution filmogène ; m<sub>s</sub> : masse d'amidon et/ou de gélatine sec

## II.5. Etude des caractéristiques des films

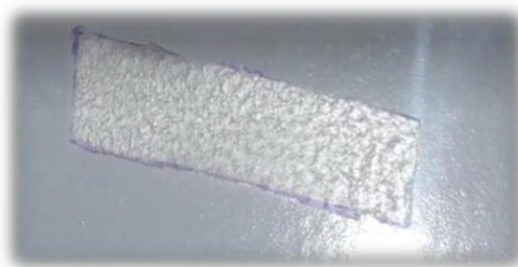
### II.5.1. Epaisseur des films

L'épaisseur des films biodégradables développés à base d'amidon et/ou gélatine a été déterminée en utilisant un micromètre manuel (Mitutoyo, modèle 102 - 707, Japon, précision : 0,001 mm) à partir de la moyenne d'au moins trois mesures aléatoires effectuées sur chaque film (Nur Hanani et al., 2013).

### II.5.2. Opacité

L'opacité des films a été déterminée par la mesure de la densité optique des films découpé en morceaux rectangulaires d'une taille de 1×4 cm (figure 6) à une longueur d'onde de 500 nm. Par la suite l'opacité a été calculée selon l'équation suivante décrite par Gontard et al. (1994):

$$\text{Opacité} = \text{absorbance à 500 nm} / \text{épaisseur du film}$$



**Figure 6** : film coupé à une taille de 1×4 cm

### II.5.3. Taux d'humidité

L'humidité d'une manière générale englobe toutes les substances qui s'évaporent par chauffage en entraînant une perte de masse de l'échantillon. Le taux d'humidité des films, qu'on confond à la teneur en eau de ceux-ci, a été déterminé en séchant de petits morceaux des films préparés préalablement pesés dans une étuve à 110 °C pendant 6 h (Belibi et al., 2014).

La perte de poids est mesurée par une balance et interprétée comme un taux d'humidité. Par conséquent, cette notion d'humidité concerne outre l'eau, d'autres pertes de masses comme les solvants organiques, les alcools, les graisses, les huiles, les composants aromatiques et les produits de décomposition et de combustion évaporés.

#### II.5.4. Solubilité des films dans l'eau

La solubilité des films préparés dans l'eau a été déterminée selon la méthode décrite par [Rhim et al. \(2005\)](#). Les échantillons sélectionnés de manière aléatoire à partir de chaque film ont d'abord été séchés dans une étuve à 110 ° C pendant 6 h pour déterminer la masse initiale de film sec (**MS**). Ensuite, chaque échantillon est individuellement placé dans des béchers contenant 40 mL d'eau distillée.

Les béchers sont ensuite recouverts du parafilm et conservés à température ambiante pendant 24 h. La masse de film non dissous a été déterminée en retirant les morceaux de films des béchers, en les rinçant avec de l'eau distillée et en les séchant dans une étuve (110 ° C, 6 h). La masse de film hydrosoluble (**Mh**) a été calculée en soustrayant la masse de matière sèche non dissoute de la masse initiale de film sec. Le taux de solubilité (**TS**) du film dans l'eau a été déterminé à partir de l'équation suivante :

$$(\text{TS}) = \frac{Mh}{Ms} \times 100$$

**Mh** : masse matière humide

**Ms** : masse matière sèche

#### II.5.5. Perméabilité des films à la vapeur d'eau

Afin de mesurer la perméabilité des films préparés à la vapeur d'eau, 5g de chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) a été ajouté dans des béchers. Ces béchers sont ensuite recouverts par les films, sans trous ni défauts, est scellés avec du parafilm. Afin de maintenir un gradient

d'humidité relative autour de 100% à travers le film, les béciers sont placés à l'intérieur d'un dessiccateur contenant de l'eau distillée.

L'humidité relative à l'intérieur du bécier est toujours inférieure à celle de l'extérieur. La vapeur d'eau transférée à travers le film et adsorbée par le desséchant est déterminée à partir de l'augmentation de masse du chlorure de calcium enregistrée à différents moments. Les béciers sont pesés au départ et à chaque 12 h dans un intervalle de 24h.

## II.6. Sélection des films

Après l'étude des caractéristiques des films développés, deux films ont été choisis :

- Un film plastifié : selon les caractéristiques de sa faible solubilité et son caractère résistant à la perméabilité de la vapeur d'eau.
- Un enrobage : toujours doté d'une faible perméabilité à la vapeur d'eau mais possède une bonne solubilité.

## II.7. Elaboration des films biodégradables bioactifs

Le film plastifié et l'enrobage sélectionnés ont été préparés à nouveau mais additionnés cette fois-ci d'une concentration de 0.25 mg/mL de quercétine (Mokhtar *et al.*, 2017). Les tests d'épaisseur, d'opacité, taux d'humidité, de solubilité ainsi de perméabilité à la vapeur d'eau ont été réalisés à nouveau pour voir l'effet de la quercétine sur les caractéristiques du film.

## II.8. Application de l'emballage

Afin de tester l'efficacité de l'emballage développé, un test de conservation a été appliqué sur les cerises. Les fruits sont lavés et désinfectés avec l'eau contenant de la javel. Par la suite, les cerises ont été séchées et séparées en 6 groupes:

- 1- Le premier groupe laissé à l'air libre comme témoin négatif.
- 2- Le deuxième groupe emballé avec du film alimentaire comme témoin positif.

- 3- Le troisième groupe vaporisé avec le produit d'enrobage dépourvu de substance active.
- 4- Le quatrième groupe vaporisé avec le produit d'enrobage contenant la quercétine.
- 5- Le cinquième groupe emballé du film plastifié dépourvu de la quercétine.
- 6- Le dernier groupe emballé du film plastifié contenant la quercétine.

## **II.9. Traitement statistique des résultats**

Chaque expérience a été indépendamment réalisée en 3 exemplaires et répétée trois fois dans un dispositif en randomisation totale et les résultats obtenus ont été soumis à l'analyse en utilisant le logiciel Stat box version 6.4 (1999).

***CHAPITRE III :***

***RESULTATS ET  
DISCUSSION***

## Chapitre III : Résultats et discussion

A l'heure actuelle les matériaux synthétiques sont présents dans tous les domaines d'application (automobile, emballage, bâtiment, cosmétique...). Leur polyvalence et leurs qualités nombreuses ainsi que des coûts de matière première limités ont permis l'essor exceptionnel de ces matériaux. Depuis quelques années, la prise de conscience de l'impact négatif des déchets plastiques sur l'environnement a conduit à développer de nouveaux types de plastiques biodégradables à base de «biopolymères».

### III.1.Calcul du rendement de l'extraction

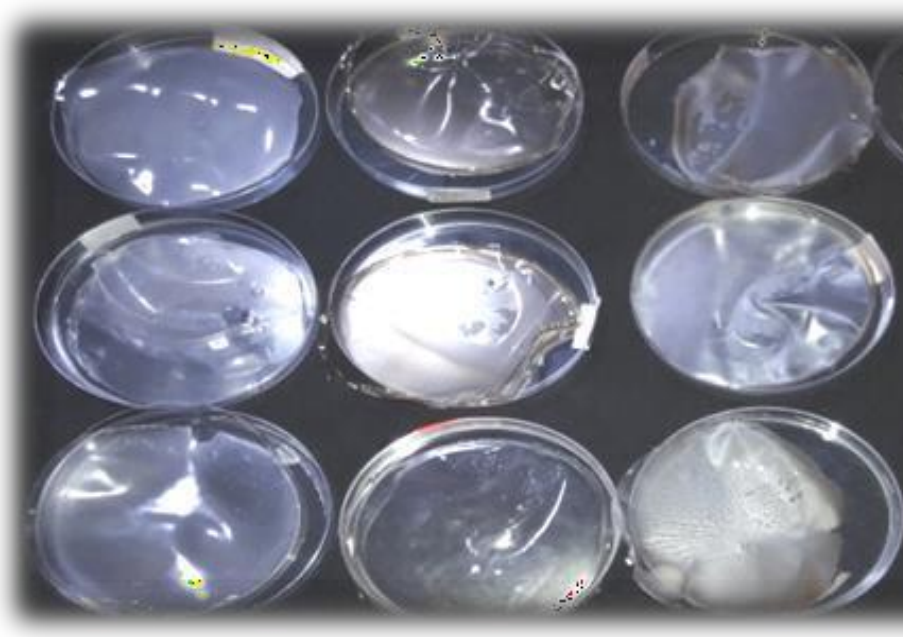
Après l'extraction de l'amidon à partir de la pomme de terre et du maïs et la gélatine à partir des pattes de poulet, le rendement de l'extraction a été calculé selon le rapport entre la masse de l'extrait final par rapport à la matière initiale. En ce qui concerne l'amidon, le rendement de l'extraction du maïs (34.5 %) était plus important que celui de la pomme de terre (16.28 %).Les résultats sont compatibles à la valeur standard trouvée en littérature. [Kundu et al. \(2011\)](#) ont trouvé des valeurs de l'ordre de 14.49 et 45.85% pour les pommes de terre et maïs respectivement.

En ce qui concerne la gélatine, le rendement de l'extraction était de l'ordre de 12.85%.Cette valeur est supérieure à celle trouvée par [Choe et kim \(2018\)](#) (5.31%). [Widyasari et Rawdkuena \(2014\)](#) ont trouvé une valeur semblable avec un rendement de 12.64%.Le rendement faible de la gélatine peut être attribué à la perte de collagène extrait le lavage, le prétraitement ou l'hydrolyse incomplète du collagène ([Sarbon et al., 2013](#)).

### III.2. Etude des caractéristiques des films

Des films à base d'amidon (pomme de terre et maïs ) et de la gélatine , contenant trois concentrations de glycérol (20%, 30%,40%), ont été élaborés et caractérisés du point de vue d'épaisseur , d'opacité ,de taux d'humidité, de la solubilité, et de la perméabilité à la vapeur d'eau. Ces caractérisations sont présentées ci-dessous.

Les films élaborés avec les plus faibles concentrations (20 et 30%) du glycérol, les films ont tendance à être fragiles et difficiles à manipuler, alors que les films avec 40% de glycérol sont souples et facile à démouler. La raison pour laquelle cette concentration est maintenue. La [figure 7](#) représente les différents films développés avec 40% de glycérol.



**Figure 7 :** Les différents films obtenus avec les différentes combinaisons d'amidon et de la gélatine.

### III.2.1. Epaisseur des films

L'épaisseur des films biodégradables développés à base d'amidon et/ou gélatine a été déterminée en utilisant un micromètre ([tableau 7](#)). Selon les résultats, les films à base d'amidon de maïs sont légèrement supérieurs à ceux de la pomme de terre. Lorsque l'amidon est associé à la gélatine, l'épaisseur du film augmente. Les films élaborés avec 2 fois la concentration d'amidon de maïs associés à la gélatine possèdent la plus grande épaisseur.

De nombreux auteurs ont observé une perméabilité apparente d'autant plus élevée que l'épaisseur est faible ([Cuq et al.,1996](#); [Quezada-gallo, 1999](#)). Ce phénomène est beaucoup plus marqué pour les enrobages hydrophiles. Il existe cependant une valeur

critique de l'épaisseur au-delà de laquelle le flux de vapeur d'eau diminue linéairement lorsque l'épaisseur augmente.

Benbettaieb *et al.* (2014) ont montré que la perméabilité à la vapeur d'eau d'un film mélange chitosan-gélatine (25%-75%) (w/w) augmente linéairement avec l'épaisseur. Morillon *et al.* (2002) et Bertuzzi *et al.* (2007) ont attribué l'augmentation de la perméabilité avec l'épaisseur à une plastification des films et un gonflement proportionnel ou non avec l'épaisseur. McHugh *et al.* (1993) ont montré que la valeur de la WVP d'un film de caséinate de sodium a été doublée après une augmentation de l'épaisseur de 71 à 81  $\mu\text{m}$ .

**Tableau 7** : Epaisseur et opacité des films (glycérol 40 %).

Type de films	Epaisseur (mm)		Opacité	
	Pomme de terre	Maïs	Pomme de terre	Maïs
<b>1A-40</b>	0.15± 0.004	0.17±0.003	0.103± 0.002	0.091± 0.004
<b>1G-40</b>	0.16±0.005	0.16±0.005	0.071±0.006	0.071±0.006
<b>1A+1G-40</b>	0.18±0.003	0.18±0.006	0.197±0.009	0.214±0.001
<b>2A+1G-40</b>	0.18±0.004	0.19±0.005	0.183± 0.015	0.216±0.013
<b>1A+2G-40</b>	0.17±0.006	0.18±0.003	0.166± 0.007	0.167± 0.005

### III.2.2.Opacité des films

Divers travaux de recherche ont été réalisés afin d'améliorer les propriétés mécaniques et barrières des films et d'enrobages comestibles mais très peu des études ont

porté sur les propriétés optiques telles que la couleur, la brillance et la transparence. Les propriétés optiques sont des caractéristiques de surface, qui sont généralement détectés par la vision humaine touchant ainsi certains aspects cruciaux de la qualité organoleptique des aliments (Brindle et Krochta, 2008).

Les films obtenus avec la gélatine seule (1G-40) ou avec l'amidon (1AP+2G-40, 1AM+2G-40) sont plus transparent que les films à base d'amidon (1AP-40, 1AM-40) ou en combinaison mais composés d'un pourcentage plus élevé d'amidon (2AP+1G-40, 2AM+1G-40). En comparant les deux types d'amidon, les films de pomme de terre sont plus translucides que ceux des maïs

La microstructure de film, interne et de surface, joue un rôle important dans les propriétés optiques du film. L'étude de l'opacité de films est très importante et conditionne parfois l'application alimentaire de films à base de mélange. En outre, elle peut être considérée aussi comme un moyen efficace pour indiquer l'aspect structural de mélange.

En effet un aspect translucide a été attribué à une phase moins visqueuse formant une matrice continue (Brindle et Krochta, 2008). Des films translucides ont été observés pour un mélange chitosan-gélatine (Lopez-Caballero et al., 2005), glucomannane-gélatine (Li et al., 2006), amidon de maïs-caséine et amidon de maïs-gélatine (Jagannath et al., 2003).

Yoo et al. (2011) ont montré que les films à base de protéines de lactosérum sont les films les plus transparents comparativement aux films polysaccharidiques ou aux différents films à base de polysaccharides-protéines. Les films obtenus à partir de toutes les formulations sont homogènes et transparents.

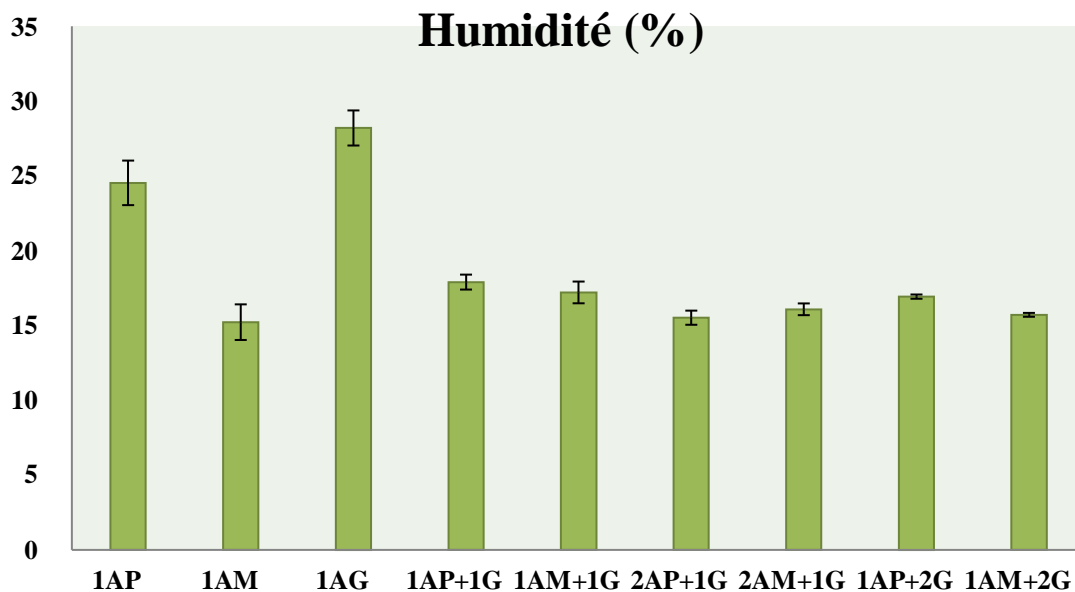
### III.2.3. Taux d'humidité des films

Le taux d'humidité des films développés a été déterminé en séchant de petits morceaux des films préparés préalablement pesés dans une étuve à 110 °C pendant 6 h. Selon les résultats montrés dans la ( figure 8), les films contenant les deux composés ont moins de teneur en eau que les films composés d'amidon ou de gélatine seul. Il n'existe

pas une grande différence entre les films à base d'amidon de pomme de terre ou de maïs d'une façon général, les films formés avec l'amidon de maïs contiennent moins d'eau.

Il est à mentionner que la teneur en eau des films est un facteur important pour l'évaluation des propriétés mécaniques car l'eau joue aussi le rôle de plastifiant. D'autre part, les valeurs élevées de la perméabilité à la vapeur d'eau sont dues à la teneur en eau plus importante dans les films (Chiou *et al.*, 2009).

Il est important à mentionner que tous les films développés renferment un pourcentage d'humidité suffisant pour assurer la plastification ( $\geq 10$ ) mais les films à base de 2A+1G contiennent le pourcentage plus faible d'humidité ce qui est intéressant pour éviter une teneur à la vapeur d'eau plus importante.



**Figure 8 :** Humidité des différents films.

#### III.2.4. Solubilité des films dans l'eau

La solubilité dans l'eau est une propriété importante des films comestibles parce que certaines applications alimentaires peuvent exiger une bonne insolubilité dans l'eau

afin d'améliorer l'intégrité du produit et la résistance à l'eau (Perez-Gago et Krochta, 1999). En règle générale, une solubilité plus élevée indiquerait une résistance à l'eau plus faible (Bourtoom et Chinnan, 2008).

Selon les résultats (tableau 8), on remarque que les films à base d'amidon de pomme de terre sont plus solubles par rapport aux films de maïs. Le film développé seulement à la gélatine a été entièrement dissous dans l'eau, ce qui est traduit par un taux de solubilité de 100 %.

Cela est en accord avec la littérature, dans des travaux antérieurs rapportés par Pereda *et al.*, (2011), il a été constaté que les pellicules de gélatines plastifiées étaient complètement solubles dans l'eau. Ce caractère rend ce film moins important à utiliser. Les films (1AM+2G) possèdent la plus faible solubilité ce qui est important dans les films plastifiés.

**Tableau 8 :** Solubilité des films.

Type de films	Solubilité (%)	
	Pomme de terre	Maïs
<b>1A</b>	21.45	16.2
<b>1G</b>	100	100
<b>1A+1G</b>	30.35	22.13
<b>2A+1G</b>	26.02	18.16
<b>1A+2G</b>	22.94	17.23

Toutefois, pour d'autres applications, comme le cas d'enrobage, il peut être bénéfique pour un film d'être soluble dans l'eau. Dans certains cas tels que l'encapsulation des produits alimentaires ou des additifs, il peut être bénéfique pour un film d'être soluble dans l'eau avant la consommation du produit ou par exemple pour contenir des portions pré-dosées devant être dissoutes dans l'eau ou dans la nourriture chaude (Gontard et al., 1992).

### III.2.5. Perméabilité des films à la vapeur d'eau

La perméabilité à la vapeur d'eau permet de mesurer la facilité avec laquelle la vapeur d'eau pénètre un matériau. La mesure de la perméabilité à la vapeur d'eau (PVE) permet d'évaluer l'aptitude des matériaux aux transferts d'eau entre le produit et son environnement.

La fonction principale d'un emballage alimentaire est souvent d'éviter ou au moins de diminuer le transfert d'humidité entre l'aliment et l'atmosphère environnante, ou entre deux composants d'un produit alimentaire hétérogène, la perméabilité à la vapeur d'eau des films doit être aussi faible que possible (Gontard et al., 1992).

Afin d'éviter les transferts d'humidité pouvant affecter la qualité de l'aliment, le contrôle de la perméabilité à la vapeur d'eau (PVE) est primordial pour obtenir un maximum de sécurité et de stabilité du produit emballé, durant tout le processus de stockage et de distribution.

La déshydratation en surface de certains aliments frais ou congelés est freinée en utilisant des enrobages hydrophiles (gel aqueux) à base de polysaccharides qui se déshydratent avant le produit et forment une pellicule protectrice Zuo et al. (2009).

Les valeurs de différents films à base de biopolymères et de polymères synthétiques sont présentées dans le [Tableau 9](#). Les films à base d'amidon sont caractérisés par des fortes valeurs de perméabilité à la vapeur d'eau. L'amidon de pomme de terre possède la plus faible résistance à la vapeur d'eau en comparaison avec l'amidon du maïs (1.12 et

1.04 g/mm respectivement). Cela peut être expliqué par la différence en composition car le pourcentage d'amylose est plus élevé chez le maïs.

La perméabilité des films à base d'amidon dépend du taux de plastifiant, de l'origine botanique de l'amidon et des conditions de mesure. Néanmoins, les valeurs de la perméabilité à la vapeur d'eau des films à base d'amidon restent encore supérieures à celles des films synthétiques tels que le polyéthylène.

L'addition de la gélatine à l'amidon, améliore nettement sa résistance à la perméabilité à la vapeur d'eau. Le film fabriqué à partir de l'amidon de maïs et deux fois la concentration de la gélatine représente le meilleur film résistant au passage de la vapeur à travers l'emballage (0.047 g/mm).

**Tableau 9** : perméabilité des films

Type de films	Perméabilité (g/mm)	
	Pomme de terre	Maïs
<b>1A</b>	1.124±0.012	1.042±0.002
<b>1G</b>	1.055±0.003	1.055±0.003
<b>1A+1G</b>	0.174±0.005	0.063±0.004
<b>2A+1G</b>	0.621±0.007	0.066±0.009
<b>1A+2G</b>	0.120±0.013	0.047±0.006

### III.3. Sélection du film

Après l'étude des caractéristiques des films développés (épaisseur, opacité, humidité, solubilité dans l'eau et la perméabilité à la vapeur d'eau), deux produits ont été élaborés :

**Un film plastifié** : le film choisi pour la plastification est celui composé d'une concentration d'amidon de maïs et deux fois la concentration de gélatine en présence de 40% de glycérol (1AM+2G-40) car c'est un film avec une bonne épaisseur (18 mm), à un caractère transparent, possède une faible solubilité dans l'eau 17.23% et sa perméabilité à la vapeur d'eau reste faible par rapport aux autres films (0.047 g/mm).

**Un enrobage** : Pour l'enrobage la meilleure combinaison choisie est celui de concentration équivalente d'amidon de maïs et de gélatine (1AM+1G-40) car il a de bonnes caractéristiques (épaisseur, opacité, humidité et perméabilité et une bonne solubilité. Car l'enrobage comestible doit être soluble.

### III.4. Incorporation de la substance active dans le film

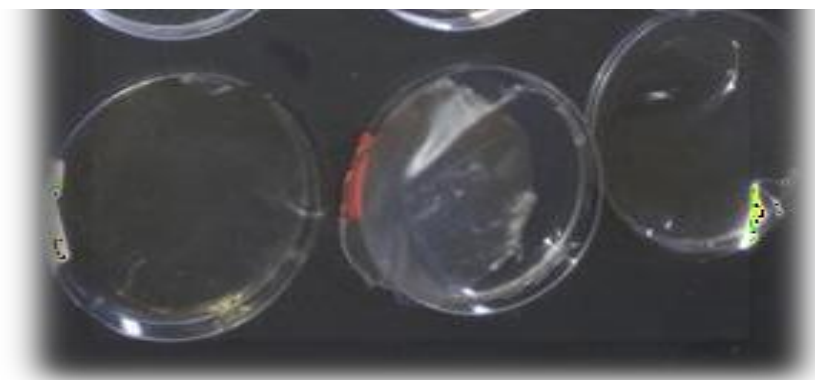
Après la sélection des films, la quercétine a été ajoutée en raison de 0.25 mg/mL. La quercétine a été choisie car elle est dotée d'une bonne activité antioxydante et antimicrobienne qui peut améliorer notre emballage et augmenter la durée de la conservation des aliments. La [figure 9](#) représente le film plastifié avec la quercétine.

[Rice-Evans et al. \(1996\)](#), ont rapporté que l'activité de réduction du radical ABTS●+ par la quercétine est deux fois plus élevée que celle de la catéchine et de la rutine. Les produits d'oxydation de la quercétine, notamment le dérivé benzofuranone et l'acide protocatéchique, possèdent un pouvoir antioxydant propre. Ils contribuent au pouvoir antioxydant global de ce flavonol, ce qui explique pourquoi la quercétine est un très bon antioxydant en général, dont l'effet protecteur peut persister même après sa consommation totale ([Achat, 2013](#)).

[Rodríguez Vaquero et al. \(2007\)](#) ont étudié les propriétés antimicrobiennes de quelques composés phénoliques purs ainsi que trois extraits phénoliques du vin

d'Argentine contre *Listeria monocytogenes*. Ils ont trouvé que la meilleure inhibition a été obtenue avec la quercétine avec une CMI de l'ordre de 25 µg/ml.

Les tests d'épaisseur, d'opacité, taux d'humidité, de solubilité ainsi de perméabilité à la vapeur d'eau ont été réalisés à nouveau. Les résultats sont représentés dans le [tableau 10](#). On a remarqué que l'addition de la quercétine a légèrement augmenté l'épaisseur du film, cela peut être expliqué par l'augmentation de la matière sèche par l'ajout de la quercétine. La couleur du film a aussi changé, car la quercétine est d'une couleur jaune, ce qui a augmenté l'opacité du film. La quercétine a aussi diminué la solubilité du film dans l'eau et la perméabilité à la vapeur d'eau qui sont des facteurs très important dans un emballage.



**Figure 9** : films plastifié contenant 0.25 mg/mL de quercétine.

**Tableau 10** : Caractéristiques du film plastifié actif

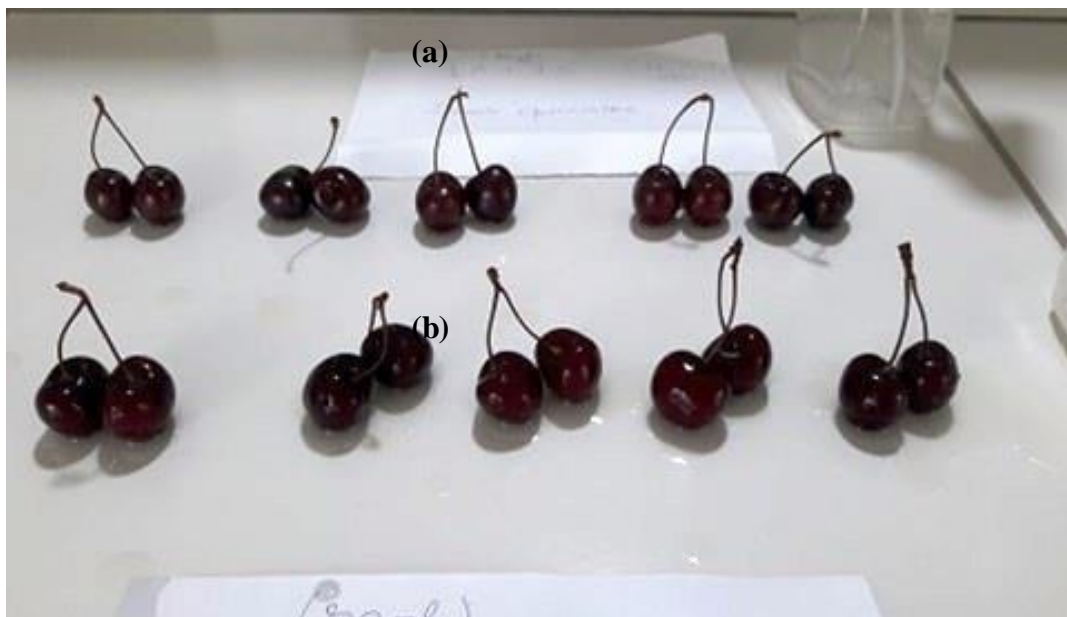
<b>Epaisseur (mm)</b>	<b>Opacité</b>	<b>Solubilité dans l'eau (%)</b>	<b>Humidité (%)</b>	<b>Perméabilité à la vapeur d'eau (g/mm)</b>
0.19±0.005	0.986±0.012	15.17%	14.40 %	0.0056±0.002

### III.5. Application de l'emballage

L'emballage des cerises a été effectué avec les nouveaux films développés (avec ou sans quercétine). Après 6 jours de conservation à l'air libre à une température de  $37 \pm 4^\circ\text{C}$ , on a remarqué que les cerises emballés avec le film alimentaire et nos films (plastifiés ou enrobage) ont gardé un bon aspect structural et aucune détériorations visuelle n'a été remarquée. Alors que les cerises laissés à l'air libre sont devenus inconsommable après seulement 2 jours (figure 10 et 11).



**Figure 10 :** Cerises après 2 jours de conservation à l'air libre.



**Figure 11 :** Cerises après 6 jours de conservation avec (b) et sans la quercétine (a).

Aucune différence visuelle n'a été remarqué entre les emballages développés avec ou sans quercétine mais lors de dégustation, on a constaté que :

- Tous les films n'ont aucun gout ou odeur
- Les films sans quercétine étaient plus acides que les autres (avec la quercétine).

# ***CONCLUSION***

## Conclusion

Les emballages des produits alimentaires ont des fonctions essentielles en stockant, en protégeant et en préservant les aliments qu'ils renferment de la fabrication jusqu'à leur utilisation finale par les consommateurs. Dans un contexte où la gestion des matières résiduelles est un enjeu majeur, les consommateurs ont par contre des préoccupations environnementales grandissantes envers certaines pratiques actuelles.

Une des pratiques ainsi questionnées est l'usage du plastique qui est très répandu dans la conception des emballages et qui est souvent favorisé par les manufacturiers à cause de sa légèreté et sa résistance. Les consommateurs sont notamment concernés par sa persistance dans l'environnement dû à son temps de décomposition de 100 à 400 ans.

Notre travail a porté sur l'élaboration et le développement d'un biofilm à base d'amidon et de gélatine. La pomme de terre et le maïs ont été utilisés comme source d'amidon et la gélatine a été extraite des pattes de poulet. Différents combinaisons ont été testées entre ces deux biopolymères en présence de 20, 30 et 40% de glycérol. Il s'est avéré que 40% de glycérol a permis de donner des films non collants à aspect plastifiant.

Différents tests ont été réalisés sur ces films portant sur l'épaisseur, l'opacité, l'humidité, la solubilité dans l'eau et la perméabilité à la vapeur d'eau. Tous les films développés étaient transparents et avaient une bonne structure, mais les films à base de gélatine possèdent une grande solubilité. Les films à base d'amidon sont caractérisés par des fortes valeurs de perméabilité à la vapeur d'eau. L'addition de la gélatine à l'amidon, améliore nettement sa résistance à la perméabilité à la vapeur d'eau.

A la fin, deux produits ont été sélectionnés, un film plastifié (1AM+2G-40) qui a une bonne épaisseur (18 mm), à un caractère transparent, une faible solubilité dans l'eau 17.23% et une perméabilité à la vapeur d'eau faible par rapport aux autres films (0.047 g/mm). Un enrobage (1AM+1G-40) qui a de bonnes caractéristiques (épaisseur, opacité, humidité et perméabilité et une bonne solubilité.

L'addition de la quercétine n'a pas eu d'effet négatif sur les caractéristiques du film à part l'aspect de la couleur qui virait vers le jaune. Après un test de conservation des cerises, les fruits sont restés en bon état pendant les six jours de conservation.

Comme perspective, ça sera intéressant d'étudier les propriétés mécaniques et la microstructure des films. D'autres substances (cellulose, chitosane, acide polylactiques...) pourront aussi améliorer les caractéristiques du film.

***LES REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES***

## Références bibliographiques

- Appendini, P., and J. Hotchkiss.** 2002. Review of antimicrobial food packaging. *Innov. Food Sci. Emerg. Tech.*, **3**, 113-126.
- Araujo-Farro, P.C, Podadera, G., Sobral, P.J.A. & Menegalli, F.C.** (2010). Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch. *Carbohydrate Polymers*, **81**, 839 – 848.:
- Averous, L., and C. Fringant.** 2001. Association between plasticized starch and polyesters: processing and performances of injected biodegradable systems. *Polym. Eng. Sci.*, **41**, 727-734.
- Belibi, P. C., Daou, T. J., Ndjaka, J. M. B., Nsom, B., Michelin, L., & Durand, B.** (2014). A comparative study of some properties of cassava and tree cassava starch films. *Physics Procedia*, **55**, 220–226.
- Benbettaieb N.** (2015). Influence de traitements de réticulation sans solvant sur les propriétés de films à base de gélatine et chitosan encapsulant ou non des antioxydants naturels : caractérisations physico-chimiques et application. Thèse de l'université de Bourgogne.
- Bourtoom, T et Chinnan M.S.** (2008). Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. *LWT - Food Science and Technology*, **41**, 1633-1641.
- Bewa, H.** (2006). Matériaux polymères biodégradables et applications, Note de Synthèse II, Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques.
- BROWN A.I., KREPLAK L., RUTENBERG A.D.** An equilibrium double twist model for the radial structure of collagen fibrils. *Soft matter*, 2014,
- Chiou, B.S., Avena-Bustillos, R.J., Bechtel, P.J., Imam, S.H., Glenn, G.M., Orts, W.J.** (2009). Effects of drying temperature on barrier and mechanical properties of cold-water fish gelatin films. *Journal*.
- Choe H Y Kim.** 2018. Effects of chicken feet gelatin extracted at different temperatures and wheat fiber with different particle sizes on the physicochemical properties of gels. *Poultry Science*, Volume 97, Issue 3, 1082–1088,

**Farris S, Schaich KM, Liu L, Piergiovanni L, Yam KL** (2009) Effect of plasticizer type and concentration on physical properties of biodegradable films based on sugar palm (*arenga pinnata*) starch for food packaging.

**Gallo, J. A. Q., Debeaufort, F. & Voilley, A.** (1999). Interactions between aroma and edible films. 1. Permeability of methylcellulose and low-density polyethylene films to methyl ketones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(1): 108-113.

**Garcia, M., Martino, M. & Zaritzky, N.** (2000). Lipid Addition to Improve Barrier Properties of Edible Starch-based Films and Coatings. *Journal of Food Science* 65(6): 941-944.

**Garcia, N.L., Ribba, L., Dufresne, A., Aranguren, M. and Goyanes, S.** (2009). Physico mechanical properties of biodegradable starch nanocomposites. *Macromolecular Materials and Engineering*, 294, 169–177.

**Greener Donhowe, I. et Fennema, O.** (1994). Edible films and coatings; characteristics, formation, definitions, and testing methods. In J. M. Krochta, E. A. Baldwin, et M. Nisperos- Carriedo. *Edible coatings and films to improve food quality* (pp. 1-24). Lancaster: Technomic.

**Gontard N. , Guillard V., Gaucel S., Guillaume C.** (2017). L’emballage alimentaire et l’innovation écologique dans toutes leurs dimensions. *Innovations Agronomiques*, INRA, 2017, 58, pp.1-9.

**Han, J.H.** (2000). Antimicrobial food packaging. *Food Technol.*, 54(3), 56–65.

**Han, J.H.** (2003). Antimicrobial food packaging. In: *Novel Food Packaging Techniques* (Ahvenainen, R. ed.), 50–70. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK.

**Imberty, A. et Perez, S.** (1988). A Revisit to the Three-dimensional Structure of B- Amylose. *Biopolymers*, 27, 1205-1221.

**Imberty, A., Buléon, A., Tran, V. and Perez, S.** (1991). Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch/Stärke*, 43, 375–384.

**Irwandi, J., 2 Faridayanti, S., 1Mohamed, E. S. M., 1Hamzah, M. S., 2 Torla, H. H. and 3Che Man, Y. B.** Extraction and characterization of gelatin from different marine fish species in Malaysia. *International Food Research Journal* 16: 381-389 (2009).

**Karim, A. A. and Bhat, R.** 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospecte as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids* 23 (3): 563- 576.

**Krochta, J.M. et De Mulder-Johnston, C.** (1997). Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technol.*, 51(2), 61–74.

**Lafargue, D.** (2007). Etude et élaboration de films à base de polysaccharides pour la fabrication de gélules pharmaceutiques. Thèse de Doctorat, Université de Nantes.

**MILES, M. J., MORRIS, V. J., ORFORD, P. D., and RING, S. C.** 1985b. The role of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydr. Res.* 135:271.

**NurHanani ZA, Beatty E, Roos YH, et al.** Development and characterization of biodegradable composite films based on gelatin derived from beef, pork and fish sources. *Foods.* 2013;2(1):1–17.

**Perez-Gago, M. B. et Krochta, J. M.** (1999). Water vapor permeability, solubility and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. *Journal of Food Science*, 64, 1034–1037.

**Rhim, J.W.** (2004a). Increase in water vapor barrier properties of biopolymer-based edible films and coatings by compositing with lipid materials. *Food Sci. Biotechnol.*, 13, 528–535.

**Rhim, J.W.** (2004b). Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 37, 323–330.

**Rhim, J.W. et Weller, C.L.** (2000). Properties of formaldehyde adsorbed soy protein isolate films. *Food Sci. Biotechnol.*, 9, 228–233.

**Rhim, J.W. et Perry, K.W.** (2007). Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for Packaging Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4), 411 — 433.

**RWidyasari and SRawdkuen.** 2014. Extraction and characterization of gelatin from chicken feet by acid and ultrasound assisted extraction. *Food and Applied Bioscience Journal*, 2014, 2 (1): 85-97

**Sevenou, O., Hill, S.E., Farhat, I.A. and Mitchell, J.R.** (2002). Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 31, 79–85.

**Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Singh Sodhi N. and Singh Gill B.** (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, 81(2), 219–231.

**Simon, N., Schulte, ML.** (2017). En Finir avec la Pollution Plastique Mondiale:Les Arguments en Faveur d'une Convention Internationale. Édité par la Fondation Heinrich Böll, volume 43.

**Sobral, P.J.A., Santos, J.S. et García, F.T.** (2005). Effect of protein and plasticizer concentrations in film forming solutions on physical properties of edible films based on muscle proteins of a Thai Tilapia. *J. Food Eng.*, 70(1), 93–100.

**SraboniKundu ,TanvirMuslim , Md. Azizur Rahman,\* and Md. Al-Amin Faisal.** 2011. Extraction of StarchfromDifferentSources:Their Modification and Evaluation of Properties as Pharmaceutical Excipient. *Dhaka Univ. J. Sci.* 59(2): 263-266.

**Steinbuchel, A.** (2003). Biopolymers, general aspects and special applications.Weinheim, Germany: Wiley-VCH.

**Tester, R.F., Karkalas, J. and Qi, X.** (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151–165.

**Wilhelm, H.-M., Sierakowski, M.-R., Souza, G.P. & Wypych, F.** (2003a). Starch films , 52, 101 - 110.