



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

136031 8259

01INPLOSSN

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires

[M] 2001 PEREZ-PEREZ, M.-C.

Thèse pour obtenir le grade de

Docteur de l'Institut National Polytechnique de Lorraine

Spécialité : Procédés Biotechnologiques et Alimentaires.

Ecole Doctorale: Sciences et Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits,
Environnement.

Présentée par

Maria-Cristina PEREZ-PEREZ

**Structure et propriétés mécaniques et de transfert des films
comestibles à base de caséinate de sodium.**

Soutenue publiquement le 24 septembre 2001 devant la commission d'examen :

M. Jean-François BOUDIER, Directeur Scientifique Société INGREDIA.	Examineur
M. Stéphane DESOBRY, Professeur, ENSAIA-INPL, Nancy.	Co-directeur de thèse.
Mme. Nathalie GONTARD, Professeur Montpellier II.	Rapporteur
M. Joël HARDY, Professeur INPL-ENSAIA, Nancy.	Directeur de thèse
Mme. Andrée VOILLEY, Professeur ENSBANA, Dijon.	Rapporteur

Service Commun de la Documentation
INPL
Nancy-Brabois

A la mémoire de mes grand-parents

A mes parents

A mes frères et sœurs

A Andy

REMERCIEMENTS

Ce travail à été réalisé au laboratoire de Physicochimie et Génie Alimentaire de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires de l'Institut National Polytechnique de la Lorraine. Je remercie Monsieur Joël Hardy, Directeur de cette thèse et Professeur à l'ENSAIA de m'avoir accueilli au sein de son équipe et de m'avoir confié ce travail de recherche. Je lui adresse toute ma gratitude pour la confiance qu'il m'a accordée.

Ma reconnaissance plus sincère à Monsieur Stéphane Desobry, Professeur à l'ENSAIA et co-encadreur de cette thèse pour la confiance et soutien permanent tout au long de ces années au laboratoire. J'ai trouvé en lui un co-directeur attentif au déroulement de ma recherche et respectueux des initiatives personnelles. Je lui adresse toute ma reconnaissance pour son appui scientifique et ses conseils qu'il m'a témoigné pendant la rédaction de ce manuscrit et pour sa bonne humeur permanente.

Je remercie Madame Andrée Voilley, Professeur à l'Ecole National Supérieure de Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation (ENSBANA) et Madame Nathalie Gontard, Professeur à l'Université de Montpellier II pour l'honneur qu'elles m'ont fait en acceptant être le rapporteurs de ce travail. Je tiens également à remercier Monsieur Jean-François Boudier, Directeur Scientifique de la Société Ingredia pour avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je remercie Monsieur Stéphane Guilbert, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier (ENSA.M) et responsable de l'Unité de Technologie des Céréales et des Agropolymères de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) pour m'avoir accueilli en stage dans son laboratoire et pour l'aide apportée dans la réalisation des analyses thermomécaniques. Mes remerciements également à Madame Valérie Micard (Maître de Conférences à l'ENSA.M) et Monsieur Andreas Redl (Ingénieur d'études à l'ENSA.M) pour leur disponibilité et ses conseils avisés qui ont contribué d'une manière prépondérante à la qualité scientifique des études sur la MDSC et la DMTA.

Je voudrais également remercier à Monsieur Jacques Fanni, professeur à l'ENSAIA, pour l'aide apporté dans la RMN et les discussions que nous avons eus pour mieux comprendre la mobilité des molécules.

Ces travaux ont bénéficié de l'aide consciencieuse de Monsieur Luc Marchal du laboratoire de Microscopie Electronique de la Faculté de Médecine de l'Université Henry Poincaré Nancy I et de Monsieur Pierre Becking de l'Ecole Européenne de Génie de Matériaux de l'INPL qui m'ont permis l'observation de la structure des films.

Mes remerciements seraient incomplets si je n'y associait pas l'équipe du laboratoire de Physicochimie et Génie Alimentaires, chacun à contribué de près ou de loin au bon achèvement de ce travail de thèse. Je remercie tout particulièrement Monsieur Jean-Pierre Jacquot qui j'ai eu l'occasion de côtoyer ses quatre années pendant lesquelles j'ai su apprécier son aide et bonne humeur.

Je ne voudrais pas oublier tous les thésards, DEA et stagiaires, venus de France ou d'ailleurs qui j'ai eu l'occasion de rencontrer dans mon parcours et qui ont tous m'enrichit de leurs cultures variées.

Enfin, une attention toute particulière à mes amis, qui se reconnaîtront, pour partager de près ou de loin mes expériences extérieures à la thèse, surtout celles liées à l'art et à la découverte des cultures européennes et qui ont été prépondérantes au bon déroulement de cette thèse.

Je finirai en remerciant les organismes qui ont financièrement appuyé la réalisation de cette thèse, en premier lieu le CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Mexique), la SFERE (Société Française pour l'Exportation de Ressources Educatives) et enfin l'INPL (Institut National Polytechnique de Lorraine).

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. LES PROTEINES DANS L'INDUSTRIE DE L'EMBALLAGE.....	6
1.1- STRUCTURE.....	7
1.1.1.- <i>Les monomères</i>	7
1.1.2.- <i>Les interactions moléculaires</i>	7
1.1.3.- <i>La structure des protéines et des films protéiques</i>	9
2. LE LAIT.....	12
2.1- MARCHE.....	12
2.2- COMPOSANTS DU LAIT. STRUCTURE ET PROPRIETES FONCTIONNELLES.....	12
2.2.1.- <i>Caséines</i>	13
2.2.2.- <i>Les dérivés de caséines: Les caséinates</i>	19
3. LA FORMATION DES FILMS PROTEIQUES.....	24
3.1- PRODUCTION DE FILMS PAR VOIE SECHE.....	24
3.2- PRODUCTION DE FILMS PAR VOIE HUMIDE.....	24
3.2.1.- <i>Coacervation Simple</i>	25
3.2.2. <i>Coacervation Complexe</i>	26
3.3- FILMS A BASE DES PROTEINES TOTALES DU LAIT.....	26
3.4- FILMS A BASE DE CASEINES ET CASEINATES.....	27
3.5- FILMS A BASE DE PROTEINES DE LACTOSERUM.....	28
4. MOBILITE MOLECULAIRE.....	30
4.1- FUSION.....	31
4.2- TRANSITION VITREUSE.....	31
4.3- APPROCHE THERMODYNAMIQUE.....	32
4.4- APPROCHE CINETIQUE.....	32
4.5- THEORIE DU VOLUME LIBRE.....	33
4.6- MOUVEMENTS COOPERATIFS CONTROLES PAR L'ENTROPIE.....	33
4.7- THEORIES DU COUPLAGE.....	35

5. RELAXATION	35
5.1- RELAXATIONS ET PLASTIFICATION DES PROTEINES.....	35
5.1.1- <i>Plastification par l'eau</i>	36
5.1.2- <i>Effet des plastifiants autres que l'eau</i>	37
5.2- MODELISATION DE LA PLASTIFICATION.....	37
5.2.1- <i>Modèles théoriques:</i>	38
5.2.2- <i>Modèles semi-empiriques</i>	39
6. LES PLASTIFIANTS DES PROTEINES	40
7. L'INFLUENCE DE LA STRUCTURE DU FILM SUR SES PROPRIETES	
PHYSICO-CHIMIQUES :	41
7.1- PROPRIÉTÉS BARRIÈRES (H ₂ O, GAZ, ARÔME).....	42
7.1.1- <i>Perméabilité à la vapeur d'eau</i>	44
7.1.2- <i>Perméabilité au gaz</i>	47
7.1.3- <i>Perméabilité aux arômes</i>	49
7.2- PROPRIETES MECANIQUES.....	50
7.2.1- <i>Effet du pH sur les propriétés mécaniques des films</i>	52
7.2.2- <i>Effet des additifs sur les propriétés mécaniques des films</i>	52
7.3- PROPRIETES SENSORIELLES DES FILMS.....	52

CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES

1. MATIERES PREMIERES	52
2. METHODES	52
2.1. FABRICATION DES FILMS : METHODE DE CASTING ET ELIMINATION DE LA PHASE SOLVANTE.....	52
2.2. CONDITIONNEMENT DES FILMS PREALABLES A LEUR CARACTERISATION.....	53
2.3. DETERMINATION DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES ET DES PROPRIETES FONCTIONNELLES DE LA SOLUTION FILMOGENE ET DES FILMS.....	54
2.3.1. <i>La solution filmogène</i>	54
2.3.2. <i>Les films</i>	55

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION.

1. CARACTERISATION DE LA SUSPENSION FILMOGENE	71
--	-----------

1.1. ÉTUDE DE LA SUSPENSION FILMOGENE A BASE DE CASEINATE DE SODIUM.	
1.1.1. <i>Viscosité</i>	71
1.1.2. <i>Influence du type et concentration de plastifiant sur la taille moyenne de particules de la solution filmogène</i>	73
2. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES FILMS.....	75
2.1. COMPOSITION DES FILMS.....	75
2.2. ASPECT DES FILMS.....	75
2.3. MICROSTRUCTURE.....	77
2.3.1. <i>Effet de l'humidité relative sur la microstructure des films</i>	82
2.4. TOPOGRAPHIE DE SURFACES.....	87
2.4.1. <i>Effet de l'humidité relative sur la topographie des surfaces</i>	89
3. PROPRIETES FONCTIONNELLES DES FILMS DE CASEINATE	93
3.1. PROPRIETES D'HYDRATATION	93
3.1.1. <i>Influence de la teneur en plastifiant</i>	93
3.1.2. <i>Modèles de BET et GAB</i>	95
4. PROPRIETES ENTHALPIQUES ET THERMOMECANIQUES.....	98
4.1. PROPRIETES ENTHALPIQUES MESUREES PAR ANALYSE ENTHALPIQUE DIFFERENTIELLE MODULEE(AEDM).	98
4.2. PROPRIETES THERMOMECANIQUES OBTENUES PAR ANALYSE THERMOMECANIQUE DYNAMIQUE (ATMD)	101
4.3. COMPARAISON DES MESURES REALISEES EN ATMD ET EN AEDM.....	103
4.4. TRANSITION VITREUSE DES FILMS A BASE DE CASEINATE DE SODIUM NON PLASTIFIE.	104
4.5. EFFET PLASTIFIANT DU GLYCEROL OU DU SORBITOL	106
4.5.1. <i>Effet du type et de la concentration en plastifiant</i>	109
4.6. PREVISION DE LA TEMPERATURE DE TRANSITION VITREUSE.....	111
5. APPROCHE DE LA MOBILITE MOLECULAIRE PAR RMN.	114
5.1. ANALYSE DES DISTRIBUTIONS DE TEMPS DE RELAXATION.....	119
6. PROPRIETES MECANIQUES.....	124
6.1. INFLUENCE DES PLASTIFIANTS	127
6.2. INFLUENCE DE L'ACTIVITE DE L'EAU	128

7. PROPRIETES BARRIERE DES FILMS	133
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	141
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	144
TRAVAUX RELATIFS A CETTE ETUDE	164

LISTE DE SYMBOLES ET ABREVIATIONS

A	Surface (m^2)
AED	Analyse enthalpique différentielle
ATMD	Analyse Thermomécanique Dynamique, Dynamic Mechanical Thermal Analysis (DMTA)
a_w	Activité de l'eau
B_0	Champ magnétique statique (T)
B_1	Champ de radiofréquence (T)
C	Concentration dans le film ($g/100\text{ g ms}$)
C_{calc}	Concentration en eau dans le films calculée à l'état stationnaire du transfert ($g/100\text{ g ms}$)
C_M	Concentration correspondant à la couche monomoléculaire ($g/100\text{ g ms}$)
C_{mes}	Concentration en eau dans le film mesurée à l'état stationnaire du transfert ($g/100\text{ g ms}$)
CTVE	Coefficient de Transmission à la vapeur d'eau ($g.m^{-2}.s^{-1}$)
D	Coefficient de Diffusion ($m^2.s^{-1}$)
E'	Module de conservation en tension - compression
E''	Module de stockage
E	Module de Young (MPa)
E_a	Energie d'activation ($kJ.mol^{-1}$)
ESEM	microscopie électronique à balayage environnemental
F	Force maximale à la rupture (N)
FID	Signal d'induction libre obtenu après une impulsion à 90° , Free Induction Decay.
GAB	Guggenheim-Anderson-de Boer (modèle de lissage d'isothermes de sorption)
GLY	Glycérol
H-H	Liaison hydrogène
HR	Humidité relative (%)
J, K	Constantes du modèle de Guggenheim, Anderson et de Boer
L/(L+S)	Rapport entre le signal RMN liquide et total (liquide et solide) (%)
M	Aimantation nucléaire macroscopique à un temps t (Volt)
M.M.	masse moléculaire ($g.mol^{-1}$)
m.s.	Matière sèche
M_0	Aimantation nucléaire macroscopique à l'équilibre ($t=0$) (Volt)
MDSC	Analyse enthalpique différentielle modulée, Modulated Differential Scanning Calorimetry.
MEB	microscopie électronique à balayage
Op	Opacité (VA.nm)
P/P	masse/ masse
P/V	masse/ volume
Pa	Pression partielle (Pascal)
PE	Polyéthylène
PEBD	Polyéthylène basse densité
PEHD	Polyéthylène haute densité
pH _i	pH isoélectrique d'une protéine
PP	Polypropylène
PS	Polystyrène
PVC	Polychlorure de vinyle

INTRODUCTION

Actuellement, le développement à l'échelle industrielle des films et enrobages comestibles, en particulier à base de polysaccharides et des protéines reste assez limité. Ce résultat est à attribuer au succès des polymères plastiques de faible coût qui ont un large éventail de propriétés fonctionnelles. L'utilisation des biopolymères pour la fabrication d'emballage pourrait être d'un grand intérêt afin de contribuer à la diminution d'emballages polluants, tout en valorisant certains excédents d'origine biologique. Leur emploi, en association avec des polymères synthétiques permettrait une substitution partielle des polymères classiques, mais aussi la production de films type "intelligents" où le biopolymère serait mis en contact direct avec l'aliment ou bien destinés à des usages non alimentaires (films "plastiques" biodégradables employés dans l'agriculture). Même si les principales applications des emballages comestibles consistent à améliorer l'aspect de surface, celles destinées à ralentir les transferts de solutés restent prometteuses.

La plupart des travaux publiés ces dernières années concerne le transfert de vapeur d'eau au travers de films comestibles qui possèdent des propriétés filmogènes intéressantes. De façon générale les flux de vapeur d'eau sont élevés comparés à ceux de polymères synthétiques et dépendent de nombreux facteurs, en particulier de la nature, de la structure et des propriétés d'hydratation des films.

La tendance actuelle consiste à combiner plusieurs matériaux filmogènes afin d'obtenir des films qui possèdent les avantages de chaque constituant. En effet, les polysaccharides et les protéines ont des performances relativement médiocres comparées à celles des substances lipidiques, mais sont plus résistants à un effort mécanique. L'ajout d'un plastifiant est indispensable pour les films à base de protéines, et l'emploi d'un émulsifiant permet d'améliorer les propriétés barrière et mécaniques des films composites émulsionnés.

Parmi les nombreuses matières premières, le caséinate de sodium représente un matériau susceptible d'être employé étant donné ses caractéristiques structurales qui lui confèrent la facilité d'établir des liaisons intermoléculaires de nature hydrogène, électrostatique et

hydrophobe qui seront mise au profit pour la formation d'un réseau filmogène. De plus, le caséinate de sodium est facilement disponible.

En 1999, 564 millions de tonnes de laits tous confondus ont été produits dans le monde, dont 479 millions de tonnes proviennent de vaches laitières. En 1999, la France a collecté 22,4 milliards de litres de lait de vache. Avec une balance commerciale excédentaire de 14,2 milliards de francs, le lait et les produits laitiers contribuent à la richesse nationale. Le lait de vache recèle une grande richesse de constitution. En moyenne, un litre de lait cru contient près de 900 g d'eau et 130 g d'extrait sec, dont 32 g de matières azotées, soit 27 g de caséine.

En 1998 près de 250 000 tonnes de caséines ont été produits dans le monde: 136 000 tonnes par l'Union Européenne, dont 43 000 tonnes par l'Irlande et 46 000 tonnes par la France. La Nouvelle Zélande en a produit de l'ordre de 90 000 tonnes (CNIEL, 2000) A partir de lait écrémé et de caséines, on fabrique des caséinates de sodium ou de calcium, selon les agents neutralisants utilisés.

La conservation des aliments est une de plus anciennes préoccupations de l'homme. Après avoir employé des traitements simples durant des millénaires, il fait appel à l'emballage pour préserver au mieux l'aliment des agressions de l'ambiance (microbiennes, physiques et chimiques).

Plusieurs paramètres influent sur l'intensité des dégradations du produit alimentaire. La température, l'activité de l'eau, le pH, le potentiel d'oxydoréduction, les additifs, la présence ou non d'une flore microbienne sont autant de facteurs qu'il faut prendre en compte pour traiter et emballer l'aliment.

Pour prolonger la durée de vie des aliments, des protections supplémentaires sont donc nécessaires. Par exemple, une limitation du flux d'oxygène arrivant au contact de l'aliment permet de limiter les effets d'oxydation. De même, une limitation de l'apport d'humidité par l'air ambiant permet de garder à un aliment sec toutes ses qualités et une limitation de la perte d'eau d'un aliment humide évitera son dessèchement et donc une perte en quantité et en qualité.

Les problèmes inhérents aux aliments à haute humidité sont particuliers et liés à leur forte teneur en eau libre ($a_w > 0.85$) comme la condensation de l'eau à l'intérieur du film emballage ou encore les différents phénomènes d'altération activés ou inhibés suivant l' a_w du produit (développement de micro-organismes, oxydation, brunissement enzymatique...). Les modes de conditionnement les plus employés pour ce type de produit sont les conditionnements sous atmosphère contrôlée ou modifiée. En 1986, Sneller estimait que 125 000 tonnes de produits alimentaires étaient conservées sous atmosphère contrôlée chaque année et que le potentiel de développement de films adaptés était d'un million de tonnes par an.

Des nombreux travaux traitant de la conservation des aliments à haute humidité ou à humidité intermédiaire on été publiés récemment (Beuchat, 1981; Barmore, 1987; Brackett, 1987; Klein, 1987; Rolle et Chism, 1987; Shewfelt, 1986, 1987). Labuza et Breene (1989) exposent les causes de dégradation des fruits et légumes incluant les phénomènes de respiration et d'excès d'eau. Pour pallier cela, leur conditionnement est réalisé au moyen de films dit "ACTIFS" ou d'emballages à atmosphère contrôlée. Ces films sont surtout employés dans le domaine de fruits et légumes, des viandes, des poissons mais d'autres perspectives semblent s'ouvrir dans les domaines des produits laitiers et des pâtisseries. La conservation des aliments à haute humidité sous atmosphère humide et l'élimination de l'eau en excès sont également deux problèmes importants pour la préservation des qualités du produit. Les matériaux d'emballages ont une certaine capacité à fixer de l'eau mais celle-ci peut s'avérer parfois insuffisante.

Le travail que nous avons réalisé a eu pour objectif d'optimiser les conditions de fabrication des films de caséinate de sodium en relation avec ses propriétés fonctionnelles. Le rôle de la température, de l'humidité relative, de la teneur en eau, de la teneur et type du plastifiant employé sur la structure. L'interprétation de ces résultats devra nous permettre élucider les mécanismes de formation et le type des interactions qui peuvent intervenir dans le film.

La première section présente les données bibliographiques relatives, d'une part aux aspects théoriques de transfert de matière à travers de membranes et d'autre part, aux applications actuelles potentielles des emballages comestibles en fonction de leur nature et leur composition.

Dans la deuxième section, sont données les méthodes employées pour la caractérisation des films et l'étude de transfert et de mobilité.

Les résultats de la partie expérimentale, présentés dans la troisième section, portent dans un premier temps sur la mise en œuvre de films à base de caséinate de sodium, qui passe d'abord par une parfaite connaissance de ses constituants protéiques et non protéiques. Cette étude est consacrée à la connaissance de la solution filmogène, tant au niveau de sa caractérisation chimique comme celle concernant aux conditions de dispersion. Dans un deuxième temps, nous avons voulu étudier la composition chimique des films et les corrélés à leur structure, d'égale façon nous avons caractérisé les propriétés d'hydratation des films.

Le travail exposé dans ce chapitre, met en évidence par des techniques d'analyse enthalpique différentielle et d'analyse thermomécanique dynamique, les propriétés thermomécaniques des constituants protéiques plastifiés par action de l'eau et des polyols de bas poids moléculaire que nous avons choisis.

Les signaux RMN enregistrent le signal de relaxations des protons de l'échantillon. Ici, nous voulions avoir une approche qualitative pour comprendre les mécanismes impliqués dans le système complexe caséinate de sodium : plastifiant : eau et leur mobilité au sein du système.

Nous avons consacré un chapitre à la caractérisation de certaines propriétés fonctionnelles des films à base de caséinate de sodium, selon la nature et la teneur en plastifiant employé. Il s'agit de la détermination des propriétés mécaniques et propriétés barrière à l'eau et aux gaz. La détermination des propriétés fonctionnelles a été réalisée en fonction de l'humidité relative employée. Le but principal était d'évaluer la potentialité des films à être employés sur différents systèmes alimentaires.

Ce travail financé par le CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, au Mexique) et la SFERE (Société Française pour l'Exportation de Ressources Educatives) a également été appuyé par la Société Bohlard (Doubs) et la Fromagerie Bel (Paris) qui s'intéressent par les nouveaux débouchés des matériaux d'emballage alternatives du type comestible qui peuvent s'intégrer à leurs systèmes alimentaires, soit comme des couches intermédiaires soit enrobant des substances nutritives ou d'arôme.

**SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I. - SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. LES PROTEINES DANS L'INDUSTRIE DE L'EMBALLAGE.

Les premiers plastiques artificiels ont été créés à partir de polymères naturels plus ou moins modifiés chimiquement. En 1839, le caoutchouc naturel vulcanisé fait son apparition comme isolant. Dès 1897, le procédé de réticulation au formaldéhyde de la caséine de lait est inventé par A. Spitteler et W. Kirsche pour fabriquer des objets moulés (Woebcken, 1995; Kruszezwska, 1997). Le brevet fut déposé en Bavière, puis étendu aux Etats Unis, en Grande-Bretagne et en Italie. Connue sous le nom commercial de Galalithe (Italie) et Erinoid (Royaume-Uni), cette matière se présente sous un aspect semblable tantôt à celui de la cellophane et tantôt à celui de l'ivoire ou de la corne artificielle. Le premier établissement industriel fut construit en Grande Bretagne en 1913. En 1930, la production mondiale avait déjà atteint 10.000 tonnes. La caséine - formaldéhyde servait surtout à produire des boutons, des broches, des porte-cigarettes, des stylos, des manches de parapluie, des meubles.

Les protéines étaient alors considérées comme des matières premières intéressantes pour la fabrication de plastiques pouvant concurrencer la cellulose apparue au début du XX^{ème} siècle. Plus récemment, l'utilisation des protéines dans le domaine des matières plastiques à été proposée par des nombreux auteurs, comme par exemple Guilbert et Biquet (1989) ou Cuq *et al.* (1998a).

Afin de comprendre les propriétés des protéines en tant que matériaux filmogènes; il est important de comparer leur structure à celles des polymères synthétiques.

1.1- *Structure*

1.1.1. - Les monomères

Une macromolécule résulte de l'enchaînement covalent d'unités monomères, généralement au nombre de 1 (homopolymère), 2 (copolymère) ou plus (hétéropolymères)

Les protéines sont des hétéropolymères complexes, dont les monomères sont des acides aminés, assemblés par des liaisons peptidiques pour former des chaînes linéaires.

La structure hétérogène des 20 acides aminés naturels offre de nombreux sites réactionnels pour des réticulations (Marquié, 1996) ou toute sorte de modifications chimiques (Guilbert et Graille, 1994) ou même enzymatiques (Cuq, 1997c), permettant de modifier leurs propriétés de mise en œuvre ainsi que les propriétés finales des matériaux obtenus.

1.1.2. - Les interactions moléculaires

Des interactions secondaires, en comparaison des liaisons covalentes (primaires), assurent la cohésion dans les systèmes macromoléculaires, du fait de leur grand nombre. Elles sont classées en trois types principaux:

- Les interactions de Van der Waals s'exercent entre des molécules non ionisées (polaires ou apolaires) et peuvent représenter jusqu'à 90% de la cohésion dans les matériaux peu polaires
- Les liaisons du type hydrogène sont des liaisons faibles à caractère essentiellement électrostatique, liant un atome d'hydrogène lié à un atome fortement électronégatif (F, O, N, ...) et un deuxième atome électronégatif, lui-même lié à un atome de carbone.
- Les interactions ioniques sont dues aux attractions électrostatiques s'exerçant entre des ions ou des groupements ionisés

L'énergie molaire d'interaction pour les protéines présente des valeurs faibles (Tableau 1), cela peut être expliqué par leur structure très hétérogène, qui limite la présence de zones ordonnées, favorables à la formation de ces interactions hydrophobes (Phillips *et al.* , 1994)

Tableau 1: Energies de liaison et interactions entre acides aminés

Type de liaison	Energie (Kcal/mol)	Groupe	Acides Aminés
Covalent	30-100		
Ionique	10-20	AA polaires ionisés	Arg, Asp, Glu, Lys
Hydrogène	2-10	AA polaires non ionisés	Asn, Cys, Gln, His, Ser, Thr, Tyr
Van der Waals	1-3	AA apolaires	Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val

Les acides aminés sont généralement classés par groupes (Tableau 1) et/ou leur capacité d'hydratation (Tableau 2).

La composition en acides aminés des protéines est donc un paramètre très important, en particulier dans la détermination de leurs propriétés thermomécaniques et de leur caractère plus ou moins thermoplastique (Cuq, 1996). Les polymères thermoplastiques sont des polymères dont la cohésion latérale n'est assurée que par des liaisons secondaires. Ils possèdent la caractéristique de passer de façon réversible d'un état rigide à un état malléable par élévation de température.

Tableau 2 : Capacité d'hydratation des chaînes latérales d'acides aminés dans des polypéptides synthétiques (mole H₂O/ résidu)_w 0,9 (D'après Linden et Lorient, 1994).

ACIDE AMINE		CAPACITE HYDRATATION (Moles H ₂ O/résidu)	
P O L A I R E S	Ionisés	Asp ⁻	6
		Glu ⁻	7,5
		Tyr (pH 12)	7,5
		Lys ⁺	4,5
		His ⁺	4
	Non Ionisés	Asp (pH 4)	2
		Glu (pH 4)	2
		Tyr	3
		Lys (pH 11)	4
		Arg (pH 10)	5
	Non ionisables Polaires		3
		Asn	2
Gln		2	
Pro		3	
A P O L A I R E S	Non Ionisés	Ser	2
		Trp	2
		Ala	1,5
		Val	1
		Leu	1
		Phe	0
Ile	1		
Met	1		

1.1.3. - La structure des protéines et des films protéiques.

Le comportement des protéines est relativement plus proche des élastomères que des véritables thermoplastiques, du fait de la présence de ponts disulfures entre les résidus cystéine ou cystine.

Les élastomères comportent des pontages entre chaînes qui confèrent aux macromolécules une structure tridimensionnelle. La densité de réticulation est de l'ordre d'un pontage tous les 100 motifs unitaires (Oudet, 1994); ce qui aboutit à des liaisons secondaires extrêmement faibles.

Les protéines forment des structures secondaires de type hélice α ou feuillet β qui sont fortement stabilisées par des liaisons hydrogènes et peuvent s'apparenter à des zones cristallines (Figure 1) Rothfus (1996) a montré que les feuillets β des protéines de céréales déterminent leur utilisation comme adhésif, enrobage ou fibre textile. Il y a été montré par rayons X, que l'étirage de fibres de protéines favorise la formation de structures cristallines qui augmentent leur ténacité (Croston *et al.*, 1945)

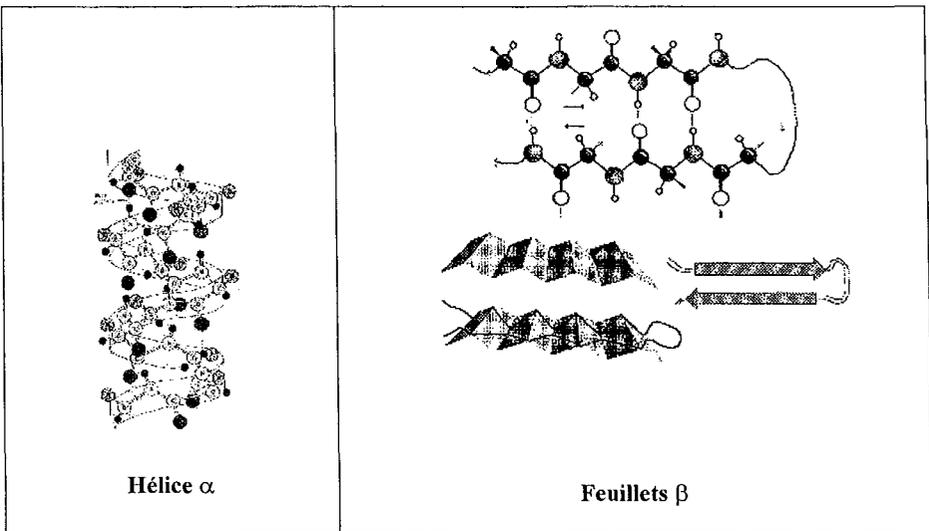


Figure 1 : Structure de l'hélice α et du feuillet β

Les propriétés mécaniques des matériaux à base de protéines sont aussi fortement influencées par leur masse moléculaire (MM), car elle détermine la présence d'enchevêtrements moléculaires, conduisant à des nœuds physiques. Pour les macromolécules synthétiques, on définit une masse moléculaire critique (MMc), généralement de l'ordre de 10^4 g/mol (Donth, 1992) au-delà de laquelle les enchevêtrements sont possibles.

On constate généralement que pour $MM < 4 MMc$, les propriétés du matériau sont stables. La plupart des méthodes de préparation des polymères impliquent que la croissance des chaînes est stoppée de manière aléatoire, soit par l'absence de monomère résiduel (polycondensation), soit par des réactions de terminaison (polyaddition). Il en résulte que les macromolécules présentent une hétérogénéité des masses molaires et forment une population macromoléculaire polydispersée. Généralement, plus la polydispersion est importante, plus la production du film est facile, mais moins bonnes sont ses propriétés mécaniques. Une masse moléculaire moyenne plus élevée sera également défavorable à l'écoulement du polymère lors de la mise en forme et donc favorable à l'apparition de défauts. Pour les protéines, la structure et la masse moléculaire sont dictées précisément lors de la synthèse (code génétique), la variabilité est donc faible. Mais il existe généralement pour chaque famille de protéines, plusieurs sous-unités de masses moléculaires différentes. A titre comparatif, le Tableau 3 donne la masse moléculaire moyenne de polymères synthétiques et de protéines couramment utilisées dans le domaine des matériaux.

Tableau 3: Tableau comparatif de protéines utilisées pour la formation des matériaux et de certains polymères synthétiques.

PROTEINE	MONOMERE	MASSE MOLAIRE (kDa ou kg/mol)	REFERENCE
Caséine	$\alpha 1, \alpha 2, \beta, \kappa, \gamma$	19-25	Sosulski et Imafidon, 1990
Gluten de blé	gliadine, glutenine	30-80, 200-2000	Sosulski et Imafidon, 1990
Gluteline de maïs	A, B, C, D, E, F	11-127	Wall et Paulis, 1978
Zéine de maïs	$\alpha, \beta, \gamma, \delta$	10-28	Shewry et Tatham, 1990
Gélatine	-	19-25	Cuq, 1996
Soja	glycine	363	Cuq, 1996
Arachide	arachine	330	Cuq, 1996
Coton	albumines, globulines	10-25, 113-180	Cuq, 1996
Myofibrillaires	myosine, actin	16-200, 42	Cuq, 1996
PEHD	éthylène	20-60	Woebcken, 1995
PEBD	éthylène	200-400	Woebcken, 1995
PMMA	acide métacrylique	100-200	Woebcken, 1995

Les forces qui stabilisent la structure de protéines sont également impliquées dans la formation et la stabilisation du réseau. Dans la phase hydratée, les interactions hydrophobes et d'hydrogène sont prédominantes alors que dans l'air (phase apolaire), les liaisons hydrogène et les interactions électrostatiques sont majoritaires. L'emploi de polymères à longue chaîne est nécessaire pour obtenir des films ayant une force cohésive suffisante, une fois qu'ils sont dispersés dans un solvant approprié (Banker, 1966). Les additifs qui promeuvent la dénaturation et l'entrecroisement favorisent l'ordre moléculaire et, en conséquence, l'augmentation de la cohésion et la rigidité des films (Guilbert, 1986). Les liaisons disulfures créées améliorent la stabilité du film (Kinsella et Whitehead, 1988; Dickinson, 1986). La résistance des films protéiques tend à augmenter en fonction du temps de vieillissement, reflétant des réarrangements et des interactions accrues entre les molécules composant le film.

Le degré d'interaction moléculaire dépend de la structure des protéines et du ratio des acides aminés hydrophobes et hydrophiles dans la chaîne de protéine. Une distribution uniforme des groupes polaires le long de la chaîne de polymère augmente la cohésion et ainsi la possibilité d'échanger les liaisons hydrogène et les interactions ioniques (Banker, 1966). Les tendances filmogènes sont liées au taux de résidus d'acides aminés polaires et apolaires et à l'hydrophobicité de surface des protéines (Barbeau et Kinsella, 1986). La présence et la quantité de résidus d'acides aminés hydrophiles sont décisives dans les propriétés de transfert de matière dans le film, plus particulièrement sous une humidité relative élevée (Krochta, 1997).

2. LE LAIT

2.1- *Marché*

La production laitière constitue la branche la plus importante de l'activité agricole dans la quasi-totalité des pays, où elle représente 18,4% de la valeur totale de la production agricole. Elle est caractérisée par la prééminence du lait de vache. En 1999, la production laitière mondiale a atteint 564 millions de tonnes. Si l'Inde est le premier producteur de lait, les trois plus grands pays industriels laitiers mondiaux sont les Etats Unis, l'Allemagne et la France (Goursaud, 2000). Les prix nominaux du lait à la production ont augmenté en moyenne de 4,5% par an pendant les vingt dernières années, encore que le rythme et la hausse se soient

nettement ralentis au fil du temps. Dans le contexte de production excédentaire, les prix à la production et le revenu des producteurs laitiers sont tributaires de prix déterminés pour absorber la production excédentaire sous forme de dérivés, grâce à l'intervention ou à des mesures spéciales.

Il est probable que dans les dix années à venir, on enregistrera de fortes progressions des échanges mondiaux, mais les perspectives de croissance des exportations sont de plus en plus limitées dans le cadre du système actuel.

L'industrie laitière française, premier fabricant de laits secs, deuxième fromager et troisième producteur de beurre au monde, génère un chiffre d'affaires de 140 milliards de francs pour 330 entreprises (FIL, 1999; Landry et Maurisson, 2000).

2.2- Composants du lait. Structure et propriétés fonctionnelles.

Plusieurs études concernant la structure et les propriétés fonctionnelles de composants du lait ont été publiées (Dalglish, 1989; Kinsella, 1984; Kamper et Fennema, 1984; Banerjee *et al.*, 1994; Ikura *et al.*, 1980). Le lait de vache contient environ 32 g/l de protéines, sous forme des caséines, protéines de lactosérum, et azote non protéique (NPN). Les caséines représentent 80% des protéines totales et constituent la fraction protéique **insoluble** (Tableau 4).

Tableau 4: Composition protéique moyenne du lait de vache (d'après Walstra et Jenness, 1984 ; Swaisgood, 1992)*

PROTEINES		Concentration (g/l)
Caséines	α_{S1}	12-15
	α_{S2}	3-4
	β	9-11
	κ	2-4
	γ	1-2
Lactosérum	β Lactoglobuline	2-4
	α Lactalbumine	1-1.5
	Protéose-peptones	0,6-0,8
	Albumine sérique	0,1-0,4
	Immunoglobulines	0,6-1,0
	Lactoferrine	0,1
	Transferrine	0,1
Globules gras	0,4	

2.2.1.- Caséines

Les caséines sont les principales protéines fonctionnelles produites dans les 80 dernières années, avec une production de 250.000 tonnes en 1995. De 1991 à 1995, les importations de caséine et de caséinate aux USA sont passées de 84.000 tonnes à approximativement 105 000 tonnes par an, (80% de caséine et 20% de caséinate). Le prix de la caséine a augmenté constamment depuis 1990, atteignant 6.500 USD par tonne en 1995. Les années suivantes les fluctuations de prix ont été nombreuses avec une forte tendance à la baisse. Depuis 1999, les cours sont à nouveau en hausse et la plus forte augmentation, a eu lieu entre juillet 99 et février 2000, période durant laquelle le prix international de la tonne de caséine est passé de 3.850 à 4.150 USD (FAO/SMIAR, 2000).

2.2.1.1.- Propriétés générales des caséines

La caractéristique commune à toutes les caséines est leur basse solubilité à pH 4,6 (Dalglish, 1989). Les monomères de caséine sont de petites molécules ayant un poids moléculaire de 20.000 à 24.000 (Fox, 1989). Les quatre types de caséines majoritaires sont constitués par les espèces α_1 , α_2 , β et κ , dans le ratio 4: 1: 3,7: 1,4, et une fraction mineure est la caséine γ .

Elles présentent une structure primaire distincte mais ont un certain nombre de fragments communs (Dalglish, 1997). En revanche, il semble que leurs structures secondaire et tertiaire soient très flexibles et puissent adopter des conformations variées selon la nature et la composition du milieu environnant.

Par rapport aux protéines de lactosérum, la caséine présente une teneur élevée de proline. La présence de proline limite la formation d'hélices α et de feuillets β , conduisant à des structures ouvertes et flexibles et à une conformation similaire aux protéines globulaires dénaturées. Le nombre élevé de résidus proline cause un déploiement particulier de la chaîne protéique et empêche la formation de structures secondaires ordonnées. Par ailleurs, l'absence de structure tertiaire contribue à la stabilité des caséines contre la dénaturation thermique. De plus, les caséines contiennent des faibles niveaux de cystéine, ayant pour résultat un nombre limité de ponts disulfures et ainsi une structure aléatoire ouverte. Les caséines α -s₁ et β ne contiennent ni cystéine ni cystine, tandis que les caséines α -s₂ et κ en contiennent de 2 à 4

résidus. En conséquence, Lamiot (1997) suppose que les caséines sont des protéines peu structurées, mais cette interprétation est encore discutée (Kumosinsky *et al.*, 1991a, b; Paulsson et Dejmek, 1990).

Les caséines possèdent deux tiers de résidus hydrophobes et ont une hydrophobicité décroissante dans l'ordre suivant $\beta > \kappa > \alpha\text{-s}_1 > \alpha\text{-s}_2$, avec respectivement 5,6, 5,1, 4,9, 4,65 kJ/résidu (Schmidt, 1982 ; Dalglish, 1997). Les régions hydrophiles et hydrophobes étant nettement séparées, ces protéines possèdent un caractère amphiphile marqué.

2.2.1.2- Les caséines α

Les caséines $\alpha\text{-s}_1$ et $\alpha\text{-s}_2$ représentent 38% et 10% de la fraction caséique totale, et sont plus phosphorylées que le reste des caséines (Dalglish, 1989; Ribadeau-Dumas et Grappin, 1989).

Le poids moléculaire de la caséine $\alpha\text{-s}_1$ est 23.500 et son pHi est 5.1 (Brunner, 1977). La caséine $\alpha\text{-s}_1$ comprend 8 résidus phosphoseryl liés aux résidus sérine. Farrel *et al.* (1990) en utilisant des outils mathématiques ont modélisés une structure secondaire très similaire à celle de Byler et al (1988). 14% des résidus d'acide aminés de caséine $\alpha\text{-s}_1$ forment les hélices α , 22% les feuillets β , et 45% de β -platted. Les groupements phosphates et carboxyles présentent une spécificité pour fixer le phosphate de calcium colloïdal. La section 100-199 est très hydrophobe avec les feuillets β , ce qu'explique la forte propension des caséines à s'associer par interactions hydrophobes.

La caséine $\alpha\text{-s}_2$ a une masse molaire qui oscille entre 25 150 et 25 400. Elle est riche en résidus phosphoseryl et lysyl, ce qui la rend différente du reste des caséines par sa faible hydrophobicité moyenne 4,64kJ / résidu. En effet, les caséines $\alpha\text{-s}_2$ sont les caséines les plus hydrophiles avec 10 à 13 résidus phosphoseryl et peuvent être polymérisées par pont disulfure (Dalglish, 1989). Une très bonne distribution existe entre les différentes régions hydrophile et hydrophobe. D'une part, les régions hydrophobes (90-120) telles que les régions C et N-terminales sont bien individualisées, ce qui se traduit par un bon équilibre entre leur hydrophobicité et leur hydrophilicité. D'autre part, les interactions électrostatiques agissent sur la structure tertiaire des caséines α (Swaisgood, 1982). Les segments peptidiques (7-12 et 55-60) de la caséine $\alpha\text{-s}_2$ et le segment 16-21 de la caséine $\alpha\text{-s}_1$ présentent une similitude qui

facilite en grande partie les liaisons entre les caséines α -s₁ et α -s₂ par des liaisons phosphocalciques. Les deux fractions de caséine α forment des films à perméabilité à la vapeur d'eau (PVE) élevée et à faible perméabilité aux gaz (Gennadios et al, 1994). Ces films restent stables sur un large domaine de pH, température et concentrations salines (Kinsella, 1984).

2.2.1.2.- La caséine β

La caséine β représente de 30 à 35% de la fraction caséique totale, elle a une masse molaire de 24.000 et un pHi de 5,3 (Brunner, 1977). La caséine β est la plus hydrophobe avec seulement des 4 à 5 résidus phosphoseryl pour 209 résidus totaux. La plupart des charges se trouvent dans les 40 premiers acides aminés de la partie N terminale, le reste de la molécule est complètement hydrophobe. Par sa structure amphiphile, la caséine β agit en tant qu'agent tensioactif et est utilisée pour former des films à base d'émulsion. La fraction de caséine β peut être dissociée des micelles de caséine par le refroidissement à une température inférieure à 8°C. La dissociation est réversible par chauffage. La caséine β présente une capacité plus faible à lier le calcium que les caséines α et est sensible au pH neutre et aux températures élevées, causant des associations macromoléculaires (Dalglish, 1989). La caséine β contient des quantités de proline relativement grandes (enchaînements Pro-Pro ou Pro-X-Pro) qui forment des segments hydrophobes rigides favorables à l'instauration d'interactions hydrophobes entre protéines.

Les films à base de caséine β présentent une faible perméabilité à la vapeur d'eau et aux gaz (Gennadios et al, 1994).

2.2.1.3.- La caséine κ

La caséine κ représente environ 15% de la fraction caséique totale. Sa masse molaire est de 19.000, son pHi entre 3,7 et 4,2 (Brunner, 1977). La caséine κ est amphiphile et composée de 169 résidus d'acides aminés. Elle ne présente pas de résidus aromatiques et seulement quelques résidus hydrophobes. La caséine κ est la seule à polymériser par liaisons disulfures. L'hydrophobicité de la caséine κ est comprise entre celles de la caséine α et de la caséine β (Dalglish, 1989).

La région N-terminale de la protéine (résidus 1-105) est généralement hydrophobe (Dalglish, 1997). Le fragment 105-169 correspond au macropeptide caséique, fortement hydrophile, qui porte un ou deux groupes de phosphate et plusieurs résidus sérine et thréonine liés à des oligosaccharides, des composés de N -acetyl galactosamine, du galactose et de l'acide N-acétylneuraminique (NANA) (Ribadeau-Dumas et Grappin, 1989). Ainsi, la caséine κ existe probablement dans le lait sous forme d'oligomères, liés par liaisons covalentes (liaisons disulfures), qui peuvent être séparés par électrophorèse ou par chromatographie d'échange ionique en plus de 7 composants (Swaisgood, 1982).

La caséine κ est très résistante à la précipitation calcique et stabilise d'autres caséines. Le clivage par la présure au point Phe105-Met106 élimine les capacités stabilisantes, laissant une partie hydrophobe, la para-k-caséine, et une partie hydrophile appelée la k-caséine glycomacropeptide (GMP) ou le caséinomacropeptide (CMP). La proportion de caséine κ peut être plus forte dans la périphérie des submicelles. Les liaisons hydrophobes influencent les propriétés physico-chimiques telles que la viscosité, le point de congélation, la sorption d'eau ou fonctionnelles telles que les propriétés moussantes et émulsifiantes.

Les films à bases de caséine κ ont une valeur de perméabilité à la vapeur d'eau intermédiaire (Gennadios et al, 1994)

2.2.1.4.- La micelle de caséine

Environ 80 à 90% de la caséine du lait présente une superstructure complexe de forme « quasi-sphérique », volumineuse, non lisse appelée micelle de caséine. Son diamètre varie de 50 à 200 nm, pour un diamètre moyen de presque 80 nm (Mc Gann *et al.*, 1980; Schmidt, 1982; Banon et Hardy, 1992; Panfil-Kuncewicz, 1994; Bauer *et al.*, 1995; Wade *et al.*, 1996). Les micelles présentent une partie minérale composée de 90% de phosphate de calcium amorphe. Le phosphate de calcium colloïdal est lié aux différentes submicelles qui forment la micelle de caséine par des liaisons covalentes, hydrophobes, électrostatiques. La micelle contient aussi 10% de citrate et autres composés mineurs comme le magnésium, la plasmine et la lipase et une petite quantité de lactosérum (Kinsella, 1984; Holt, 1992; Cayot et Lorient, 1998).

Les travaux concernant la structure des micelles de caséine ont conduit à la proposition de nombreux modèles: le modèle noyau – enveloppe (Parry et Carlo, 1969 ; Waugh *et al.*, 1970 ; Visser, 1991), le modèle à structure interne (Rose, 1969 ; Garnier et Ribadeau-Dumas, 1970 ; Visser *et al.*, 1986) et le modelé submicellaire (Morr, 1967 ; Slattery et Evard, 1973 ; Schmidt, 1982 ; Walstra et Jennes, 1984 ; Walstra, 1999 ; Ono et Obata, 1989 ; Cayot et Lorient, 1998).

Aujourd'hui, subsistent 2 modèles à structure : interne type gel (Horne, 1998) et à submicelles dont Cayot et Lorient (1998) puis Walstra (1999) proposent une version actualisée.

Les submicelles sont riches en caséines κ , qui se situent préférentiellement dans la couche périphérique et constituent une enveloppe de chaînes flexibles de polypeptides hydrophiles linéaires, appelée couche « chevelue » représentant la partie C terminale d'un grand nombre de molécules de κ -caséine (Dalglish *et al.*, 1989 ; Ono et Obata, 1989). Ces molécules forment à la surface des micelles une couche externe diffuse hydrophile chargée négativement (Figure 1) responsable de la répulsion stérique et électrostatique (Slattery et Evard, 1973 ; Walstra, 1990 ; Holt, 1992 ; Dalglish, 1997 ; De Kruif et Zhulina, 1996 ; Holt et Horne, 1996). Ce modèle permet d'expliquer l'action de la chymosine, de la fixation de β -lactoglobuline sur la micelle par dénaturation thermique. La stabilité micellaire peut être influencée quand la balance minérale est modifiée par l'action d'un agent de chélation comme l'EDTA. Les micelles supportent une longue conservation ainsi que des traitements thermiques ou mécaniques relativement sévères tels que le séchage, les hautes pressions, l'ultrafiltration (Schmidt, 1982 ; Holt, 1992, Banon et Hardy, 1992). En revanche, leur agrégation est facilement induite par acidification ou hydrolyse enzymatique (Vetier *et al.*, 1997).

En solutions pures, à pH 7,0, les différentes unités ont tendance à former des agrégats de taille variable ($\kappa > \beta > \alpha_s$) (Alais, 1984 ; Dalglish, 1997). Les interactions mises en jeu sont essentiellement des liaisons hydrophobes et électrostatiques. Lorsque les quatre types de caséines sont en mélange, ils se forment des complexes regroupant les quatre variétés de caséines liées principalement par des interactions hydrophobes.

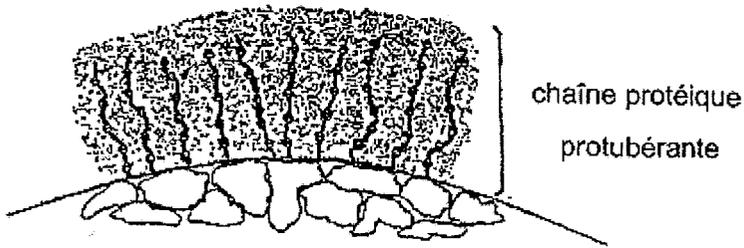


Figure 2 : Représentation schématique de la surface micellaire où les petits points représentent les ions positifs et négatifs en solution (d'après De Kruif, 1998)

En l'absence de calcium, les différentes caséines s'associent pour former des polymères d'une masse moléculaire de l'ordre de 600 (Farrel *et al.*, 1990). Tandis qu'en présence de calcium, de nouvelles liaisons de type ionique s'établissent ce qui diminue la force des répulsions électrostatiques et accroît le degré de polymérisation. Les complexes formés ont une croissance limitée par les proportions relatives de chaque type de monomère. En effet, l'extrémité COOH hydrophile de la caséine κ semble agir comme stabilisateur colloïdal. Ce monomère se positionne préférentiellement à la surface des complexes et la croissance cesse lorsqu'il les recouvre complètement (Dalglish, 1997).

2.2.2.- Les dérivés de caséines: Les caséinates

La composition typique des caséines et des caséinates de sodium et de calcium est montrée dans le tableau 5. On peut remarquer qu'à différence de la caséine acide, la caséine présure présente un pourcentage plus élevé en cendres et aussi sur la valeur de pH. Pendant la production de la caséine acide, le calcium et le phosphate inorganique présents dans la micelle, sont solubilisés et libérés du caillé, laissant seulement une petite quantité de calcium et du phosphore organique. La caséine présure contient un 3 % de calcium et de 1-4% de phosphore. Les caséinates sont produits à partir du lavage de la caséine acide (Mc Dowell, 1968)

Tableau 5. Composition et propriétés physiques de caséines et caséinates (D'après Southward, 1997)

%	Caséine acide	Caséine Présure	Caséinate de Sodium	Caséinate de Calcium
Humidité	11,4	11,4	3,8	3,8
Protéine (Nx 6,38)	85,4	79,9	91,4	91,2
Cendres	1,8	7,8	3,6	3,8
Lactose	0,1	0,1	0,1	0,1
Matière Grasse	1,3	0,8	1,1	1,1
Sodium	-	-	1,2-1,4	< 0,1
Calcium	-	-	0,1	1,3-1,6
Fer (mg/kg)	-	-	3-20	10-40
Cuivre (mg/kg)	-	-	1-2	1-2
Plomb (mg/Kg)	-	-	< 1	< 1
PH	4,6-5,4	7,3-7,7	6,5 - 6,9	6,8-7,0
Solubilité (%)	-	-	100	90-98
Absorption d'eau	80	110	271	143

Les propriétés des caséines: Les deux sortes de caséines : acides et présures, ne sont pas solubles dans l'eau, mais quand ils ont sous forme de poudre, les particules peuvent absorber facilement de l'eau. Les deux caséines peuvent être solubilisées dans des alcalis tels que l'hydroxyde de sodium et potassium, carbonates et bicarbonates, triphosphate de sodium, borax et chaux. La caséine présure n'est pas soluble dans le tripolyphosphate (Southward, 1997).

2.2.2.1.- Les propriétés de caséinates:

a) Solubilité dans l'eau.

Le caséinate de calcium n'est pas complètement soluble dans l'eau, mais il peut varier en solubilité de 90 à 98%. Le caséinate de calcium produit une dispersion colloïdale de couleur blanche.

b) Propriétés fonctionnelles.

Dans les dernières années ont été publiées différentes revues bibliographiques concernant les propriétés fonctionnelles du lait, parmi autres celles de Fox et Mulvihill, 1983; Kinsella et Whitehead, 1987; Lorient *et al.*, 1991. Ces auteurs ont mis en évidence l'importance de

l'absorption d'eau, de l'émulsification de la matière grasse, la viscosité, la gélification, le moussage et la texturation (Morr, 1982).

c) Absorption de l'eau.

Les caractéristiques concernant l'absorption de l'eau et de dispersion dans l'eau, sont montrées dans le Tableau 5. Ces valeurs varient de 130 à 290 %. Par contre les caséines acides et présures présentent des valeurs encore plus faibles (80-110%), tandis que le caséinate de sodium présente une valeur intermédiaire (143%). Alors, le type de caséinate à employer dépendra de l'utilisation concernée. Par exemple, pour des produits devant garder une teneur élevée en eau, le caséinate de sodium sera le plus convenable. Les produits d'humidité intermédiaire trouvent un bon associé dans le caséinate de calcium. Tandis que pour les produits de faible absorption d'eau (comme les produits de panification et les desserts surgelés) seront mieux formulés avec des caséines (Southward, 1997).

d) Viscosité et Gélification

Les caractéristiques de viscosité des solutions à base de caséinate de sodium à différents concentrations et températures ont été étudiées par Towler, 1974; Roeper et Winter, 1982. Les solutions de caséinate de calcium présentent une teneur en calcium élevée mais une faible viscosité (Roeper et Winter, 1982). Un nombre important de recherches ont été développées pour réduire la viscosité des solutions de caséine par hydrolyse enzymatique pendant la fabrication (Salzberg et Simonds, 1965 ; Southward, 1997). D'un autre côté, une augmentation de la viscosité permettra la formation de gels de caséine, ce qui peut trouver une grande application dans l'industrie alimentaire. Les gels à base de caséine acidifiée peuvent être appliqués dans la préparation de boissons à base de protéines laitières et du jus de fruits (Southward, 1997)

e) Emulsification de la matière grasse

Le caséinate de sodium a été employé depuis des années comme un bon émulsifiant des produits carnés, des crèmes fouettées et des crèmes pour le café. La mesure de la formation de mousse et des "whippings" a été réalisée par Goldman et Toepfer (1978). Les études réalisées

par Phillips *et al.* (1990) ont permis d'établir des procédures standardisées pour l'évaluation de la capacité de former la mousse

f) Texturation

Les caséines présentent une grande capacité pour former des produits de texture assez diverse (Burgess et Cotton, 1982; Tuohy *et al.*, 1983; Tolstoguzov *et al.*, 1985). Cette propriété a été bien employée pour produire des produits carnés par extrusion et coagulation d'une solution de caséinate (Kelly *et al.*, 1983). Cette technique est similaire à celle utilisée dans les années 30 pour la production de fibres textiles (Ferreti, 1937) ou bien pour la production des caillés. Des produits extrudés à base de caséine ont été réalisés. D'autres produits comme des analogues de fromages ont été aussi produits en utilisant la caséine.

g) Saveur de Produits à base de caséine

Il existe plusieurs études qui révèlent un impact des techniques de fabrication et des traitements sur la saveur finale des produits (Southward, 1997). Divers chercheurs ont réussi à enlever le goût caractéristique des produits de caséine acide et ses dérivés (Ramshaw et Dunstone, 1969). Par exemple, des échantillons finement divisés présentent un goût plus fort que ceux qui sont plus grossièrement divisés. D'égalé façon, on peut apprécier un goût différent principalement dû au sévère traitement thermique suivi par l'échantillon.

L'utilisation de la caséine acide est très diversifiée. Elle est utilisée dans l'industrie de la papeterie et du carton, dans les adhésifs pour le bois, dans l'industrie de la peinture, les bétons, l'industrie textile, pour la fabrication des fibres synthétiques, pour le tannage de cuir (National Casein Co., 1989), et même pour l'industrie pharmaceutique et des produits pour la beauté, comme le spray pour les cheveux, les shampooings (Rhône-Electra, 1990), de crème pour les mains (Cotte, 1991). La caséine a été aussi employée dans l'industrie pour clarifier les vins, la bière et les jus de fruits (Southward, 1997). D'égalé façon, on peut la trouver pour la fabrication de fertilisants et des substances qui attirent les insectes (Sharp, 1987).

La caséine préserve plutôt son application dans l'industrie plastique pour l'élaboration de la "galalithe" (du Grec "pierre du lait"). L'emploi de la caséine et des caséinates dans l'industrie alimentaire est en vigueur depuis 1904, et chaque jour, elle trouve des nouvelles applications. Les produits les plus développés sont l'industrie des produits carnés, la crème pour le café, la panification, l'industrie de céréales, les boissons instantanées, les pâtes, les

produits fromagers, les glaces et les desserts congelés, les confiseries, les produits fermentés, les soupes et les sauces, substituts de matières grasses, les aliments infantiles, les boissons sportives, les barres nutritionnelles, les produits pharmaceutiques (Koide, 1985; Morr, 1987).

L'addition de caséinate de sodium aux boissons du type lait en combinaison avec des graisses végétales et du sirop de maïs a eu un grand succès aux USA. D'autres laits similaires ont été développés au Royaume Uni ou bien dans l'ex-union soviétique. L'acceptation principale de cette sorte de boissons réside qu'elles sont appauvries en lactose, et peuvent être consommées par une population intolérante au lait. L'élaboration de ces produits est similaire aux substituts de crème pour le café et du type crème chantilly.

h) Production des caséinates.

Les caséinates sont produits commercialement à partir du lait écrémé à pH 4,6 et température de 20°C (Southward, 1997). Les caséines acides peuvent être traitées avec une solution d'alcali (généralement hydroxyde de sodium, de potassium, de magnésium ou de calcium) à 80 - 90°C et pH de 6,2 - 6,7. Les caséinates solubilisés sont alors pasteurisés et séchés. Les caséinates sont solubles au-dessus de pH 5,5. Les caséinates de sodium et de potassium présentent de meilleures propriétés fonctionnelles (particulièrement la solubilité) que ceux de calcium et de magnésium. Les caséinates de sodium et de calcium sont très thermostables. Les caséinates sont utilisés amplement dans l'industrie alimentaire, dans le lait ou les produits laitiers, le café aromatisé, la pâtisserie, les viandes non grasses, l'alimentation pour nourrissons ; aussi bien que dans les industries du papier, carton, colle, peinture, cuir, fibres textiles et plastiques (Southward, 1989). Les films de caséinate sont fortement solubles dans l'eau. Afin de diminuer leur solubilité à l'eau, les films peuvent être traités avec une solution tampon au pH_i de la caséine (Krochta *et al.*, 1990).

3. LA FORMATION DES FILMS PROTEIQUES.

On peut distinguer deux grandes voies de formation de films : la voie sèche et la voie humide.

3.1- *Production de films par voie sèche*

Cette voie de transformation est permise lorsque le biopolymère est thermoplastique, c'est à dire lorsque les transformations générées par une augmentation de la température sont réversibles. Des connaissances préliminaires du comportement thermoplastique doivent être développées afin de pouvoir maîtriser le procédé. (Savary *et al.*, 1993; Colonna *et al.*, 1989).

Le polymère retrouve son état initial après refroidissement. Dans ce cas, la mise en forme des matériaux peut être faite par extrusion, calandrage, extrusion - soufflage, injection, thermoformage qui sont des procédés classiquement employés pour la mise en forme de polymères synthétiques. Les critères à prendre en considération lors du processus sont donc sensiblement les mêmes que pour les matériaux à base de polymères synthétiques (Stepito et Tomka, 1987).

Des mélanges à base de protéines, essentiellement du gluten, du collagène et des protéines myofibrillaires sont transformés par voie sèche. Des mousses solides de protéines myofibrillaires de poisson ont été réalisées par thermoformage (Cuq, 1996). La transformation des protéines par cette voie n'est possible que lorsque la température de thermoformage est supérieure à celle de transition vitreuse. Les caractéristiques finales du matériau sont très dépendantes des conditions de température et d'humidité relative lors de la mise en forme.

3.2- *Production de films par voie humide*

Dans le procédé humide, avant toute synthèse de films protéiques, une étape de solubilisation de la protéine est nécessaire. La solubilité des protéines est plus ou moins sensible au pH en fonction de la proportion d'acides aminés polaires ionisées. Pour le gluten, seules des conditions fortement acides $\text{pH} < 5$ ou fortement basiques $\text{pH} > 10,5$ permettent une solubilisation suffisante autorisant la formation d'un réseau et ainsi l'obtention d'un film (Watanabe et Okamoto, 1973; Gontard *et al.*, 1992). Des films à base de protéines myofibrillaires de poisson ont été obtenus par dissolution des protéines dans une solution aqueuse à $\text{pH} = 3$ (Cuq *et al.*, 1995). Gueguen *et al.* (1998) ont réalisé de films à partir des

isolats de protéines de pois par dispersion dans une solution de glycine + hydroxyde de sodium à pH = 12,5. Pour des films à base de protéines de soja, le pH de solubilisation est compris entre 1 et 12, sauf au pHi de 4,5 (Cheftel *et al.*, 1985). Des films de zéine de maïs ont été obtenus par dissolution de la zéine dans l'éthanol (Gennadios *et al.*, 1990).

Beaucoup de biomatériaux sont produits par cette voie qui consiste à détruire la structure native du biopolymère. La méthode du casting est la plus employée. Elle consiste à préparer une dispersion filmogène des biopolymères dans un solvant approprié, suivi d'une déshydratation sur une surface lisse. Les systèmes solvants utilisés pour les films et les enrobages comestibles sont limités à l'eau et l'éthanol ou bien à la combinaison des deux. Les protéines ne sont pas toutes solubles dans le même solvant qui doit être choisi en fonction du substrat utilisé. La technologie des films comestibles a été largement publiée, en présentant des mécanismes, des techniques de formation et d'application des films, des enrobages et des microcapsules (Banker, 1966; Deasy, 1984).

De la mise en solution jusqu'à l'obtention du film, des interactions protéine/solvant et protéine/protéine se développent. Pour comprendre ces interactions, Kester et Fennema (1986) ont suggéré un modèle basé sur un mécanisme associatif de séparation de phase ou coacervation. La coacervation peut être simple ou complexe suivant la présence d'un ou deux biopolymères dans le système solvant.

3.2.1- Coacervation Simple

Plusieurs auteurs ont étudié la formation du film par coacervation simple (Kester et Fennema, 1986; Guilbert et Biquet, 1989; Donhowe et Fennema, 1994). La coacervation est basée sur la séparation de la phase solvant du biopolymère par précipitation ou changement de phase dû à une incompatibilité. Deux phases coexistent : une phase est riche en solvant avec peu de biopolymère et l'autre phase est constituée presque exclusivement de biopolymère. La coacervation simple est favorisée par changement des conditions de solvation (notamment modification du pH, de la température ou de la force ionique) ou le plus souvent par évaporation du solvant (Kondo et Van Valkenbourg, 1979) qui produit une augmentation de la concentration en polymère permettant d'obtenir la formation d'un réseau tridimensionnel. Le mécanisme de gélification implique l'entrecroisement intermoléculaire entre les groupes

aminés et carboxyliques d'acides aminés latéraux ou l'amplification des interactions secondaires telles que les liaisons hydrogène (Glicksman, 1982).

Dans certaines circonstances, les effets peuvent être combinés pour favoriser la formation du film. Par exemple, les films produits par casting à chaud combinent la dénaturation thermique et l'évaporation du solvant (Fukushima et Van Buren, 1970; Gennadios *et al.*, 1994). La dénaturation thermique de la protéine provoque l'orientation des groupes hydrophobes, vers la surface air/film, et des interactions moléculaires internes afin de créer un réseau bien structuré. De même, les films réalisés à partir d'une solution contenant des acides ou des bases volatiles proviennent d'un effet combiné de l'augmentation de la concentration en polymère et la modification de pH en raison l'évaporation de l'acide ou la base.

3.2.2. Coacervation Complexe

La coacervation complexe se produit quand deux biopolymères au moins (de charge électrique opposée) sont combinés dans un système solvant, entraînant des interactions chimiques et de précipitation du complexe de biopolymère. Les interactions entre les biopolymères sont principalement électrostatiques et dépendent du pH et de la force ionique. La charge ionique des biopolymères est le facteur le plus influent sur la coacervation complexe (Xia et Dubin, 1994). La basse température favorise également le phénomène de coacervation en augmentant les interactions biopolymère/biopolymère, par réduction des mouvements browniens (Flory, 1953). La gélification par évaporation conduit à des concentrations macromoléculaires élevées, à l'agrégation des coacervats (Veis *et al.*, 1967 ; Burgess et Carless, 1985) et à la formation d'un réseau tridimensionnel.

3.3- Films à base des protéines totales du lait

La capacité filmogène des caséines et des protéines de lactosérum a été étudiée amplement dans la dernière décennie. Des films et des enrobages comestibles peuvent être formés à partir des diverses fractions ou de la totalité des protéines du lait (McHugh et Krochta, 1994a,b,c,d; Maynes et Krochta, 1994).

Des études fondamentales ont été réalisées pour mieux comprendre la formation des films et pour associer leurs propriétés aux facteurs moléculaires et environnementaux (McHugh *et al.*, 1993; Torres, 1994; Gennadios *et al.* 1994; Krochta, 1997).

Krochta (1997) a montré l'effet de la structure protéique et de la composition des films comestibles sur leurs propriétés barrières. Les interactions biopolymère-biopolymère sont essentielles pour la formation d'un réseau tridimensionnel continu et cohésif. La nature, le type et l'intensité des interactions dépendent des protéines impliquées et des conditions environnementales.

Maynes et Krochta (1994) ont étudié la formation de films comestibles à partir de lait écrémé en poudre. La présence de lactose, qui cristallise pendant la formation de film, conduit à un film non homogène et à l'adhérence de film sur le support. Il a également été constaté que la présence de lactose augmente la température minimum exigée pour la dénaturation thermique des protéines (Bernal et Jelen, 1985). L'ajout de sorbate de potassium lors de l'hydratation de la poudre de lait empêche la cristallisation du lactose et l'obtention de films (Maynes et Krochta, 1994). Cependant, le lactose peut être extrait du lait écrémé en poudre par ultrafiltration ou par coagulation des protéines par ajout d'éthanol, suivie d'une filtration. Les films des protéines totales du lait obtenus par ultrafiltration sont plus flexibles et présentent une meilleure barrière à l'eau. La dénaturation par l'éthanol réduit la solubilité du film dans l'eau mais conduit à une plus grande rigidité. Enfin, un chauffage de la solution de protéines totales du lait, au-dessus de 135°C, conduit à des films insolubles, plus résistants mécaniquement en raison de la dissociation des micelles et des fortes liaisons intermoléculaires (Singh et Fox, 1989). Cet effet est, en outre, favorisé par la chaleur.

3.4- Films à base de caséines et caséinates.

Les solutions aqueuses de caséinates présentent des qualités filmogènes dues à leur capacité de former des liaisons type hydrogène, électrostatiques et hydrophobes (Ho, 1992; Avena-Bustillos et Krochta, 1993; McHugh et Krochta, 1994 a,b). Ces films sont facilement hydrosolubles ; cependant, soumettant ces films à une solution tampon au point isoélectrique de caséine (pH 4,6), des films insolubles dans l'eau sont obtenus (Krochta *et al.*, 1990). De façon générale, plus les films sont formés aux pH proches du pH isoélectrique, plus ils seront résistants (Barbeau et Kinsella, 1986). À pH 6-7, la plupart des protéines alimentaires possèdent une charge de réseau négative, ce qui permet d'obtenir des films cohésifs.

La caséine peut également être polymérisée enzymatiquement (Ikura *et al.*, 1980). Par exemple, Motoki *et al.* (1987a) ont utilisé la transglutaminase (R-glutaminy-peptide: amine α -glutamyltransferase) pour la préparation du film d' α -s₁ caséine comme support des enzymes

immobilisées. La transglutaminase est une enzyme calcium dépendante, qui catalyse la formation des liaisons intra et/ou intermoléculaires covalentes de d' α -(α -glutamyl) lysil entre les molécules de protéine (Folk, 1980; Folk et Chung, 1985). Plusieurs enzymes ont été immobilisées avec succès par inclusion dans des films de protéine et leur activité enzymatique n'a pas été détruite (Motoki, *et al.*, 1987a). Les émulsions sont les systèmes colloïdaux contenant deux fluides partiellement miscibles et un agent tensioactif. La formation d'émulsion augmente dans la zone inter-phasique, aussi bien que l'énergie libre. Ukai *et al.* (1976) ont élaboré un enrobage efficace pour limiter le transfert de masse, à base d'une émulsion protéine et lipide. Le coût élevé et la disponibilité limitée des transglutaminases limitent son utilisation dans l'industrie alimentaire.

Si la vitesse d'évaporation du solvant est élevée, la caséine α est intimement associée à la micelle, mais au-dessous de 40°C, 50% des complexes peut se dissocier (Singh et Fox, 1989). S'il existe un faible gradient de température entre la solution filmogène et la surface, les films obtenus seront plus cohésifs (Banker, 1966). La température excessive a comme conséquence une rapide évaporation du solvant qui immobilise prématurément les molécules de biopolymère avant qu'elles n'aient l'occasion de fusionner dans un film continu. Le protocole de mise en forme influence l'efficacité de l'évaporation du solvant qui est plus rapide quand la suspension est pulvérisée que par casting ou immersion.

3.5- *Films à base de protéines de lactosérum*

Les isolats de protéines de lactosérum (IPL) et les concentrés protéiques de lactosérum (CPL) ont été d'intérêt croissant pour leur utilisation fonctionnelle. Les CPL contiennent de 25 à 80% de protéines de lactosérum; tandis que les IPL ont une teneur en protéines supérieure à 80%. Pour obtenir les CPL, des technologies de membrane sont utilisées actuellement, comme l'ultrafiltration et la nanofiltration, pour éliminer le lactose, les sels minéraux et autres composants de faible poids moléculaire du lactosérum (Morr et Ha, 1993). Les protéines de lactosérum purifiées sont grandement utilisées dans la confiserie, les boissons, les produits laitiers, la charcuterie et les aliments infantiles, aussi bien que pour l'alimentation des animaux (Kinsella, 1984; de Wit, 1989). Les films à base de CPL ont été développés et comparés à d'autres films protéiques (Banerjee *et al.*, 1994; Chen, 1995).

Les protéines de lactosérum sont dénaturées à environ 100°C, formant des liaisons disulfures avec d'autres protéines (Creamer et Matheson, 1980; Noh *et al.*, 1989 ; Shimada et Cheftel, 1989; Adrian et Frange, 1991). Pour former un film, les protéines de lactosérum exigent une dénaturation qui permet d'ouvrir leur structure globulaire, de casser les liaisons disulfures et de former de nouvelles liaisons (McHugh *et al.*, 1993). McHugh *et al.* (1994) ont constaté que des films d'isolat de protéines de lactosérum pourraient être produits en chauffant des solutions de protéines de lactosérum (8-12%) entre 75 et 100°C. Les films ont été étalés et séchés une nuit à température ambiante. Les réactions d'oxydation des groupements thiols et d'échange de thiol-disulfure ont été induites par traitement thermique, ayant pour résultat la formation des liaisons disulfures intermoléculaires nécessaires pour produire des films.

Une fois dénaturées, les protéines de lactosérum forment des films résistants mais qui nécessitent des plastifiants pour les rendre plus souples et moins fragiles ; cependant ceux-ci augmentent la perméabilité à vapeur d'eau du film. Les films d'isolat de protéines de lactosérum sont d'excellentes barrières au CO₂ et à l'O₂ (Krochta, 1992).

Une dénaturation irréversible de β -Lg a également lieu à pH 6.5, faisant participer les groupes sulfhydryls (Mills, 1976). La libération des groupes sulfhydryls normalement inclus dans la β -Lg et sérum albumine bovine (BSA) peut être obtenue par chauffage, par traitement alcalin (Mulvihill *et al.*, 1991) ou à l'urée (Xiong et Kinsella, 1990) et par l'adsorption à une interface (Monahan *et al.*, 1993; McClements *et al.*, 1993).

Mahmoud et Savello (1992; 1993) ont examiné les propriétés mécaniques et le transfert de la vapeur d'eau de l' α -La, de la β -Lg et d'un mélange des deux. Ils ont employé la transglutaminase comme agent de réticulation pour la formation des films. Cinq pour cent des protéines de lactosérum ont été polymérisées par liaison covalente dans une solution tampon à pH 7.5 sous conditions réductrices (Dithiothreitol) avec des ions calcium et du glycérol. Le Dithiothreitol change la configuration protéique, et l'accès aux résidus lysil et glutamyle facilitant l'accès au site actif du transglutaminase pendant la réticulation (Aboumahmoud et Savello, 1990). La présence de plastifiant comme le glycérol affecte directement la résistance à la rupture du film, son hydratation et sa résistance au transfert de vapeur d'eau. Les films à base des mélanges d' α -La et β -Lg sont plus perméables à la vapeur d'eau que ceux à base des fractions protéiques purifiées. Les films sont insolubles dans le dodecyl sulfate de sodium et le β -mercaptoéthanol, et l'eau (McHugh et Krochta, 1994), mais sont hydrolysées en présence des enzymes protéolytiques (Mahmoud et Savello, 1993).

4. MOBILITE MOLECULAIRE

A partir des années 80, les modèles utilisés dans la science des polymères synthétiques se sont avérés insuffisants pour décrire des systèmes alimentaires complexes qui exigent d'intégrer les relations structures - propriétés fonctionnelles. Deux transitions sont observées de façon générale dans les polymères cristallins: la fusion et la transition vitreuse. L'état condensé des polymères semi - cristallins est constitué d'un mélange de deux phases : une phase cristalline et une phase amorphe. Leur importance respective est déterminée en fonction de la vitesse de refroidissement employée, à partir de l'état fondu. Si la vitesse de refroidissement est faible, les chaînes pourront s'organiser et former des cristaux, tandis que, si la vitesse de refroidissement est rapide, le matériau se fige en l'état et est dit amorphe. On distinguera au-delà de la T_g , l'état caoutchoutique et à température inférieure, l'état vitreux (Figure 3).

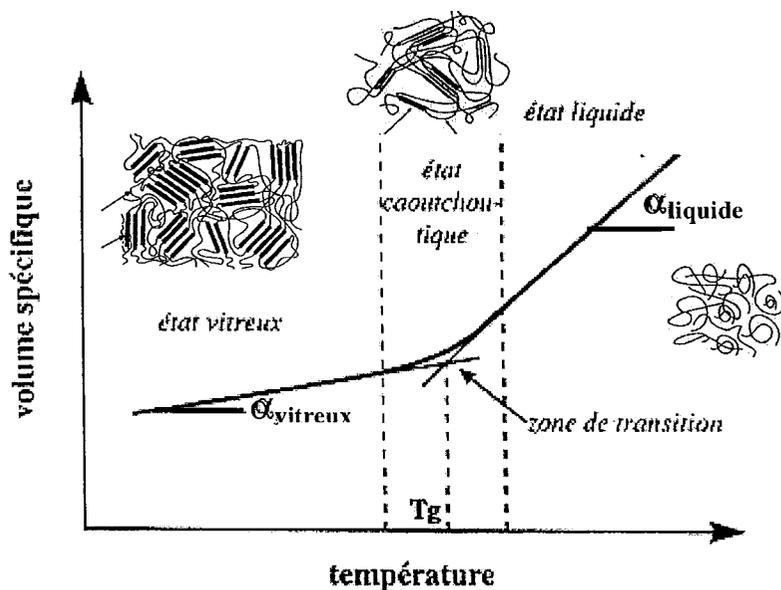


Figure 3: Variation du volume spécifique en fonction de la température. Transition du second ordre.

4.1- Fusion.

La Fusion concerne uniquement les parties cristallines qui, sous l'action de la température, subissent une transition solide-liquide. Au sein de la phase liquide, la mobilité des macromolécules est maximale et totalement désorganisée quand la température est supérieure à la température de fusion (T_f). La fusion est une transition du premier ordre (Figure 4). Lors d'une fusion, les dérivées premières de la fonction de Gibbs G , décrivant l'état d'équilibre d'un système, sont affectées. L'Entropie (S), l'Enthalpie (H) et le Volume (V) présentent des discontinuités importantes au passage de la température de fusion.

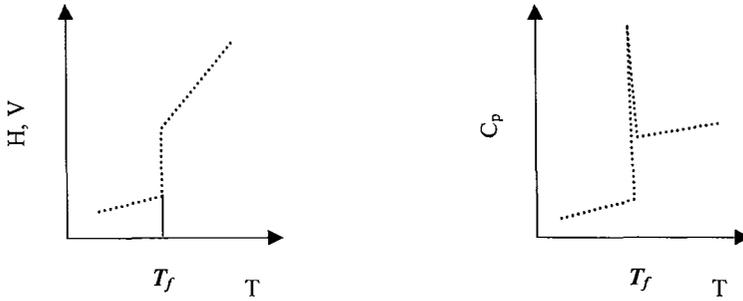


Figure 4 : Transition du premier ordre (d'après Allen, 1993)

4.2- Transition Vitreuse.

La transition vitreuse concerne la phase amorphe du polymère. La température de transition vitreuse caractérise le passage d'un solide amorphe vitreux à un solide moins rigide qui présente des propriétés de souplesse (solide amorphe caoutchoutique). En dessous de T_g , les mouvements macromoléculaires sont pratiquement inexistantes. Seules les oscillations des atomes autour de leur position d'équilibre sont possibles. Le polymère présente un état appelé vitreux, dans lequel le produit est relativement stable et les mobilités moléculaires sont restreintes.

Lorsque la température est au-dessus de T_g , des déplacements sont permis. Les déplacements sont induits par des mobilités coopératives (10 à 20 unités) et par une énergie d'activation de

l'ordre de 200 à 400 kJ. L'état du matériau est appelé caoutchoutique, le produit est instable et présente même des recristallisations sur l'intervalle $T_f - T_g$ (Figure 5).

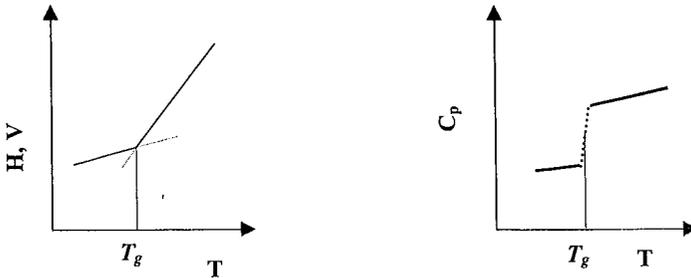


Figure 5: Transition de second ordre (d'après Allen, 1993)

Pour mieux comprendre le phénomène de transition vitreuse, il faut l'étudier par deux différentes approches : thermodynamique et cinétique.

4.3- Approche thermodynamique

A la différence de la fusion, la transition vitreuse affecte les dérivées du second ordre de G , comme la capacité calorifique C_p . Dans les polymères, contrairement aux transformations du premier ordre qui concernent la phase cristalline, les transformations du second ordre caractérisent la phase amorphe. Malheureusement, la description de la transition vitreuse par la thermodynamique classique, qui ne décrit que des états d'équilibres, est limitée. En effet, la température de transition vitreuse est dépendante de la cinétique de chauffage ou de refroidissement appliquée au matériau. Cette transition n'est donc pas réellement une transition thermodynamique.

4.4- Approche Cinétique

Des modèles prenant en compte l'agitation thermique et les interactions intermoléculaires ont été développés. L'agitation intramoléculaire dépend essentiellement de la température du milieu, alors que l'agitation intermoléculaire revêt un aspect cinétique lié à la structure macromoléculaire. Les propriétés des matériaux résultent d'une combinaison de ces deux paramètres. La transition vitreuse correspond à des modifications de degrés de liberté de

mouvements des chaînes macromoléculaires situées dans les parties amorphes du polymère. Une approche complète de l'état vitreux devra donc prendre en compte à la fois l'aspect thermodynamique et la mobilité moléculaire du système. De nombreuses théories moléculaires ont été développées pour expliquer le phénomène de la transition vitreuse : la théorie du volume libre, la théorie des mouvements coopératifs contrôlés par l'enthalpie et les théories du couplage.

4.5- *Théorie du volume libre.*

Cette théorie a été développée par Doolittle (1951) pour expliquer la variation de la viscosité en fonction de la température.

Le volume libre est l'espace dans lequel les molécules d'une phase condensée peuvent apparemment se déplacer. Le volume libre, réparti dans le volume total, est régi par la théorie des fluctuations. Ferry, en 1980, a adapté cette théorie aux macromolécules et l'a enrichi en ajoutant une hypothèse supplémentaire : pour passer d'une position à une autre, un segment de polymère doit disposer, dans son entourage immédiat, d'un certain volume libre au moment du déplacement. Le concept de volume libre concilie l'approche cinétique et l'approche thermodynamique. En effet, l'enthalpie libre totale du système dépend du volume libre par l'intermédiaire de l'entropie. Pour obtenir un état d'équilibre thermodynamiquement stable (enthalpie libre minimale), il faut que le volume libre diminue quand la température diminue. Pour $T > T_g$, les macromolécules s'ajustent de telle sorte que le volume libre corresponde au minimum d'enthalpie libre à une température donnée. Pour $T < T_g$, les mouvements macromoléculaires sont gênés par la grande viscosité, et les macromolécules restent immobilisées. Le volume libre reste constant dans l'état vitreux. Ce concept est largement employé du fait de sa simplicité, mais plusieurs problèmes ont été soulevés par ce modèle (Perez, 1994) dont le principal vient du fait que le volume libre est considéré dans son ensemble et des simulations dynamiques au niveau moléculaire ont montré que pour un volume libre total constant, des modifications dans la répartition des volumes libres locaux pouvait avoir lieu (Rigby et Roo, 1990).

4.6- *Mouvements coopératifs contrôlés par l'entropie.*

Adam et Gibbs (1965) ont décrit les mobilités moléculaires à des températures proches de T_g en terme de mouvements coopératifs activés par la température. Cette théorie se base sur le

fait que la mobilité moléculaire nécessite un minimum de désordre à l'intérieur du système (entropie critique, S_c^*) et aussi au fait que les changements conformationnels sont liés à des franchissements de barrières énergétiques. Un système à l'état de liquide surfondu n'est pas homogène ni en entropie, ni en enthalpie. La probabilité pour qu'une transition se produise est dite équivalente à une fréquence de transition qui correspond à un temps τ_{mol} décrit comme suit:

$$\tau_{mol} = \tau_0 \frac{\Delta\mu S_c^*}{RT S_c} \quad \text{Équation 1}$$

avec $\Delta\mu$, la barrière de potentiel à franchir pour qu'un changement conformationnel se produise, C_p , la capacité calorifique et S_c^* , l'entropie critique pour qu'une transition se produise. La relation, sous cette forme, décrit la mobilité moléculaire au-dessus de la transition vitreuse, mais ces résultats peuvent être extrapolés en dessous de T_g pour établir la relation suivante:

$$S_c = C_p \ln \frac{T_g}{T_2} \quad \text{Équation 2}$$

Puis

$$\tau_{mol} = \tau_0 \frac{\Delta\mu S_c^*}{RT C_p \ln \frac{T_g}{T_2}} \quad \text{Équation 3}$$

L'Équation 3 repose sur une hypothèse supplémentaire qui veut que l'entropie du système S_c soit considérée constante. Ce modèle a été très employé, mais l'hypothèse de distribution spatiale uniforme de l'entropie et du saut simultané de plusieurs atomes au-delà de leur propre barrière énergétique sont contestables (Perez, 1994).

4.7- Théories du couplage

Dans ces théories interviennent des fonctions de corrélation utilisées pour décrire la dynamique des liquides. Deux grandes voies peuvent être utilisées pour calculer ces fonctions de corrélation. La première, utilisée par Pastore *et al.* (1988) et basée sur la thermodynamique, utilise l'équivalence entre cinétique et énergie thermique pour décrire le changement de position d'un atome. La seconde décrite par Sjogren (1989) utilise une fonction de viscosité généralisée, exprimée par le produit de fonctions de corrélation introduisant un effet de couplage entre les différents modèles de vibration. Le coefficient de couplage varie avec la densité et la température. Cette théorie introduit la notion d'« effet cage » : un atome ou une molécule est emprisonnée par les unités environnantes pendant un certain temps.

5. RELAXATION

L'origine des relaxations est couramment attribuée à des mouvements locaux de la chaîne principale ou à des rotations des groupements terminaux ou des chaînes ramifiées (Ferry, 1980). De manière générale, deux cas peuvent être distingués :

- Les mouvements mis en jeu lors de la relaxation ne sont pas coopératifs. Ils trouvent leur origine dans des mouvements de groupements latéraux qui bougent indépendamment. Ces relaxations sont dues à des mouvements localisés de groupements latéraux comme les groupes méthyles du propylène.
- Ces mouvements possèdent une certaine coopération. Ces relaxations sont dues à des mouvements locaux de la chaîne principale. Cependant, ces mouvements sont dits secondaires car ils restent localisés et n'impliquent que des segments de chaîne réduits, ces relaxations secondaires sont impliquées dans les modifications de propriétés telles que les propriétés mécaniques (Robeson et Faucher, 1969).

5.1- Relaxations et plastification des protéines

Plusieurs études ont été menées sur le collagène (Nomura *et al.*, 1977; Pineri *et al.*, 1978) et l'élastine (Gosline et Frenche, 1979; Scandola et Pezzin, 1978) où trois relaxations basses températures sont observées (Nomura *et al.*, 1977). Un pic est attribué au polymère sec et les deux autres relaxations sont affectées par la teneur en eau.

De nombreux facteurs influent sur la transition vitreuse. Ainsi, pour des polymères purs sans diluants, Ferry (1980) a montré qu'une diminution de la masse molaire moyenne diminue la température de transition vitreuse, T_g . Les extrémités de chaînes sont considérées comme des défauts apportant un excès de volume libre et donc un abaissement de T_g . D'une façon générale, toute irrégularité de structure entraîne une diminution de T_g . Ce phénomène est appelé plastification interne. La valeur de T_g peut être également modifiée par l'addition de molécules de faible poids moléculaire appelés plastifiants donnant lieu à la plastification externe. Le plastifiant permet de favoriser la plastification ou mouvements à l'origine de la flexibilité ou de l'extensibilité du polymère (Sears et Darby, 1982). Sa présence conduit à une diminution de T_g . La Température de transition vitreuse du mélange diminue de façon continue avec l'augmentation de la concentration en plastifiant car la masse molaire moyenne du mélange diminue. L'ajout de plastifiant augmente l'espace intermoléculaire ou volume libre, diminue la viscosité locale amenant à une augmentation de mobilité du mélange polymère-plastifiant. La plastification implique un mélange et une compatibilité intimes entre le polymère et le plastifiant.

L'eau est un plastifiant de la plupart des polymères hydrophiles. D'autres plastifiants sont couramment utilisés dans l'élaboration de biomatériaux. Les plus employés dans le cas de biopolymères sont des polyols tels que glycérol, sorbitol, 1,4 butanediol, propylène glycol, éthylène glycol. Le saccharose, le phtalate d'éthyle, le citrate de butyle, l'acide lactique et les lactates dérivés sont également, mais plus rarement utilisés.

5.1.1- Plastification par l'eau.

Pour les faibles taux d'humidité, l'étude de la transition vitreuse des biopolymères présente des problèmes spécifiques. Ces systèmes sont hydrophiles et le nombre de liaisons hydrogène est important. Les interactions hydrogènes polymère - polymère sont à l'origine d'une T_g élevée. De ce fait, la T_g du biopolymère pur est, dans la plupart de cas, impossible à mesurer avant la dégradation de l'échantillon quelle que soit la méthode utilisée. Dans ce cas, il est possible d'extrapoler une T_g pour le polymère pur à l'aide de relations décrites dans la littérature.

Certaines publications font référence à la transition des biopolymères sous leur forme native mais la majorité des données concernent le polymère rendu amorphe par une étape de déstructuration. Il est par exemple impossible de mesurer la T_g de la caséine sèche. Cette

température est cependant estimée à 144°C (Kalichevsky *et al.*, 1993b). Il est possible de mesurer cette T_g lorsque sa valeur est abaissée par l'ajout d'un plastifiant tel que l'eau. Dans tous les cas, l'eau provoque une diminution de la T_g . La diminution de T_g par l'eau est généralement bien prédite par les équations de Gordon et Taylor et celle de Couchman et Karasz

5.1.2- Effet des plastifiants autres que l'eau.

L'eau est un plastifiant très efficace, cependant sa présence amplement répandue dans le milieu extérieur la rend difficile à contrôler. L'effet des autres plastifiants est souvent associé à l'action de l'eau et la relation de Couchman Karasz étendue à trois composants est utilisée. L'adéquation entre les valeurs calculées et les valeurs expérimentales est variable suivant le type et la concentration en plastifiant. La tendance générale de l'effet des plastifiants sur la température de transition vitreuse tend à une diminution de l'efficacité du plastifiant pour les forts taux en plastifiant. De même, une action plastifiante plus efficace est observée pour les faibles teneurs en eau que pour les teneurs en eau élevées. Plusieurs éléments amènent à penser que pour les taux élevés de plastifiants, une séparation de phase aurait lieu et entraînerait un écart entre les valeurs expérimentales et celles prédites par la relation Couchman Karasz. Des plus, des études des propriétés thermomécaniques de ce type de systèmes ternaires indiquent souvent l'existence d'une relaxation à des températures proches de celles de la transition vitreuse du plastifiant pur en plus de la transition vitreuse du mélange. Cet effet confirmerait la présence de deux phases: une phase riche en polymère et une autre concentrée en plastifiant. Ceci a été notamment étudié dans les systèmes suivants : amylose-glycérol-eau (Lourdin *et al.*, 1997b) amilopectine-fructose-eau (Kalichevsky et Blanshard, 1993), gluten-sucre-eau (Kalichevsky *et al.*, 1992), caséine-fructose-eau (Kalichevsky *et al.*, 1993b).

5.2- Modélisation de la plastification

Le degré de plastification d'un polymère peut être évalué à partir de modèles théoriques ou semi-empiriques.

5.2.1- Modèles théoriques:

Ils sont basés sur des considérations thermodynamiques et sur la théorie des volumes libres. Des nombreux auteurs utilisent l'équation de Kelly et Bueche (1961). Cependant, cette équation n'a jamais été utilisée pour la plastification des protéines.

$$Tg = \frac{\Delta\alpha_p V_p Tg_p + \Delta\alpha_s (1-V_p) Tg_s}{\Delta\alpha_p V_p + \Delta\alpha_s (1-V_p)} \quad \text{Équation 4}$$

Où $\Delta\alpha$ est le changement de coefficient d'expansion thermique au passage de la transition vitreuse, V la fraction volumique et Tg la température de transition vitreuse, les indices p et s concernent le polymère et le solvant. Cette relation dérivée de la théorie des volumes libres n'est pas valable si la masse moléculaire de polymère est supérieure à la masse moléculaire critique, nécessaire à la formation d'enchevêtrements. Elle est souvent appliquée en considérant $\Delta\alpha_p = 4,8 \cdot 10^{-4} K^{-1}$ et en faisant varier Tg_s .

Les équations de Couchman (1978) et de Couchman - Karasz (1978) sont basées sur des modèles thermodynamiques des mélanges et les auteurs ont proposé une équation du même type très utilisée pour les protéines:

$$Tg = \frac{X_p \Delta C_{p_p} Tg_p + X_s \Delta C_{p_s} Tg_s}{X_p \Delta C_{p_p} + X_s \Delta C_{p_s}} \quad \text{Équation 5}$$

Où X est la fraction massique ou molaire, et ΔC_p le changement de chaleur spécifique massique ou molaire à Tg . Kalichevsky *et al.* (1992a,b) ont utilisé cette équation pour modéliser l'effet plastifiant de l'eau, du saccharose, du glucose et du fructose sur le gluten de blé, ainsi que l'effet de lipides et d'émulsifiants. Beck *et al.* (1996) ont également utilisé ce type de modèle pour prédire la Tg de mélanges zéine - plastifiant.

Kalichevsky et Blanshard (1992) ont adapté l'équation de Couchman-Karasz, pour prédire l'évolution de Tg dans un système ternaire eau - amylopectine - caséine. Cette adaptation a ultérieurement été utilisée par Gontard et Ring (1996) pour un système ternaire eau - gluten

de blé- glycérol et par Cuq et al (1997a) pour un système quaternaire protéines myofibrillaires de poisson - eau - saccharose - sorbitol. L'équation (4) peut être écrite pour "n" constituants miscibles sous la forme:

$$Tg = \frac{\sum_{i=1}^n Xi\Delta Cp_i Tg_i}{\sum_{i=1}^n Xi\Delta Cp_i} \quad \text{Équation 6}$$

Avec $\sum x_i = 1$. La difficulté d'application de cette équation réside surtout dans la détermination des Tg_i et des ΔCp_i des constituants purs. En particulier la valeur de ΔCp de l'eau varie, suivant les techniques de mesure et les conditions physico-chimiques, de 0,11 à 1,94 J.g⁻¹. K⁻¹ (Roos, 1995). Cela rend l'utilisation des équations précédentes sujette à caution.

5.2.2- Modèles semi-empiriques

Une approche semi-empirique très simple est obtenue à partir de l'équation de Gordon et Taylor (1952):

$$Tg = \frac{W_p Tg_p + K W_s Tg_s}{W_p + K W_s} \quad \text{Équation 7}$$

Où W est la fraction massique et K une constante empirique. Cette équation ne nécessite pas la détermination des ΔCp ; mais n'est applicable qu'à un mélange binaire. Elle a beaucoup été utilisée pour prévoir l'effet plastifiant de l'eau dans les biopolymères (Roos, 1995) et en particulier par Madeka et Kokini (1996) pour la zéine plastifiée à l'eau.

L'équation de Kwei est une modification du modèle de Gordon et Taylor par l'introduction d'une deuxième constante empirique, Q , et a été utilisée par Lin *et al.* (1989) pour expliquer le mélange de polymères.

$$Tg = \frac{W_p Tg_p + KW_s Tg_s}{W_p + KW_s} + QW_p W_s \quad \text{Équation 8}$$

Beaucoup de significations ont été données à la valeur de K dans l'équation de Gordon Taylor ou celle de Kwei. Cette constante représenterait le rapport de $\Delta\alpha$ ou ΔCp des constituants purs (p et s) à Tg . Ces interprétations semblent valables dans le domaine défini par $0,8 \leq K \leq 1,2$, dans lequel le modèle de Gordon Taylor décrit correctement les mélanges miscibles (Lin *et al.*, 1989). L'ajout du terme $QW_p W_s$ permet d'étendre l'applicabilité de cette équation, car la constante Q tient compte d'interactions spécifiques entre molécules, qui peuvent stabiliser ($Q > 0$) ou déstabiliser le mélange ($Q < 0$)

D'autres approches empiriques sont décrites par Gordon *et al.* (1977) et par Roos (1995). La plus simple de toutes est l'équation de Fox (Equation 13)

$$\frac{1}{Tg} = \frac{W_p}{Tg_p} + \frac{W_s}{Tg_s} \quad \text{Équation 9}$$

On peut également citer l'équation de Jenckel -Heusch (k est une constante empirique)

$$Tg = W_p Tg_p + (1 - W_p) Tg_s + W_p (1 - W_p) k \quad \text{Équation 10}$$

6. LES PLASTIFIANTS DES PROTEINES

L'eau peut être considérée comme le plastifiant naturel des protéines, étant donnée leur structure généralement hydrophile. Les autres plastifiants, classiquement utilisés pour les protéines sont les polyols et les mono-, di- et oligosaccharides (Cuq *et al.*, 1997b). Le Tableau 6 regroupe les principaux systèmes protéine - plastifiant. Il faut signaler que peu d'auteurs précisent dans quelles conditions sont réalisés les mélanges.

Tableau 6 : Effet du plastifiant sur les propriétés thermomécaniques de différents systèmes protéiques.

Protéine	Plastifiant	Effet sur les propriétés thermomécaniques	Références
Caséine	Eau Triéthanolamine	↓ Module élastique, la contrainte à la rupture et la Tg	Somanathan <i>et al.</i> (1995)
Caséine et caséinate de sodium	Eau	↓ Température de mise en forme	Kalichevsky <i>et al.</i> (1993 a, b)
Protéines du Lactosérum	Eau Glycérol	↓ Température de mise en forme	Galiotta <i>et al.</i> (1998)
Gluten de blé	Eau Saccharose Glucose Fructose	↓ Température de mise en forme	Kalichevsky et al (1992a,b)
	Eau Glycérol Sorbitol	↓ Température de mise en forme	Redl <i>et al.</i> (1998)
Protéines Myofibrillaires	Glycérol Sorbitol Glucose	↓ Module élastique, la contrainte à la rupture et la Tg	Cuq <i>et al.</i> (1997 a,b)
	Eau Saccharose Sorbitol.	↓ Température de mise en forme	Cuq <i>et al.</i> (1997c)

7. L'INFLUENCE DE LA STRUCTURE DU FILM SUR SES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES :

Les films comestibles doivent répondre à des exigences fonctionnelles spécifiques, telles que barrière à l'humidité, barrière aux solutés et aux gaz, résistance à l'eau et aux lipides, aspect, propriétés mécaniques et rhéologiques. Tout ceci dépend du type de polymère et du procédé de fabrication utilisé. Le biopolymère doit assurer une forte cohésion moléculaire.

Le degré de cohésion agit directement sur les propriétés du film, telles que la résistance, la flexibilité ou la perméabilité. Une cohésion forte produit une réduction de la flexibilité du matériau et de la perméabilité aux gaz et aux solutés. Le degré de cohésion dépend principalement de la structure du biopolymère et des conditions physico-chimiques de fabrication et d'utilisation du film, comme la température, la pression, l'hydratation, la méthode d'évaporation du solvant, la présence de plastifiant et d'agent polymérisant du film.

Un degré d'ordre élevé des chaînes de polymère favorise la cohésion de film. L'évaporation excessive du solvant ou un refroidissement peut quelquefois engendrer des films sans cohésion. Ceci est provoqué par l'immobilisation rapide des molécules de polymère, avant que ces dernières puissent former un film cohérent et continu.

Des additifs (plastifiants, stabilisants, agents de texture, ...) sont ajoutés lors de la fabrication pour améliorer les propriétés fonctionnelles du film.

La plupart des fonctions propres aux emballages traditionnels sont applicables aux films et enrobages à base de biopolymères. Cependant leurs performances sont généralement inférieures à celles des emballages synthétiques, ce qui explique que leurs caractéristiques fonctionnelles sont ciblées en fonction de la nature de l'aliment. Par ailleurs, dans le cas d'aliments ayant une forte activité de l'eau, les films au contact vont facilement s'hydrater, ce qui restreint souvent leur utilisation à l'emballage des aliments à humidité intermédiaire ou secs.

7.1- Propriétés barrières (H_2O , gaz, arôme)

Manheim et Passy (1985) définissent la perméabilité comme le taux de transmission d'un pénétrant au travers d'un matériau résistant. La perméabilité peut être corrélée et modélisée par la loi de diffusion de Fick et la loi de solubilité de Henry. La perméation se fait selon trois étapes: l'adsorption du pénétrant sur le matériau, sa diffusion à travers le film sous l'action d'un gradient de potentiel chimique et, enfin, sa désorption (Rogers, 1985).

On définit un coefficient de diffusion (D) qui décrit le mouvement des molécules dans le milieu et représente une propriété cinétique du système perméat - polymère (Rogers, 1985). A l'état stationnaire, pour une température et une différence de pression partielle constantes, le flux de perméat est approché par la loi de diffusion de Fick (Crank, 1975)

$$J = -D \frac{dC}{dX} \quad \text{Équation 11}$$

où J représente le flux du perméat, D la diffusivité du perméat et $\frac{dC}{dX}$ le gradient de concentration dC à travers un film d'épaisseur dX .

Les phénomènes de sorption dépendent de la solubilité. On définit un coefficient de solubilité S° qui décrit la solubilité d'un perméat dans une matrice. Elle constitue une caractéristique thermodynamique du système perméat-polymère (Payre et Payre, 1983). A l'équilibre thermodynamique, si la solubilité est indépendante de la concentration du perméat (concentrations de perméat faibles), la pression partielle p du gaz et sa concentration C dans la membrane sont reliées par la loi de Henry

$$C = S p \quad \text{Équation 12}$$

ou S est la solubilité. Lorsque S et D sont indépendants de la concentration du perméat dans le film, la perméabilité s'écrit:

$$P = D S \quad \text{Équation 13}$$

en supposant D et S constants, l'intégration de l'Équation 11 et sa combinaison avec l'Équation 12 donne :

$$P = \frac{\Delta Q \cdot e}{\Delta t \cdot A (p_1 - p_2)} \quad \text{Équation 14}$$

où ΔQ est la quantité de gaz qui traverse le film de surface A et d'épaisseur e pendant l'intervalle de temps Δt et p_1 et p_2 les pressions partielles du perméat de part et d'autre du film.

La perméabilité des films à base de protéines est définie dans des conditions de température et d'humidité relative bien définies. Le transfert d'humidité à travers une couche mince montre théoriquement, une phase transitoire d'hydratation avant qu'un état d'équilibre soit atteint (Desobry et Hardy, 1994).

La température, la taille, la forme et la polarité de la molécule « passante », comme d'ailleurs les segments de chaîne de polymère, affectent la diffusion et la solubilité. De plus, la

Solubilité et la Diffusivité dépendent du type de liaisons entre les molécules du film, telles que les liaisons hydrogène et les interactions Van Der Waals. Aussi comme, du degré de polymérisation des molécules, la cristallinité, et la présence de plastifiant ou d'autres additifs (Kummins, 1965 ; de Leiris 1986 ; Schwartzberg, 1986).

7.1.1- Perméabilité à la vapeur d'eau

Dans de nombreuses applications, la fonctionnalité la plus importante reste la résistance à la migration de l'eau, car une valeur critique d'activité d'eau doit être impérativement maintenue dans certains aliments. 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.

Les cires sont couramment utilisées pour pelliculer certains fruits et légumes et freiner leur dessiccation (Baldwin, 1994, Wong *et al.*, 1994). De même, 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 (Kester et Fennema, 1986; Baker *et al.*, 1994). Par contre, il est beaucoup plus difficile de retarder la migration d'eau à l'intérieur des aliments hétérogènes tels que les pâtisseries, pizzas, confiseries, céréales (Sapru et Labuza, 1996).

Sous des conditions expérimentales bien définies (% d'humidité relative et température), la perméabilité d'un bioemballage se rapproche d'un système « film perméable ». A titre d'exemple, le Tableau 7 présente les valeurs de PVE de films synthétiques et comestibles à base de protéine de lait.

Tableau 7: Perméabilité à la vapeur d'eau des films à base de protéines de lait et des films synthétiques.

Film	Epaisseur (μm)	T (C)	ΔHR (%)	PVE ($\text{g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{j}\cdot\text{kPa}$)	Référence
PTL(UF) ^a :Gly ^b (4:1)	71	25	0/65	70,3	Maynes et Krochta, 1994
PTL (Extraction lactose) ^c	69	-	0/61	81,0	Maynes et Krochta, 1994
Prot. Totales du Lait, 1100	80	-	0/65	80,9	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
Prot. Totales du Lait, 1230	74	-	0/63	80,1	Maynes et Krochta, 1994
Prot. Totales du Lait, 1350	80	-	0/63	86,1	Maynes et Krochta, 1994
Caséinate de Sodium (CS)	83	-	0/81	36,7	Maynes et Krochta, 1994
Caséinate de Sodium	83	-	0/81	36,7	Maynes et Krochta, 1994
Caséinate de Sodium	83	25	0/81	36,7	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
CS: Sol. Tampon (pH 4,6)	69	25	0/86	19,0	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
CS:Gly (4:1)	69	25	0/43	33,7	Ho et Krochta, 1994
CS:Gly (2:1)	109	23	55/76	310,3	Banerjee et Chen, 1994
CS:Gly (4:1)	81	25	0/74	53,5	Ho et Krochta, 1994
CS + AC S ^d (pH 4,6)	70	25	0/84	24,9	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
CS+ ASC S ^e (pH 4,6)	72	-	0/86	22,3	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
CS+CaCl ₂ ^f (pH 9,6)	58	-	0/83	21,1	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
CS+ASC Ca ^g (pH 4,6)	72	-	0/86	20,9	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
Caséinate de Calcium (CC)	82	-	0/85	28,1	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
CC: Gly (2:1)	105	23	55/71	190,3	Banerjee et Chen, 1994
CP ^h : Gly (2:1)	105	23	55/72	301,7	Banerjee et Chen, 1994
CS:MA ⁱ (2:2)	88	25	0/88	22,1	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
AL ^j :CS (2:8)	74	25	0/92	9,56	Ho et Krochta, 1994
MA:CS (8:2)	46	25	0/86	13,7	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
CC: CA ^k (1,7:1)	82	25	0/95	8,2	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
CC: AC (1,7:1)	75	25	0/97	3,6	Avena-Bustillos et Krochta, 1993
CS: MA: Gly (2:2:1)	141	23	55/72	279,9	Banerjee et Chen, 1994
CC: MA: Gly (2:2:1)	157	23	55/67	179,4	Banerjee et Chen, 1994
CC:MA: Gly (2:2:1)	153	23	55/75	194,9	Banerjee et Chen, 1994
IPL ^l : Gly (1,6:1)	106	25	0/11	6,64	McHugh et Krochta, 1994
IPL: Gly (1,6:1)	121	25	0/65	119,8	McHugh et Krochta, 1994
IPL: Gly (4:1)	129	25	0/77	28,1	McHugh et Krochta, 1994
IPL: Gly (2:1)	111	23	55/76	291,7	Banerjee et Chen, 1994
IPL: Sor ^m (1,6:1)	129	25	0/79	5,3	McHugh et Krochta, 1994
CPL ⁿ : Gly (2:1)	110	23	55/74	255,8	Banerjee et Chen, 1994
CA: IPL: Gly (1,8:3,5:1)	182	25	0/91	34,7	McHugh et Krochta, 1994
IPL: MA: Gly (2:2:1)	111	23	55/74	283,7	Banerjee et Chen, 1994
IPL:CA: Sor (3,5:1,8:1)	19	25	0/93	70,2	McHugh et Krochta, 1994c
IPL: CA: Sor (3,5:1,8:1)	14	25	0/98	62,0	McHugh et Krochta, 1994c
CPL: MA: Gly (2:2:1)	110	23	55/64	95,0	Banerjee et Chen, 1994
PEBD ^o	25	38	90/0	0,08	Smith, 1986
PEHD ^p	25	38	90/0	0,02	Smith, 1986
CELLOPHANE	25	38	90/0	7,27	Taylor, 1986
EVOH ^q (68% VOH ^r)	-	38	90/0	0,25	Foster, 1986

^a Protéines totales du lait obtenues par ultrafiltration, ^b Glycérol, ^c Concentré de protéines totales du lait obtenus par extraction alcoolique de la lactose, ^d Traitement avec tampon d'acétate de sodium, ^e Tampon d'ascorbate de sodium, ^f Chlorure de calcium, ^g Tampon d'ascorbate de calcium, ^h Caséinate de potassium, ⁱ Monoglycérade acétyle, ^j Acide Laurique, ^k Cire d'abeille, ^l Isolat de protéines de lactosérum, ^m Sorbitol, ⁿ Concentré de protéines de lactosérum, ^o Polyéthylène basse densité, ^p Polyéthylène haute densité, ^q Ethylène vinyle alcool, ^r Vinyle alcool

7.1.1.1- Effet de l'addition de lipides dans le film sur la PVE

Krochta et al (1990 a, b) ont montré que les emballages comestibles à base de protéines de lait et de dérivés d'huile végétale peuvent réduire les pertes d'humidité. Globalement, l'incorporation de lipides dans les films réduit considérablement la perméabilité à la vapeur d'eau (PVE) (Chen et Zhang, 1994).

McHugh et Krochta (1994b) ont examiné les effets de l'incorporation de lipides de nature différente dans des films comestibles de protéine de lactosérum. Les effets des monoglycerides acetylés, cires, acides gras et alcools gras ont ainsi été étudiés. Les films à base de cire d'abeille possèdent la PVE la plus faible. De même, Chen et Wang (1994) ont montré que la perméabilité à la vapeur d'eau de films réalisés avec des monoglycerides acetylés, présentent une faible perméabilité à l'eau.

Les lipides possédant des acides gras à longue chaîne, permettent de réduire la PVE par leur faible solubilité à l'eau (Kamper et Fennema, 1984 ; Kester et Fennema, 1989a, b ; McHugh et Krochta, 1994c). McHugh et Krochta (1994a) ont étudié des films à base de protéines de lactosérum et lipides et indiquent que la mobilité moléculaire des lipides réduit les propriétés barrières du film. Ainsi, la taille des globules gras et leur dispersion, affectent significativement la PVE des films de lactosérum/ cire d'abeille. La diminution de la taille des globules gras est linéairement correlable à la baisse de la PVE. L'augmentation de la surface interfaciale provoque une réduction de la PVE, par augmentation des liaisons à l'interface des protéines de lactosérum et des particules de cire. Différents modèles ont été appliqués pour caractériser ce comportement. (McHugh et Krochta, 1994c).

La valeur de la perméabilité dépend du ratio entre les protéines et les lipides. Avena-Bustillos et Krochta (1993) ont rapporté que le ratio protéine/lipide de 3 pour 1 donnait la valeur la plus basse de PVE. L'ajout supplémentaire de cire d'abeille ne réduit plus la PVE.

Avena-Bustillos *et al.* (1993a,b) ont optimisé la formulation d'enrobages à base d'émulsions de caséinate et d'acide stéarique pour réduire leur PVE et augmenter leur stabilité lors de la conservation de carottes pelées sous atmosphère modifiée.

7.1.1.2- Effet de l'addition des plastifiants dans les films sur la PVE.

Guilbert (1986) a suggéré que l'addition de plastifiant tel que le glycérol, sorbitol ou polyéthylène glycol à des films d'isolat de protéine de lactosérum, permettait de limiter la

fragilité des films. Les plastifiants agissent en réduisant les liaisons hydrogènes internes au film. Il en résulte une augmentation de la flexibilité du film, tandis que la PVE augmente, elle aussi.

Dans des conditions comparables de concentration et d'humidité relative, les films de sorbitol présentent une PVE inférieure aux films à base de glycérol.

L'eau a, elle aussi, un rôle essentiel de plastification des films. L'augmentation de la teneur en eau, induit une diminution des propriétés barrières à la vapeur d'eau et une hydratation des polymères hydrophiles (Schwartzberg, 1986 ; McHugh et Krochta, 1994). L'effet plastifiant de l'eau, pourrait s'expliquer par rapport à l'augmentation du volume libre du réseau polymérique, ce qui permet une meilleure diffusion des molécules d'eau ainsi que leur transfert au travers le film. (Lieberman et Gilbert, 1973, Ashley, 1985).

7.1.2- Perméabilité au gaz

Les propriétés barrières de films et enrobages vis-à-vis des gaz ont suscité moins d'intérêt que celles vis à vis de l'eau. Les gaz les plus étudiés sont l'oxygène et le dioxyde de carbone. Habituellement, pour un même film, une différence existe entre la perméabilité à la vapeur d'eau et celle aux gaz (CO₂, O₂). Selon Banker (1966) et Kester et Fennema (1986), la perméabilité aux gaz dépend essentiellement de la diffusion de gaz dans le film, tandis que, pour le transfert de l'humidité, la sorption et la diffusion sont toutes deux prépondérantes.

La sélectivité des films vis-à-vis des espèces gazeuses est précisée par le calcul du rapport perméabilité au CO₂ sur la perméabilité à l'O₂. Cette notion s'applique pour choisir le matériau le plus convenable pour la conservation de la qualité d'un aliment. Les travaux menés par différents auteurs montrent que les films et enrobages à base de polymères sont, en général, plus perméables au CO₂ qu'à l'O₂ (Aydin, *et al.*, 1991; Fishman *et al.*, 1995; Park et Chinnan, 1995; Guilbert *et al.*, 1996).

Schématiquement, la perméabilité des polymères diminue avec l'augmentation de la cristallinité, densité, orientation, poids moléculaire, et degré de polymérisation de la molécule. Selon Kumins (1965), la perméabilité des gaz à travers d'un film tend à être proportionnelle à la fraction volumique de la phase amorphe du matériau présent dans le film.

De façon générale, la perméabilité à l'O₂ des films comestibles à base de protéine paraît être inférieure à celle des films à base de polysaccharides qui présentent une grande quantité de groupements polaires et des structures ouvertes.

La plupart des films comestibles sont sensibles à l'eau, mais leurs propriétés hydrophiles en font d'excellentes barrières aux substances apolaires, telles que les arômes et l'oxygène. Ces films sont intéressants pour la protection d'aliments oxydables afin de réduire le rancissement, la perte en vitamines et/ou en composés aromatiques. Les films secs à base d'hydrocolloïde possèdent de bonnes propriétés barrières à l'oxygène. Lorsqu'il y a de l'humidité, les chaînes macromoléculaires deviennent de plus en plus mobiles, ce qui tend à augmenter sensiblement la perméabilité à l'oxygène (Kumins, 1965; Aydt *et al.*, 1991; Gennadios *et al.*, 1993; McHugh et Krochta, 1994d, Guilbert *et al.*, 1996). Gontard *et al.* (1996) ont montré que l'emploi d'humidités relatives élevées dans les films à base de gluten de blé augmente la perméabilité au CO₂. Le même comportement est observé avec des films de type Cellophane. A partir d'une humidité relative voisine à 60%, la perméabilité au CO₂ et O₂ croît de façon exponentielle (McHugh et Krochta, 1994d; Guilbert *et al.*, 1996).

De bonnes perméabilités à l'O₂ et surtout au CO₂ sont nécessaires pour l'enrobage des fruits et légumes frais pour éviter l'anaérobiose et pour contrôler individuellement la respiration des fruits et légumes à moindre coût tout au long de la chaîne de distribution.

La perméabilité à l'oxygène des films synthétiques et à base de protéines de lait, sont reportées au Tableau 8. La valeur faible de la perméabilité à l'oxygène des films à base de protéine de lait permet de les employer pour l'emballage des fruits et légumes juste après récolte, ce qui améliore la qualité et la durée de vie du produit. Les films à base de protéine de lactosérum, semblent avoir une perméabilité à l'O₂ supérieure à celle des films réalisés à base de collagène, gluten ou protéines de soja (McHugh et Krochta, 1994a).

Les lipides présentent d'importantes propriétés barrières à l'oxygène. Les plus efficaces sont les acides gras saturés linéaires, les alcools gras, et les esters d'acides gras (avec une longueur de chaîne C > ou = 16). La perméabilité à l'oxygène tend à diminuer avec l'augmentation du nombre d'insaturations ou de ramifications au niveau de la chaîne d'acide gras ou bien par la diminution de la longueur de la chaîne hydrocarbonée. Kester et Fennema (1986) ont observé que l'efficacité de la barrière suit l'ordre suivant: Alcool stéarique > tristéarine > cire d'abeille > monoglycéride acétylé > acide stéarique > alcanes.

Les lipides peuvent donc être de bons additifs pour limiter la perméabilité, mais ces composés présentent certains inconvénients, surtout vis-à-vis de la stabilité mécanique et chimique et la qualité organoleptique.

Tableau 8: Perméabilité à l'oxygène des films à base de protéines de lait et de films synthétiques.

Film	T (°C)	HR (%)	P O ₂ (cm ³ .µm/m ² .j.kPa)	Références
CS ^a :Sor ^b (2,3:1)	23	50	3,2	McHugh et Krochta, 1994a
IPL ^c :Gly ^d (5,7:1)	23	50	18,5	McHugh et Krochta, 1994a
β-Lg ^e :Gly (5,7:1)	23	-	20	Maté et Krochta, 1996
IPL:Gly (2,3:1)	23	50	76,1	McHugh et Krochta, 1994a
IPL:Gly (2,3:1)	23	50	4,3	McHugh et Krochta, 1994a
IPL:Gly (1:1)	23	50	8,3	McHugh et Krochta, 1994a
IPL:CA ^f :Sor (3,5:1,8:1)	23	50	11,6	McHugh et Krochta, 1994a
IPL:Gly (3,5:1)	23	40	0,7	McHugh et Krochta, 1994a
IPL:Gly (3,5:1)	23	50	2,6	McHugh et Krochta, 1994a
IPL:Gly (3,5:1)	23	70	43,3	McHugh et Krochta, 1994a
IPL:Gly (2,3:1)	23	-	25	Maté et Krochta, 1996
β-Lg:Gly (2,3:1)	23	-	28	Maté et Krochta, 1996
WPI:Gly (1,5:1)	23	-	68	Maté et Krochta, 1996
β-Lg:Gly (1,5:1)	23	-	75	Maté et Krochta, 1996
PEBD ^g	23	50	1870	Salame, 1986
PEHD ^h	23	50	427	Salame, 1986
Cellophane	23	50	16	Taylor, 1986
Cellophane	23	95	252	Taylor, 1986
EVOH ⁱ (70%VOH ^j)	23	0	0,1	Salame, 1986
EVOH (70%VOH)	23	95	12	Salame, 1986
PVDC ^k - based films	23	50	0,4-5,1	Salame, 1986
Polyester	23	50	15,6	Hanlon, 1992

^a Caseinate de sodium, ^b Sorbitol, ^c Isolat de protéines de lactosérum, ^d Glycérol, ^e β-lactoglobuline, ^f Cire d'abeille, ^g Polyéthylène basse densité, ^h Polyéthylène haute densité, ⁱ Ethylène vinyle alcool, ^j Vinyle alcool, ^k Chlorure de Poly vinylidene

7.1.3- Perméabilité aux arômes.

L'arôme au niveau alimentaire est constitué d'un mélange complexe de différents composés volatils. Il est donc important de les préserver durant toute la période de stockage et de distribution. La propriété barrière aux arômes des films est influencée par des facteurs externes, tels que la température, l'humidité, la lumière ainsi que l'aliment.

Pendant les vingt dernières années, les propriétés de transport d'arôme des polymères synthétiques ont été étudiées amplement. Cependant, la recherche relative aux propriétés de transport d'arôme des films comestibles de polymère est très limitée. (Felder *et al.*, 1980; Hernandez *et al.*, 1986).

L'efficacité d'un film polymère, en tant que barrière aux arômes peut être décrite par les coefficients de diffusion, perméabilité et solubilité. L'influence de la concentration en arôme et de la température sur les coefficients de diffusion, perméation et solubilité a été étudiée (Leufvrén et Stöllman, 1992). Des revues récentes concernant l'utilisation de protéines pour des films comestibles a montré qu'ils présentaient un fort potentiel barrière face aux arômes (Torres, 1994; Krochta 1997). Les phénomènes de sorption des composés aromatiques sur les emballages ont aussi été étudiés par différents auteurs (Sadler et Braddock, 1991; Johansson et Leufven, 1994; Kobayashi *et al.*, 1995).

Debeaufort et Voilley (1994) ont été les premiers à explorer le transport de 1,3-octenol (arôme du champignon) à travers des films comestibles. Ils ont évalué l'effet de l'humidité sur la perméabilité aux arômes de films synthétiques et comestibles simultanément, tels que le gluten de blé, la méthylcellulose, et la cellophane en utilisant la technique de chromatographie en phase gazeuse isostatique. Les résultats ont prouvé que le film à base de gluten de blé était une meilleure barrière au 1,3-octenol que le film de polyéthylène bas densité ou de méthylcellulose, mais pas aussi bon que les films de cellophane. Les auteurs expliquent ces résultats par l'opposition des caractères lipophile/ hydrophile des composées aromatiques et des polymères glucidiques et protéiques constitutives de ces films. Debeaufort *et al.* (1995) ont proposé que la variation de perméabilité aux arômes soit due à un effet de plastification par la vapeur d'eau.

Des études récentes, montrent que les films à base d'isolat de protéine de lactosérum et glycérol 25% (b.s.) pourraient être d'excellentes barrières au D-limonène, aussi bien que des films d'EVOH, sous conditions environnementales semblables (Millers *et al.*, 1997). Les conditions de température et d'humidité relative affectaient la perméabilité du D-limonène mais pas la taille ni la concentration du perméant.

7.2- Propriétés Mécaniques.

Sous ces termes, on regroupe l'ensemble des propriétés relatives au comportement mécanique de films soumis à l'action de contraintes physiques.

Tableau 9. Propriétés mécaniques des films à base de protéines du lait et des films synthétiques.

Film	Résistance à la Traction (MPa)	Elongation (%)	Référence
PTL(UF) ^a :Gly ^b (4:1)	10,0	5,2	Maynes et Krochta, 94
PTL ^c (Extraction lactose)	5,1	12,2	Maynes et Krochta, 94
Prot. Totales Lait, 1100	8,6	22,1	Maynes et Krochta, 94
Prot. Totales Lait, 1230	9,1	33,3	Maynes et Krochta, 94
Prot. Totales Lait, 1350	6,3	38,5	Maynes et Krochta, 94
αs1-Cas:Gly (50:1)	4,1	38	Motoki <i>et al.</i> , 1987
CS ^d :Gly (2:1)	36,9	18,0	Chen <i>et al.</i> , 1993
CS:Gly (2:1)	2,9	29,9	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
CC ^e :Gly (2:1)	4,3	1,4	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
CP ^f :Gly (2:1)	2,9	42,8	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
IPL ^g :Gly (2:1)	5,8	22,7	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
IPL:Gly (2.3:1)	13,9	30,8	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
IPL:Gly (5.7:1)	29,1	4,1	McHugh et Krochta, 1994d
IPL:Sor ^h (1:1)	14,7	8,7	McHugh et Krochta, 1994d
IPL:Sor (2.3:1)	14,0	1,6	McHugh et Krochta, 1994d
CPL ⁱ :Gly (2:1)	3,5	20,8	McHugh et Krochta, 1994d
CS:MA ^j :Gly (2:2:1)	1,3	27,4	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
CC:MA:Gly (2:2:1)	2,1	13,4	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
PC:MA:Gly (2:2:1)	1,7	17,7	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
IPL:MA:Gly (2:2:1)	3,1	10,8	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
CPL:MA:Gly (2:2:1)	1,1	13,6	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
αs1-Cas:Gly (50:1)Tgase ^k	10,6	74,3	Banerjee <i>et al.</i> , 1994
β-Lg:Gly (2.6:1)Tgase	141,2	-	Motoki <i>et al.</i> , 1987
LDPE ^l	13	500	Mahmoud et Savello, 1993
HDPE ^m	26	300	Salame, 1986

^a Protéines totales du lait obtenues par ultrafiltration, ^b Glycérol, ^c Concentré de protéines totales du lait obtenus par extraction alcoolique de la lactose, ^d Caséinate de sodium, ^e Caséinate de calcium, ^f Caséinate de potassium, ^g Isolat de protéines de lactosérum, ^h Sorbitol, ⁱ Concentré de protéines de lactosérum, ^j Monoglycéride acétylé, ^k Transglutaminase, ^l Polyéthylène basse densité, ^m Polyéthylène haute densité.

Les propriétés mécaniques des films dépendent de la nature du matériau mis en œuvre. Elles sont également liées aux conditions de fabrication du film (pulvérisation, étalement en couche mince, solvant, vitesse de refroidissement ou d'évaporation), à la présence d'additifs, et aux conditions environnementales. Les films contenant un matériau polaire sont sensibles aux conditions climatiques. Pour de faibles humidités relatives, les films montrent une tendance à se rétracter et devenir cassants, tandis que pour de fortes humidités relatives, les films s'hydratent et deviennent plus souples.

Les films principalement composés des protéines présentent de bonnes propriétés mécaniques globales. Les films comestibles à base de protéines de lait présentent des caractéristiques similaires à celles des matériaux viscoélastiques. La présence d'eau, de plastifiants, de lipides et d'autres additifs, tels que les antioxydants et les agents antimicrobiens, peuvent influencer les propriétés mécaniques des films comestibles.

Le Tableau 9 montre la résistance à la traction et l'élongation des films à base de protéines de lait. Wu et Bates (1973) ont étudié les capacités filmogènes des protéines totales du lait en poudre écrémé. Ils ont observé que la force de pénétration était plus grande pour leur film que pour des films à base de protéines de soja. Wu *et al.* (1973) ont également prouvé que la force de rupture du film pouvait être optimisée par un traitement thermique de 15 minutes avant la formation de film.

Maynes et Krochta (1994) ont étudié les propriétés des films à base de protéines de lait obtenues par ultrafiltration. Ceux-ci ont présenté une basse perméabilité à la vapeur d'eau (70,3 g.mm/KPa jour m²), une résistance à la traction élevée (10,0 MN/m²) et un module élastique important (70,7 MN/m²).

7.2.1- Effet du pH sur les propriétés mécaniques des films

Frinault *et al.* (1997) ont développé une variante pour la production continue de film de caséine basée sur un processus modifié de filage humide (Ferreti, 1937). Ils ont déterminé l'influence du pH sur les solutions filmogènes vis-à-vis les caractéristiques fonctionnelles et structurales des films. Ils ont observé un effet significatif du pH, obtenant le meilleur film à pH 9,0. Sous ces conditions, les films ont montré une résistance à la traction élevée (4,5 MPa), un pourcentage d'élongation à la rupture élevé (68,6%), une basse solubilité à l'eau et une valeur de perméabilité à la vapeur d'eau de l'ordre de 3,9 10⁻¹⁰ g.m⁻¹.s⁻¹.Pa⁻¹ et une structure plus dense.

7.2.2- Effet des additifs sur les propriétés mécaniques des films

Le blocage des groupes sulhydryls libres avec N-ethylmaléimide dans les films à base d'isolat de protéine de lactosérum a un effet sur le module d'élasticité et la force maximale de rupture (Fairley *et al.*, 1996). L'ajout de N-ethylmaléimide rend les films d'isolat de protéine de

lactosérum moins extensibles, par changement de la conformation protéique et augmentation du nombre de liaisons hydrogènes.

Arvanitoyannis *et al.* (1996) ont employé des mélanges à base du caséinate de sodium et d'amidon de maïs et de blé plastifiés avec l'eau, le glycérol ou les sucres, afin d'étudier le comportement de ces matériaux sur les propriétés thermiques, mécaniques et barrière.

7.3- *Propriétés sensorielles des films.*

Le film comestible à base de protéines de lait est insipide. Cependant, pendant le stockage du produit certains mauvais goûts potentiels, provenant principalement des produits d'oxydation de lipides, de réaction de Maillard et de la dégradation des vitamines peuvent être développés, si les protéines ne sont pas bien purifiées, affectant la qualité du produit et l'acceptabilité générale.

Les films principalement composés de protéines du lait présentent globalement de bonnes propriétés optiques. Les films varient de transparents à translucides, ce qui élargit les avantages et les applications potentielles dans les industries alimentaires et non alimentaires. L'opacité dépend de la formulation, de la qualité de protéine et de la composition chimique.

Les enrobages sont utilisés également pour améliorer l'aspect de surface de produits de boulangerie et de confiserie. Disposés à la surface des produits lors des opérations de glaçage et de vernissage, ils permettent l'obtention d'une surface brillante et homogène.

Enfin, les biopolymères sont aussi employés pour le pelliculage des fruits frais et secs (Lowe *et al.*, 1963; Jokey *et al.*, 1964; Baker, *et al.*, 1994), afin de réaliser une surface sèche non collante. Une réduction de la prise en masse et du collage des morceaux d'aliments congelés ou d'aliments extrudés est obtenue après leur pelliculage par un matériau comestible.

**MATÉRIELS
ET MÉTHODES**

CHAPITRE II - MATERIELS ET METHODES

1. MATIERES PREMIERES

La matière première employée dans notre étude pour la fabrication des films comestibles est le caséinate de sodium fourni par Sigma (Sigma C8654, lot 128 H1424, Paris, Fr.). Ses caractéristiques sont les suivantes : humidité = 4 g pour 100g de matière sèche (24 h à 104°C) ; teneur en protéines = 96 g/ 100 g MS (par méthode de micro Kjeldhal, avec un coefficient de 6,38) ; teneur en cendres = 4 g pour 100 g de matière sèche (2 h à 900°C) ; teneur en sodium = 856 mg de sodium/ 100 g de caséinate de sodium.

Les systèmes solvants utilisés pour la préparation des solutions filmogènes sont préparés à partir d'eau distillée. Les agents plastifiants commerciaux testés dans la fabrication des emballages comestibles sont le glycérol pur à 99% (Sigma G7893, Paris, France) et le sorbitol pur à 99% (Aldrich Chemie, 24,085-0, Steinheim, Allemagne).

2. METHODES

2.1. Fabrication des films : Méthode de casting et élimination de la phase solvant.

Le mécanisme simplifié de « casting » est décrit dans la figure 6.

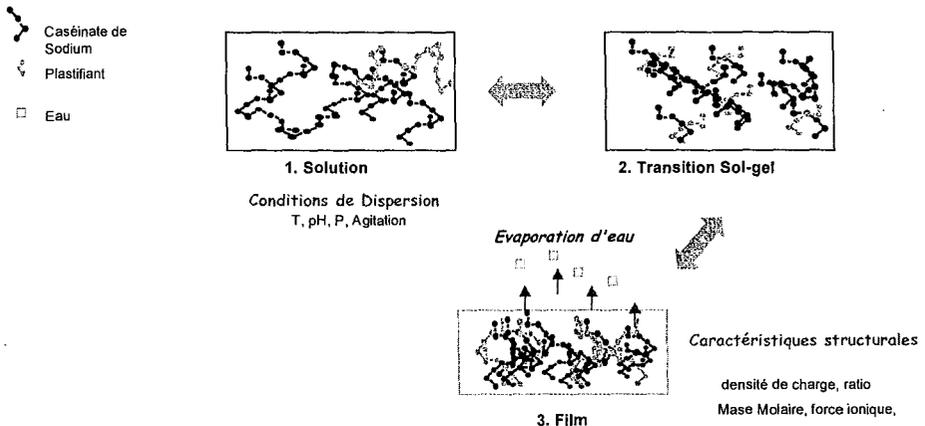


Figure 6. Schéma simplifié du mécanisme de fabrication d'une solution filmogène à base de caséinate de sodium.

L'élaboration des films à partir de caséinate de sodium se fait selon la procédure suivante :

Les quantités de caséinate, de plastifiants et d'eau distillée sont calculés pour la préparation de 1000 ml de solution filmogène. L'eau distillée est portée à 60°C puis le caséinate de sodium est ajouté sous agitation. Le pH de la solution filmogène est de 5,8. Les agents plastifiants sont incorporés à des concentrations comprises entre 10 et 30% p/p caséinate de sodium. La suspension est mélangée sous vide dans un mélangeur thermorégulé à 60° C (Stéphan UM 5, Marne la Vallée, France). Les conditions d'homogénéisation nécessaires pour l'obtention d'une solution filmogène homogène (10 min, lames rondes, vitesse de rotation = $3,14 \cdot 10^2$ rad.s⁻¹) ont été définies à partir d'expériences préliminaires.

La solution filmogène est ensuite laissée au repos à 4°C pendant deux heures afin d'éliminer la mousse présente en surface.

La solution est alors étalée en couche mince (1 mm d'épaisseur, densité de matière sèche = 3 mg.cm²) sur des plaques en chlorure de polyvinyle cristal à l'aide d'un applicateur de couches minces chromatographiques (Desaga, Heidelberg, DE). La solution filmogène est séchée pendant 12 h dans une enceinte ventilée à 25°C et 58% d'humidité relative. On obtient un film transparent qui est facilement séparé du support. Les films sont stockés à l'abri de la lumière.

2.2- Conditionnement des films préalables à leur caractérisation.

Les films sont pré conditionnés à une température et une humidité relative données avant leur caractérisation. Les échantillons sont stockés dans des dessiccateurs contenant des solutions salines aqueuses saturées (Tableau 10).

Tableau 10 : Humidité relative d'équilibre (HR) de différentes solutions salines saturées à 10 et 20°C (d'après Bizot, 1987)

Solutions salines saturées	Humidité relative d'équilibre (%)	
	10° C	20° C
LiCl	11,3	11,1
MgCl ₂	33,5	33,3
K ₂ CO ₃	43,1	43,2
Mg(NO ₃) ₂	57,5	54,5
NaBr	62,1	59,1
KI	72,1	69,9
NaCl	75,7	75,4
KCl	86,8	85,1
BaCl ₂	91,3	90,7
K ₂ SO ₄	98,2	97,6

A l'intérieur des dessiccateurs, les atmosphères en équilibre avec les solutions sont à humidité relative constante. Les dessiccateurs contenant les échantillons sont placés dans des chambres à température contrôlée (10 et 20°C) durant 48 heures.

2.3. Détermination des caractéristiques physico-chimiques et des propriétés fonctionnelles de la solution filmogène et des films.

2.3.1-La solution filmogène

2.3.1.1-Le pH et la viscosité apparente

Le pH de la solution filmogène est déterminé au moyen d'un potentiomètre (ph-mètre Hanna Instruments 8520, Grosseron SA, Nantes)

La viscosité apparente de la solution filmogène est déterminée au moyen d'un rhéomètre plan-cône à contrainte imposée (CarriMed CS, 1000 C, Rheo, Palaiseau). Le plan est fixe et le cône (n° 5164, diamètre 6 cm, angle 2°, entrefer 52µm) est mobile avec une vitesse angulaire Ω permettant de mesurer la vitesse de cisaillement. L'appareil CarriMed est piloté par un logiciel d'écoulement (CarriMed, version 4.3) qui permet de programmer le protocole de mesure désiré et d'analyser partiellement les résultats.

2.3.1.2- Taille et distribution de taille des particules

Les tailles et distribution des tailles de particules de la solution filmogène ont été étudiées à pH 5,8 par diffusion statique de la lumière, en utilisant le granulomètre laser Mastersizer S (Malvern Instruments, Orsay). Le granulomètre possède un laser rouge d'une puissance de 5mW émettant une longueur d'onde de 632,8 nm. Le système optique est composé d'une cellule d'échantillonnage de 2,4 mm d'épaisseur placée derrière une lentille convergente (référence 300 RF). L'appareil possède un logiciel de traitement (Sizer S version 2.17, Malvern) qui permet de corrélérer les intensités diffusées et les angles de diffusion et de les comparer avec les abaques présentes dans le logiciel de traitement. Les dispersions concentrées ont été introduites dans le module d'agitation, contenant de l'eau distillée ajustée à pH de 5,8 à une vitesse de 1000 tpm. La dispersion de taille a été déterminée sur la base d'une diminution de l'intensité initiale du laser de 16%. Il est admis que la contribution de la diffusion multiple de la lumière peut être négligée à des valeurs inférieures à 20%.

2.3.2. Les films

2.3.2.1- Caractérisation physico-chimique

La teneur en protéines du caséinate de sodium a été déterminée par la méthode standard de dosage de Kjeldhal (AOAC, 1984). Le calcul de la teneur en protéines à partir de la teneur en azote a été réalisé en multipliant la teneur en azote par un facteur de conversion de 6,38 (pour le caséinate de sodium). D'égalé façon, nous avons dosé la teneur d'azote non protéique contenu dans les échantillons.

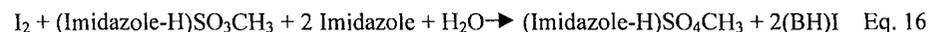
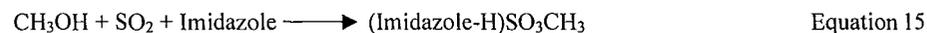
Le taux de cendres a été obtenu par calcination des poudres dans des creusets de porcelaine placés au four à mouffles durant une nuit à 550°C.

L'humidité des poudres a été mesurée par pesé après étuvage à 103°C jusqu'à obtention d'une masse de poudre constante ou bien par la méthode standard de Karl-Fischer.

2.3.2.2- Dosage de l'eau. Methode Karl Fischer.

La détermination de la teneur en eau est réalisée par la méthode de Karl Fischer sur un appareil Mettler DL 18.

Principe: le schéma réactionnel du dosage de l'eau est le suivant:



Le titrage est suivi à l'aide d'une électrode double de platine polarisée au moyen d'un courant. Lorsque la solution à titrer ne contient plus d'eau, l'iode libre va exercer une action dépolarisant sur les électrodes.

Mode opératoire: L'échantillon est porté à 150°C pendant 20 min. L'eau évaporée est entraînée par un flux de gaz inerte (N₂) dans la vase de titration contenant du méthanol (déshydraté par un pré titrage) et est dosé simultanément suivant le principe précédemment décrit.

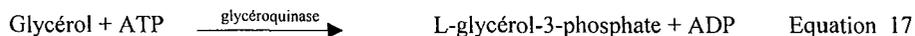
2.3.2.3- Dosage de cations.

Les teneurs en cations ont été déterminées sur les cendres après traitement avec de l'acide chlorhydrique concentré et dilution dans du chlorure de lanthane. L'appareil utilisé est un spectromètre d'absorption atomique AAS 1100 (Perkin Elmer, Allemagne) alimenté par une flamme air-acétylène. Les gammes étalons étaient constituées de solutions contenant les différents cations à des concentrations croissantes se situant dans le domaine de linéarité concentration/absorbance.

2.3.2.4- Dosage du glycérol.

Pour la détermination de Glycérol, nous avons utilisé une méthode enzymatique qui absorbe dans l'ultraviolet. (Ref. 148 270, Boehringer, Mannheim GMBH, Biochemicals).

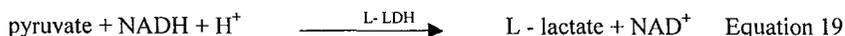
Principe : Le glycérol est phosphorylé par l'adenosine-5'-triphosphate (ATP) à L-glycérol-3-phosphate en la réaction catalysé par la glycéroquinase (Equation 17)



L'adénosine 5' diphosphate (ADP) formée dans la réaction (3) est reconverti par le phosphoenol pyruvate (PEP) par l'action de l'enzyme pyruvate quinase (PQ) à ATP et Pyruvate (Equation 18)



Le Pyruvate, en présence de l'enzyme L-lactate deshydrogenase (L-LDH), est réduit à L-lactate par la nicotinamide-adenine-dinucléotide réduit (NADH) avec l'oxydation de NADH à NAD (Equation 19).



La quantité de NADH oxydée dans la équation (19) est stéchiométrique à la quantité de glycérol. La NADH est mesurée par absorption de la lumière à 334, 340 et 365 nm. L'absorption maximale de NADH est à 340 nm.

Calcul : La formule générale pour le calcul des concentrations est la suivante :

$$C = \frac{VPM}{\epsilon d v 1000} \quad \text{Equation 20}$$

V= volume du test (ml) ; v= volume de l'essai (ml) ; PM= poids moléculaire de la substance à doser ; d= épaisseur de la cuve (cm) ; ε= coefficient d'absorption du NADH à 340 nm = 6,3 l/mmol. cm. On obtient pour le glycérol : C= 2.781 (ΔA), g glycérol/ l solution d'échantillon.

L'échantillon doit être soumis à un pré traitement de clarification avec une solution de Carrez I (hexacyanoferrate de potassium (II) ferrocyanide 85 mmol/l = 3,60 g K₄ [Fe (CN)₆]. 3 H₂O / 100 ml. Et 5 ml de solution Carrez II, Sulfate de Zinc, 250 mmol/l = 7,20 g ZnSO₄. 7 H₂O/ 100 ml. Et ajuster le pH entre 7,5 et 8,5 avec NaOH (0,1 mol/l).

2.3.2.5- Dosage du D-sorbitol.

Pour la détermination du D-sorbitol, nous avons employé une Méthode colorimétrique (réf 670-057, Boehringer, Mannheim GMBH, Biochemicals). Dans laquelle le D-sorbitol est oxydé en présence de NAD⁺ par la sorbitol-deshydrogénase (ou polyol déshydrogénase) avec formation de NADH et de fructose (Eq. 21)



L'équilibre des réactions est en faveur des alcools. En captant le NADH formé par l'iode nitrotétrazolium (INT) en présence de diaphorase, on déplace l'équilibre des réactions vers la fructose. Le formazan (Eq. 22) formé est mesuré dans le visible à 492 nm.



La formule générale pour le calcul des concentrations est la suivante :

$$C = \frac{VPM}{\epsilon d v 1000} \quad \text{Equation 23}$$

V= volume du test (ml) ; v= volume de l'essai (ml) ; PM= poids moléculaire de la substance à doser ; d= épaisseur de la cuve (cm) ; ε= coefficient d'absorption du Formazan à 492 nm = 6,3 l/mmol. cm

On obtient pour le sorbitol : $C = 0,28(\Delta A)$, en g sorbitol/ l de solution d'échantillon.

2.3.2.6- Propriétés optiques et observations microscopiques.

L'opacité apparente des films est déterminée selon une procédure standard (BSI, 1968). Les échantillons découpés sous forme de rectangles (5 mm x 30 mm) sont placés sous la face interne d'une cellule de spectrophotomètre. Le spectre d'absorbance entre 400 et 800 nm est enregistré pour chaque échantillon en utilisant un spectrophotomètre Ultraspec III UV-Visible (Pharmacia, LKB). L'opacité apparente, définie par la surface sous la courbe du spectre, est exprimée en valeurs d'absorbance par longueur d'onde (VA.nm).

Les observations microscopiques de la structure des films sont réalisées au niveau de coupes, à l'aide d'un microscope électronique à balayage, MEB (Elmiskop Siemens 102, 120 kV, grandissement 6000) au Service de Microscopie Electronique, Fac. Medici ne, UHP, Nancy. Les observations microscopiques environnementales ont été réalisés avec un ESEM, microscope électronique à balayage environnemental (XL 30 ESEM, Phillips, NL) couplé à un EDAX (New Jersey, USA) à l'Ecole Européenne de Génie des Matériaux, INPL, Nancy. Les films sont pré conditionnés à 20°C et une humidité relative données (11, 43, 76 et 86%) avant leur observation. Afin de choisir toujours la surface du film qui était séché en contact avec l'air, nous l'avons vérifié à l'aide d'un microscope optique.

L'étude de l'état des surfaces des films, rugosité, à été déterminé avec un microscope à balayage (AKILOG, Tridim Besançon, Fr) équipée d'une unité de mesure, constituée par un capteur de rugosité optique, un module électronique assurant le conditionnement et l'amplification du signal émis par le capteur et une carte de conversion analogique/ numérique. L'équipement est fourni d'un logiciel Winmb® pour Windows 95. Cet appareil est un profilomètre constitué d'un bloc optique assurant la focalisation fixe d'un faisceau laser sur la surface et projetant le faisceau réfléchi sur quatre photodiodes et d'un système de déplacement vertical permettant l'asservissement du point de focalisation. Le capteur effectuait un balayage en traces parallèles sur la surface, résultant en un profil tridimensionnel. Le mouvement du porte échantillon était assuré par 2 moteurs pas à pas de mouvement de 1µm. Le nombre de points d'acquisition que nous avons pris est de 256 x 256, avec un pas de 1µm, dans une surface de 0,25 mm². Pour chaque type de film, nous avons effectué 3 répétitions.

Le logiciel Winmmb® nous a permis de déterminer des paramètres topologiques comme la Rugosité moyenne (Ra) qui correspond à l'écart moyen par rapport au plan moyen de tous les points de la surface. Ce paramètre est le plus fréquemment employé, cependant il est toutefois important de souligner qu'il n'est pas complètement représentatif de la surface puisqu'il ne considère pas le critère de fréquence de pics. Un autre critère de rugosité importante est la surface développée (Sd) qui prends en compte le rapport entre la surface réelle (calculé en tenant compte des rugosités) et la surface apparente (surface sur laquelle s'effectue l'acquisition). Afin d'évaluer l'effet de l'humidité relative sur les différents types des films, nous avons soumis les échantillons à 4 humidités relatives (11, 43, 75 et 86).

2.3.2.7- Dimensions caractéristiques

L'épaisseur, e , des films est déterminée selon la norme NF Q 03-016 à l'aide d'un micromètre manuel (Messmer, Londres, Angleterre) équipé d'une tête de mesure de 5 mm de diamètre (avec une sensibilité de 2 μm). Dix valeurs d'épaisseur sont relevées pour chaque échantillon. Le grammage, G , masse en gramme par mètre carré de feuille, est déterminé par pesées d'échantillon selon la norme NF Q 03-019.

A partir de l'épaisseur et du grammage, la masse volumique, M_v , est calculée selon:

$$M_v = G/e \quad \text{Equation 24}$$

2.3.2.8- Isothermes d'adsorption d'eau.

Les isothermes d'adsorption d'eau des films sont déterminées selon une procédure décrite par Robinson (1945). Les échantillons (0,2 g) séchés pendant 1 semaine à 40°C sous vide en présence de P_2O_5 , sont introduits dans une série de dessiccateurs contenant des solutions salines saturées, correspondantes à des humidités relatives d'équilibre comprises entre 7% et 97%. La croissance microbienne des échantillons stockés à des humidités relatives supérieures à 80% est évitée pour la présence d'une solution d'azoture de sodium (0,2 g.l^{-1}) placé dans le dessiccateur.

Les dessiccateurs sont placés dans des enceintes à température contrôlée à 10 ou 20°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$). Les échantillons sont pesés avec une sensibilité de 0,1 mg jusqu'à atteindre les conditions d'équilibre lorsque les changements de masse ne dépassent pas 0,1% à 1 jour d'intervalle (environ après 14 jours). La teneur en eau des films à l'équilibre est calculée à partir des gains

en poids des échantillons (exprimée en g/ 100 g matière sèche). La précision des teneurs en eau est de $\pm 1\%$. Les courbes isothermes d'adsorption sont répliquées trois fois.

L'équation de Guggenheim-Anderson-de Boer à 3 paramètres est utilisée pour modéliser les données de sorption d'eau.

2.3.2.9- Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques des films sont déterminées avec une machine universelle d'essais INSTRON (Modèle 1122, France) selon une procédure standardisée ASTM D 882-88 (ASTM, 1989). Les éprouvettes de films conditionnées sont fixées aux mors de la machine d'essais. Les échantillons sont soumis à une traction à vitesse constante ($20 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$). Les courbes force/ déformation sont suivies jusqu'à la rupture du film. La résistance à la traction (Pa) est calculée en divisant la force à la rupture (N) par la section du film. Le pourcentage d'élongation à la rupture est calculé en divisant la déformation à la rupture (m) par la distance initiale entre les mors. Un total de 7 échantillons est testé pour chaque humidité relative et pour chaque température.

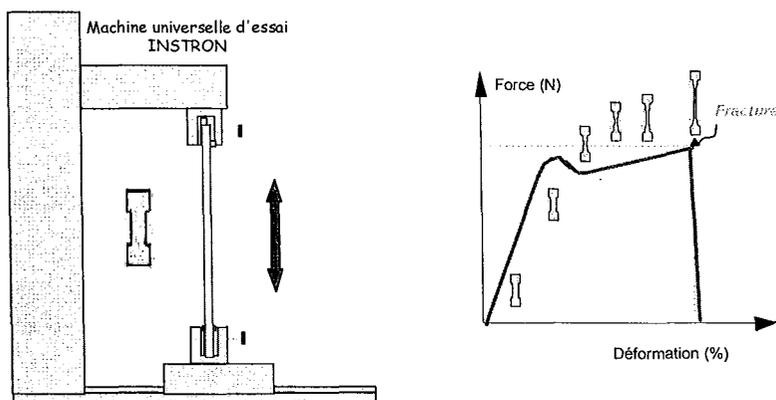


Figure 7 : Représentation schématique: (a) du système de détermination des propriétés mécaniques des films en mode traction, (b) du rhéogramme enregistré pour la détermination de la courbe force/ déformation à vitesse constante.

Les propriétés mécaniques de souplesse des films sont déterminées selon une procédure standardisée NF T-54-104 (NF, 1970), méthode de la boucle suspendue. Les éprouvettes de films conditionnées à 20°C et 5 humidités relatives (11, 43, 56, 70 et 86%) sont fixées

(Position 1) puis sont tournés de 360° (Position 2), pour présenter ainsi la forme d'une boucle (Figure 8). Un total de 7 échantillons est testé pour chaque humidité relative.

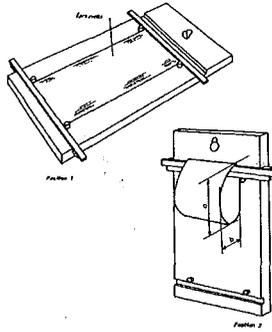


Figure 8 : Représentation schématique du système de détermination de souplesse des films.

La souplesse (S) est calculée en divisant la distance " a " entre les deux droites horizontales tangentes au film et la distance " b " entre le plateau et la parallèle au plateau tangente au film. La souplesse du film est caractérisée par la moyenne arithmétique des valeurs de rapport (a/b).

2.3.2.10- Propriétés Barrières

A- Barrière à la vapeur d'eau.

Les propriétés barrières à la vapeur d'eau des films sont déterminées selon une méthode gravimétrique normalisée (NF H 00-030), dont le principe consiste à suivre au cours du temps la masse d'une cellule de perméation. Les échantillons de film (disques de 60 mm de diamètre) sont fixés aux cellules de perméation en aluminium (Figure 9) contenant du gel de silice (0% HR). La surface exposée du film est de $13,2 \text{ cm}^2$. Un espace d'environ 10 mm (± 1 mm) existe entre le gel de silice et la face inférieure des films. Les cellules sont placées dans une enceinte thermorégulée à 38° C et 90% d'humidité relative.

Le choix des solutions salines saturées impose la différence de pression partielle de vapeur de part et d'autre du film. Pour l'étude de l'influence de l'humidité relative sur les propriétés barrières à la vapeur d'eau, les manipulations sont réalisées avec une différence d'humidité relative de part et d'autre du film égale à 20% ($\pm 2\%$).

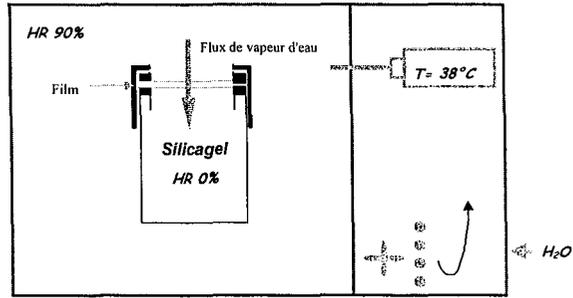


Figure 9 : Représentation schématique de l'enceinte thermorégulée utilisée pour la caractérisation.

Après que les conditions d'équilibre seraient atteintes, les cellules sont pesées avec une sensibilité de 0,1 mg sur une période de 3j. Le taux de transmission ($\text{mol.m.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), la perméance ($\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$) et la perméabilité ($\text{mol.m. m}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$) à la vapeur d'eau sont calculés à partir des équations 25, 26 et 27.

$$\text{Taux transmission à la vapeur d'eau} = \frac{w}{A} \frac{x}{t} \quad \text{Equation 25}$$

$$\text{Perméabilité à la Vapeur d'eau} = \frac{w}{A} \frac{x}{t (p_2 - p_1)} \quad \text{Equation 26}$$

$$\text{Perméance à la vapeur d'eau} = \frac{w}{A} \frac{1}{t (p_2 - p_1)} \quad \text{Equation 27}$$

B- Barrière à l'oxygène et au dioxyde de carbone.

Les propriétés barrière à l'oxygène et au dioxyde de carbone des films sont mesurées par une méthode développée au sein de notre laboratoire (Desobry et Hardy, 1997), lequel permet de suivre l'évolution de la perméabilité aux gaz (CO_2 ou O_2) en fonction de son état d'hydratation. La méthode de mesure de la perméabilité aux gaz pour les emballages hautement perméables est basée sur l'utilisation d'un chromatographe en phase gazeuse muni d'un catharomètre. Les échantillons de films (disques de 30 mm de diamètre) sont fixés

hermétiquement dans la cellule de perméabilité (figure 10), séparant 2 chambres. La cellule est thermorégulée et permet l'hydratation de l'emballage avant la mesure de perméabilité. Pendant 48 heures les films sont placés dans la chambre 1 sous hygrométrie contrôlée au moyen de solutions saturées de sels. A l'équilibre hydrique, nous avons mesuré la perméabilité au gaz étudié sans avoir sorti l'emballage de l'enceinte.

On peut voir dans la figure 10 que, initialement, la concentration en gaz (CO_2 ou O_2) est nulle dans la chambre 1 et vaut $1,76 \text{ kg.m}^{-3}$ dans la chambre 2 (saturation), on a $\Delta P = 1 \text{ bar}$.

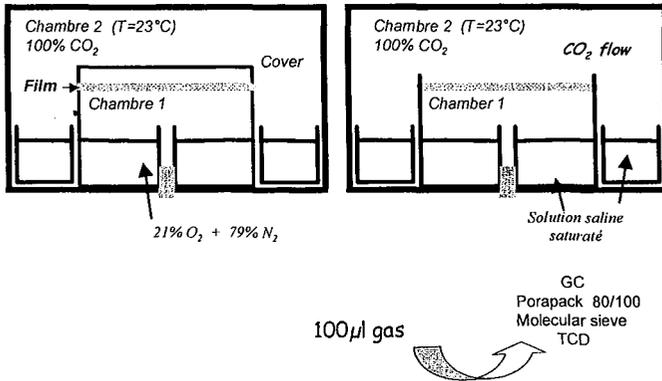


Figure 10 : Représentation schématique du système utilisée pour la détermination des perméabilités aux gaz (d'après Desobry et Hardy, 1997)

2.3.2.11- Propriétés Thermomécaniques

Afin d'évaluer l'effet de la concentration en plastifiant et de l'humidité relative sur la température de transition vitreuse, nous avons utilisé deux techniques thermiques, l'analyse enthalpique différentielle modulée (AEDM) et l'analyse thermomécanique dynamique (ATMD), mises à notre disposition par l'Unité de Technologie de Céréales et des Agropolymères de l'INRA de Montpellier.

A- Analyse enthalpique différentielle modulée (AEDM)

Les analyses enthalpique des films sont réalisées avec un appareil TA Instruments, calorimètre différentiel à balayage modulé modèle TA 2000 (New Castle, DE, USA). L'AED modulée utilise la même cellule AED fluxmétrique qu'en AED conventionnelle (Figure 11-a), mais un profil thermique différent est appliqué par le four à l'échantillon et à la référence.

Une ondulation sinusoïdale (modulation) est superposée à la rampe de température conventionnelle pour former un profil thermique dans laquelle la température de l'échantillon a toujours continuellement augmenté en fonction du temps, mais d'une façon non linéaire.

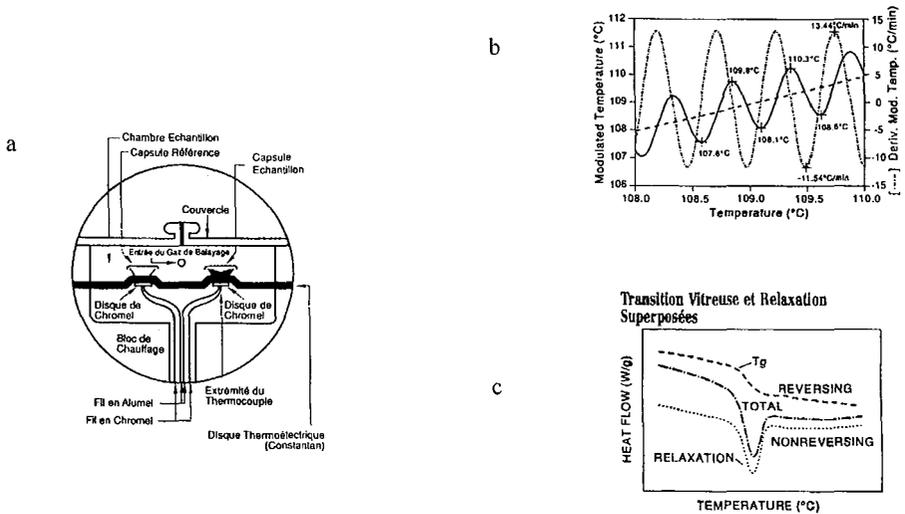


Figure 11 : (a) Schéma de la cellule AED, (b) Profil de chauffe en AED Modulée, (c) Séparation de transitions complexes.

Ce profil thermique complexe revient à réaliser deux essais en même temps, un essai traditionnel à vitesse de chauffe constante (trait discontinu dans la figure 11-b) et un essai à une vitesse sinusoïdale plus rapide (instantanée) (trait d'axe dans la figure 11-b). La déconvolution de ces signaux fournit non seulement le flux de chaleur "total" identique à celui obtenu par AED conventionnel, mais séparé également ce flux en deux composantes, l'une liée à la chaleur spécifique (réversible) et l'autre cinétique (non-réversible) (Figure 11-c)

B- Analyse Thermo Mécanique Dynamique (ATMD)

Le principe de la mesure consiste à imposer à l'échantillon une sollicitation mécanique sinusoïdale (dynamique). Dont l'amplitude est négligeable par rapport à ses dimensions et à enregistrer la réponse du matériau soumis d'autre part à un balayage de température (Figure 12). L'amplitude de la sollicitation mécanique reste négligeable par rapport aux dimensions de l'échantillon. Une déformation harmonique unidirectionnelle $\epsilon(t)$ est imposée et la contrainte $\sigma(t)$ est mesurée, $\sigma(t)$ est sinusoïdale et de même période que la déformation de la forme (figure 12):

tangente δ est le décalage entre la sollicitation et la réponse, caractère viscoélastique du matériau. La technique de l'ATMD permet la mesure de E' et $\tan \delta$ et par interdépendance E'' en fonction de la température.

Les analyses thermomécaniques dynamiques des films de caséinate de sodium sont réalisées avec un appareil Perkin Elmer DMA-7 (Norwalk, Connecticut, Etats-Unis)(Figure 13). Une déformation uni axiale harmonique (fréquence = 1 Hz) de faible amplitude est applique sur les échantillons. L'amplitude de la déformation est définie par rapport à la hauteur de l'échantillon (0,40% de la longueur des films). Le mode de déformation est choisi principalement par rapport à la géométrie des échantillons.

Le calibrage en température du four est effectué à l'aide du logiciel Perkin Elmer, avec de l'indium (point de fusion= 156,6 °C, standard Perkin Elmer) et de l'eau distillée (point de fusion= 0°C). Les analyses sont effectuées sous balayage d'hélium, 5 thermogrammes sont enregistrés pour chaque produit.

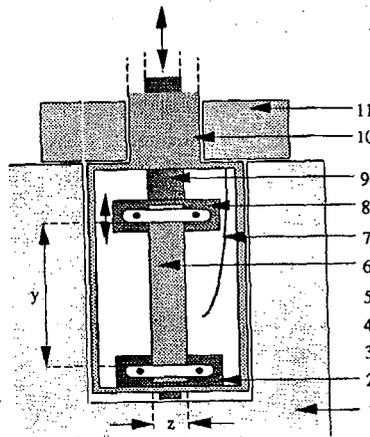


Figure 13 : Représentation schématique de la tête de mesure du système Perkin Elmer DMA-7 en mode extension, où y est la longueur de l'échantillon, z est la largeur du film. (1-four, 2- mors inférieur, 6- film, 7-thermocouple, 8-mors supérieurs, 9-sonde oscillante, 10- porte échantillon, et 11-isolation thermique)

2.3.2.12- Mobilité Moléculaire

Depuis quelque temps; la Résonance Magnétique Nucléaire, à haute et basse résolution, est une méthode alternative pour caractériser et quantifier les états de l'eau, ainsi pour étudier son comportement dans les systèmes biologiques et alimentaires. La RMN basse résolution est une méthode d'étude de la mobilité de l'eau dans des milieux solides complexes du fait de sa rapidité et de l'aspect non - destructif de l'analyse. On exploite l'allure de la décroissance du signal due à l'évolution de la magnétisation dans le temps.

L'appareil RMN basse résolution que nous avons utilisé est un MINISPEC PC120 (BRUKER). Il possède un champ magnétique permanent qui produit un champ de 0,47 Tesla qui correspond à une fréquence de résonance proton de 20 MHz. Il possède un cryostat de type MINISTAT qui permet réguler la température entre -10 et 70°C.

A- Caractéristiques d'un signal RMN basse résolution.

1-Temps de relaxation.

Tous les noyaux d'hydrogène placés dans le champ magnétique vont s'orienter dans la direction de ce champ principal permanent (B_0) . La somme de leur intensité individuelle constitue le signal global (M_0) qui est orienté selon l'axe O_z . Soumis à un champ (B_1) intense mais bref, perpendiculaire au champ principal statique (B_0), ce signal (ou aimantation) va basculer sur l'axe O_y puis, en l'absence de B_1 revenir à son état d'équilibre M_0 selon O_z .

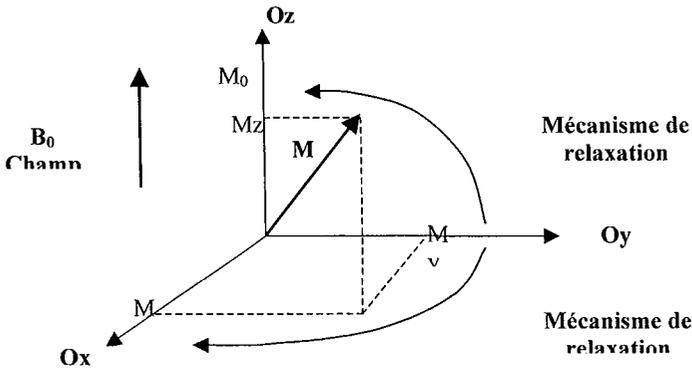


Figure 14: Représentation du signal macroscopique M revenant à son état d'équilibre dans une espace tridimensionnel O_{xyz}

Le retour à l'équilibre des spins dans le champ de B_0 n'est pas instantané et est atteint par une relaxation. La composante longitudinale M_z revient à sa valeur d'équilibre M_0 à une vitesse différente aux vitesses des composantes transversales M_x et M_y à leur valeur initiale 0 (Figure 14)

Les composantes suivent les lois de variations (Bloch, 1946, a, b, c) ci après :

$$dM_z/dt = (M_0 - M_z) \text{ soit } M_z = M_0 (1 - e^{-t/T_1}) \quad \text{Equation 34}$$

$$dM_x/dt = -M_x/T_2 \quad \text{Equation 35}$$

$$dM_y/dt = -M_y/T_2 \text{ soit } M_{x,y} = M_0 e^{-t/T_2} \quad \text{Equation 36}$$

où T_1 est le temps de relaxation longitudinal (ou spin - réseau) et T_2 le temps de relaxation transversal (ou spin - spin). Les vitesses de relaxation sont définies comme étant l'inverse des temps de relaxation (dans le cas de la relaxation longitudinale, on a donc $R_1 = 1/T_1$ et pour la relaxation transversale $R_2 = 1/T_2$)

T_1 caractérise le retour à l'équilibre selon l'axe Oz de l'aimantation M, par un échange d'énergie entre les protons et leur environnement (spin - réseau). Si le milieu est très liquide ou solide, le retour à l'équilibre est long (de l'ordre de grandeur de la seconde).

T_2 caractérise l'amortissement de l'aimantation dans le plan xOy qui est dû au déphasage de rotation des spins et à l'inhomogénéité du champ magnétique permanent B_0 . Pour les échantillons très visqueux ou solides, les mécanismes d'échange entre les systèmes de spin sont très efficaces et le temps de relaxation est très court (dizaine de micro secondes). T_1 et T_2 permettent de caractériser l'environnement microscopique des noyaux d'hydrogène

2- Intensité du signal.

L'aimantation d'un noyau placé dans un champ magnétique est inversement proportionnelle à sa masse et proportionnelle à son abondance naturelle.

3- Mesure des signaux. Solide et Liquide

Après une impulsion à 90° , le moment magnétique macroscopique M_0 bascule dans un plan perpendiculaire à B_0 et B_1 . On obtient une réponse qui constitue le signal RMN appelé signal d'induction libre (FID), étant donné que les noyaux précessionnent sans champ B_1 , librement (Figure 10). L'inhomogénéité du champ magnétique permanent (B_0) des appareils à basse résolution joue un rôle important sur la relaxation transversale. Le champ ressenti pour chaque proton est différent et les fréquences de précession sont donc différentes. Dans les signaux FID, on observe une relaxation apparente appelé T_2^* .

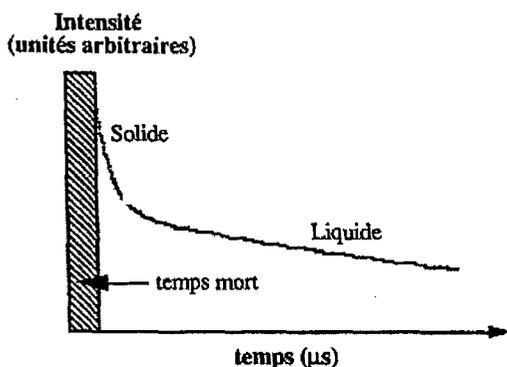


Figure 15 : Représentation schématique d'un signal d'induction libre, FID (« Free Induction Decay ») (D'après Desbois, 1992).

Le rapport [liquide (L)] / [liquide + solide (L+S)] permet d'accéder à la proportion de noyaux d'hydrogène mobiles par rapport aux noyaux peu mobiles (signal solide). Le rapport L/ (L+S) traduit la proportion d'atomes d'hydrogène liquide par rapport au total des atomes d'hydrogène. Dans le cas où l'eau serait la seule composante liquide, toute sorte de modification observée caractérisera une modification de la quantité de cette eau. Toute modification du rapport L/ (L+S) produira une variation de sa mobilité.

Les mesures réalisées à 20°C permettent de mettre en évidence les mobilités des protons existant au sein du système. Le système est assez complexe étant donné que l'eau et les fonctions hydroxyles provenant des plastifiants, glycérol et sorbitol, sont présentes et peuvent intervenir sur le signal mesuré.

4- Les échantillons

Les études ont porté sur des échantillons de films à base de caséinate de sodium. Avant la mesure les films ont été broyés et conditionnés à différentes humidités relatives pendant 14 jours à 10 et 20°C.

5- Acquisition des données.

Les courbes de relaxation ont été acquises sur un appareil BRUKER Minispec PC120 possédant un aimant permanent qui produit un champ magnétique de 0,47 Tesla. Ce champ magnétique correspond à une fréquence de 20MHz. Les mesures sont faites à 10 et 20°C. La tête de mesure du Minispec a été réglée à la température de mesure grâce au thermocryostat de type MINISTAT dans lequel circule un liquide fluorocarboné totalement exempt de proton (Fluorinert™ FC40). Les FID sont effectués en mode diode, c'est à dire que l'intensité mesurée correspond à la longueur du vecteur aimantation dans le plan xoy. Dans ce cas les mesures sont indépendantes de l'ajustement du champ magnétique B_0 , qui permet une mesure de la projection du signal sur l'axe oy.

**RÉSULTATS
ET DISCUSSION.**

CHAPITRE III. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.

Dans une première partie, nous présentons la caractérisation physico-chimique de la solution filmogène à base de caséinate de sodium.

1. Caractérisation de la solution filmogène.

L'élaboration des films à base de caséinate de sodium est réalisée par étalement d'une solution filmogène et évaporation de la phase aqueuse. La solubilisation des protéines dans le système filmogène est obtenue sous contrôle de la température et du pH.

1.1. Etude de la solution filmogène à base de caséinate de sodium.

1.1.1. Viscosité

Des contraintes à respecter pour la fabrication des films à base de caséinate de sodium ont été mises en évidence (Figure 1.1). La viscosité du système « caséinate de sodium – plastifiant » augmente avec la teneur en plastifiant, en raison de changements dans la structure tridimensionnelle du système lors de la formation de gros agrégats de caséinate de sodium – plastifiant, mis en évidence par microscopie de contraste de phase et par granulométrie laser (voir §1.1.4).

Il apparaît clairement que les solutions contenant du glycérol sont moins visqueuses que celles contenant du sorbitol à teneur égale. Cette donnée peut s'avérer intéressante lorsqu'il s'agira d'utiliser ces solutions industriellement. En effet, la préparation et l'étalement du film sera simplifiée dans le cas du glycérol.

Pour faciliter l'étalement de la solution en couche mince et favoriser la formation d'une solution homogène, sans bulles d'air qui puissent influencer ultérieurement les propriétés du matériau, la viscosité apparente de la solution doit être choisie inférieure à 0,2 Pa.s (Figure 1.1). La solution filmogène présente un comportement type rhéofluidifiant. Ces résultats sont en désaccord avec les observations de Hermansson (1974), de Towler (1974), Soloshenko et

al. (1984), ou encore Konstance et Strange (1991) qui ont montré que les dispersions de caséinate de sodium pouvaient être divisées en deux groupes : pour des vitesses de cisaillement comprises entre 50 et 1500 s⁻¹ et pour des concentrations en caséine inférieures à 12% ; les dispersions de caséinate ont un comportement newtonien tandis que pour des concentrations supérieures, elles ont un comportement rhéofluidifiant. Leurs propriétés d'écoulement peuvent alors être décrites par l'équation d'Ostwald.

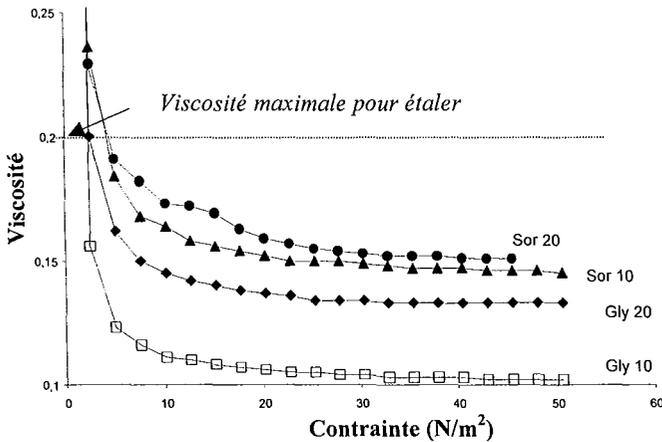


Figure 1.1 : Comportement rhéologique des solutions filmogènes à base de caséinate de sodium : viscosité apparente (Pa.s)

La viscosité des solutions filmogènes à base de caséinate desodium dépend de nombreux paramètres liés aux conditions de préparation, et notamment du pH. La modification du pH de la solution filmogène va conduire à une redistribution des forces ioniques intermoléculaires au niveau des acides aminés polaires ionisés.

La teneur massique en acides aminés polaires ionisés (Arg, Asp, Glu, Lys) est de 20,3%, la proportion d'acides aminés polaires (Asn, Cys, Gln, His, Ser, Thr, Tyr) est de 31,5%, et le pourcentage d'acides aminés apolaires (Ala, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val) atteint 44,5% (Sosulski et Imafidon, 1990).

1.1.2. Influence du type et concentration de plastifiant sur la taille moyenne de particules de la solution filmogène.

Les tailles et distributions de taille des particules obtenues à pH 5,8 dans les mélanges caséinate de sodium/ plastifiant/ eau ont été caractérisées par granulométrie laser. Les plastifiants ont été choisis en fonction de leur nature chimique et de leur polarité, afin qu'ils puissent bien s'intégrer au système filmogène. On observe dans le Tableau 1.1 que le type et la concentration en plastifiant n'exercent aucune influence sur le diamètre des particules dans l'émulsion filmogène à base de caséinate de sodium. La taille des particules dans les solutions avant homogénéisation est d'environ 240 µm. La taille et la distribution des particules dépendent essentiellement des conditions d'homogénéisation.

Il faudra donc prendre aussi en considération que les mesures sont faites sous agitation à 100 tpm ce qui peut provoquer une homogénéisation de la taille des particules générées par le cisaillement de la solution.

Tableau 1.1 : Diamètre des particules des solutions à base de caséinate de sodium et plastifiants polaires

Solution filmogène		Taille de particules (µm)		
Plastifiant	Concentration (g/100g ms)	Population A ^a	Population B ^b	Distribution Modal ^c
Glycérol	10	0,1 - 1,34	1,34 - 6,6	0,39
	20	0,1 - 1,34	1,34 - 6,6	0,39
Sorbitol	10	0,1 - 1,34	1,34 - 6,6	0,38
	20	0,1 - 1,34	1,34 - 6,6	0,39

^a représente le 90% du volume total des particules, ^b concerne le 10% V du total des particules

^c taille de la population plus fréquente

La distribution de taille des particules est bimodale indépendamment de la concentration totale en plastifiant (Figure 1.2). Si l'on considère la distribution de taille des particules sur la base de l'intensité diffusée exprimée en volume, le diamètre des particules varie de 0,1 à 6,6 µm

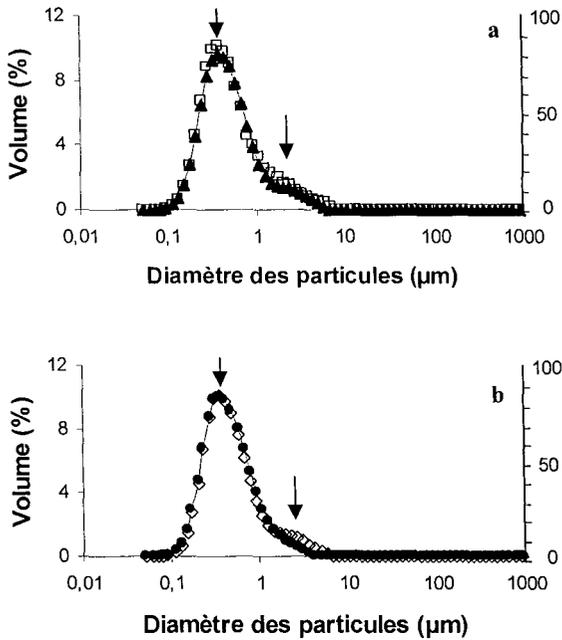


Figure 1.2 : Distribution de taille en volume dans des solutions filmogènes à base de caséinate de sodium à pH 5,8 et 20°C. (a) concentration en glycérol : (□) 10% et (▼) 20%, (b) concentration en sorbitol: (◇) 10% et (●) 20% .

Après homogénéisation, l'analyse met en évidence une population de particules, dont le diamètre est compris entre 0,1 et 1,34 µm, correspondant à 90% en volume des particules. Une deuxième population, dont le diamètre va de 1,34 à 6,6 µm qui correspond à 10% en volume du total des particules, s'intègre à la première population pour former une seule population dont le diamètre moyen est de 0,39 µm (distribution monomodale). Le diamètre de Sauter (d_{32}) est de 0,40 pour le glycérol 10%, de 0,42 pour le glycérol 20%, de 0,41 pour le sorbitol 10%, et 0,40 pour le sorbitol 20%.

2. Caractérisation physico-chimique des films.

2.1. Composition des films

La composition des échantillons en fonction du type et de la teneur en plastifiant est présenté dans le Tableau 2.1. On observe que la teneur en protéines représente 70 à 80% de la matière sèche.

Tableau 2.1 : Composition chimique des films à base de caséinate de sodium .

Plastifiant		Teneur en eau (g /100 g)		Protéine (Nx6,38) (% ms)		Plastifiant* (% ms)		Cendres (% ms)	
Nature	Concentration (g/100 g MS)	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
Sans plastifiant	0	12,2	1,6	80,9	2,7	-	-	2,6	0,3
Glycérol	10	10,4	1,3	74,7	3,4	8,9	0,6	2,3	0,3
	20	9,5	1,2	71,1	5,2	17,5	2,0	2,0	0,3
	30	9,2	0,9	71,6	3,8	26,3	2,9	2,0	0,2
Sorbitol	10	10,4	0,9	73,3	3,9	8,6	1,4	2,0	0,3
	20	11,2	1,3	73,8	3,9	16,9	2,4	2,0	0,3
	30	10,5	1,0	70,4	3,5	25,6	2,3	2,0	0,3

* UV méthode

La différence en pourcentage de la teneur en plastifiant par rapport à la teneur initiale peut être attribuée aux pré-traitements qu'a suivi l'échantillon. Étant donnée que l'analyse est une méthode spectrophotométrique, la présence de certaines colorations peut aussi donner lieu à sources d'erreur. Nous avons suivi la méthode de clarification de Carrez afin de limiter les interférences de couleur liées à l'échantillon. Cependant, tous les résultats obtenus s'écartent de la teneur de plastifiant initial. Aussi il faudra prendre en considération que la technique de Carrez demande la dispersion en eau, ce qui peut entraîner une solubilisation partielle du plastifiant dans l'eau du filtrage.

2.2. Aspect des Films.

Les films à base de caséinate de sodium sont apparemment lisses, translucides, brillants et d'une teinte légèrement blanchâtre. L'ajout de glycérol ou de sorbitol, jusqu'à des concentrations de 30% par rapport à la matière sèche, confère aux films un aspect moins brillant, mais n'influe pas significativement sur leur transparence.

Les propriétés optiques des films à base de caséinate de sodium dépendent non seulement de la nature de l'agent filmogène employé mais aussi du protocole de préparation. Les conditions optimales de dispersion des protéines dans la solution filmogène permettent la formation d'un matériau homogène, transparent et sans particules insolubles.

L'influence du type et de la teneur en plastifiant sur l'opacité apparente des films à base de caséinate de sodium est présentée dans le tableau 2.2. Les films sont caractérisés par de faibles valeurs d'opacité apparente (entre 40 et 60 Valeur d'Absorbance, VA. nm) ce qui traduit la "bonne" transparence de ces matériaux.

Cette transparence est indispensable pour le type d'applications envisagées, comme enrobages comestibles « invisible » à la surface des aliments. Par ailleurs, les valeurs d'opacité apparente sont inférieures à celles mesurées par Gontard et al. (1992) pour des films à base de gluten de blé (90 à 140 VA.nm) et supérieures à celles de films de protéines myofibrillaires (17 VA.nm) par Cuq et al. (1996a) pour des valeurs d'épaisseur entre 10 et 50 μm .

Etant donnée la bonne transparence du film de caséinate de sodium, l'opacité apparente semble indépendante de l'épaisseur dans la gamme étudiée quel que soit la teneur et type de plastifiant employé (Tableau 2.2). Nous pouvons supposer que le glycérol et le sorbitol sont capables de diffuser et de se disperser dans la matrice protéique de manière efficace, grâce à leur faible masse molaire de 92 et 180 g/mol respectivement. Nous n'avons pas observé d'effet de la concentration en plastifiant sur les films car les variations de concentration mises en œuvre sont relativement faibles (entre 10 et 30 g plastifiant / 100 g protéine).

Divers auteurs s'appuient sur l'idée d'une orientation préférentielle de la partie hydrophobe des protéines en solution aqueuse au niveau de deux interfaces: « film – air » et « film - support de casting hydrophobe » (ici, PVC), entourant la partie hydrophile des protéines et supposent que l'absorbance mesurée des films est due principalement à la réflectance à la surface du film, ce qui explique le peu d'effet de l'absorbance du plastifiant dans la matrice protéique.

Tableau 2.2 : Effet de la nature et de la concentration en plastifiant sur l'opacité apparente des films à base de caséinate de sodium.

Plastifiant		Opacité Apparente (VA.nm)		Epaisseur du film (μm)		Opacité/Epaisseur (VA.nm/ μm)
Nature	Concentration (g/100g MS)	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	
Sans plastifiant	0	55,6	3,1	90	6,2	0,6
Glycérol	10	59,2	2,1	80	3,5	0,7
	20	48,5	2,0	130	5,4	0,4
Sorbitol	10	55,8	2,1	120	6,2	0,5
	20	54,5	3,3	100	6,9	0,5

2.3. Microstructure

La microstructure de films déshydratés contenant du glycérol ou du sorbitol à différentes teneurs a été observée par microscopie électronique à balayage (Figure 2.1). Les films ont une surface homogène présentant des pores et une structure relativement anisotrope qui laisse entrevoir la formation d'un réseau organisé.

La microstructure des films observés en coupe montre une orientation en couches qui pourrait renforcer l'idée de la structuration préférentielle des radicaux hydrophobes des protéines vers les faces externes du film et, par opposition l'orientation des radicaux hydrophiles, vers le cœur du film de caséinate de Na (Figure 2.2). D'autre part, le séchage peut exercer un effet sur la structure étant donné qu'il se fait dans une seule direction et peut provoquer une anisotropie et des fractures.

La microstructure des films observée en coupe après fracture est présentée sur la figure 2.2. Les films réalisés à partir de caséinate de sodium et plastifiant présentent une structure lisse, fine, et légèrement hétérogène. Deux zones bien distinctes apparaissent: une zone qui constitue la partie supérieure du film dont la surface a été au contact de l'air et une zone beaucoup plus compacte et homogène qui correspond à la partie du film au contact du support de PVC. La vitesse de séchage est beaucoup plus rapide à la surface. Au cours du séchage du film, une part importante de bulles d'air et d'eau migrent vers la surface, ce qui peut déstabiliser le réseau protéique en réduisant les interactions moléculaires entre les chaînes protéiques. Des zones granuleuses contrastent avec d'autres plus lisses.

Les films réalisés avec le glycérol (Figure 2.1-a et 2.1-b) présentent une structure plus poreuse que les films réalisés avec le sorbitol (Figures 2.1-c et 2.1-d). Cependant nous avons analysé les images et nous avons trouvé un diamètre de pores d'environ 100 µm pour les films avec 10% glycérol, comme ceux avec 10% sorbitol, 125 µm pour les films avec 20% glycérol et de 150 µm pour les films avec 20% sorbitol, ce qui coïncide avec les valeurs de perméabilité à la vapeur d'eau ou Sorbitol 10 = Glycérol 10 < Glycérol 20 < Sorbitol 20.

La réticulation des protéines, au cours du séchage du film, semble être favorable pour obtenir une répartition homogène des plastifiants dans le réseau protéique.

Les macromolécules doivent contenir un nombre important de groupements polaires favorisant l'établissement de liaisons de nature électrostatique entre les chaînes. Cependant l'établissement de liaisons intermoléculaires est très dépendant de la proportion respective de chaque acide amine constitutif. Ainsi des teneurs élevées en sérine, thréonine, en acides aminés acides et basiques permettent l'établissement d'un grand nombre de liaisons électrostatiques.

La constitution du réseau protéique se déroulerait en deux étapes. Dans un premier temps, les chaînes polypeptidiques déployées lors de la phase de solubilisation - dénaturation de la solution filmogène s'orienteraient dans une direction. Dans un second temps, durant l'étape de coagulation, les chaînes protéiques se figeraient dans leur orientation par exclusion de l'eau d'hydratation et par établissement de liaisons intermoléculaires de type hydrogènes, ioniques, covalentes et d'interactions hydrophobes s'établissent entre les radicaux d'acides aminés constitutifs.

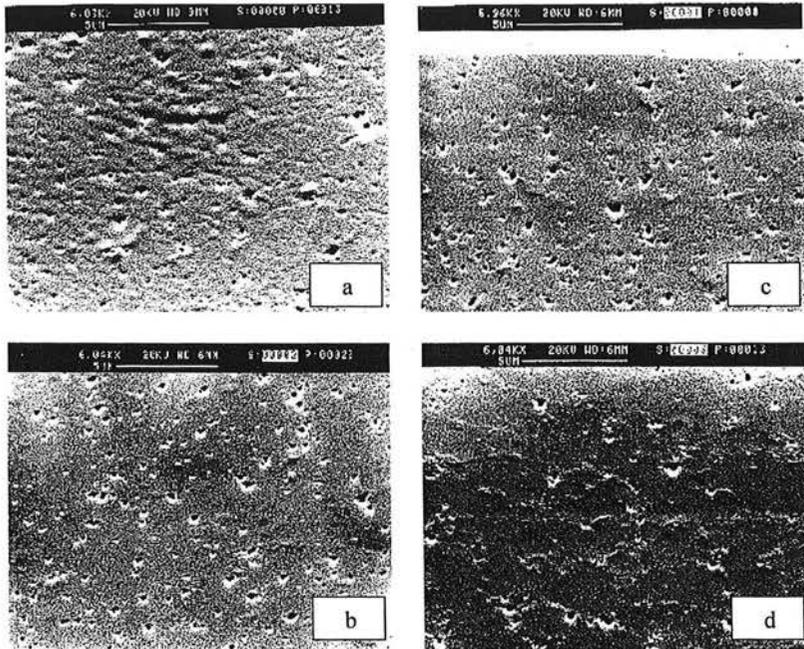


Figure 2.1 : *Microstructure de la surface d'un film de caséinate de sodium contenant a) 10% glycérol, b) 20% glycérol, c) 10% sorbitol et d) 20% sorbitol, observés par microscopie électronique à balayage (MEB). Grossissement 6000.*

Sur les micrographies de la figure 2.2, la surface des films est représentée. On observe que les films présentent une structure dense et que la matrice protéique est différemment orientée d'une part et d'autre des deux surfaces (Figure 2.2-c). La matrice est perpendiculairement orientée à la surface supérieure du film tandis qu'elle s'oriente parallèlement à la face inférieure du film.

Ce changement dans l'orientation de la matrice tend plutôt à traduire des déformations de masse, sous l'action des contraintes subies par les films au moment de leur coagulation. La figure 2.2-b représente une coupe transversale des films. Une orientation du réseau protéique est visible.

La figure 2.2 représente la surface d'un film en EEM, celle-ci est striée parallèlement à la grande longueur des films.

Les micrographies prises (figure 2.2-c et 2.2-f) représentent la périphérie et le centre des films. On observe nettement que les films ont une structure poreuse qui est de plus en plus dense de l'extérieur, vers l'intérieur du film. Une explication à la structure des films est alors fournie si l'on considère que l'étape de coagulation est accompagnée d'une exclusion d'eau vers l'extérieur. En conséquence, la coagulation des films dans leur partie centrale devient extrêmement dépendant des transferts d'eau. Les micrographies réalisées à un grossissement plus fort (2.2-f) représentent la structure interne des films. Elles révèlent que le film possède une structure plus dense. Cette observation est extrêmement importante puisqu'elle permettra d'expliquer les bonnes propriétés mécaniques et le faible valeur de perméabilité à la vapeur d'eau obtenues pour ce film. D'autre part, les films sont réalisés à partir de la solution filmogène ayant la viscosité apparente la plus élevée (Voir § 1.1.1.) ce qui tend à montrer que dans ce cas, le ralentissement du phénomène de coagulation à l'intérieur du film aboutit à la formation d'un réseau protéique dense, coagulation lente.

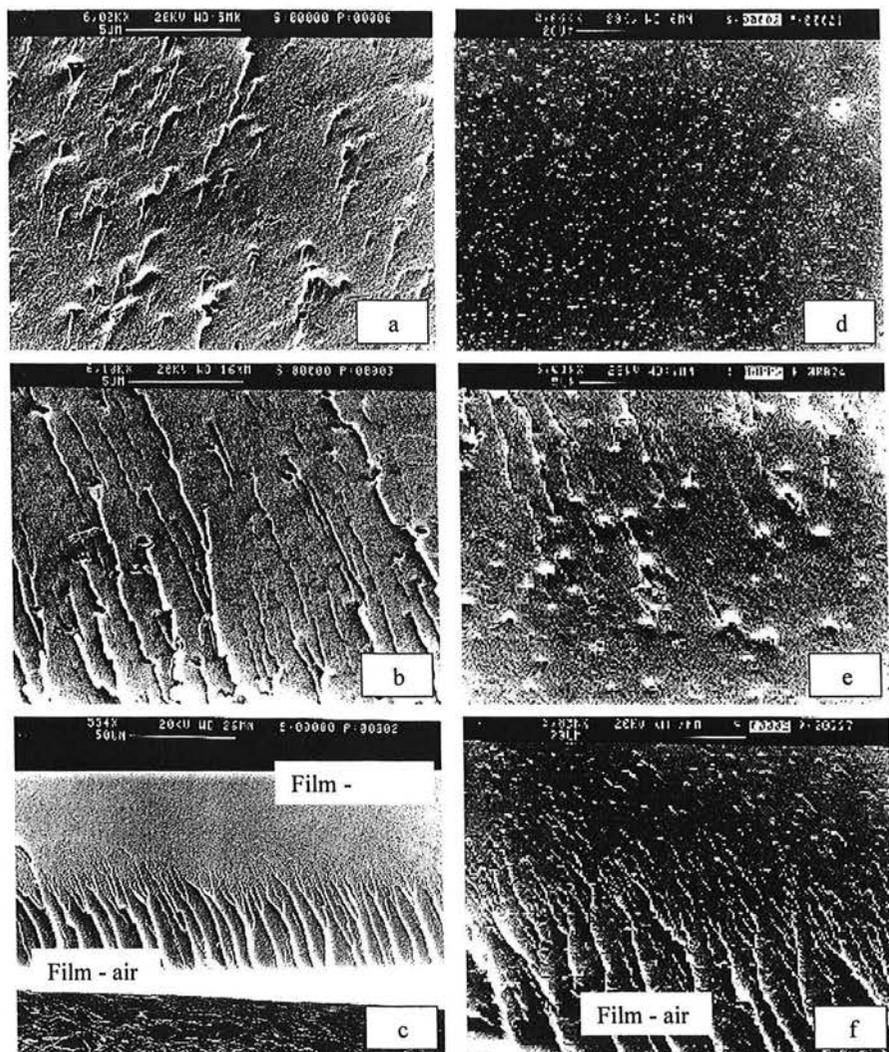


Figure 2.2 : Microstructure de surface (d) et de coupes après cryofracture (a, b, c, e, f) de films à base de caséinate de sodium et 10% glycérol (a, b, c) ou 10% sorbitol (d, e, f). Micrographies a, b et e grossissement 6000. Micrographies d et f, grossissement 2000. Micrographie c, grossissement 550.

2.3.1. Effet de l'humidité relative sur la microstructure des films

La technique de microscopie environnementale appliquée aux aliments est d'utilisation récente. De façon pratique nous avons appliqué à tous les échantillons un grand contraste et un faible luminosité.

Une exploration initiale de la surface des films à base de caséinate de sodium a été effectuée dans le microscope électronique. L'aire des images observées est d'environ $115\ \mu\text{m} \times 85\ \mu\text{m}$, laquelle peut varier en fonction de l'amplification choisie. De façon générale, nous avons observé trois caractéristiques importantes dans l'image : en premier lieu, on observe que l'image apparaît relativement plate. Ce qui confirme l'appréciation visuelle de l'échantillon, puisqu'une surface brillante est caractéristique d'une faible dispersion optique. Dans tous les cas un examen de la surface en contact avec le support a été limité, essentiellement due au fait que ne laisse pas bien élucider les détails structuraux de la surface.

Cependant nous avons observé la présence de petites particules de taille diverse, deuxième caractéristique à noter, qui varient de $1\ \mu\text{m}$ à $15\ \mu\text{m}$ de diamètre. Les particules se trouvent immergées dans la surface du film. On a alors observé plus en détail ces particules en plusieurs zones de l'échantillon. Ainsi nous avons pu apprécier que ces particules font partie de la structure du film. Est-il possible que une partie de la solution filmogène ait pu former des nouvelles liaisons, mais aussi des agglomérats à une vitesse plus élevée que d'autres. Pour ainsi donner lieu à la formation de grosses particules. Le troisième trait caractéristique concerne la porosité de la surface. Elle peut être due à la présence de bulles d'air emprisonnées dans le réseau du film au cours de l'étalement et pendant le séchage de la solution filmogène ou bien résulter de la réticulation des protéines par les plastifiants.

Afin d'obtenir plus d'information sur les détails de la surface, nous avons amplifié une zone du film. Nous avons observé que la taille de pores était d'environ $1\ \mu\text{m}$. Un grand agrégat de protéine avait une taille de $26\ \mu\text{m}$ de longueur et $18\ \mu\text{m}$ de largeur. Pour vérifier si tout au long du film il y avait une structure homogène. Un deuxième échantillon du même film a été examiné et analysé à différents endroits. Les particules trouvées ont été de taille inférieure. D'autres auteurs ont mis en évidence la présence d'agglomérats d'environ $1\ \mu\text{m}$ en gels de lactosérum (Otte et al., 1996). Nous avons analysé la composition des particules trouvées par

diffractogramme à dispersion d'énergie de rayon "x" (EDAX) et on a pu apprécier que la composition moyenne des agglomérats reste constante.

Les échantillons ont été soumis à une température de 20°C et 4 différentes humidités relatives (11 %, 43 %, 76 % et 86 %). Nous avons comparé l'effet plastifiant de l'eau sur la surface des films. Les films réalisés à partir de caséinate de sodium et 20% de glycérol (Figure 2.3) présentent une structure homogène, rugueuse et avec une certaine porosité. Nous pouvons apprécier que plus l'humidité relative soit importante plus forte sera le degré d'hydratation. Il semblerait, que l'eau s'accroche fortement en formant plus de ponts d'hydrogène. La surface se montre plus ballonnée et accidentée, dans laquelle nous pouvons apprécier un gonflement général de la matrice polymérique. Le même comportement nous l'avons observé pour les films contenant 30% de glycérol (Figure 2.4).

Dans la Figure 2.5 nous pouvons apprécier l'effet de la concentration en glycérol sur des films soumis à une humidité relative en équilibre de 11%. Nous avons voulu comparer les micrographies avec des résultats topographiques des surfaces des films soumis sous les mêmes conditions expérimentales afin de voir l'action de la vapeur d'eau dans la surface du film.

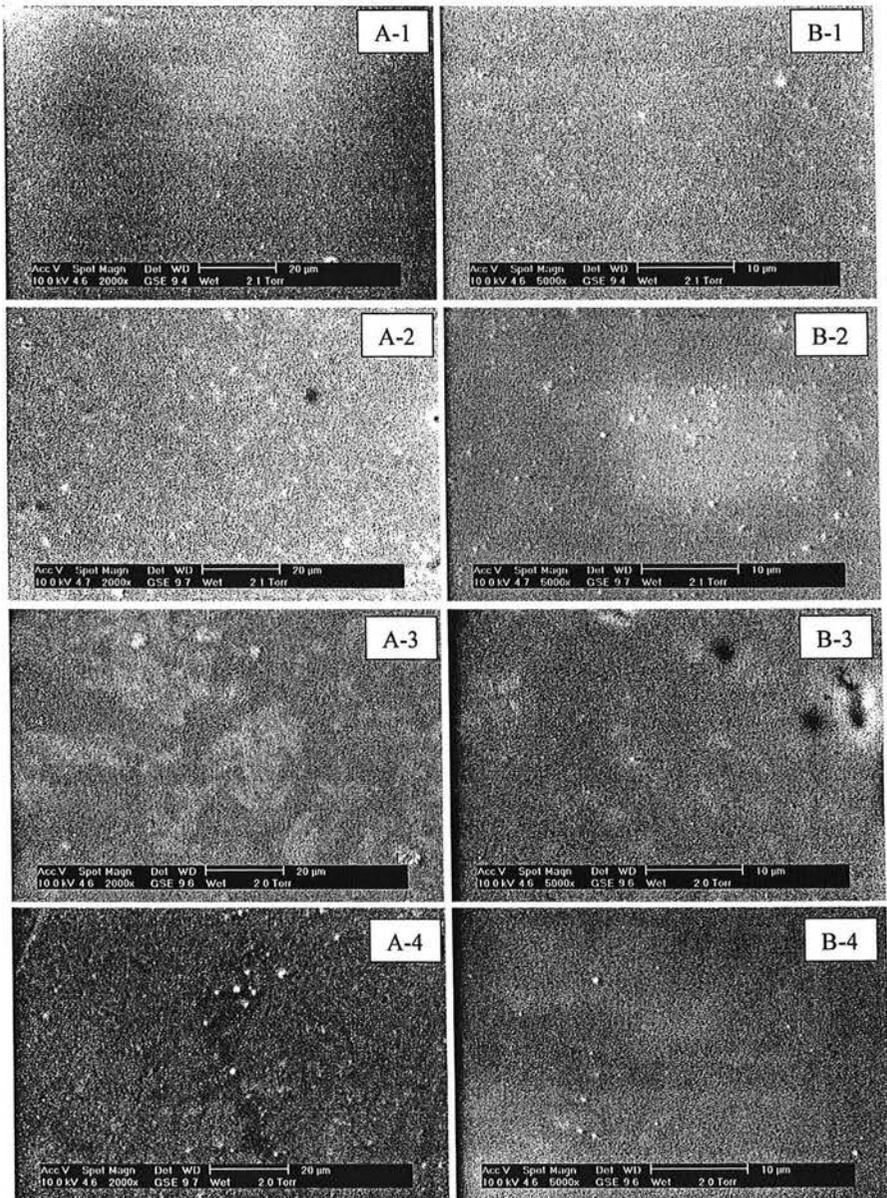


Figure 2.3 : Effet de l'humidité relative sur la microstructure de films de caséinate de sodium et 20% glycérol, colonne A correspond à un grossissement de 2000 et la colonne B à un grossissement de 5000. Ligne 1 correspond à 11% HR; ligne 2 HR=43%; ligne 3 HR=76% ; ligne 4 HR=86%.

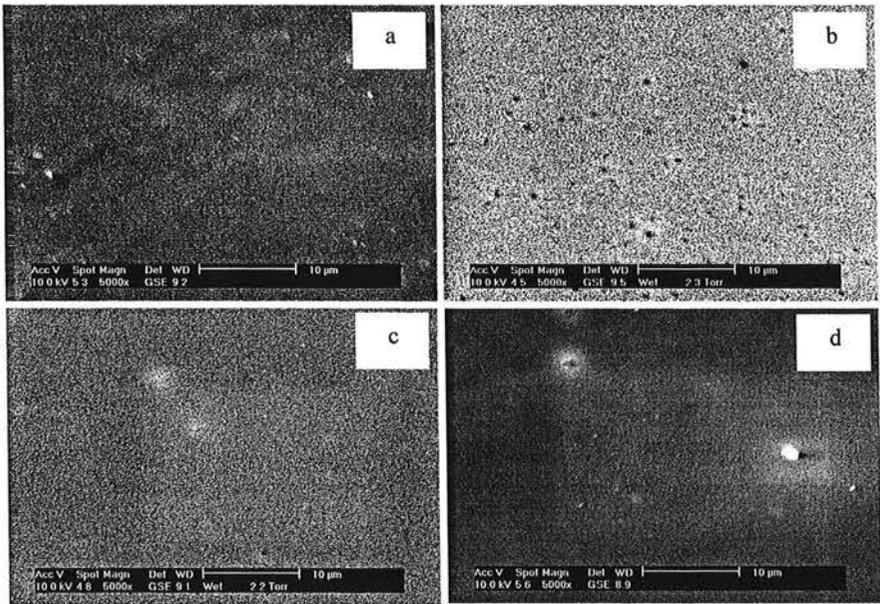


Figure 2.4 : Micrographies de films de caséinate de sodium et 30% glycérol (grossissement de 5000). Photo (a) correspond à une HR=11%; (b) HR=43%; (c)HR=76%, (d) HR=86%.

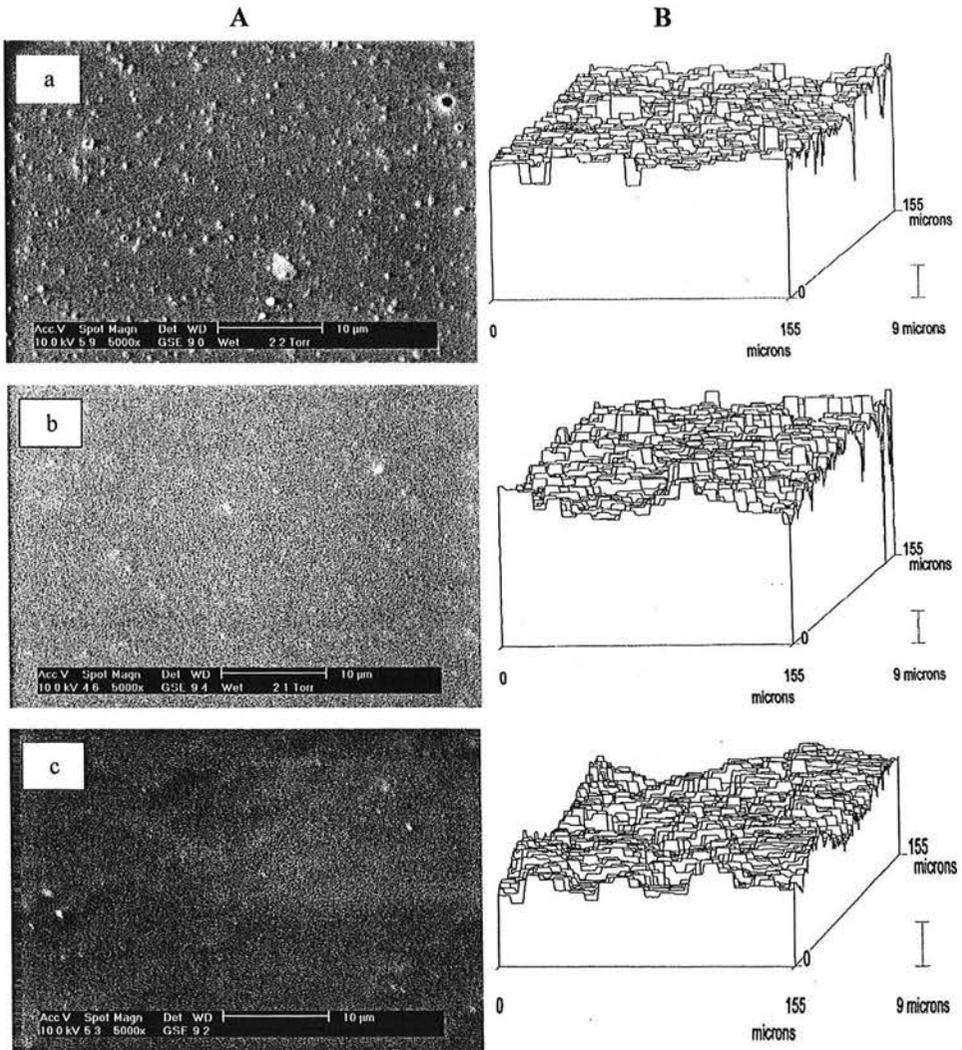


Figure 2.5 : Effet de la concentration en glycérol sur les micrographies (Colonne A) et sur les topographies de surface (Colonne B) de films de caséinate de sodium soumis à une HR de 11%. Grossissement de 5000. Figure (a) 10% glycérol, (b) 20% glycérol et (c) 30% glycérol.

2.4. Topographie de surfaces.

La connaissance de la topographie de surface des films est fondamentale pour optimiser l'utilisation des films en termes d'adhérence et de collage aux systèmes alimentaires

Les résultats rugosimétriques obtenus pour la surface de nos films obtenus après séchage (HR moyenne de 60%) sont indiqués sur la figure 2.6 et dans le tableau 2.3. La rugosité arithmétique moyenne (R_a) se situe toujours entre 2 et 4 μm et la rugosité totale (R_t), qui représente l'amplitude maximale mesurée entre le point le plus haut et le plus bas de la surface, se situe entre 123 et 237 μm . R_t n'est pas un paramètre statistique représentatif, étant donné qu'il considère seulement, pour le calcul, deux points sur la surface, z_{max} et z_{min} , et est sujet à d'éventuels interférences. R_q concerne l'écart type (σ). Le profil gaussien de distribution des hauteurs montre en plus que la rugosité de ces surfaces est homogène.

Tableau 2.3 : Critères de rugosité des films à base de caséinate de sodium utilisées dans cette étude.

Plastifiant		Rt (μm)	Ra (μm)	Rq (μm)	Sd (%)
Nature	Concentration (g/100 g MS)				
Glycérol	10	152	3,15	5,09	189,7
	20	237	2,75	4,51	185,7
Sorbitol	10	123	3,27	4,29	199,6
	20	215	2,5	4,93	177,1

D'après les valeurs de la surface développée (S_d), la surface apparente du film est près de deux fois moins importante que la surface effective, mesurée par rugosimétrie. Ainsi, la surface effective où les interactions adhésives sont possibles augmente avec la rugosité. Les interactions hydrophobes, acides - bases et les effets dus à la tension superficielle ont davantage de possibilités de se produire, ce qui corrobore l'explication de Cheesman et Davies (1954) et de McRitchie (1978) sur l'orientation préférentielle de la partie hydrophobe des protéines en solution aqueuse au niveau de deux interphases: film - air et film - support hydrophobe.

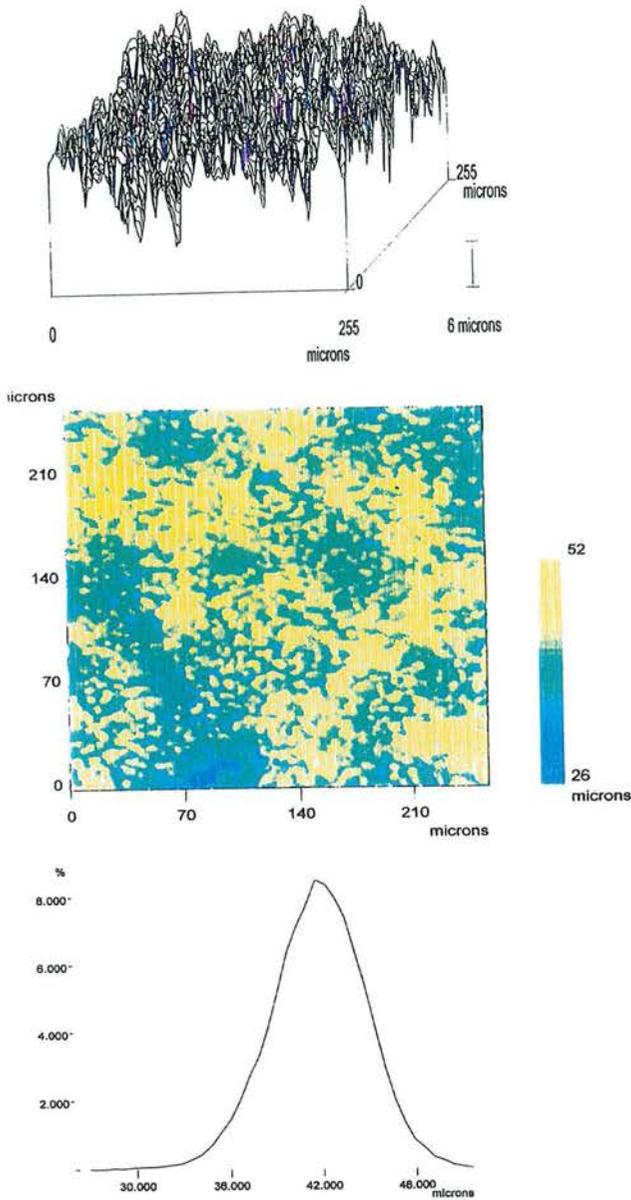


Figure 2.6 : Profil de rugosité de surface d'un film à base de caséinate de sodium et 20% sorbitol en utilisant un capteur laser à 256 points pas 1 micro: (a) tridimensionnel, (b) vu supérieure et (c) distribution des hauteurs.

2.4.1. Effet de l'humidité relative sur la topographie des surfaces.

La quantité de vapeur d'eau joue un rôle assez important dans les différents critères de rugosité. L'eau disponible, sous forme de vapeur d'eau, est en fonction de l'humidité relative de l'enceinte climatique. Plus saturée l'environnement est, majeure sera la disponibilité d'eau et pourtant la déposition sous forme de vapeur sera beaucoup plus importante que celle produise dans les enceintes à faible humidité relative.

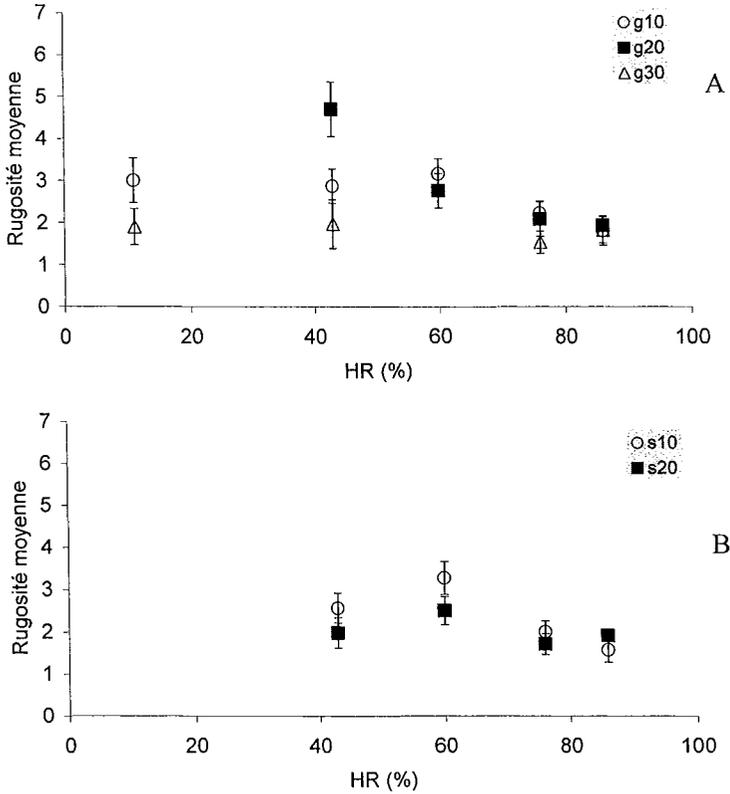


Figure 2.7 : Effet de l'humidité relative sur la rugosité moyenne des films à base de caséinate de sodium et (A) glycérol et (B) sorbitol.

Nous pouvons considérer que la vapeur d'eau est adsorbée par la surface du film, en générant un système plus uniforme, plus ballonné et moins accidenté. Ce qui se reflète dans les valeurs de rugosité moyenne et de surface développée. Lorsque l'humidité relative du système augmente, la variabilité entre les valeurs maximales et minimales enregistrées pour le capteur optique diminue. Donc, la rugosité moyenne est inversement proportionnelle à l'humidité relative du système (Figure 2.7).

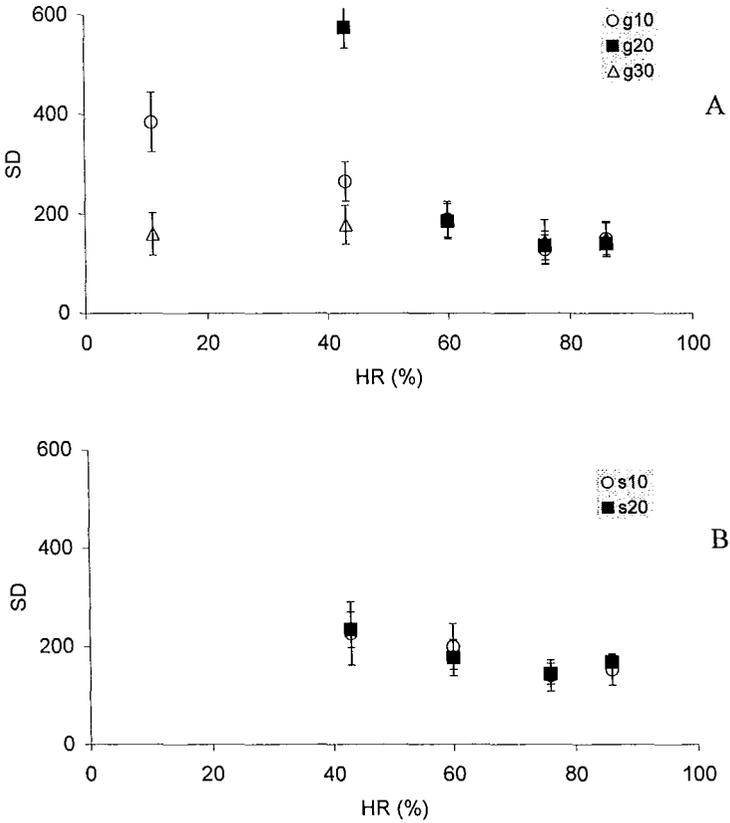


Figure 2.8: Effet de l'humidité relative sur la surface développée (Sd) des films à base de caséinate de sodium et (A) glycérol et (B) sorbitol.

Nous pouvons apprécier le même type de comportement autant pour le glycérol que pour le sorbitol. L'humidité relative joue également un rôle positif sur les valeurs de la Surface développée quand le système est soumis à l'influence de l'hydratation (Figure 2.8). Ce type de comportement nous l'avons aussi apprécié dans la figure 2.6. Les surfaces des films témoins, qui n'ont pas suivi un contrôle d'humidité relative sous atmosphères contrôlées, se montrent plus rugueuses par rapport aux films conditionnés. La matrice du système filmogène caséinate de sodium - plastifiant - eau, montre un gonflement généralisé, qui a bien été observé par la technique de microscopie électronique à balayage environnemental (Voir § Figures 2.3 à 2.5).

A partir des données rugosimétriques, nous avons analysé l'effet de l'humidité relative et le type de plastifiant sur la topographie des surfaces (Figure 2.9). Nous observons un effet très important de l'humidité relative sur la rugosité moyenne et la surface développée. L'effet des deux paramètres explique un 70% de la variance.

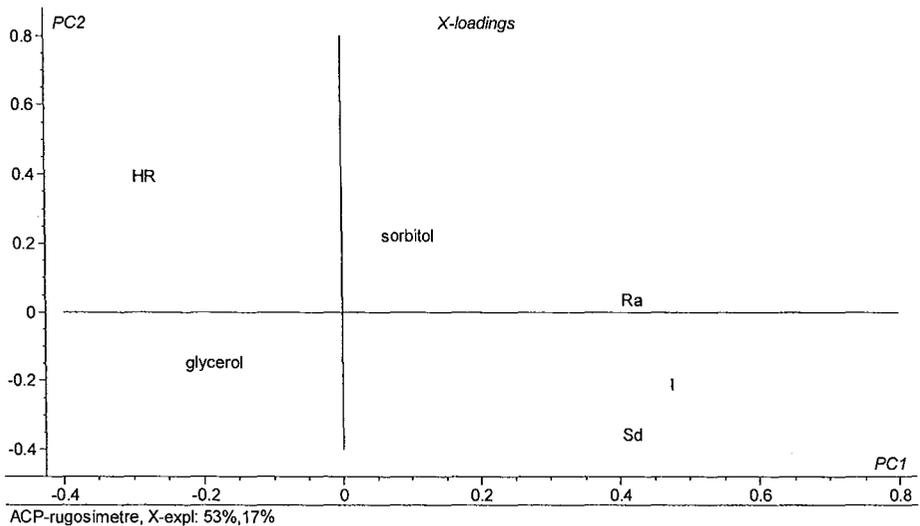


Figure 2.9 : Distribution des variables sur le plan principal (formé par les deux premières composantes principales PC1 vs PC2).

Dans la figure 2.10, on observe la courbe de dispersion des films sur le plan formé par les deux composantes principales. Les films peuvent être regroupés par plages d'humidité relative. L'échelle colorée correspond à la gamme d'humidité relative étudiée qui va de 11 à 86%. Pour les films contrôles, qui n'ont pas subi de conditionnement, nous avons considéré une humidité relative ambiante de 60%. Les individus (1-10) correspondent aux films à base de glycérol et les individus (11-20) aux films à base de sorbitol. Aux valeurs de HR > 43% on observe une très bonne différenciation, tandis que les films à faible humidité relative (11% HR) présentent une plus grande variabilité.

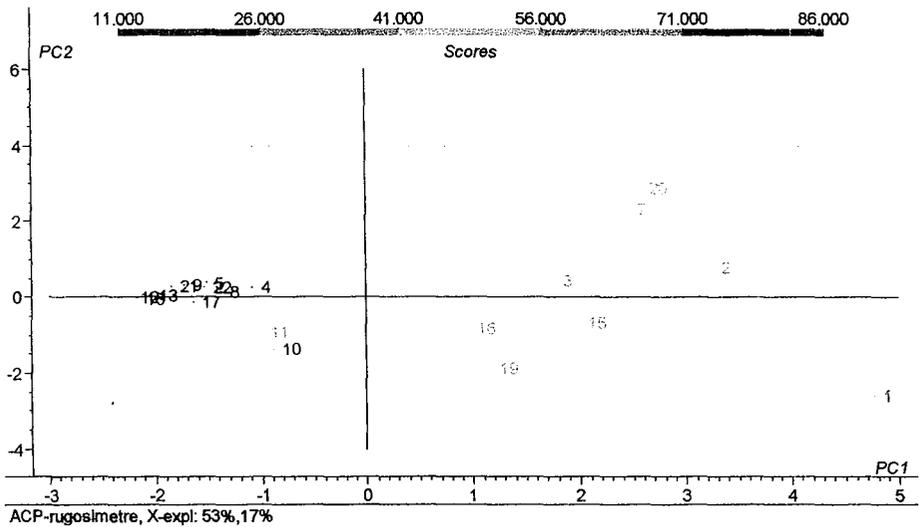


Figure 2.10 : Distribution des individus sur le plan principal. L'échelle colorée marque la plage des valeurs d'humidité relatives étudiées.

Conclusion: L'humidité relative réagit sur l'état de surface mesuré. Nous avons apprécié une diminution de la taille de pores qui montre une tendance à disparaître. La rugosité n'évolue pas et la surface développée montre aussi une diminution.

3. Propriétés fonctionnelles des films de Caséinate

Les propriétés fonctionnelles des films à base de caséinate de sodium sont fortement dépendantes de la teneur en eau et par conséquent des conditions d'humidité relative ambiante. Des travaux réalisés par différents groupes de recherche rapportent des informations concernant l'effet de la teneur en eau sur les principales propriétés fonctionnelles de films à base de biopolymères (Rico-Peña et Torres, 1991; Somanathan et al., 1992; Gennadios et al., 1993b; Gontard et al., 1993; Debeaufort et al., 1994; McHugh et Krochta, 1994b; Gontard et al., 1996)

D'une manière générale, l'augmentation de la teneur en eau des films se traduit par une plastification du système et par une diminution des propriétés barrières, de la résistance mécanique, et par une augmentation des propriétés d'élongation.

3.1. Propriétés d'hydratation

3.1.1. Influence de la teneur en plastifiant

Les interactions de l'eau avec les biopolymères sont largement responsables des modifications des propriétés physiques des films. La relation entre humidité relative d'équilibre (HRE) et teneur en eau est décrite par les courbes isothermes de sorption d'eau. Dans les courbes d'adsorption (Figure 3.1) réalisées entre 0 et 95% d'HRE pour les deux plastifiants (glycérol et sorbitol) à deux concentrations (10 et 20 %) et deux températures de conditionnement (10°C et 20°C), les isothermes sont de forme sigmoïde, caractéristique de polymères hydrophiles (type III selon la classification B.E.T.).

A l'équilibre, la courbe isotherme de sorption du film de caséinate de sodium sans plastifiant est identique à celui du caséinate pur en poudre. Les étapes de solubilisation, gélification et séchage de la solution de caséinate de sodium lors de la préparation du film ne modifient pas les propriétés de sorption.

En présence de glycérol ou de sorbitol, les films deviennent plus sensibles à l'humidité relative lorsque la teneur en plastifiant augmente.

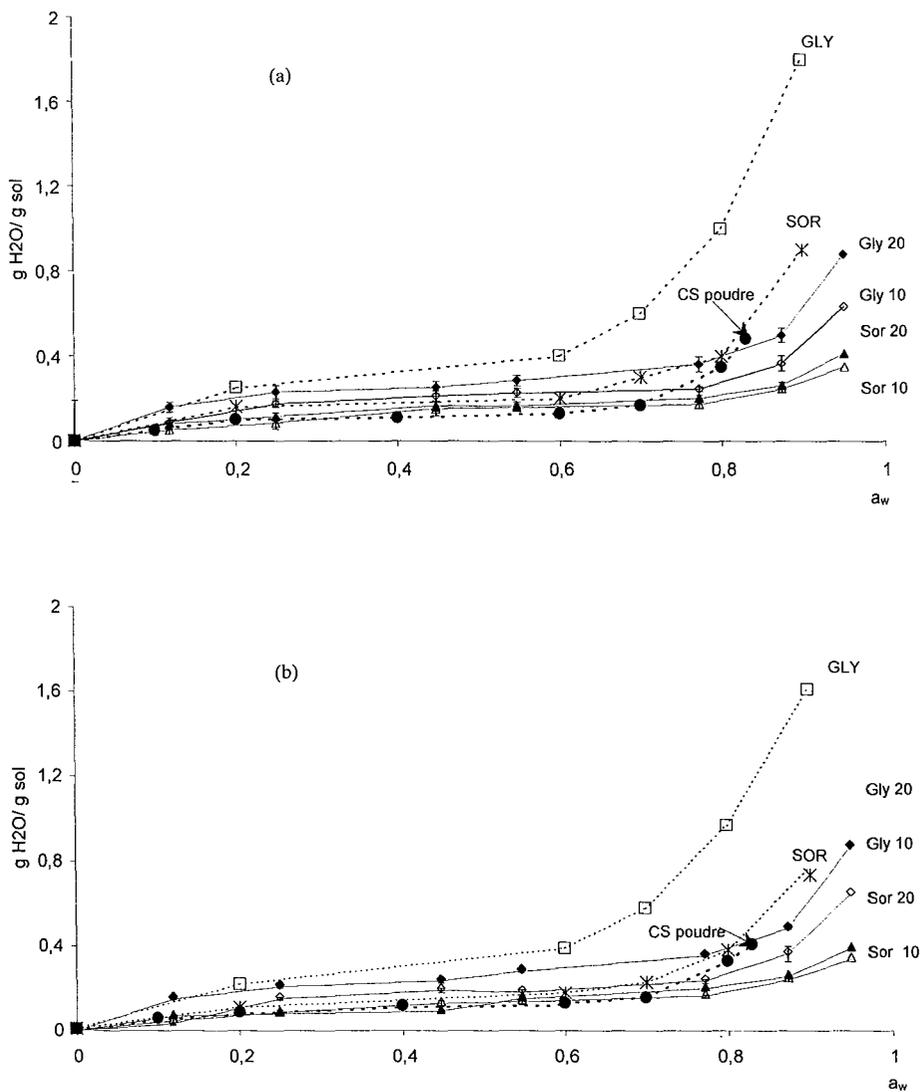


Figure 3.1 : Isothermes d'adsorption d'eau des films à base de caséinate de sodium et de glycérol et de sorbitol à T= 10° C (a) et T= 20° C (b).

3.1.2. Modèles de BET et GAB

Parmi les équations mathématiques proposées pour décrire l'allure sigmoïdale des isothermes (Brunauer et al., 1938; Oswin, 1946; Smith, 1947; Halsey, 1948), l'équation de Guggenheim-Anderson-De Boer (GAB) à trois paramètres (équation 1) a été amplement utilisée pour les isothermes d'adsorption de nombreux produits alimentaires jusqu'à une activité d'eau de 0,9 (Bizot, 1984).

Eqn 1 :	Modèle BET :	$m = \frac{C m_0 a_w}{(1 - a_w)[1 - C \text{Ln}(1 - a_w)]}$
	Modèle GAB	$m = \frac{m_0 k_b c a_w}{(1 - k_b)(1 - k_b a_w + k_b c a_w)}$
avec : m, masse d'eau de l'aliment; m ₀ , masse d'eau de la monocouche; C, constante BET; c, constante (1 < c < 200); k _b , facteur correctif (0,7 < k _b < 1,2)		

Pour les films à base de caséinate de sodium, les courbes prédites par les équations de GAB et BET décrivent de manière adéquate les données expérimentales (Tableau 3.1). La valeur du coefficient de corrélation est toujours supérieure à 0,95. La valeur de k_b, dans le modèle de GAB était proche à 1. L'allure sigmoïdale des isothermes est typique des matériaux à forte teneur en protéines et indique que l'eau est adsorbée en couches multimoléculaires en accord avec la théorie de Brunauer-Emmet-Teller (Brunauer et al., 1938). L'adsorption de la vapeur d'eau par des matériaux secs commence par l'association des molécules d'eau sur des sites hydrophiles spécifiques. Pour des humidités relatives plus importantes, l'adsorption d'eau est accompagnée de changements de conformation et d'un gonflement de la structure macromoléculaire (d'Arcy et Watt, 1981; Watt, 1983). Des courbes isothermes d'adsorption d'allure sigmoïdale similaire ont déjà été mises en évidence pour différents films à base d'hydrocolloïdes (Rico-Peña et Torres, 1990; Gontard et al., 1993; Bader et Göritz, 1994; Debeaufort et al., 1994; Gennadios et Weller, 1994; Mathlouthi et al., 1994).

Les valeurs des paramètres déterminés à partir de l'équation GAB sont présentées dans le tableau 3.1. La teneur en eau de la couche monomoléculaire des films à base de caséinate de sodium ($M_{0\text{ GAB}} = 0,0705$ g / 100 g matière sèche et $M_{0\text{ BET}} = 0,1060$ g / 100 g matière sèche à 20°C) peut être associée avec la proportion d'acides aminés polaires non ionisés des protéines laitière.

Tableau 3.1: Valeurs de paramètres de l'équation de GAB utilisées pour décrire les isothermes d'adsorption d'eau des films à base de caséinate de sodium.

Film	T (°C)	GAB	
		Kb	m_0 (g eau/g sol)
Caséinate de sodium	20	0,86	0,072
Film sans Plastifiant	20	0,88	0,0662
Gly 10	10	0,77	0,1287
	20	0,94	0,0705
Gly 20	10	0,90	0,0832
	20	0,95	0,0667
Sor 10	10	0,85	0,0808
	20	0,95	0,0658
Sor 20	10	0,84	0,0903
	20	0,93	0,0689

En comparaison aux études réalisées par Gennadios et Weller (1994) sur les propriétés d'adsorption de différents films à base de protéines comme le gluten de blé et la zéine de maïs, ils présentent des teneurs en eau de la couche monomoléculaire beaucoup plus importantes (10,5 et 12,4 respectivement) que ceux de notre étude. Ces valeurs supérieures peuvent être en partie associées aux fortes proportions d'acides aminés polaires non ionisés du gluten de blé (39%) et de la zéine de maïs (16%).

L'augmentation de la température a pour effet de réduire la teneur en eau d'équilibre des films à base de caséinate de sodium sur l'ensemble de la gamme d'activité d'eau étudié. D'après la loi de Clausius-Clapeyron, la quantité d'eau adsorbée à chaque activité de l'eau diminue avec une augmentation de température, ce qui se traduit par une diminution de la teneur en eau de la couche monomoléculaire (Tableau 3.1). Cette dépendance de la température est commune à la majorité des systèmes alimentaires, comme a été mis en évidence par Iglesias et Chirife (1976) quand ils ont étudié une centaine de produits alimentaires.

4. Propriétés enthalpiques et thermomécaniques

Dans ce chapitre, la transition vitreuse des films de caséinate plastifiés avec du glycérol ou du sorbitol est étudiée et caractérisée à l'aide des techniques d'analyse enthalpique différentielle modulée (AEDM) et d'analyse thermomécanique dynamique (ATMD) pour évaluer la thermoplasticité du système « caséinate de sodium - plastifiant - eau ». Dans la littérature, cette approche est largement utilisée pour les polymères synthétiques (Kalichevski et al., 1993a) mais les polymères biologiques sont encore très peu étudiés.

La ATMD et la AEDM sont deux techniques complémentaires pour étudier la transition vitreuse d'un matériau. La ATMD est une technique très sensible aux faibles relaxations α associées à la transition vitreuse des biopolymères, tandis que la AEDM permet l'évaluation de la transition vitreuse en utilisant des capsules fermées et un chauffage simple de l'échantillon, ce qui empêche la perte de plastifiant et l'altération de l'échantillon.

4.1. Propriétés enthalpiques mesurées par analyse enthalpique différentielle modulée (AEDM).

Les thermogrammes d'analyse enthalpique différentielle des films à base de caséinate de sodium, enregistrés pour différents teneurs en plastifiant, sont présentés sur la Figure 4.1. Nous observons une seule transition entre 20 et 240°C, ce qui indique que les composantes du film ont été distribuées de manière homogène.

Lors du premier chauffage de l'échantillon, on observe une très bonne différenciation dans la courbe de flux de chaleur "totale" entre les réactions exothermiques irréversibles entre 20 et 150°C et la relaxation endothermique apparente (150°C à 200°C).

Lors d'un deuxième chauffage, la courbe de flux endothermique traduit un changement discontinu de la chaleur spécifique et caractérise une transition endothermique du second ordre (transition vitreuse). La plage de transition vitreuse des films de caséinate de sodium est caractérisée par les températures de début (T_i) et de fin (T_f) du changement du flux de chaleur endothermique (Tableau 4.1). Cette plage de transition vitreuse (ΔT d'environ 30°C) est du même ordre de grandeur que les plages données dans la littérature pour diverses protéines (Cocero et Kokini, 1991 ; Kalichevski et al. , 1993b) ou pour des polymères synthétiques (Bell et Touma, 1996 ; Coleman et Craig, 1996). Les valeurs de température de transition vitreuse (T_{gm}) et de ΔC_p ainsi obtenues sont reportées dans le tableau 4.1.

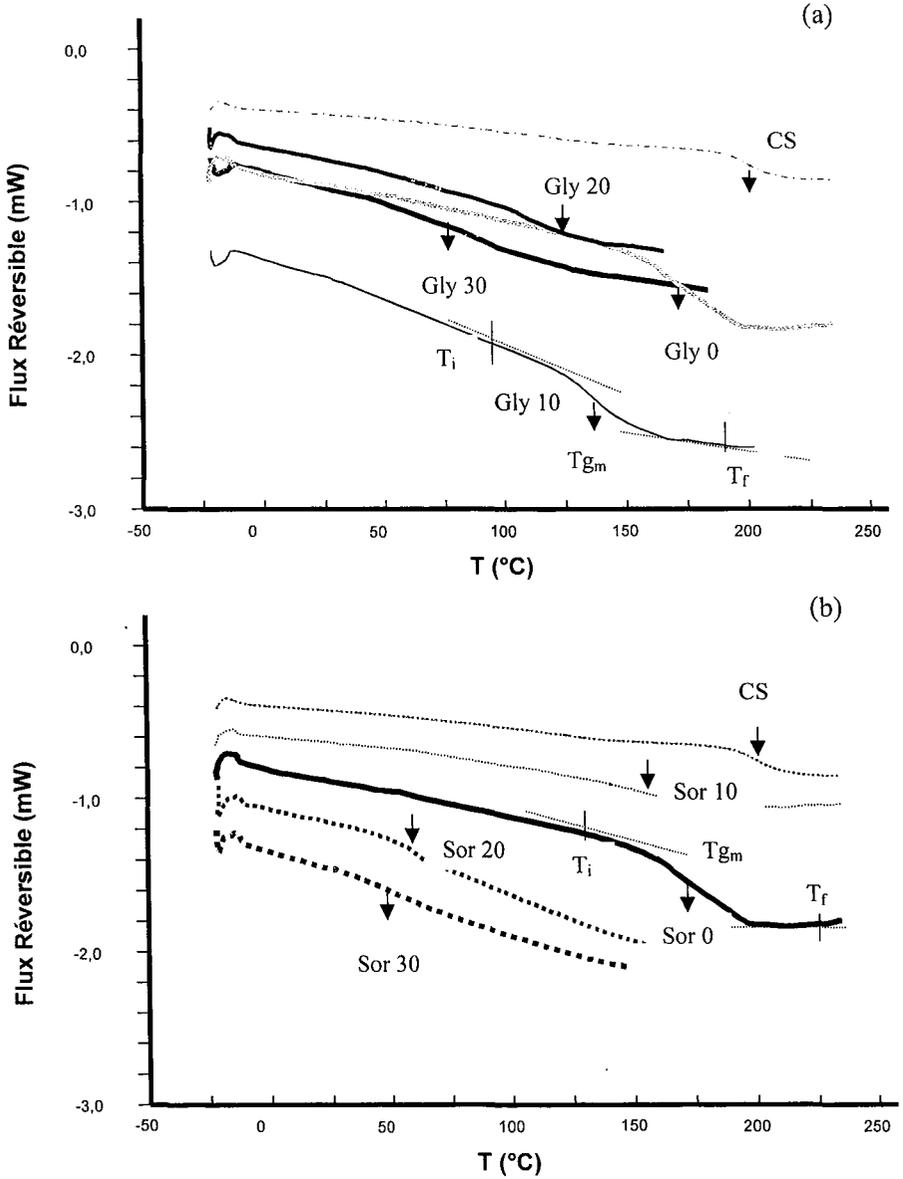


Figure 4.1. : Thermogrammes de flux de chaleur réversible des films à base de caséinate de sodium plastifiés par le glycérol (a) et le sorbitol (b) à 0, 10, 20 et 30 % $p_{\text{plastifiant}}/p_{\text{protéine}}$

Tableau 4.1 : Valeurs expérimentales de T_{gm} , T_i , T_f et de ΔC_p , obtenues par analyse enthalpique différentielle modulée (AEDM)

HR (%)	Plastifiant	%	T_i	T_{gm}	T_f	ΔC_p
0	Glycérol	10	100,91	132,37	167,56	0,5026
		20	94,99	105,86	123,74	0,5064
		30	79,17	89,23	98,68	0,4889
	Sorbitol	10	134,83	147,61	168,08	0,5377
		20	29,91	57,07	82,65	0,5507
		30	25,43	50,57	75,63	0,5325
23	Glycérol	10	52,22	82,30	105,81	0,5098
		20	52,20	64,41	75,10	0,5061
		30	48,43	59,38	68,76	0,4713
	Sorbitol	10	38,84	55,87	62,43	0,5087
		20	36,74	47,43	57,14	0,4755
		30	7,03	12,30	16,99	0,5003
54	Glycérol	10	43,12	49,70	67,27	0,4998
		20	55,01	56,13	63,30	0,5080
		30	50,01	56,13	75,01	0,4528
	Sorbitol	10	32,67	56,13	74,47	0,5003
		20	28,98	56,41	82,41	0,4978
		30	26,22	56,32	84,51	0,4295
75	Glycérol	10	45,24	45,57	57,33	0,5052
		20	46,45	55,91	64,89	0,5060
		30	44,99	55,90	67,27	0,3985
	Sorbitol	10	31,40	57,17	81,13	0,5052
		20	25,88	55,25	83,01	0,4981
		30	23,26	52,66	73,97	0,3620

(T_i) température de début et (T_f) température de fin du changement du flux de chaleur endothermique (ΔC_p), (T_{gm}) représente la température de transition vitreuse.

4.2. Propriétés thermomécaniques obtenues par analyse thermomécanique dynamique (ATMD)

Les valeurs des paramètres viscoélastiques mesurées en mode statique sont dépendantes des conditions de mesure et leur emploi ne peut être envisagé que pour comparer les propriétés de films caractérisés dans les mêmes conditions. Les propriétés mécaniques dynamiques sont beaucoup plus appropriées pour la caractérisation des propriétés viscoélastiques des films.

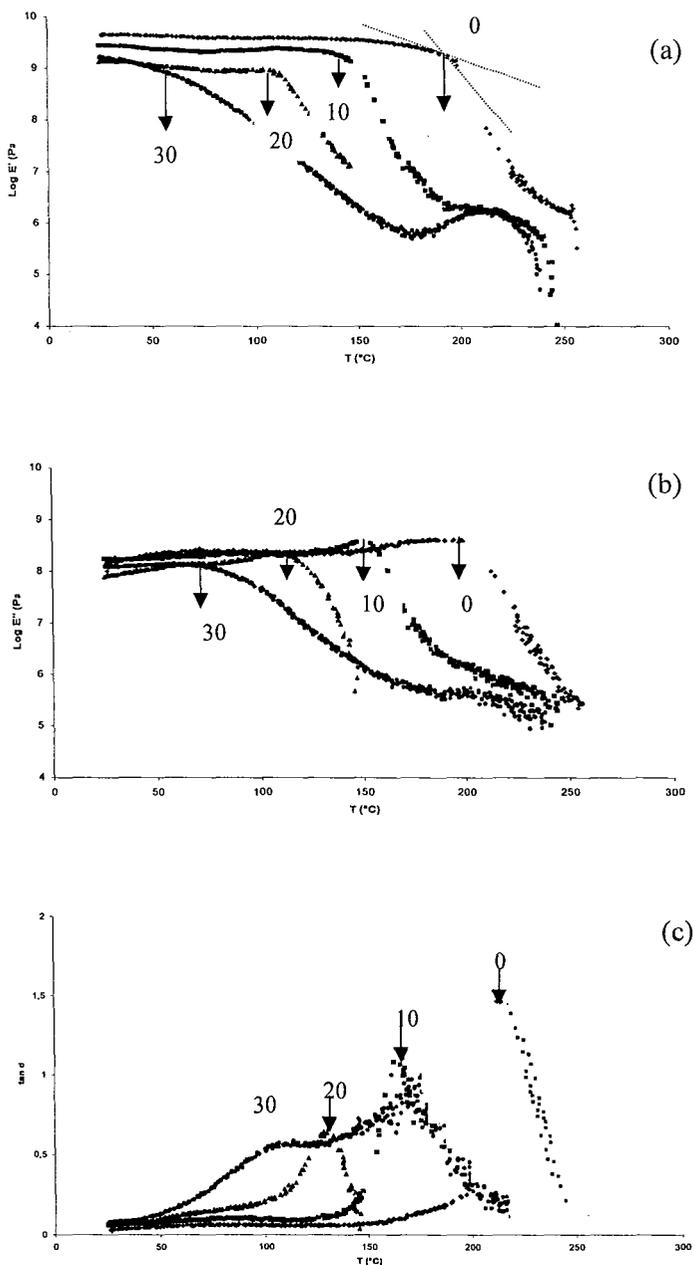


Figure 4.2 : Thermogrammes d'analyse thermomécanique dynamique des films à base de caséinate de sodium en fonction de la teneur en glycérol (a) Module de stockage (E'), (b) module de perte (E'') et (c) $\tan \delta$. Humidité relative= 0%

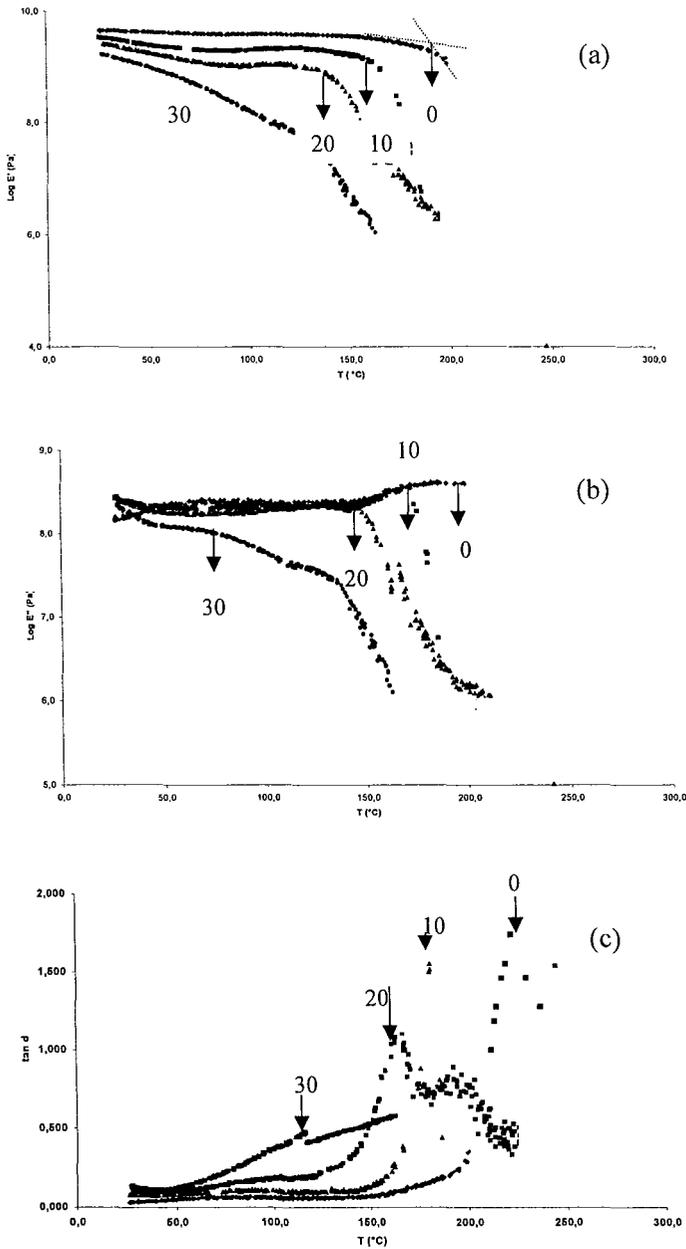


Figure 4.3. : Thermogrammes d'analyse thermomécanique dynamique des films à base de caséinate de sodium en fonction de la teneur en sorbitol (a) Module de stockage (E'), (b) module de perte et (c) $\tan \delta$. Humidité relative= 0%.

De fortes variations de propriétés viscoélastiques sont observées sur les thermogrammes à une température comprise entre 25 et 240°C. Ces variations sont caractérisées par une chute du module E' , un pic du module E'' et un pic de $\tan \delta$ (Figures 4.2 et 4.3). Ce changement des propriétés viscoélastiques des films traduit le passage d'une structure ordonnée relativement "rigide" à une structure plus désordonnée "caoutchoutique". Des variations similaires ont été mises en évidence pour de nombreux biopolymères amorphes, et sont généralement associées à la notion de transition vitreuse du matériau (Kalichevski et al. , 1992b ; Lawton et Wu, 1993; Lillie et Gosline, 1993 ; Slade et Levine, 1993a, 1993b).

Le pic du module de perte E'' est le résultat de l'absorption d'énergie, lorsque des groupements moléculaires spécifiques se mettent en rotation lors du franchissement de la transition vitreuse (Urzendowski et Pechak, 1992).

La chute du module de stockage E' au niveau de la transition vitreuse est faible (10^7 à 10^5 Pa) par rapport à ce qui est couramment observé pour les polymères synthétiques ($10^{9,5}$ à $10^{6,5}$) (Shen et Eisenberg, 1967; Kalichevski et al. , 1993b). Cette variation modérée du module E' a été mise en évidence pour d'autres matériaux protéiques (collagène, gluténine), et peut être associée à la présence de ponts covalents intermoléculaires (Cocero et Kokini, 1991 ; Giusti et al. , 1994). La diminution du module de stockage caractérise la plage de transition vitreuse qui ne peut donc pas être définie à l'aide d'une seule valeur de température (Kalichevski et al. , 1992a, 1992b ; Giusti et al. , 1994). Cependant, il est communément admis de présenter les différentes valeurs de T_g : T_{gm} (moyenne), T_{gi} (début de la transition), T_{gf} (fin de la transition) et de comparer les valeurs déterminées de la même manière.

4.3. Comparaison des mesures réalisées en ATMD et en AEDM

En raison de la présence d'une plage transition vitreuse, une comparaison précise des résultats d'analyse thermomécanique dynamique et d'analyse enthalpique différentielle n'est pas simple. Il faut retenir que la transition vitreuse dépend de l'histoire thermique du produit et de la fréquence de sollicitation. Les valeurs de température déterminées par analyse thermomécanique dynamique semblent être supérieures à celles déterminées par analyse enthalpique différentielle (Tableau 4.3).

Le pic « $\tan \delta$ » mesuré par ATMD se trouve 30°C au-dessus de celui mesuré par AEDM (Tableau 4.1.). Kalichevski et al. (1993b) ont également remarqué ce phénomène dans le cas de gluten et ont noté que la température de transition vitreuse mesurée par DSC était à peu

près 15°C au-dessous des valeurs obtenues par ATMD (1 Hertz). La plus grande différence que nous avons observée dans nos résultats peut être expliquée par la faible vitesse de chauffage (5°C par minute) pendant les mesures par AEDM.

Tableau 4.3. : Comparaison des températures de transition vitreuses obtenues en AEDM et ATMD. Humidité relative= 0%.

Plastifiant (%)		AEDM		ATMD	
		T _{gm} (°C)	ΔC _p (J/g.K)	Tan δ (°C)	E' (°C)
Glycérol	0	184,6	0,5126	198,2	182,35
	10	132,4	0,5026	144,7	118,24
	20	105,9	0,5064	120,6	90,6
	30	89,2	0,4889	95,3	70,6
Sorbitol	0	178,7	0,5256	195,5	181,8
	10	147,6	0,5377	152,1	145,5
	20	57,1	0,5507	144,3	115,9
	30	50,6	0,5325	121,6	96,6

4.4. Transition vitreuse des films à base de caséinate de sodium non plastifié.

Les transformations thermomécaniques des films à base de caséinate de sodium, observées en ATMD au cours d'un chauffage, sont reportées dans les figures 4.2. et 4.3. Le caséinate présente le comportement typique d'un polymère amorphe : en augmentant la température, les protéines passent d'un état vitreux à un plateau caoutchoutique en franchissant une région de transition caractérisée par un pic de tangente δ et une forte variation du module de stockage, E'. La hauteur du pic « tan δ » reflète la fraction volumique du matériau qui atteint la zone de transition (Wetton, 1986). Le profil est similaire à d'autres biopolymères tels que l'élastine (Lillie et Gosline, 1993), amylopectine, les caséines (Kalichevski et al., 1993a), le gluten de blé (Kalichevski et al., 1992), le collagène (200°C, Batzer et Kreibich, 1981), la gélatine (190-210°C, Marshall et Petrie, 1980), l'amidon (143-250°C, Ross et Karel, 1991 ; Billiadieris et al., 1986) ou les protéines myofibrillaires de poisson (253°C, Cuq et al., 1997). Le tableau 4.4 présente quelques valeurs de T_g pour des polymères déshydratés, en comparaison de nos propres résultats.

En absence d'eau ou de plastifiant, la température de transition vitreuse, T_g, du caséinate de sodium et des films à base de caséinate de sodium est très élevée et proche de la température

de dégradation thermique du produit, $T > 200^{\circ}\text{C}$. Ces valeurs élevées peuvent être expliquées par la présence d'interactions « polymère-polymère » fortes et par une forte densité de liaisons hydrogènes, ioniques ou hydrophobes. Au-dessus de 180°C , on observe une diminution soudaine de E' et du pic « $\tan \delta$ ». Ce comportement est caractéristique d'une relaxation α du polymère.

Tableau 4.4.: Température de transition vitreuse de polymères synthétiques et de biopolymères à l'état sec.

Polymère	Tg (°C)	Méthode	Référence
Polyéthylène	-110		Bakker, 1986
Polypropylène	-15		Bakker, 1986
Chlorure e polyvinyle	90		Bakker, 1986
Polystyrène	94		Bakker, 1986
Polycarbonate	150		Bakker, 1986
Gliadine	121	ATMD	Kokini et al., 1995
Zéine de Maïs	139	ATMD	Kokini et al., 1995
Caséine	144	ATMD	Kalichevski et al., 1993b
Gluténine	160	ATMD	Cocero et Kokini, 1991
Gluten	160	ATMD	Hoseney et al., 1986
Gluten	162	ATMD	Kalichevski et al., 1992b
Gélatine	190	ATMD	Yannas, 1972
Elastine	197	AED	Batzer et Kreibich, 1981
Collagène	200	AED	Batzer et Kreibich, 1981
Gélatine	210	AED	Marshall et Petrie, 1980
Dextrane	223	AED	Scandola et al., 1991
Amylopectine	227	AED	Orford et al., 1989
Prot. Myofibrillaires	235	ATMD	Cuq, 1996
Amidon	243	AED	Roos et Karel, 1991b
Amidon	250	AED	Biliaderis et al., 1986
Caséinate de Na, film	178	AEDM	Présent travail
Caséinate de Na, film	195	ATMD	Présent travail

4.5. Effet plastifiant du glycérol ou du sorbitol

Le glycérol et le sorbitol ont été étudiés dans les proportions « caséinate / polyol » de 10/0, 10/1, 10/2 et 10/3. Ces composés sont choisis parce qu'ils sont largement employés comme plastifiants de structures protéiques et compatibles avec le caséinate de sodium.

La présence des polyols exerce un effet plastifiant significatif qui réduit la température de transition vitreuse des films (Figure 4.2 et 4.3). L'observation d'une transition simple dans la

zone de température étudiée reflète une bonne compatibilité des polyols avec le caséinate de sodium.

L'effet de plastification peut être dû à leur faible poids moléculaire (Tableau 4.2) et à la présence de groupes hydroxyles qui permettent la formation d'interactions « polymère – plastifiant » au détriment des interactions « polymère – polymère ». La détermination par la ATMD, nous a permis d'évaluer, pour une teneur en plastifiant donnée, la chute de température de la relaxation principale ($T\alpha$), liée au phénomène de transition vitreuse.

Tableau 4.2. : Caractéristiques physico-chimiques de plastifiants hydrophiles utilisés dans les films à base de caséinate de sodium.

Plastifiant	Masse molaire (g/mol)	Température de fusion (°C)	Température d'ébullition (°C)	Température de transition vitreuse (°C)
Eau	18,01	0	100	-139 ^a
Glycérol	92,09	18	290	-80 ^b
Sorbitol	182,17	99	105	-2

^a Roos, 1995, ^bWilson et Turner, 1988

La AEDM permet d'évaluer l'efficacité de plastification en fonction de caractéristiques physico-chimiques des plastifiants. Les figures 4.2. et 4.3. montre ainsi que la hauteur du pic de « $\tan \delta$ » et la courbe E' sont similaires dans les expérimentations avec et sans plastifiant. Comme le glycérol et le sorbitol possèdent une masse molaire plus élevée et une volatilité plus faible que l'eau, la perte de plastifiant par évaporation pendant le balayage de température est limité, même pour de larges gammes de température. L'évaporation résiduelle des plastifiants ou de l'eau pourrait entraîner un effet de rigidité, mais il est aussi possible que d'autres changements chimiques ou des liaisons d'entrecroisements puissent apparaître à températures élevées.

Au dessus de la température de transition vitreuse, on observe que le module de stockage (E') des films de caséinate de sodium en combinaison avec le glycérol ou le sorbitol augmente significativement quand la température atteint les 180 °C. Ce phénomène a déjà été observé par différents groupes de recherche, comme, entre autres, Cherian et al. (1995) qui ont étudié

le mélange de gluten et de saccharose ou Rials et Glasser (1988) qui ont évalué les propriétés thermiques et dynamiques des films d'hydroxypropyl cellulose. De la même façon, Redl et al. (1998) ont évalué l'effet des plastifiants polaires sur la température de transition vitreuse du gluten de blé. L'effet de plastification du glycérol et du sorbitol sur le caséinate de sodium (figures 2 et 3) est de la même magnitude que l'effet du fructose sur le caséinate de sodium (Kalichevski et al. , 1993b), ou bien que l'effet du saccharose, fructose et glucose sur le gluten de blé (Kalichevski et al. , 1992), mais un petit peu moins important que la valeur reportée par Redl et al. 1998.

La température de transition vitreuse des films de caséinate de sodium plastifiés par l'action de l'eau, du glycérol et/ou du sorbitol ainsi que l'amplitude de la zone de transition définie par T_{gi} (T_g initial) et T_{gf} (T_g final). Les thermogrammes de ATMD des films à base de caséinate de sodium en fonction du type et de la concentration en plastifiant sont présentés figures 4.2. et 4.3. (pour le glycérol et le sorbitol à 0, 10, 20 et 30% $p_{\text{plastifiant}}/ p_{\text{protéine}}$). Pour le film sans plastifiant, une transition de l'état vitreux à caoutchoutique est évidente vers 190°C, et peut être due à la relaxation α de la protéine. Pour les films plastifiés, le point de départ de la modification de E' est atteinte à plus basse température, et une augmentation de la teneur en plastifiant diminue le module élastique de stockage tandis que le module vitreux reste stable. La chute de E' à la température de transition vitreuse est de 2 à 3 logarithmes, comportement similaire à ce qui a été montré pour le PVC et les polymères amorphes (Kalichevski et al., 1993 ; Perez et al., 1990). La chute finale en E' vers 210-230°C, se réfère plutôt à une dégradation thermique du matériau.

Une relation linéaire et continue est observée (figure 4.4.) entre la température de transition vitreuse et la fraction molaire de plastifiant. L'action primordiale d'un plastifiant sur un matériel est de séparer les chaînes par la rupture des unions (principalement du type hydrogène, van der Waals ou bien des interactions ioniques) qui maintiennent les chaînes polymériques ensemble et qui masquent les centres de forces à travers la formation d'interactions plastifiant - polymère (Sears et Darby, 1982). Les molécules de protéine sont stabilisées par pont d'hydrogène, mais aussi par des interactions hydrophobes (Lillie et Gosline, 1993). La plastification d'un polymère est un phénomène séquentiel qui comprends le mouillage et l'adsorption, la solvation et la pénétration dans la surface, l'absorption et diffusion, la dissolution dans la région amorphe et la coupure de la structure (Sears et Darby, 1982)

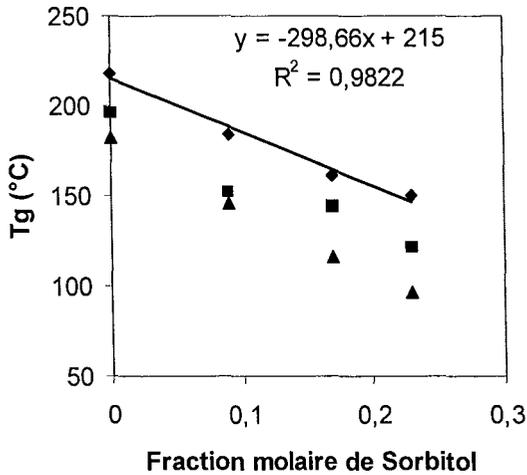
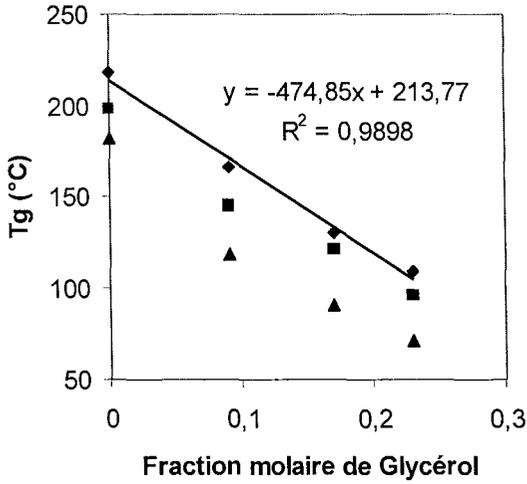


Figure 4.4. : Température de transition vitreuse des films à base de caséinate de sodium, en fonction de la fraction massique de glycérol (a) et sorbitol (b) pour des thermogrammes ATMD ou (■) représente le pic de $\tan d$, (▲) la chute de $\log E'$ et (◆) la courbe modélisée de Couchman - Karasz.

4.5.1. Effet du type et de la concentration en plastifiant.

La température de transition vitreuse pour les deux systèmes contenant glycérol et sorbitol à une même concentration, soit massique ou volumique, sont très proches (Figures 4.6).

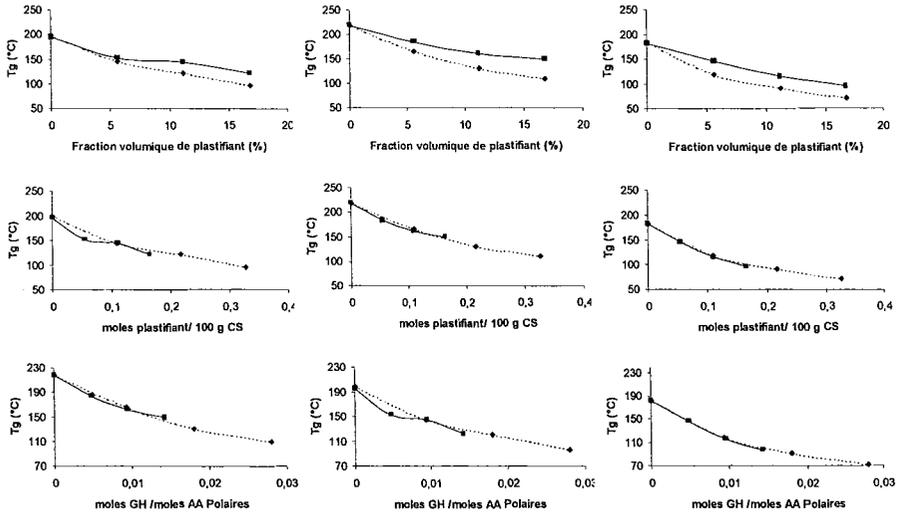


Figure 4.5. Température de transition vitreuse en fonction de la fraction volumique de plastifiant (a), de la concentration molaire (b) et de la quantité de moles de groupes hydrophiles par rapport à la teneur en acides aminés polaires (c).

Cependant, on observe qu'à une même concentration molaire de plastifiant, le sorbitol présente une plastification légèrement plus importante que celle du glycérol. Cette légère différence de plastification peut être expliquée par la nature chimique et la masse molaire des plastifiants (92,09 et 182,17 g/mol de glycérol et sorbitol, respectivement). La taille des plastifiants influence le niveau de plastification. Plus petite est la taille de plastifiant, plus petite la température de transition vitreuse, ce qui est d'accord avec la théorie de volume de la plastification (Sears et Darby, 1982) qui présume que l'efficacité d'un plastifiant est proportionnelle à la température de transition vitreuse du polymère à plastifier et qu'une molécule requiert un volume d'oscillation proportionnel à sa taille.

Globalement la différence de plastification est faible et, pour une application industrielle, la différence est négligeable. Un tel comportement peut être expliqué par la similarité de leurs structures chimiques, tous les deux contiennent des groupes hydroxyle qui interagissent avec les acides aminés du caséinate de sodium en formant des liaisons hydrogène. L'efficacité du degré de plastification semble être indépendante de la quantité de groupes hydroxyle par mole (3 pour le glycérol et 6 pour le sorbitol).

La balance « hydrophile/lipophile » est elle aussi très importante. Pour les plastifiants hydrophiles, l'efficacité du plastifiant, considéré sur une base molaire, sera indépendante de la masse molaire et le nombre de groupements polaires. Ce comportement a été observé pour diverses protéines telles que le gluten de blé plastifié par des sucres (glucose, saccharose et fructose) (Kalichevski et al., 1992a), les protéines myofibrillaires de poisson plastifiés par glycérol, sorbitol et saccharose (Cuq et al., 1997b), le gluten de blé plastifié par l'eau, le glycérol ou le sorbitol (Pouplin et al., 1998), le gluten de maïs plastifiés avec triéthanolamine, urée, glycérol, diéthanolamine (DiGioia et al., 1999).

4.6. Prédiction de la température de transition vitreuse.

La prédiction de la température de transition vitreuse de mélanges binaires est obtenue à partir de l'équation de Gordon et Taylor (1952), laquelle décrit l'effet de plastification de plusieurs molécules où k est une constante proportionnelle à l'effet plastifiant, W_1 et W_2 sont les fractions massiques et T_{g1} et T_{g2} sont les températures de transitions vitreuse des composants 1 et 2. Dans notre cas, nous affectons l'indice 1 au caséinate et l'indice 2 au plastifiant.

Les valeurs de T_{g2} de la littérature sont -135°C , -80°C et -2°C , respectivement pour l'eau, le glycérol et le sorbitol (Roos, 1995). L'application de l'équation de Gordon et Taylor requiert l'optimisation de la constante k . Les données expérimentales peuvent être ajuster au modèle de Gordon et Taylor, mais les valeurs de la température de transition vitreuse annoncées par le modèle ne sont pas bien estimées à basse et haute teneur en plastifiant.

L'équation de Kwei est une modification de l'équation de Gordon et Taylor applicable aussi à des systèmes binaires, dans laquelle des constantes sont ajoutée pour optimiser la prédiction de T_g à partir des données expérimentaux. Le terme qw_1w_2 , dans le cas d'un mélange de polymères miscibles, représente la déviation de la température de transition vitreuse du mélange par rapport à la température de transition vitreuse moyenne (Lin et al., 1989).

La connaissance de ΔC_p à la température de transition vitreuse se révèle de grande importance. Le modèle thermodynamique de Couchman - Karasz (1978), abondamment employé pour prévoir la température de transition vitreuse de mélanges de biopolymères et de plastifiants miscibles (Kalichevski et al., 1992 ; Roos, 1995 ; Lourdin et al., 1997b), requiert de la connaissance de la ΔC_p des constituants purs. De façon générale, les valeurs de ΔC_p pour les biopolymères sont calculées de l'équation de Couchman - Karasz en utilisant la valeur de ΔC_p de l'eau, ce qui a généré la controverse.

Le modèle de Matveev et al. (1997) que considère l'influence de chaque acide aminé sur la Température de transition vitreuse, permet d'expliquer la différence de température ($^\circ\text{C}$). Cependant d'autres paramètres doivent être considérés pour expliquer la différence en Température de transition vitreuse entre les différentes fractions. La caséine α_2 possède 2 résidus de cystéine et éventuellement la κ -caséine (0 à 2), alors la quantité de ponts disulfure est faible (Cheftel et al., 1985) ce qui explique la présence d'un réseau tridimensionnelle pas

trop structuré. D'autres auteurs, suggèrent que plusieurs paramètres exercent une influence significative sur la température de transition vitreuse, tels que le degré de compactage de la structure protéique (Noël et al., 1995), la différence en poids moléculaire, le type d'interaction avec d'autres composantes.

En utilisant l'équation de Couchman -Karasz avec les valeurs de $\Delta C_p = 0,5 \text{ J.g}^{-1}.\text{K}^{-1}$, les valeurs pour la Température de transition vitreuse calculée est de 170°C . En comparaison avec la théorie thermodynamique avec une valeur expérimentale (172°C)

La relaxation α et la transition vitreuse calorimétrique associée, observés par ATMD et AEDM, montrent différences. Une valeur plus élevée peut être attribuée aux différences en poids moléculaire et en structure.

La dépression de Température de transition vitreuse, due à l'emploi des plastifiants peut être décrit par un nombre d'approches théoriques tels que le volume libre ou la théorie thermodynamique (Gordon et Taylor, 1952 ; Couchman et Karasz, 1978), Equations 7 et 5 décrites antérieurement dans la section 5.2 de la révision bibliographique. Ces modèles théoriques relient la Température de transition vitreuse d'un mélange homogène de plusieurs éléments à leurs concentrations partielles et leurs caractéristiques thermodynamiques des constituants purs (T_g et ΔC_p).

Nous avons employé, l'équation de Couchman-Karasz pour sa simplicité d'adéquation à différents biopolymères tels que le gluten de blé, les protéines myofibrillaires, l'amidon (Roos et Karel, 1991 ; Kalichevski et al, 1992 ; Gontard et Ring, 1996 ; Cuq et al, 1997 ; Lourdin et al, 1997 ; Redl et al, , 1998, Di Gioia et al, 1998). Les données de ATMD ont été "fitted" à l'équation de Couchman - Karasz en utilisant les valeurs de 180 et 270°K pour le glycérol et le sorbitol respectivement (Dont et al, 1992 ; Orford et al, , 1989). Les valeurs de T_g ont été déterminées expérimentalement à un teneur en eau de zéro. Pour les valeurs de ΔC_{p2} on a considéré les valeurs de 0,88 et $0,96 \text{ J.g}^{-1}.\text{K}^{-1}$.

La meilleure adéquation de l'équation de Couchman - Karasz nous l'avons eu en considérant une ΔC_{p1} de $0,5 \text{ J.g}^{-1}.\text{K}^{-1}$ tant pour les valeurs du pic de $\tan \delta$ que pour les valeurs de T_g du module de stockage (E'), avec valeurs de corrélation supérieure à 0,98 (Figures 4.5). On

pourrait conclure que dans le rang des fractions molaires des plastifiants étudiés ; le modèle de Couchman - Karasz peut être appliqué, étant légèrement plus efficace que le glycérol que le sorbitol. Cette efficacité peut être fonction de leurs caractéristiques thermodynamiques ou bien dues aux différences structurales parmi les molécules des plastifiants.

Tableau 4.4. : Contribution partielle de la température de transition vitreuse (T_g), des volumes de van der Waals (ΔV_i) et du nombre de résidus d'acides aminés (N_i) pour les α_1B -, α_2A -, βA_2 -et κ - caséines.

Acide Aminé	T_{g_i} (K) ^a	ΔV_i (Å^3) ^a	$N_i \alpha_1 B$ ^b	$N_i \alpha_2 A$ ^b	$N_i \beta A_2$ ^b	$N_i \kappa$ ^b
Asp	536	90,7	7	4	4	4
Glu	433	107,8	24	25	18	13
Asn	406	94,8	8	14	5	7
Gln	357	111,9	15	15	21	14
Thr	428	89,1	5	15	9	14
Ser-Ser P	536	72,1	16	17	16	13
Pro	681	87,2	17	10	35	20
Gly	504	47,6	9	2	5	2
Ala	544	64,7	9	8	5	15
Val	442	98,8	11	14	19	11
Ile	382	115,9	11	11	10	13
Leu	382	115,9	17	13	22	8
Phe	504	140,4	8	6	9	4
Tyr	511	147,0	10	12	4	9
Met	463	117,1	5	4	6	2
Cys (R-SH)	645	82,2	0	0	0	0 ou 2
Cystine/2			0	2	0	2 ou 0
Lys	295	127,4	14	24	11	9
His	555	119,5	5	3	5	3
Arg	326	146,6	6	6	4	5
Trp	574	170,1	2	2	1	1

^a Valeurs de Matveev (1995)

^b Nombre des moles de résidus d'acides aminés par mole de protéine (N_i) (Cheftel et al., 1985)

5. Approche de la mobilité moléculaire par RMN.

Dans le paragraphe précédent, nous avons constaté qu'à température ambiante, le film de caséinate de Na se trouve à l'état amorphe vitreux quelle que soit son hydratation, dans notre gamme d'expérimentation. En effet, pour une $a_w < 0,85$, la T_g est toujours supérieure à 25°C.

La technique de RMN basse résolution est très utilisée pour la caractérisation des produits alimentaires. Cette méthode est tout à fait adaptée à l'étude de produits complexes tels que les biopolymères. Cependant, la mesure du temps de relaxation ne fournit pas d'information de nature chimique mais permet d'accéder au comportement dynamique des noyaux d'hydrogène et donc des molécules. Les mesures réalisées par RMN basse résolution, à 10 et 20°C, permettent de mettre en évidence les mobilités existant au sein du système qui est assez complexe étant donné que le signal de l'eau et des fonctions hydroxyles provenant des plastifiants, glycérol et sorbitol, sont simultanément présentes.

En première approximation nous pouvons caractériser la relaxation des protons par un signal nommé FID, selon la terminologie anglo-saxonne pour « Free Induction Decay », c'est à dire signal de précession libre. Pendant cette phase de décroissance mono-exponentielle et multi-exponentielle du retour à l'équilibre des noyaux soumis à une impulsion précise de radiofréquence, on peut caractériser en première approximation 2 temps caractéristiques : le temps de relaxation longitudinale (T_1) ou « spin - réseau » et le temps de relaxation transversale (T_2) encore appelé « spin - spin ». Ce dernier permet de mieux mettre en évidence les interactions intermoléculaires.

Dans le cas d'une décroissance bi-exponentielle, on peut affecter la composante « rapide » à une partie « solide » et la composante « lente » à une partie liquide. Dans le cas de notre étude le signal est analysé à partir de 14 μ s, temps correspondant à la durée des impulsions et du « bruit » qui s'ensuit.

Dans le cas des échantillons de notre étude, nous avons utilisé les signaux bruts de RMN. Il existe plusieurs programmes de transformation de signal (NLREG et CONTIN) déjà amplement utilisés pour les produits alimentaires (Le Botlan et Ouguerram, 1997; Gaudin et al., 1999). Cependant, ces signaux demandent à être exploités par un traitement approprié, qui permet leur lissage et l'estimation précise des résultats. Nous avons décidé d'exploiter

seulement le signal continu de façon qualitative. On observe que dans la partie correspondant à la partie solide se présente le phénomène de PAKE (Abragam, 1961) qui correspond à une légère augmentation du signal aux alentours de 40 μs (Figure 5.1).

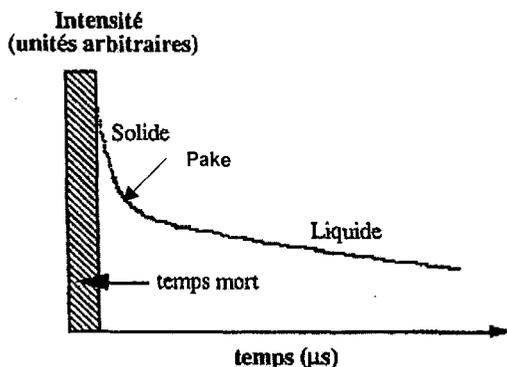


Figure 5.1 : Représentation schématique du signal d'induction libre (FID).

L'analyse continue du signal FID sur un échantillon contenant de 0 à 30% de plastifiant est donnée dans le Tableau 5.1. Les résultats sont présentés en distinguant la phase « solide » et la phase « liquide/semi-solide ». Pour cela, nous avons choisi quelques points caractéristiques pour comparer les valeurs obtenues. Pour la partie solide, nous avons considéré la valeur à partir de 14 μs , juste après avoir le temps mort de 11 μs qui correspond à la durée des impulsions de radiofréquence. Le signal « solide » apparent, à décroissance rapide est caractérisé par la différence de signal entre 11 et 70 μs . Le signal « liquide », à décroissance lente est caractérisé par la mesure à partir de 70 μs . Pour la phase « liquide/semi-solide », nous avons choisi les valeurs de 1000 μs , 2500 μs et 3500 μs .

Sur la figure 5.2, le signal de précession libre de la phase « liquide/semi-solide » diminue initialement de 105 à 95 μs pour 10% de sorbitol. La mobilité de la phase diminue avec l'augmentation du pourcentage de sorbitol, le temps de relaxation de cette phase étant de 68 μs pour 20% sorbitol. Une remontée est ensuite observée jusqu'à 94 μs pour 30% de sorbitol. Cependant, même si une remontée du temps de relaxation est observée, cette valeur reste toujours inférieure à la valeur obtenue dans le cas d'un échantillon sans sorbitol indiquant que cette phase n'a pas retrouvé une mobilité aussi importante que dans le cas de l'échantillon sans sorbitol.

Tableau 5.1 : Analyse de signaux FID d'échantillon des films à base de caséinate de sodium à température de 20°C à différents pourcentages de plastifiant (0, 10, 20 et 30%)

Nature du Film		HR (%)	FID (Intensité de signal, Unités arbitraires)							
			Partie solide		Partie semi-solide + partie liquide					
%	Type		I (%)	I (%)						
		14 µs	1000 µs		2500 µs		3500 µs			
		10°C	20°C	10°C	20°C	10°C	20°C	10°C	20°C	
CS poudre		11	12,7	11,4	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
		43	13,7	13,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
		76	13,9	13,7	1,9	0,5	0,3	0,2	0,3	0,2
Sans Plastifiant		11	21,4	20,8	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2
		43	21,9	21,7	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2
		76	23,7	23,0	0,8	1,2	0,2	0,2	0,2	0,2
10	Gly	11	21,3	20,9	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
		43	21,5	21,1	0,1	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2
		76	23,7	22,5	1,3	2,1	0,2	0,2	0,2	0,2
	Sor	11	18,9	18,8	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
		43	21,1	20,5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
		76	23,5	22,8	0,5	1,0	0,3	0,2	0,2	0,3
20	Gly	11	17,6	17,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
		43	21,3	20,5	0,2	0,3	0,3	0,1	0,3	0,2
		76	20,3	19,1	2,8	3,2	0,3	0,3	0,2	0,3
	Sor	11	20,4	19,9	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3
		43	21,2	20,1	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2
		76	26,9	25,9	0,9	1,9	0,2	0,2	0,3	0,2
30	Gly	11	22,1	21,6	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
		43	23,1	22,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
		76	18,8	17,7	3,6	4,1	0,5	0,7	0,2	0,2
	Sor	11	19,6	19,4	0,3	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2
		43	21,8	21,2	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3
		76	24,8	23,7	2,5	1,2	0,2	0,3	0,2	0,3

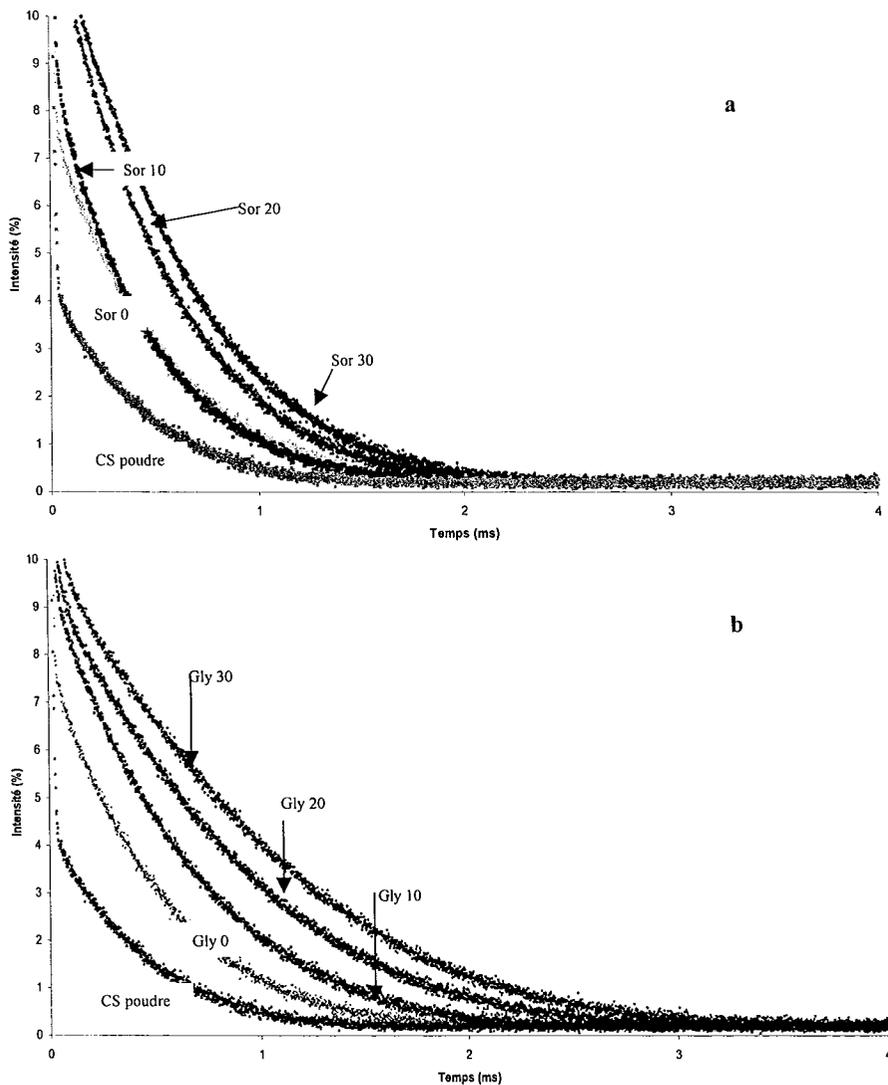


Figure 5.2 : Profil typique d'un enregistrement RMN sur des films à base de caséinate de sodium et sorbitol (a) et glycérol (b) soumis à une humidité relative de 76%.

5.1. Analyse des distributions de temps de relaxation

La figure 5.3 présente l'évolution du temps de relaxation longitudinal (T_1) en fonction de l'activité de l'eau. Cette évolution montre un comportement multi-exponentiel et peut être divisée en deux parties.

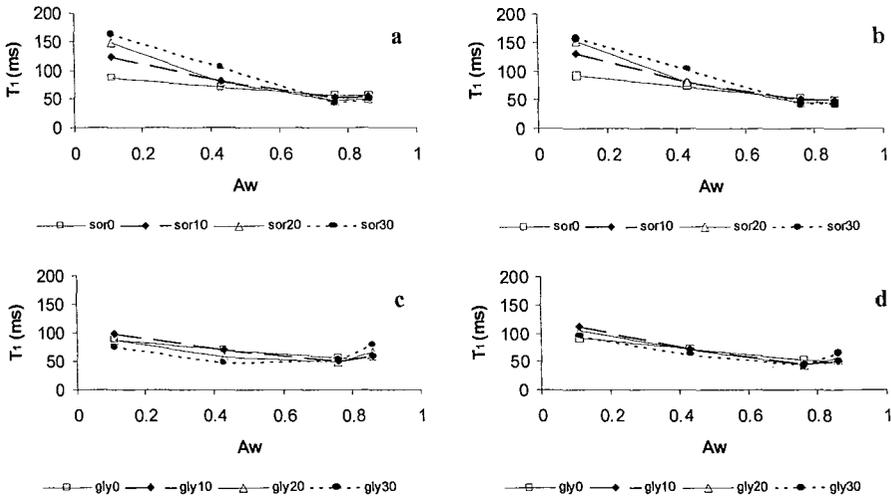


Figure 5.3 : Evolution de temps de relaxation longitudinale (T_1) en fonction du type de plastifiant G, glycérol et S, sorbitol, de la teneur en plastifiant (\square 0%, \blacklozenge 10%, \triangle 20%, \bullet 30%) et de l'activité de l'eau à Température de 20°C (a,c) et à température de 10°C (b,d).

La première correspond à des a_w allant de 0,11 à 0,43. T_1 diminue rapidement et linéairement avec l' a_w . De façon générale, nous observons figure 5.3, qu'en dessous d'un seuil de 0,43 d'activité d'eau, il n'y a pas de contribution apparente des protons de l'eau au signal RMN. Cette eau liée se comporte comme un solide avec un temps de relaxation très court, de l'ordre de grandeur de celui des protons de la matrice solide. La deuxième partie correspond à a_w supérieures à 0,43. Le T_1 des films ne varie plus ou très peu, il ne devient cependant jamais nul et se situe autour de 70 μ sec pour les films de « caséinate de sodium/sorbitol » et de 60 μ sec pour les films à base de « caséinate de sodium/glycérol ».

Dans la Figure 5.4 on observe que jusqu'à $a_w = 0,43$, la T_2 est pratiquement constante. La diminution brusque de T_2 au-delà de ce seuil est peut être attribuée à un recouvrement de sites liés et libres (Brosio et al., 1983). Celui-ci provoque une perturbation des temps de relaxation et une interaction différente de l'eau avec la matrice solide et/ou un changement de la structure de la phase solide. L'augmentation de T_2 indique un gain de l'eau d'hydratation, ce qui peut indiquer un déplacement de la région de haute mobilité à une région de mobilité plus restreinte. Ce gain d'eau d'hydratation peut traduire un changement de conformation des macromolécules.

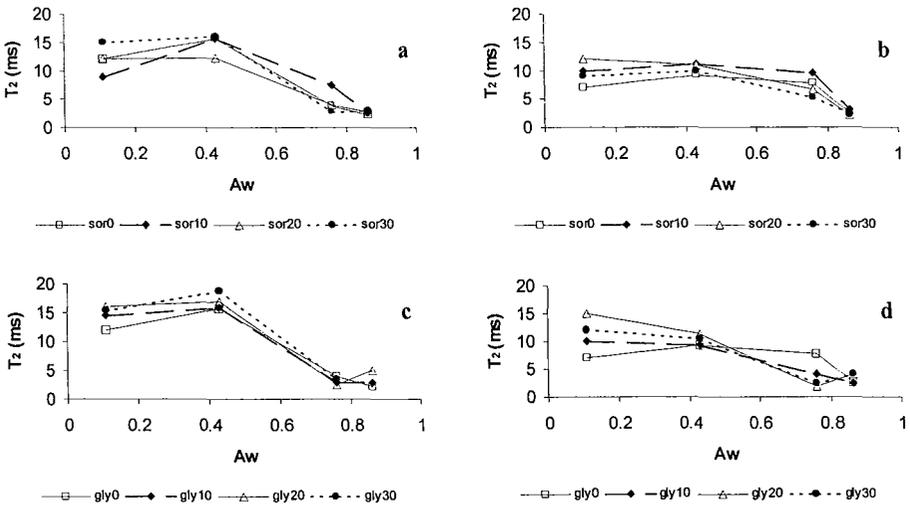


Figure 5.4 : Evolution de temps de relaxation transversale (T_2) en fonction du type de plastifiant G, glycérol et S, sorbitol, de la teneur en plastifiant (\square 0%, \blacklozenge 10%, \triangle 20%, \bullet 30%) et de l'activité de l'eau soumise à Température de 20°C (a,c) et à Température de 10°C (b,d).

Au cours de l'hydratation, les valeurs de T_1 et T_2 des films avec plastifiant tendent vers les valeurs des films non plastifiés. Le temps de relaxation diminue linéairement avec l'hydratation du milieu, et donc la mobilité diminue (Figures 5.3 et 5.4). Cette diminution peut être due à un gonflement de la matrice polymérique avec sorption d'eau conduisant à une plus grande mobilité des chaînes de caséinate de sodium, mais aussi à une mobilité limitée des

protons libres de l'eau. Cette mobilité restreinte nous laisse penser que les chaînes sont plus flexibles ou que le réseau est moins dense.

La relaxation transversale des protons de l'eau est l'élément le plus caractéristique et le plus discriminant de l'étude des états de l'eau dans la mesure où son comportement est généralement multiexponentiel. Cet aspect multiexponentiel de la relaxation transversale (T_2) traduit des mobilités différentes de groupes de protons. Les différentes composantes sont très souvent directement associées à l'eau à des degrés de liaison variable (liée, moyennement liée et libre).

L'addition de solutés tels que le sorbitol et le glycérol peut augmenter le signal RMN. Ce phénomène a été attribué à la solubilisation des composés utilisés dans l'eau libre présente qui manifeste alors son pouvoir solvant. La mobilité est donc perturbée par l'ajout des plastifiants et augmente avec le pourcentage de plastifiant.

A température ambiante, le plastifiant se trouve dans son état natif dans le film, le glycérol à l'état liquide et le sorbitol à l'état solide. En outre, son caractère hygroscopique favorise la sorption d'eau dans les films aux fortes humidité relatives.

De façon à déterminer le nombre de molécules d'eau associés aux groupements hydroxyles du glycérol et sorbitol, nous avons considéré que les vitesses de relaxation transversale (R_2) doivent subir des modifications lorsque tous les sites de liaison sont saturés.

Dans ce but, les vitesses de relaxation transversale représentées en fonction de la teneur en plastifiant et de l'activité de l'eau sont montrées dans la figure 5.5.

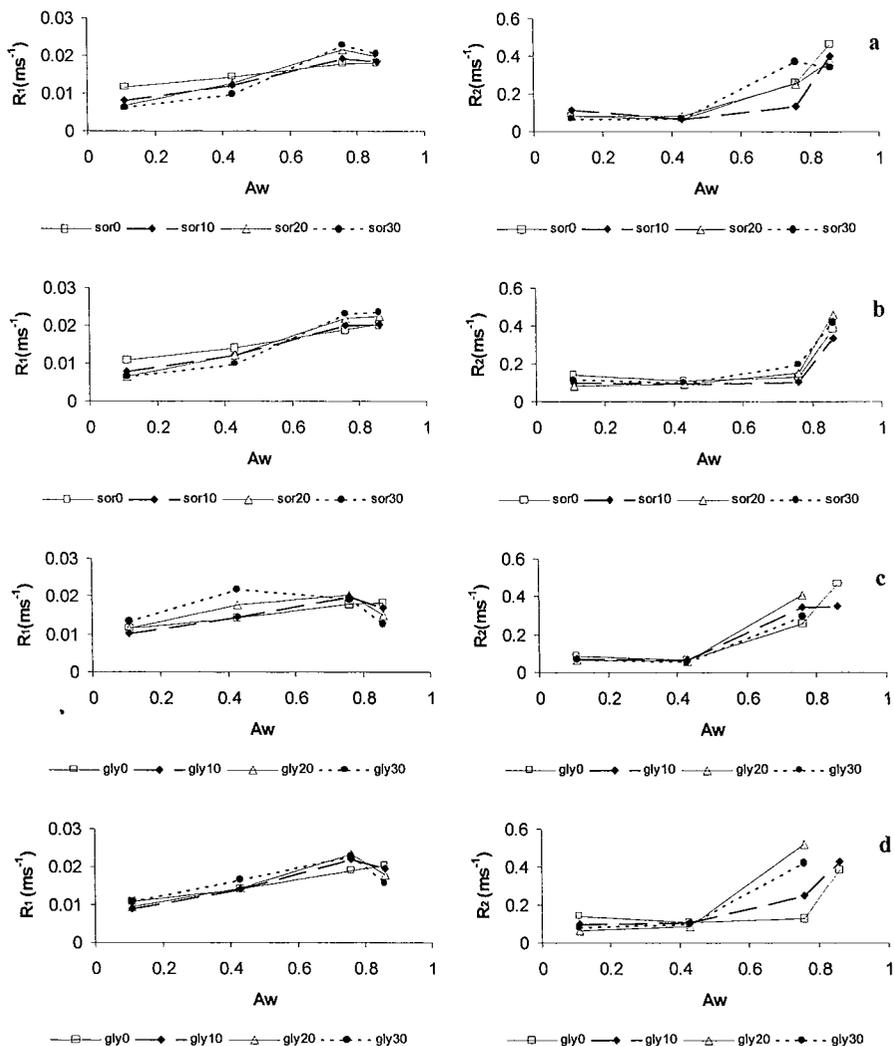


Figure 5.5 : Évolution des vitesses de relaxation longitudinale (R_1) et transversale (R_2) en fonction du type de plastifiant G, glycérol et S, sorbitol, de la teneur en plastifiant (\square 0%, \blacklozenge 10%, \triangle 20%, \bullet 30%) et de l'activité de l'eau à Température de 20°C (a,c) et à température de 10°C (b,d).

La linéarité des vitesses de relaxation (R_2) en fonction de l'activité de l'eau montre qu'il existe une relation directe entre la mobilité de l'eau mesurée par RMN et sa volatilité (Richardson et Baianu, 1987). La pente abrupte de $R_2 = f(a_w)$ dans la deuxième zone de la figure ($a_w > 0,43$) montre qu'en augmentant l'humidité relative, il y aura une mobilité beaucoup plus importante qu'au début de l'hydratation, peut-être en raison de la saturation de sites libres (Mora Gutierrez et Baianu, 1989)

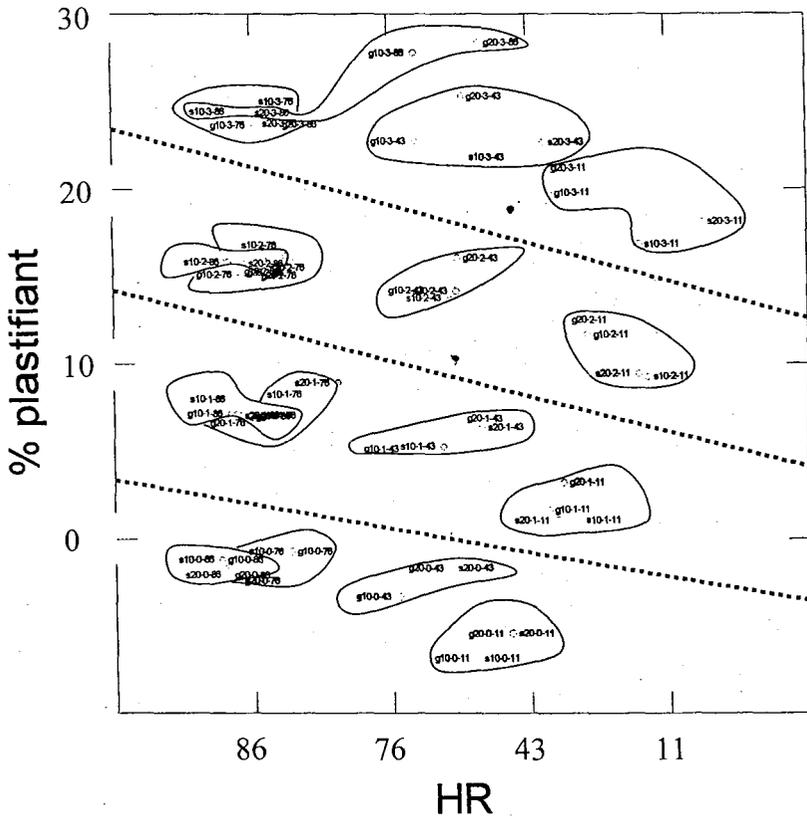


Figure 5.6 : Distribution des échantillons sur le plan principal formé par les deux premières composantes. L'humidité relative est bien corrélée à la première composante principale et la teneur en plastifiant est bien corrélée à la deuxième composante principale.

Par rapport à l'axe vertical les regroupements se font en fonction de la teneur en plastifiant. Les individus ayant de plus faible % en plastifiant se trouvent en bas du graphique et ceux qui ont le pourcentage le plus grand se trouvent en haut.

Par rapport à l'axe horizontal on observe des regroupements en fonction du % d'humidité relative. Les individus ayant la plus haute humidité relative se trouvent à gauche et les individus possédant la plus faible humidité relative se situent à droite.

A manière d'exemple, si on prend le coin supérieur droit on observe un groupement constitué par 4 individus : g203-11 (30% glycérol, T= 20°C, HR 11), g103-11 (30% glycérol, T= 10°C, HR 11), s203-11 (30% sorbitol, T= 20°C, HR 11) et s103-11 (30% glycérol, T= 10°C, HR 11) sur les réponses de T_1 et T_2 .

6. Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques des films à base de caséinate de sodium sont typiques des propriétés mécaniques présentées par d'autres biopolymères (Tableau 6.1.). La performance mécanique d'un matériel est donnée par deux caractéristiques indissociables : la résistance mesurée par la force de tension ou la contrainte maximale et le caractère plastique exprimé par le pourcentage d'allongement que représente sa capacité à se déformer sans se déchirer. L'incorporation d'un plastifiant dans le réseau polymérique permet d'augmenter le caractère plastique du matériel.

Tableau 6.1. : Propriétés mécaniques des films à base de caséinate de sodium et des différents films.

Film	Contrainte maximale (MPa)	Elongation (%)	Référence
Polyester	178	85	Briston, 1988
Polychlorure de vinylidène	93,2	30	Briston, 1988
Polyéthylène haute densité	25,9	300	Briston, 1988
Polyéthylène basse densité	12,9	500	Briston, 1988
Ethylène vinyle acetate	13,8	650	Briston, 1988
Methylcellulose	66,3	25	Park et al., 1993
Hydroxipropylcellulose	14,8	32	Park et al., 1993
Protéines de soja	1,9	35,6	Gennadios et al., 1993
Isolat Protéines de soja (pH 7,0)	3,0	132	Gennadios et al., 1993
Isolat de Protéines de Soja commercial	8,5	32	Kunte et al., 1997
Gluten de Blé (pH 9,0)	2,0	208	Gennadios et al., 1993
Lactosérum:glycérol (2,3: 1)	13,9	30,8	McHugh et Krochta, 1994a
Lactosérum: sorbitol (1:1)	14,7	9	McHugh et Krochta, 1994a
Lactosérum:glycérol (3: 1)	9,0	14	Fairley et al., 1996
Lactosérum: sorbitol (3:1)	4,5	21	Fairley et al., 1996
Caséinate de sodium: glycérol (2:1)	3,0	30	Banerjee et Chen, 1995
Protéines de pois: ethylène glycol	2,2	152	Gueguen et al., 1998
Zéine de maïs	0,4	-	Aydt et al., 1991
Protéines myofibrillaires	17,1	22,7	Cuq et al., 1997
Caseinate de sodium: glycérol (10:2)	2,0	6,4	Présente étude
Caséinate de sodium: sorbitol (10:2)	2,3	17,3	Présente étude

Par rapport aux données de la bibliographie concernant différents films protéiques, les films à base de caséinate de sodium présentent des résistances à la traction similaires aux autres matériaux biopolymères et des propriétés d'allongement légèrement supérieures.

Les propriétés mécaniques différentes peuvent être en partie associées à la nature chimique et type d'interactions inter et intra - moléculaires de chaque biopolymère. Par rapport aux matériaux synthétiques, la résistance à la traction et les propriétés d'élongation des films à base de caséinate de sodium sont largement moins résistants.

Les propriétés mécaniques des films à base de caséinate de sodium sont caractérisées par des relations force - déformation non linéaires (Figure 6.1). Ce caractéristique est typique d'un comportement rhéologique du type solide viscoélastique, qu'on trouve dans les produits d'origine agricole et la plupart des biomatériaux (Calzada et Peleg, 1978; Peleg, 1979a).

De qu'en augmente l'épaisseur du film on observe une augmentation de la force pour un même niveau de déformation (Figure 6.2).

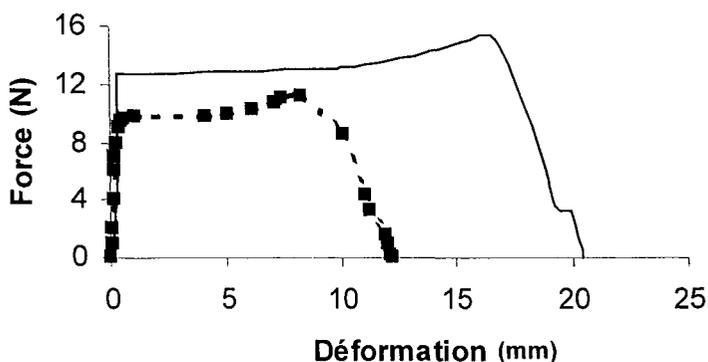


Figure 6.1. : Rhéogramme Force - Déformation des films à base de caséinate de sodium et 20% glycérol enregistrées à une vitesse de déformation constante de 20 mm.s⁻¹ à 20°C et 70% d'humidité relative.

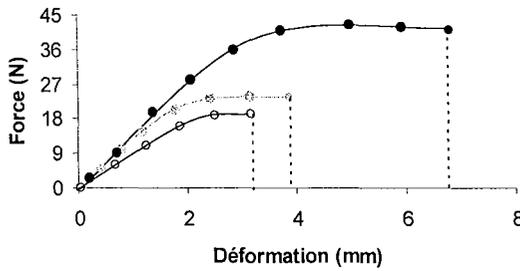


Figure 6.2. : Influence de l'épaisseur sur les rhéogrammes force - déformation des films à base de caséinate de sodium et 20% glycérol enregistrées à une vitesse de déformation constante de 20 mm.s^{-1} à 20°C et 70% d'humidité relative. ○ ($121\mu\text{m}$), ◐ ($170\mu\text{m}$) et ● ($226 \mu\text{m}$).

Pour caractériser la résistance à la rupture des films, on pourrait normaliser les valeurs de force à la rupture en les divisant par la valeur de l'épaisseur comme a été fait précédemment par d'autres chercheurs (Mahmoud et Savello, 1992; Gennadios et al., 1993a, Park et al., 1993)

Les propriétés mécaniques des films à base de caséinate de sodium sont modifiées par l'ajout de plastifiants. Les films sans plastifiant; montrent une force à la rupture assez élevée; laquelle augmente de façon continue et quasi linéaire avec la déformation. Les films sont cassants, la déformation à la rupture est presque nulle.

6.1. Influence des plastifiants

Une fois que les plastifiants sont intégrés au réseau polymérique, les courbes force - déformation sont non linéaires et présentent l'allure typique du comportement viscoélastique des films (Figure 6.3.).

Cet à dire l'augmentation de la concentration en plastifiant entraîne une diminution de la force à la rupture et une augmentation de la déformation à la rupture des films. Ces résultats sont en accord avec les observations effectués pour différents films à base d'hydrocolloïdes (Park et Chinnan, 1990; Somanathan et al., 1992; Gontard et al., 1993).

D'après la composition d'acides aminés le caséinate de sodium présente un pourcentage élevée d'acides aminés polaires, ce que le permettra former de liaisons hydrogène protéine - protéine et par conséquence sera le responsable de la faible flexibilité des films et l'élévée cohésion. Etant donné que les plastifiants hydrophiles employées sont molécules de petite taille, ils pourront facilement s'insérer entre les chaînes polymériques et former des liaisons hydrogène.

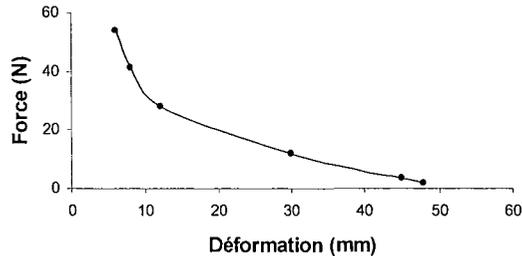


Figure 6.3: Rhéogramme force - déformation

Lorsque le glycérol et le sorbitol sont ajoutés à concentrations molaires égales dans les films à base de caséinate de sodium (Figure 6.4), les caractéristiques des plastifiants (glycerol: 3 carbone, masse molaire = 92 g/ mol et 3 groupements hydroxyle versus le sorbitol: 6 carbones, 182 g/ mol masse molaire et 6 groupements hydroxyle) n'influencent pas les propriétés mécaniques des films. Donhowe et Fennema (1993b) ils ont étudiés l'effet des plastifiants de nature différente (Glycérol et Polyéthylène - glycol 20000) et ils ont mise en évidence que la taille et la masse molaire sont responsables de l'écartement des chaînes protéiques et que la présence de groupements hydroxyle influent sur la densité des liaisons. Cependant il semble que le glycérol présente un effet plastifiant légèrement plus importante que le sorbitol aux fortes concentrations.

6.2. Influence de l'activité de l'eau

Les propriétés mécaniques des films à base de caséinate de sodium sont fortement influencées pour la température et l'activité de l'eau (Figure 6.5). Les allures de courbes force - déformation à 10 et 20°C sont présentées en fonction de l'activité de l'eau sur la Figure 6.6. On observe qu'à faible activité d'eau (0,11) la force augmente pratiquement de manière linéaire jusqu'à la rupture de l'échantillon. La déformation du matériel est très faible et

représentative de la fragilité du matériel à tels conditions d'activité d'eau. On observe que l'augmentation de l'activité de l'eau entraîne une augmentation de la déformation des films au dépens de leur résistance mécanique (Figure 6.7).

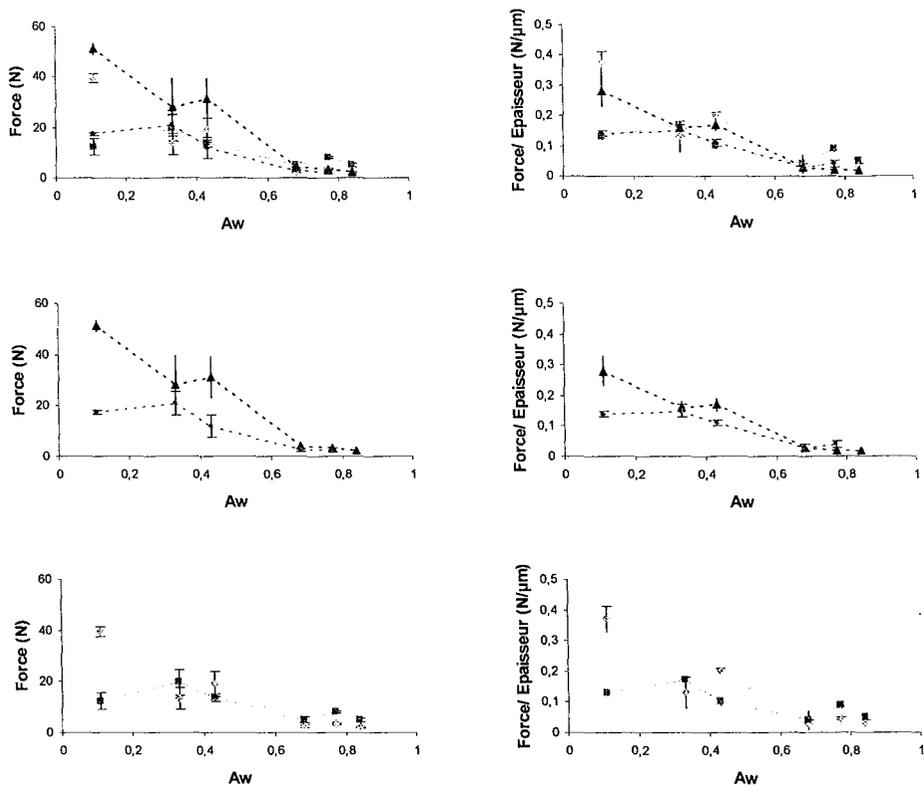


Figure 6.5.: Effet de la température et du type de plastifiante sur la force à la rupture des films à base de caséinate de sodium et 20% plastifiante : Sorbitol 20%, 10°C (◆), Sorbitol 20%, 20°C (■), Glycérol 20%, 10°C (▲), Glycérol 20%, 20°C (●).

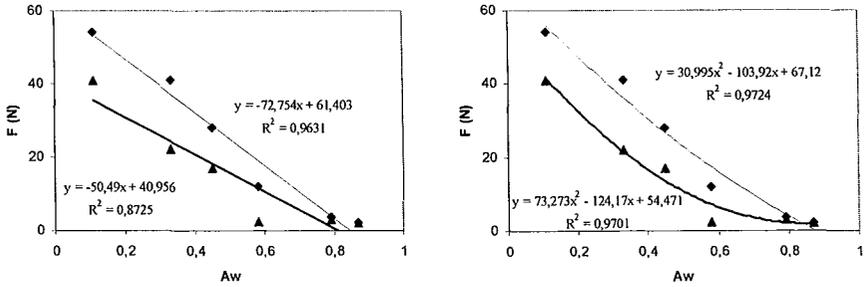


Figure 6.6: Effet de l'activité aqueuse sur la force maximale à la rupture des films à base de Sorbitol 20% (◆) et du Glycérol 20% (▲), à T=10°C

L'effet de l'activité de l'eau sur la force à la rupture et la déformation sont appréciés sur le Tableau 6.2. La déformation à la rupture d'un film à base de caséinate de sodium et 20% glycérol à T=10°C passe de 4 mm à 47,37 mm lorsque l'activité d'eau augmente de 0,11 à 0,76. La force à la rupture augmente lorsque l'activité de l'eau est inférieure à 0,43

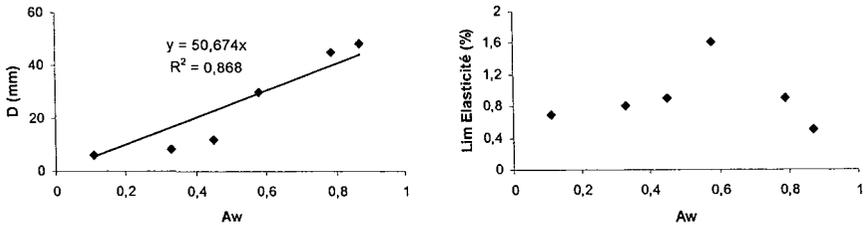


Figure 6.7. : Effet de l'activité de l'eau sur la déformation et le limite d'élasticité des films à base de caséinate de sodium et 20% sorbitol.

Tableau 6.2. : Effet de l'activité de l'eau et la température sur les propriétés mécaniques des films à base de caséinate de sodium plastifiés avec glycérol et sorbitol à 20%

Film	Température (°C)	Activité de l'eau	Force à la rupture (N)	Déformation à la rupture (mm)	Allongement (%)
Glycérol 20%	10	0,11	51,3	4,0	4,6
		0,33	28,0	3,4	3,9
		0,43	31,3	5,6	6,4
		0,70	4,3	45,3	52,0
		0,76	3,6	47,4	54,4
		0,86	2,1	45,3	52,1
	20	0,11	17,5	3,7	4,2
		0,33	20,8	12,7	14,6
		0,43	11,9	17,3	19,9
		0,70	2,6	21,2	24,4
		0,76	2,4	23,7	27,2
		0,86	-		
Sorbitol 20%	10	0,11	39,5	15,7	18,1
		0,33	13,3	10,7	12,3
		0,43	19	17,3	19,9
		0,70	2,5	20,9	24,1
		0,76	3,3	34,0	39,1
		0,86	1,8	32,0	36,8
	20	0,11	12,33	12,7	12,7
		0,33	19,7	13,3	13,3
		0,43	13,7	14,7	14,7
		0,70	4,9	39,3	39,3
		0,76	8,0	32,3	32,3
		0,86	4,9	36,4	36,4

La concentration en plastifiant à une influence drastique sur les propriétés mécaniques. D'égalé façon on observe que le glycérol présente une force à la rupture légèrement supérieure

à celle du sorbitol. A humidité relative inférieure à 43%, les films sont rigides et cassants, cependant la contrainte maximale est assez élevée, va d'une valeur de 50 N à 10 N.

En revanche, le pourcentage d'allongement à la rupture augmente de 4 mm à 47 mm quand il est soumis à une humidité relative de 76 %. Ces valeurs sont caractéristiques d'un matériau à l'état caoutchoutique, le film est hautement déformable ou plastique. L'activité de l'eau joue le rôle de plastifiant et provoque une chute de la contrainte maximale et une augmentation considérable du pourcentage d'élongation à la rupture.

Pour des films avec 10% en plastifiant, la contrainte maximale est inférieure que pour ceux avec 20%, par exemple la contrainte maximale de films de sorbitol chute de 30 N à 12N à une activité de l'eau de 0,58.

Les films de 10% de sorbitol à 20°C et a_w 0,43 présentent une Force de 16,3 N. Un film avec 10% sorbitol soumis à 10°C et a_w 0,77 présente une force de 45 N cette force est dramatiquement affecté quand on augmente à 20% la concentration en sorbitol (11 N). En diminuant l'activité de l'eau à 0,43 la force chute à 25 N et encore plus (11 N) quand il est soumis à une a_w de 0,77

Le pourcentage d'élongation est presque constant après 43% d'humidité relative.

Il faut noter que l'étude des films à faibles pourcentages d'humidité relative est difficile car ces conditions conduisent à des films friables et cassants. L'effet plastifiant de l'eau sur les propriétés mécaniques des biopolymères hydrophiles a été mise en évidence par différents auteurs (Schogren, 1993; ...). La plus grande plasticité observée sur les échantillons conditionnées à 76 % d'humidité relative est tout à fait en accord avec les teneurs en eau mesurés dans les films.

Les films dont l'activité de l'eau est évaluée à 0,11, ont une contrainte maximale qui diminue de façon continue de 3 MPa à 0,2 MPa quand ils ont conditionnées à a_w 0,86. L'allongement à la rupture qui augmente de façon continue de 4,6 % pour l'échantillon à 20 % glycérol à 0,11% d'activité de l'eau à 52% d'allongement à a_w de 0,86 %. La contrainte maximale chute de la même manière quand il passe de 0,11 à 0,43 d'activité d'eau mais le pourcentage

d'allongement à la rupture augmente dans un premier temps de 15 à 17 % à 20% de sorbitol. Ce pourcentage augmente environ 40%

Le changement en propriétés mécaniques en fonction de la teneur en eau est relié au changement de la température de transition vitreuse. Les valeurs de la Tg sont reportées dans le tableau 6.2. Une légère augmentation en concentration d'eau (de 0 à 5.2%) pour les matériaux plastifiés avec glycérol permet une diminution de la Tg de 98 à 48°

Une diminution de la Tg nous indique la plastification du système. Les valeurs de Tg confirment qu'à 20°C et à 12% teneur en eau, le matériel qui contient le sorbitol est dans l'état caoutchoutique et peut être déformé en utilisant une petite force. Par contre, les films plastifiés avec le glycérol n'ont pas diminué au-dessous 40°C, indiquant que ce matériau est moins plastifié par l'eau. Ce qui peut représenter des différences au niveau structural. Ce pour cela qu'on a essayé d'élucider des différences en utilisant la microscopie électronique à balayage. Les résultats de l'examen microscopique sont reportés dans la section 2. Le film plastifié avec le sorbitol semble être homogène et une certaine façon structure en couches. Probablement le plastifiant interagit avec la protéine en formant un réseau tridimensionnel.

Les propriétés mécaniques des films plastifiés avec sorbitol et glycérol à 0,10,20 et 30% et équilibrés à 11, 33, 43, 58, 75, 86 et 98% HR ont été comparés avec d'autres biopolymères et des polymères synthétiques. Comme on l'avait souligné précédemment, les matériaux se sont caractérisés par une faible résistance à la rupture, comportement typique des matériaux basés sur des polymères naturels, tels que l'amidon, la cellulose, la zéine, et le soja (Table 6.1).

7. Propriétés Barrière des films

7.1. Propriétés Barrière à l'eau.

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. Les valeurs de différentes films à base de biopolymères et de polymères synthétiques sont présentées dans le Tableau 7.1. Les films à base de caséinate de sodium sont caractérisés par des fortes valeurs de perméabilité à la vapeur d'eau, communes à la plupart des films à base de biopolymères. Les perméabilités à la vapeur d'eau des films de caséinate sont légèrement plus grandes que celles déterminées pour les films à base de gluten de blé, de protéines de soja, de zéine de maïs, etc.

Ces valeurs de perméabilité ne sont pas évidentes à comparer en vertu de la gamme des conditions dans lesquelles les mesures sont effectuées. Le type de plastifiant employé semble avoir un impact dans certains cas comme pour nos films, qui montrent leur PVE diminué de 51,5 (10^{-12} mol.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹) à 27,5 (10^{-12} mol.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹) quand nous avons utilisé du sorbitol à la place du glycérol. Nous pouvons bien apprécier que le principal facteur de variation est le gradient de pression générée par l'humidité relative (Tableaux 7.1. et 7.2.)

Une augmentation de l'humidité relative génère une diminution très importante de ses performances barrière à la vapeur d'eau, dues probablement à la nature hydrophile prédominant des films. En effet, nous avons observé que la PVE des films de caséinate de sodium: glycérol (10:2) augmente de 5,3 (10^{-12} mol.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹) à 37,2 (10^{-12} mol.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹) lorsque le Δ HR est passé de 69-89% à 0-90% d'humidité relative. Dans le Tableau 7.2., on observe que la perméabilité à la vapeur d'eau augmente au moment où le Δ HR entre les deux côtés de la cellule augmente.

Cette augmentation était plus évidente avec les films de sorbitol qu'avec ceux du glycérol. Surtout quand on augmente le pourcentage de plastifiant. Les films offrent une résistance au transfert de vapeur d'eau beaucoup moins importante quand le pourcentage de plastifiant est supérieur.

Tableau 7.1. : Perméabilité à la vapeur d'eau (10^{-12} mol.m.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹) des films à base de caséinate de sodium et de différents films.

Film	PVE (10^{-12} mol.m. m ⁻² .s ⁻¹ .Pa ⁻¹)	Conditions		Référence
		T (°C)	ΔHR (%)	
Polyester	0,08	38	90-0	Briston, 1988
Polyéthylène haute densité	0,013	38	90-0	Myers et al., 1961
Polyéthylène basse densité	0,05	38	90-0	Myers et al., 1961
Cellophane	4,67	38	90-0	Taylor, 1986
Methylcellulose (13 000)	1,29	30	0-11	Park et al., 1993
Hydroxipropylcellulose	2,89	30	0-11	Park et al., 1993
Isolat de Protéines de Soja commercial	58,00	25	50-74	Kunte et al., 1997
Gluten de Blé	5,08	30	100-0	Gontard et al., 1994
Gluten: glycérol (3,1:1)	33,5	21	0-85	Park et Chinnan, 1990
Gluten: glycérol (2,5:1)	3,11	23	0-11	Gennadios et al., 1990
Caséinate de sodium	23,59	25	0-81	Avena et Kochta, 1993
Lactosérum: glycérol (1,6: 1)	4,27	25	0-11	McHugh et Krochta, 1994a
Lactosérum: glycérol (1,6:1)	77,00	25	0-65	McHugh et Krochta, 1994a
β-caséine: glycérol (2:1)	9,97	22,5	53-11	Mauer et al., 2000
β-caséine: glycérol (2:1)	29,04	22,5	53-76	Mauer et al., 2000
Protéines de pois: EG	10,56	20	100-52	Gueguen et al., 1998
Zéine de maïs: glycérol (4,9:1)	6,45	21	0-85	Park et Chinnan, 1990
Protéines myofibrillaires	3,91	25	0-100	Cuq et al., 1997
Caseinate de sodium: glycérol (10:1)	6,04	38	0-90	Présente étude
Caseinate de sodium: glycérol (10:2)	27,46	38	0-90	Présente étude
Caseinate de sodium: sorbitol (10:1)	5,85	38	0-90	Présente étude
Caséinate de sodium: sorbitol (10:2)	51,52	38	0-90	Présente étude

Pour une différence de pression partielle constante de part et d'autre des films à 38°C, une augmentation de l'activité de l'eau moyenne amène à une augmentation de la perméabilité à la vapeur d'eau. Des résultats similaires ont été déjà obtenus pour des films à base de hydrocolloïdes (Schwartzber, 1985; Gontard et al., 1993, Gennadios et Weller, 1994). Quand nous avons laissé fixe le gradient de pression du film, la perméabilité à la vapeur d'eau est demeurée constante. Cependant en gardant le même ΔHR mais en utilisant des humidités relatives faibles de deux côtés du film, la perméabilité des molécules de vapeur d'eau était

plus importante. Ce qui peut s'appuyer sur les micrographies prises avec le microscope environnemental (Voir § Figure 2.3). Nous pouvons souligner que la présence d'une humidité relative plus forte dans le milieu environnant pourrait être le responsable d'un sort de dépôt des molécules de vapeur d'eau. Situation que nous a empêché de bien différencier la porosité et les différences structurales des films que nous avons observé dans les films soumises à faible teneur d'humidité relative (HR < 43%) ou bien comme ceux que nous avons observé par microscopie électronique à balayage (Voir § Figure 2.1.)

Tableau 7.2. : Perméabilité à la vapeur d'eau des films de caséinate de sodium

Nature		Epaisseur (μm)		ΔP (%)	PVE (10^{-12} $\text{mol.m.m}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$)	Pérmeance (10^{-14} $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$)	Taux transmission (10^{07} $\text{mol.m.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)
Type	%	Moyenne	Ecart type				
Glycérol	10	98,8	2,0	89-69	4,12	4,17	0,84
		95,2	1,5	79-58	4,02	4,22	0,86
		99,6	4,1	54-33	5,98	6,01	1,27
		144	3,8	90-00	8,72	6,04	0,59
	20	131,2	4,3	89-69	5,30	4,04	1,07
		116,6	3,4	79-58	5,69	4,88	1,21
		107,0	2,5	54-33	9,03	8,44	1,92
		136	4,2	90-00	37,23	27,46	4,46
Sorbitol	10	96,8	4,3	89-69	3,63	3,75	0,74
		76,4	1,5	79-58	2,54	3,33	0,41
		105,2	2,7	54-33	4,98	4,73	1,06
		100	2,8	90-00	5,85	55,77	11,41
	20	90,4	5,6	89-69	3,63	4,02	0,74
		91,6	2,3	79-58	2,30	4,73	0,49
		79,8	0,4	54-33	3,17	6,34	0,68
		96	3,1	90-00	51,52	5,83	0,70

Les films synthétiques présentent un éventail de performances allant de $0,012 \cdot 10^{-12}$ mol.m.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹ (polyéthylène haute densité) à $4,7 \cdot 10^{-12}$ mol.m.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹ (cellophane) (Myers et al., 1961). Ce qui les permet une ample utilisation pour la conservation des produits contre les transferts d'eau.

Le type et la concentration en plastifiant exercent une influence sur les propriétés barrière à la vapeur d'eau des films à base de caséinate de sodium Figure 7.1. De manière générale, une augmentation de la concentration en plastifiant entraîne une augmentation de la perméabilité à la vapeur d'eau des films Tableaux 7.1. et 7.2. Mais les caractéristiques inhérentes aux plastifiants (taille, masse molaire, et cetera) n'exercent aucune influence sur les propriétés barrière à la vapeur d'eau lorsque des concentrations molaires équivalentes sont employés.

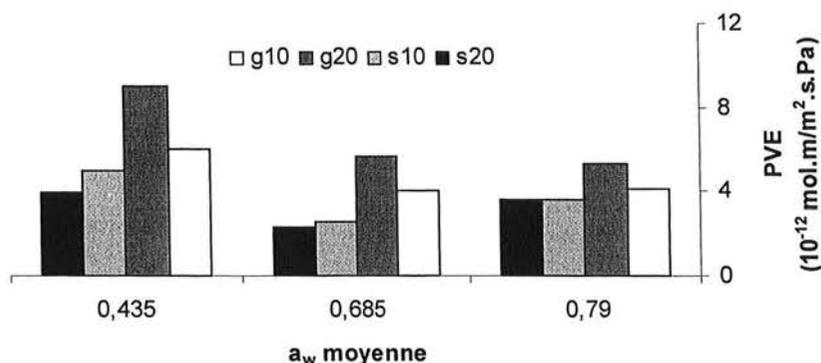


Figure 7.1. : Effet de l'activité de l'eau moyenne sur la perméabilité à la vapeur d'eau des films à base de caséinate de sodium à 38°C

Les caractéristiques physiques du réseau polymérique en présence des plastifiants sont modifiées, on présente une augmentation de la mobilité polymérique, les coefficients de friction sont réduits en conséquence le volume libre augmente. Le réseau devient plus lâche et donc plus perméable (Lieberman et Gilbert, 1973; Ashley, 1985). Ces variations vont se

refléter par une diminution dans la température de transition vitreuse, comme on l'a montré dans la section § 4,1 de résultats et discussions. Une autre conséquence de l'accroissement de la perméabilité à la vapeur d'eau peut être liée à la nature hydrophile des plastifiants employés. Comme a été montré par diverses auteurs (Banker et al., 1966; Gontard et al., 1993; McHugh et al., 1994) qui ont observé que la présence de plastifiants polaires favorise les phénomènes de sorption des molécules d'eau.

7.2. Perméabilité aux gaz

Un des principaux critères pour la sélection d'un matériel d'emballage est la perméabilité aux gaz, laquelle permet d'évaluer l'aptitude d'un matériel d'emballage aux transferts gazeux. Ce paramètre s'avère importante principalement pour les produits alimentaires susceptibles à l'oxydation. D'égale façon la perméabilité au CO₂ ainsi que la sélectivité correspondante au rapport de la perméabilité au dioxyde de carbone sur la perméabilité à l'oxygène sont de plus en plus employés pour les atmosphères modifiées. A titre de comparaison, des valeurs de perméabilité à l'oxygène et au dioxyde de carbone des films à base de caséinate de sodium sont comparées avec différentes films synthétiques (Tableau 7.3)

Tableau 7.3. : Perméabilité à l'Oxygène et au Dioxyde de Carbone ($cm^3 \cdot \mu m \cdot m^{-2} \cdot j^{-1} \cdot KPa^{-1}$) des films à base de caséinate de sodium et de films synthétiques.

Film	Perméabilité ($cm^3 \cdot \mu m \cdot m^{-2} \cdot j^{-1} \cdot KPa^{-1}$)		Conditions		Référence
	O ₂	CO ₂	T (°C)	ΔHR (%)	
Polyester	15,6	-	23	50	Hanlon, 1992
Polyéthylène haute densité	427,0	-	23	50	Saalame, 1986
Polyéthylène basse densité	1870,0	-	23	50	Salame, 1986
Cellophane	16,0	-	23	50	Taylor, 1986
Caseinate de sodium: glycérol (10:1)	10,5	5,2	23	0	Présente étude
Caseinate de sodium: glycérol (10:2)	15,2	6,1	23	0	Présente étude
Caseinate de sodium: sorbitol (10:1)	7,2	5,7	23	0	Présente étude
Caséinate de sodium: sorbitol (10:2)	3,5	12,2	23	0	Présente étude

A 0% d'humidité relative, les films à base de caséinate de sodium sont caractérisés par des valeurs de perméabilité à l'oxygène et au dioxyde de carbone, inférieures à celles des films synthétiques. A titre d'exemple, la perméabilité à l'oxygène des films de caséinate de sodium avec 20% glycérol est 28 fois plus faible que la perméabilité de films de polyéthylène haute densité. Par rapport aux données bibliographiques, les propriétés barrières aux gaz des films à base de caséinate de sodium sont du même ordre de grandeur que celles déterminées pour des films à base des isolats de protéines de lactosérum, de protéines de soja, de gluten de blé. Ils sont de manière générale des bonnes barrières à l'oxygène.

7.2.1. Etude des transferts de gaz au travers d'un film à base de caséinate de sodium

Nous avons voulu étudier l'effet de l'hydratation sur la diffusivité des gaz. Pour cela, nous avons suivi l'évolution de la perméabilité au CO₂ et à l'O₂ du film à base de caséinate de sodium en fonction de son état d'hydratation, selon une méthode de mesure de la perméabilité aux gaz pour les emballages hautement perméables mise au point par Desobry et Hardy, 1997. La courbe isotherme de sorption d'eau des films à base de caséinate de sodium montre une allure sigmoïde classique (Voir § 3.1.). On observe une augmentation nette de la teneur en eau dans le film si l'humidité relative de l'air (HR) augmente de 0 à 33%, une teneur en eau, quasi-constante de 33 à 60% HR, puis une très forte augmentation de la teneur en eau au-delà de 60% HR. Pour les mesures de perméabilité aux gaz, six hygrométries particulières ont été choisies (0%, 11%, 33%, 56%, 75% et 98%).

L'humidité relative joue un rôle très important sur la perméabilité aux gaz, plus significative que celle montrée pour les films synthétiques. De ce fait, il est nécessaire de connaître d'une part, de quelle manière les conditions aérodynamiques influencent les mesures de perméabilité et d'autre part, de comprendre l'effet que certains paramètres comme la température et l'humidité relative exercent sur les transferts. Cette influence de l'humidité relative sur les propriétés barrière aux gaz est typique pour les films à base de biopolymères, surtout dues à sa nature polaire (McHugh et Krochta, 1994a; Gontard et al., 1996). Cependant, le comportement des films hydrophiles d'origine naturel vis-à-vis de la température et l'humidité relative est très complexe et souvent, ne suit pas les lois de Fick et d'Arrhénius.

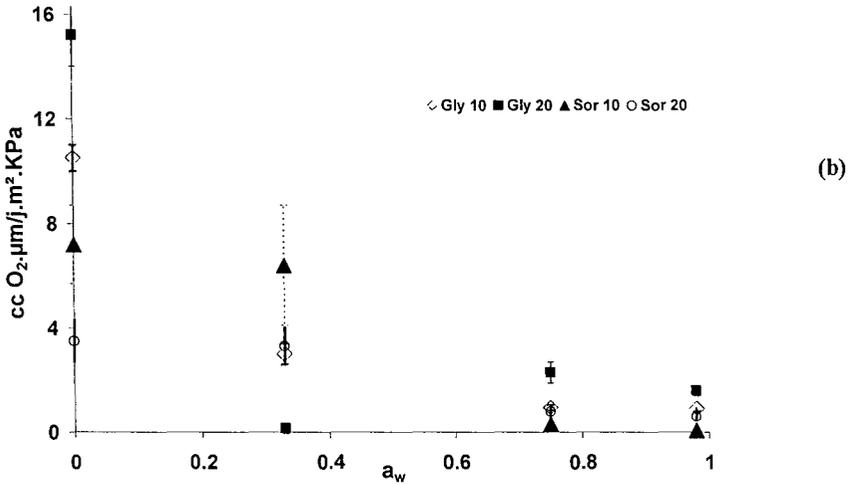
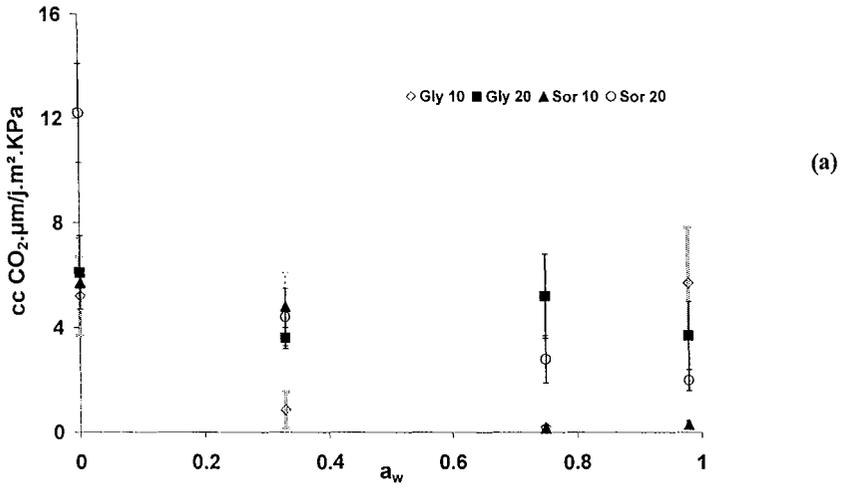


Figure 7.2 : Effet de l'humidité relative sur la Perméabilité à l'Oxygène, PO₂ (a) et la perméabilité au Dioxyde de carbone, PCO₂ (b) à 0% HR (◇), 33%HR (■), 75% HR (▲) et 98% HR (○).

Dans la Figure 7.2. on observe que la perméabilité aux gaz est hautement dépendant de l'humidité relative. Quelque soient les conditions d'humidité relative, les valeurs de perméabilité sont plus fortes dans les films à teneur en plastifiant plus élevée. Les films à base de caséinate de sodium présentent des bonnes propriétés barrière à l'oxygène quand ils sont utilisés dans un environnement sec. La présence d'eau favorise la mobilité des chaînes de macromolécules, ce qui entraîne une augmentation substantielle de la perméabilité à l'oxygène. La perméabilité à l'oxygène des films de caséinate de sodium est plus faible que celles des films à base de polysaccharides. Il semblerait que l'humidité relative interagisse de façon synergique avec les polyols (glycérol et sorbitol) en plastifiant le système et donc en altérant la performance du matériel filmogène. Cette accroissement à été aussi étudié pour la perméabilité à l'O₂ et au CO₂ pour films à base de gluten (Gontard et al., 1996); lactosérum (McHugh et Krochta, 1994), méthylcellulose (Rico-Peña et Torres, 1990).

**CONCLUSION
ET PERSPECTIVES**

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La valorisation du caséinate de sodium comme matériau alternatif pour l'obtention des films comestibles est au cœur de ce travail, qui a porté sur la fabrication et la caractérisation de films. Les films de caséinate de sodium sont transparents, pratiquement solubles dans l'eau; leur propriétés fonctionnelles dépendent de la teneur en agent plastifiant.

Les connaissances acquises lors de cette étude nous ont permis d'envisager le rôle particulier des interactions entre le caséinate de sodium et les plastifiants: glycérol et sorbitol. La plastification se traduit donc par des modifications importantes des propriétés, également affectées par une augmentation de l'humidité relative en équilibre. Les observations en microscopie électronique à balayage et en microscope environnemental révèlent une structure uniforme et régulière, avec certains pores de taille uniforme. L'augmentation de plastifiant amène à une structure plus homogène ce que nous avons pu constater à l'aide du microscope mécanique à balayage (rugosimètre). Indirectement on pourrait le corrélérer aux spectres RMN, dans lesquels de qu'on augmente la teneur en plastifiant on observe une majeure mobilité des protons.

Nous avons montré le rôle du plastifiant dans la mobilité moléculaire du système caséinate de sodium - eau - plastifiant. Nous l'avons fait d'une façon qualitative, par RMN, cependant il faudra continuer les travaux pour mieux élucider les mécanismes des mouvements moléculaires.

Les propriétés thermiques des films de caséinate de sodium ont été caractérisées par analyse enthalpique différentielle modulée (MDSC) et analyse thermomécanique dynamique (DMTA). La MDSC est travaillée avec modulation de température pour permettre une détection de la transition vitreuse dans un premier chauffage et pour empêcher des phénomènes d'altération thermique.

Le caséinate de sodium en poudre présente une relaxation principale vers 180°C avec une température de transition vitreuse d'environ 200°C. A partir de 210° C de température, nous avons observé des pics correspondants à la dégradation thermique du caséinate de sodium.

Nous avons appliqué le modèle de Couchman - Karasz (1978) aux films de caséinate de sodium, et avons montré qu'il a une bonne capacité de prédiction de Tg. Nous l'avons aussi comparé avec le modèle de Matveev (1995) basé sur la contribution de chaque monomère (acides aminés) dans la macromolécule (caséinate de sodium). Les différences par rapport aux valeurs théoriques peuvent être dues à des différences structurales, sur tout au niveau d'interactions protéine- protéine ou bien protéine - plastifiant.

Un autre intérêt d'employer des substances plastifiantes était de mettre en œuvre un film à base de caséinate de sodium utilisable dans une gamme de température inférieure à la température à laquelle pourrait avoir lieu sa dégradation thermique. Les substances polaires que nous avons utilisées l'eau, le glycérol et le sorbitol, présentent plusieurs fonctions hydroxyle qui leur confère sa nature hydrophile. Nous les avons ajoutés après avoir bien dissous la protéine. Il se peut que le glycérol et le sorbitol interagissent avec les zones polaires des protéines qui se trouvent facilement accessibles. La mise en œuvre des films à base de caséinate de sodium avec du glycérol ou du sorbitol, requiert donc l'obtention préalable d'une certaine mobilité moléculaire des protéines, pouvant être atteinte par l'ajout des plastifiants hydrophiles et même par l'effet de l'humidité relative ou par augmentation de la température.

La chute du module de conservation E', lorsqu'il a franchit la transition vitreuse, est légèrement plus faible que celle que présentent les matériaux synthétiques. Nous avons observé que à égale concentration molaire, l'efficacité des plastifiants est directement proportionnelle à leur masse molaire et inversement proportionnelle à la quantité de groupements hydrophiles de la molécule. L'eau, le glycérol et le sorbitol permettent de diminuer la température de transition vitreuse du film sans plastifiant de 180°C jusqu'à 70°C pour 30% glycérol et jusqu'au 100° C pour les films avec 30% sorbitol.

Nous avons évalué les propriétés barrière aux gaz, à la vapeur d'eau et les propriétés mécaniques. Les propriétés mécaniques ont été déterminées à 10 et 20°C, par des essais d'élongation. Les matériaux secs, contenant du glycérol ou de sorbitol, présentent une bonne plastification et une force à la rupture "considérable". Une fois qu'on a fait varier l'humidité relative et donc la teneur en eau du matériau, les propriétés mécaniques sont fortement influencées. Les films contenant du glycérol ou du sorbitol perdent leur résistance mécanique et leur % d'allongement reste faible.

PERSPECTIVES

Des nouvelles perspectives pour la valorisation de caséinate de sodium comme matériel d'emballage du type biologique semblent prometteuses. Sa disponibilité dans le marché, son faible coût, sa bonne plastification, et sa facilité d'application pourraient trouver des débouchés grâce à ces avantages importants.

La contribution de cette étude à l'élucidation des relations structure - propriétés fonctionnelles, même si elle reste modeste, permettra d'avancer dans la compréhension des mécanismes impliqués. Ceci constituera un axe de recherche pour la suite, car la compréhension de la formation d'un réseau pourrait conduire à des nouvelles applications technologiques.

Cette étude a montré qu'on augmentant la teneur en plastifiant on aura une plus rapide mise en forme des matériaux à base de caséinate de sodium due à la baisse de la température de transition vitreuse. Cet effet nécessite de poursuivre l'étude de la compréhension des mécanismes liés à la plastification du matériau en fonction des paramètres intrinsèques structuraux des plastifiants comme le nombre de groupes hydroxyle, la masse molaire, etc.

L'utilisation de techniques industrielles comme l'extrusion, le calandrage, l'injection, employés pour la fabrication des matériaux synthétiques, nécessite des informations rhéologiques complémentaires qui définissent plus amplement la plasticité du système. De manière à obtenir un matériau satisfaisant à faible coût, il faudra mieux connaître la composition du mélange protéine - plastifiant et les conditions des opérations industrielles.

Les développements postérieurs porteront sur la maîtrise des conditions de mise en forme thermoplastique, en prenant en considération la sensibilité thermique des matières premières et les changements produits au cours de la transformation. Des modifications chimiques pourraient également être essayées afin d'améliorer les propriétés fonctionnelles des matériaux.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- Aboumahmoud, E. and Savello, P. 1990. Crosslinking of whey protein by transglutaminase, *J. Dairy Sci.*; 73: 256.
- Adam, G. et Gibbs, J.H. 1965. On the temperature dependance of cooperative relaxation properties in glass-forming liquids. *J. Chem. Phys.*, 43: 139-146.
- Adrian, J. and Frangne, R. 1991. Influence des traitements physiques et chimiques sur la structure des protéines (en particulier des protéines laitières). *Med. et Nutr.*; 27: 119-128.
- Alais, C. 1984. Sciences du lait. Principe des techniques laitières. IV^{ème} édition. Editions SEPAIC, Paris, France.
- Allen, L.A., Nelson, A.I. et Steinberg, M.P. 1963. Edible corn carbohydrate food coatings I. Developments and physical testing of a starch algin coating. *Food Technol.* 17: 1437-1441.
- AOAC (1984). Dans W. Horwitz, Ed. Official methods of analysis, 40^{ème} Ed., Washington DC : Association of Official Analytical Chemists.
- Arvanitoyannis, I., Psomadou, E. and Nakayama, A. 1996. Edible films made from sodium caseinate, starches, sugars or glycerol. Part I. *Carbohydrate polymers.* 31: 179-192.
- Ashley, R.J. 1985. Permeability and plastic packaging. In: *Polymer Permeability.* J. Comyn, ed., pp 269 - 308. Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Avena Bustillos, R.J. and Krocha, J.M. 1993. Water vapor permeability of caseinate-based films as affected by pH, calcium crooslinkig, and lipid content. *J.Food Sci.* 58(4): 904 - 907.
- Aydt, T.P., Weller, C.L. et Testin R.F. 1991. Mechanical and barrier properties of edible corn and wheat protein films. *ASAE.* 34: 207-211.
- Bader, H.G. et Göritz, D. 1994. Investigations on high amylose corn starch films. Part 2: water vapor sorptions. *Stärke/Stärke.* 46: 249-252.
- Baker, R.A., Baldwin, E.A. et Nisperos-Cariedo, M.O. 1994. Edible coatings and films for processing foods. In: *Edible coatings and films to improve food quality.* J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M.O. Nisperos-Carriedo, Eds, p. 89-104. Technomic Publishing Company, Lancaster, PA.
- Bakker, M. 1986 *Wiley Encyclopedia of packaging technology.* John Wiley and Sons, New York, NY.
- Baldwin, E.A. 1994. Edible coatings for fresh fruits and vegetables: past, present and future. In: *Edible coatings and films to improve food quality.* J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M.O. Nisperos-Carriedo, Eds, p. 25-64. Technomic Publishing Company, Lancaster, PA.
- Banerjee, R. and Chen, H. 1995. Functional properties of edible films using whey protein concentrate. *J. Dairy Sci.* 78: 1673 - 1683.

- Banerjee, R., Chen, H., Hendricks, G. and Levis, J.E. 1994. Impact of microfluidization on mechanical and water vapor barrier properties of milk protein based edible films. *J. Dairy Sci.* 77 (Suppl. 1): 24. (Abstract)
- Banker, G. S., Gore, A. Y. and Swarbrick, J. 1966. Water vapour transmission properties of free polymer films. *J. Pharm. Pharmacol.* 18: 457 - 466.
- Banker, G.S. 1966. Film coating, theory and practice. *J. Pharm. Sci.* 55:81-89.
- Banon, S. et Hardy, J. 1992. A colloidal approach of milk acidification by glucono-delta-lactone. *J. Dairy Sci.* 75: 935-941.
- Barbeau, W.E. and Kinsella, J.E. 1986. Physical behavior and functional properties: Relationship between surface rheology and foam stability of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase. *Colloids Surfaces.* 17: 169-183
- Barmore, C.R. 1987. Packaging technology for fres and minimally processed fruit and vegetables. *J. Food Quality.* 10 : 207-211.
- Batzer, H. et Kreibich, U.T. 1981. Influence of water on thermal transition in natural polymers and synthetic polyamides. *Polym. Bull.* 5 : 585-590.
- Bauer, R., Hansen, M. , Hansen, S. , Ogendal, L. , Lomholt, S., Qvist, K. K. and Horne, D.S. 1995. The structure of casein aggregates during renneting studied by direct Fourier transformation and inverse Laplace transformation of static and dynamic light scattering data, respectively. *J. Chem Phys.*, 103 (7): 2725-2737.
- Beck, M.I., Tomka, I. et Waysek, E. 1996 Physico-chemical characterization of zein as a film coating polymer. A direct comparison with ethyl cellulose. *Int. J. Pharma.* 141: 137-150.
- Bell, L.N. et Touma, D.E. 1996. Glass transition temperatures determined using a temperature cycling differential scanning calorimeter. *J. Food Sci.* 61: 807-810.
- Bernal, V. and Jelen, P. 1985. Thermal stability of whey proteins - a calorimetric study. *J. Dairy Sci.* 68: 2847.
- Beuchat, L.R. 1981. Microbial stability as affected by water activity. *Cereals Food World.* 26: 345-349.
- Biliadieris, C.G., Page, C.M., Maurice, T.J. et Juliano, B.O. 1986. Thermal characterization of rice starches; a polymeric approach to phase transitions of granular starch. *J. Agric. Food Chem.* 34: 6-14.
- Brandenburg, A.H., Weller, C.L. et Testin, R.F. 1992. Edible films and coatings from soy protein. *Proceedings Annual Meeting IFT, New Orleans, LA.* June 20-24.
- Braquett, R.E. 1987. Microbial cosequences of minimally processed fruit and vegetables. *J. Food Quality.* 10 : 179-193.

- Briston, J.H. 1988. Plastic films. 3rd Ed. John Wiley and sons, New York, NY.
- Brosio E., Altobelli G., SHI Yun Yu and Di Nola A. 1983. A pulsed low resolution NMR study of water binding to powdered milk. *J. Food Technol* Vol. 18, 15 - 22.
- Brunauer, S., Emmet, P.H. et Teller, E. 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers.
- Brunner, J.R. 1977. Milk proteins. In: *Food Protein*, J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum, Ed., Avi Publishing Co., Westport, Conn. pp 175 -208.
- Burgess, K.J. et Cotton, G. 1982. In: *Food Proteins*. P.F. Fox and J.J. Condon, eds. Applied Science Publishers, London, pp 211-224.
- Burgess, D.J. et Carless, J.E. 1985. Manufacture of gelatin/ gelatin coacervate microcapsules. *Int. J. Pharm.*, 27: 61-70.
- Byler, D.M. et Susi, H. 1986. Examination of secondary structure of proteins by deconvoluted FTIR spectra. *Biopolymers*. 25: 469-487.
- Byler, M.D., Farrell, H.M. Jr, Susi, H. 1988. Infrared spectroscopic study of casein structure; *J. Dairy Sci.* 71: 2622-2629.
- Calzada, J.F. et Peleg, M. 1978. Mechanical interpretation of compressive stress-strain relationship of solid foods. *J. Food Sci.* 43: 1087-1092.
- Cayot, Ph. et Lorient, D. 1998. Structures et technofonctions des protéines du lait. *Arilait Recherches*. Tec and Doc Lavoisier. Paris.
- Cheftel, J.C., Cuq, J.L. et Lorient, D. 1985. *Protéines Alimentaires*. Technic et Documentation, Lavoisier, Apria, Paris.
- Chen, H. 1995. Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. *J. Dairy Sci.* 78: 2563-2583.
- Chen, H. and Wang, W. 1994. Physical properties of milk protein emulsion films as affected by different melting-point lipids. *J. Dairy Sci.* 77 (Suppl. 1): 8 (Abstr.)
- Chen, H., Banerjee, R. and Limoge, E.J. 1995. Testing mechanical strength of edible films. *Proc. Food Pres. 2000: Integrating Processing, Packaging and Consumer Research*. Sci. Technol. Corp., Hampton, VA.
- Cherian, G., Gennadios, A., Weller, C. et Chinachoti, P. 1995. Thermomechanical behavior of wheat gluten films: effect of sucrose, glycerin and sorbitol. *Cereal Chem.* 72: 1-6.
- Chesman, D.F. et Davies, J.T. 1954. Physicochemical and biological aspects of proteins at interfaces. *Adv. Protein Chem.* 9: 439-501.
- Cocero, A.M. et Kokini, J.L. 1991. The study of the glass transition of glutenin using small amplitude oscillatory rheological measurements and differential scanning calorimetry. *J. Rheol.* 35: 257-270.

- Colonna, P., Tayeb, J. et Mercier, C. 1989. Extrusion-cooking of starch and starchy products. In: Extrusion cooking. C. Mercier, P.Linko and J.M.Harper, Ed., p 247-319, Symposium Proceedings AACC, St. Paul MN.
- Coleman, N. J. et Craig, D.Q.M. 1996. Modulated temperature differential scanning calorimetry: a novel approach to pharmaceutical thermal analysis. *Int. J. Pharm.* 135: 13-29.
- Cotte, J. 1991. Le lait, une matière d'avenir pour la cosmétique. *Le Lait.* 71: 213-224.
- Couchman, P.R. 1978. Compositional variation of glass transition temperatures.2. Application of the thermodynamic theory to compatible polymer blends. *Macromolecules.* 11: 1156-1161.
- Couchman, P.R. et Karasz, F.E. 1978. A classical thermodynamic discussion of the effect of composition on glass transition temperatures. *Macromolecules.* 11: 117-119.
- Crank, J. 1975. *Mathematics of Diffusion.* 2nd Ed. Clavedon Press. Oxford, England.
- Creamer, L.K. and Matheson, A.R. 1980. Effect of heat treatment on the proteins of pasteurized skim milk. *New Zealand J. Dairy Sci. Tech.* 15(1): 37-49.
- Croston, C. B., Evans, C.D. and Smith, A.K. 1945. Zein fibers – preparation by wet spinning. *Ind. Eng. Chem.* 37: 1194-1198.
- Cuq, B., Aymard, C., Cuq, J.L. and Guilbert, S. 1995. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. *J. Food Sci.* 60(6): 1369 - 1374.
- Cuq, B., Gontard, N., and Guilbert, S. 1995. Edible films and coatings as active layers. In: *Active Food Packagings*, Rooney, M.L., Ed., Blackie Academic and Professional, Glasgow. 111 - 142.
- Cuq, B. 1996. Mise en forme et caractérisation de biomatériaux à base de protéines myofibrillaires. Ph. D. Thesis. Université Montpellier II. Montpellier, France.
- Cuq, B., Gontard, N. and Guilbert, S. 1997a. Thermal properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by moisture content. *Polymer.* 38: 2399-2405.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J.L. and Guilbert, S. 1997b. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. *J. Agric. Food Chem.* 45: 622-626.
- Cuq, B., Gontard, N. and Guilbert, S. 1997c. Thermoplastic properties of fish myofibrillar proteins: application to biopackaging fabrication. *Polymer.* 38: 4071-4078.
- Cuq, B., Gontard, N. and Guilbert, S. 1998a. Proteins as agricultural polymers for packaging production. *Cereal Chem.* 75: 1-9.
- D'Arcy, R.L. et Watt, I.C. 1981. Water vapor sorption isothermes on macromolecular substrate. In: *Water activity, influences on food quality.* L.B. Rockland and G.F. Stewart, Ed., p. 111-142. Academic Press Inc., New York.

- Dalgleish, D.G. 1982. Milk proteins - chemistry and physics. In: Food Proteins. P.F. Fox, and J.J. Condon, ed. Appl. Sci. Publ., London, England. pp 155 - 178.
- Dalgleish, D.G. 1989. Aspects of stability in milk and milk products. Royal Society of Chemistry. 75: 295-305.
- Dalgleish, D.G. 1997. Structure-function relationships of caseins. Pp 199-223. In Food proteins and their applications. Ed S. Damodaran, A. Paraf, Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- Dalgleish, D.G., Horne, D.S. and Law, A.J.R. 1989. pH induced dissociation of bovine casein micelles. Biochem. Biophys. Acta. 991: 383-387.
- Deasy, P.B. 1984. Microencapsulation and related drug processes. Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
- De Kruif, C.G. and Roefs, S.P.F.M. 1996. Skim milk acidification at low temperatures: a model for the stability of casein micelles. Neth. Milk Dairy J. 50: 113-120.
- De Kruif, C.G. and Zhulina, E.B. 1996. K-casein as a polyelectrolyte brush on the surface of casein micelles. Colloid surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. 117: 151-159.
- De Kruif, C.G. 1998. Supra-aggregates of casein micelles as a prelude to coagulation. J. Dairy Sci. 81 : 3019-3028.
- De Lasso, P.T. 1994. Permeation of flavors and aromas through glassy polymers. In: Tappi J. 77(1): 109 - 113.
- De Leiris, J.P. 1986. Water activity and permeability. In: Food Packaging and Preservation. M.Mathlouthi, Ed., Elsevier Sci. Publ. Co., Inc., New York.
- De Wit, J.N. 1989. The use of whey protein products. In: Developments in Dairy Chemistry - 4. Functional Milk Proteins. P.F. Fox (Ed.) Elsevier Appl. Sci. England.
- Debeaufort, F. and Voilley, A. 1994. Aroma compound and water vapor permeability of edible films and polymeric packaging. J. Agric. Food Chem. 42: 2871-2875.
- Debeaufort, F., Voilley, A. et Meares, P. 1994. Water vapor permeability and diffusivity through methylcellulose edible films. J. Membrane Sci. 91: 125-133.
- Debeaufort, F., Tesson, N. and Voilley, A. 1995. Aroma Compounds and Water Vapour Permeability of Edible Films and Polymeric Packagings. In: Foods and Packaging Materials-Chemical Interactions. Ackerman, P., Jaegerstad, M. and Ohlsson, T. (Eds.). The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. pp 169 - 174.
- Desbois, P. 1992. Repartition, mobilité et états de l'eau dans les produits céréaliers de cuisson par resonance magnétique nucléaire. Thèse de Doctorat. Université de Nantes. Nantes, France.

- Desobry, S. et Hardy, J. 1997. The increase of CO₂ permeability with paper hydration. *Int. J. Food Sci. Technol.* 32: 407-411.
- Di Gioia, L. et Guilbert, S. 1999. Corn Protein-base thermoplastic resins: effect of some polar and amphiphilic plasticizers. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1254-1261.
- Di Gioia, L. Cuq, B. et Guilbert, S. 1998a. Thermal properties of corn gluten meal and its proteic components. *Int. J. Biol. Macromol.*
- Di Gioia, L. Cuq, B. et Guilbert, S. 1998b. Effect of hydrophilic plasticizers on thermomechanical properties of corn gluten meal. *Cereal Chem.* 75: 514-519.
- Di Nola A. and Brosio E. 1983. Bound and free water determination by pulsed nuclear magnetic resonance. *J. Food Technol.* 18: 125 - 128.
- Dickinson, E. 1986. Mixed proteinaceous emulsifiers: review of competitive protein adsorption and the relationship to food colloid stabilization. *Food Hydrocolloids*; 1:3.
- Donhowe, I.G. and Fennema, O.R. 1994. Edible films and coating: characteristics, formation, definitions, and testin methods. In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. J.M.
- Donhowe, I.G. et Fennema, O. 1993b. The effects of plasticizers on cristallinity, permeability and mechancial properties of methylcellulose films. *J. Food Process. Preserv.* 17: 247-257.
- Donth, E. J. 1992. Control of Tg. In: *Relaxation and Thermodynamics in Polymers: glass transition*. E.J. Donth, ed. Akademc Verlag GmbH. Berlin, Germany.
- Doolittle, A.K. 1951. Studies in newtonian flow. II. The dependence of the viscosity of liquids on free space. *J. Appl. Phys.* 22: 1471-1475.
- Fairley, P., Monahan, F. J., German, J. B. and Krochta, J.M. 1996. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films from whey protein isolate and n-ethylmaleimide or cysteine; *J. Agric. Food Chem.* 44: 3789 - 3792.
- FAO-SMIAR. 2000. Système mondial d'information et d'alerte rapide de la FAO. Rapport annuel. Rome, Italie.
- Farrell, H.M., Pessen, H., Brown, E.M. and Kumosinski, T.F. 1990. Structural insights into the bovine casein micelle: small angle x-ray scattering studies and correlations with spectroscopy. *J. Dairy Sci.* 73: 3592-3601.
- Felder, R.M. and Huvad, G.S. 1980. Permeation, Diffusion and Sorption of Gases and Vapors. In: *Methods of Experimental Physics*. R.A. Fava, ed. Academic Press.
- Ferreti, A. 1937. Procédé pour la fabrication de fibres artificielles. French patent 813,427, Feb 22.
- Ferry, J.D. 1980. *Viscoelastic properties of polymers*. 3rd Ed., John Willey and sons, New York.

- FIL, 1999. World dairy situation, bull. 339, 55p.
- Flory, P.J. 1953. Principles of polymer chemistry. Cornell University press. Ithaca, New York.0
- Folk, J.E. 1980. Transglutaminases. Ann. Rev. Biochem. 49: 517-531.
- Folk, J.E. and Chung, S.I. 1985. Transglutaminases. Methods Enzymol. 113: 358-375.
- Foster, R. 1986. Ethylene-vinyl alcohol copolymers (EVOH), p. 270-275. In: The Wiley encyclopedia of Packaging Technology. M. Baker, Ed., John Wiley and sons. New York.
- Fox, P.F. 1989. The milk protein system. In: Developments in Dairy Chemistry-4 P.F. Fox ed; Elsevier Appl. Sci. London, England.
- Fox, P.F. et Mulvihill, D.M. 1983. Functional properties of casein, casenates and co-precipitates. In: Proceedings of IDF Symposium on Physico-chemical aspects of dehydrated protein-rich milk products, 17-19 May 1983, Statens Forsogsmejeri, Helsingor, Denmark, pp 188-285
- Frinault, A. Gallant, D.J. , Bouchet, B. and Dumont, J.P.J. 1997. Preparation of casein films by a wet spinning process. Food Sci. 62(4): 744 - 747.
- Fukushima, D. and Van Buren, J. 1970. Mechanisms of protein insolubilization during the drying of soy milk. Role of disulfide and hydrophobic bonds. Cereal Chem. 47: 687 - 696.
- Gagnaire, V., Pierre, A., Mollé, D. and Léonil, J. 1996. Phosphopeptides interacting with colloidal calcium phosphate isomated by tryptic hydrolysis of bovine casein micelles. A proposed model. J. Dairy Res. 37: 493-504.
- Galletta, G., Di Gioia, L., Guilbert, S. et Cuq, B. Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and crosslinking agents. J. Dairy Sci. 81 : 3123-3130.
- Garnier, J. and Ribadeau-Dumas, B. 1970. Structure of the casein micelle. A proposed model. J. Dairy Res., 37: 493-504.
- Gaudin, S. et al. 1999
- Gennadios, A. Weller, C.L. and Testin, R.F. 1990. Modification of properties of edible wheat gluten films, ASAE Paper No. 90-6504. Amer. Soc. of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI.
- Gennadios, A. Weller, C.L. and Testin, R.F. 1993a. Temperature effect on oxygen permeability of edible protein-based films. J. Food Sci. 58: 212 - 214, 219.
- Gennadios, A., Park, H.J. et Weller, C.L. 1993b. Relative humidity and temperature effects on tensile strength of edible protein and cellulose ether films. Trans ASAE. 36: 1867-1872.
- Gennadios, A., McHugh, T.H., Weller, C.L. and Krochta, J.M. 1994. Edible coatings and film based on proteins. In: J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M. Nisperos-Carriedo, Edible Coatings

- and Films to Improve Food Quality. pp. 201 - 277. Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA.
- Gennadios, A. et Weller, CL. 1994. Moisture adsorption by grain protein films. *Trans ASAE*. 37: 535-539.
- Giusti, P., Lazzeri, L., De Petris, S., Palla, M. et Cascone, M.G. 1994. Collagen base new bioartificial polymeric material. *Biomaterials*. 15: 1229-1233.
- Goldman, A et Toepfer, N.G. 1978. XX International Dairy Congress, Brief Communications, Paris, pp 418-419.
- Gontard, N., Guilbert, S. at Cuq, J.L. 1992. Edible wheat gluten film: influence of the main process variables on film properties using response surface methodologie. *J. Food Sci.* 58: 206-211.
- Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J.L.1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *J. Food Sci.* 58(1): 206 - 211.
- Gontard, N. et Ring, S. 1996 Edible wheat gluten film ; influence of water content on glass transition temperature. *J. Agric. Food Chem.* 44 : 3474-3478.
- Gontard, N. Thibault, R., Cuq, B et Guilbert, S. 1996. Influence of relative humidity and film composition on oxygen and carbon dioxide permeabilities of edible films. *J. Agric. Food Chem.* 44 : 1064-1069.
- Gordon, M. et Taylor, J.S. 1952. Ideal copolymers and second order transitions of synthetics rubbers. I. Non-crystalline copolymers. *J. Appl. Chem.* 2 : 493-500.
- Gordon, J.M. Rouse, G.B., Gibbs, J.H. et Risen, W.M. 1977. The composition dependence of glass transition properties. *J. Chem. Phys.* 66 : 4971-4976.
- Gosline, J.M. et French, C.J. 1979. Dynamic mechanical properties of elastin. *Biopolym.* 18 : 2091-2103.
- Goursaud, J. 2000. Industries Alimentaires et Agricoles. Dec. Les grandes tendances quantitatives de l'économie laitière mondiale. 59-61.
- Graham, D.E. and Phillips, M.C. 1979. Proteins at liquid interfaces. III. Molecular structures of adsorbed films. *J. Colloid Interface Sci.* 70: 427.
- Greener-Donhowe, I.K. et Fennema, O.R. 1993. Water vapor and oxygen permeability of wax films. *JAOCS*. 70: 867-873.
- Guéguen, J., Viroben, J., Barbot, J. et Subirade, M. 1998. Comparative properties of pea protein and wheat gluten films. Influence of various plasticizers and aging, p. 319-323. In: *Plant Proteins for European Crops, Food and Non-Food Applications*. J. Guéguen et Y. Popineau, Eds. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

- Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible films and coatings. In: Food Packaging and Preservation. Theory and Practice. M. Mathlouthi, ed. Elsevier Appl. Sci. Publ. Ltd. Essex, England. 371-394.
- Guilbert, S. and Biquet, B. 1989. Les films et enrobages comestibles. In L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation, G. Bureau and J.J. Multon, Ed., Technique et Documentation, Lavoisier, Apria, Paris. 320-359.
- Guilbert, S. and Graille, J. 1994. Biomatériaux et molécules fonctionnelles. In: Valorisations non alimentaires des grandes productions agricoles. Les colloques No. 71, J. Gueguen, Ed. INRA, edition Paris. pp. 195 - 206.
- Halsey, G. 1948. Physical adsorption of non-uniform surfaces. *J. Chem. Phys.* 16 : 931-937.
- Hermansson, A.M. 1974. Functional properties of proteins for foods. Flow properties. *J. Texture Studies.* 5 : 425 - 439.
- Hernandez, R.J., Giacini, J.R. and Baner, A.L. 1986. The evaluation of the aroma barriers properties of polymer films. *J. Plast. Film Sheeting.* 2: 187 - 211.
- Ho, B. 1992. Water vapor permeabilities and structural characteristics of casein and casein-lipid emulsion films. M.S. Thesis, Univ. California, Davis.
- Holt, C. 1992. Structure and stability of bovine casein micelles. *Adv. Prot. Chem.* 43: 63-151.
- Holt, C. and Horne, D.S. 1996. The hairy casein micelle: evolution of the concept and its implications for dairy technology. *Neth. Milk Dairy J.* 50: 85-111.
- Hoogenkamp, H.W. 1996. Casein and caseinate. Today and tomorrow. The world of ingredients. 32-37
- Horne, D.S. 1998. Casein interactions: casting light on the black boxes, the structure in dairy products. *Int. Dairy J.* 8: 171-177.
- Hoseney, R.C., Zeleznak, K. et Lai, C.S. 1986. Wheat gluten a glassy polymer. *Cereal Chem.* 63: 285-286.
- Ikura, K., Kometani, T., Yoshikawa, R., Sasaki, R. and Chiba, H. 1980. Crosslinking of casein components by transglutaminase. *Agric. Biol. Chem.* 44: 1567.
- Iglesias, H.A. et Chirife, J. 1976. Prediction of the effect of temperature on water sorption isotherm of food materials. *J. Food Technol.* 11: 109-115.
- Kalichevski, M.T. et Blanshard, J.M.V. 1992. A study of the effect of water on the glass transition of 1:1 mixtures of amylopectin, casein and gluten using DSC and DMTA. *Carbohydr. Polym.* 19: 271-278.
- Kalichevski, M.T., Jaroszkiewics, E.M et Blanshard, J.M.V. 1992a. Glass transition of gluten. 1. *Int. J. Biol. Macromol.* 14: 257-266.

- Kalichevski, M.T., Jaroszkiewics, E.M et Blanshard, J.M.V. 1992b. Glass transition of gluten. 2. *Int. J. Biol. Macromol.* 14: 267-273.
- Kalichevski, M.T., Blanshard, J.M.V. et Tokarczuk, P.F. 1993a. Effect of water content and sugars on the glass transition of casein and sodium caseinate. *Int. J. Food Sci. Technol.* 28: 139-151
- Kalichevski, M.T., Blanshard, J.M.V. et Marsh, R.D.L. 1993b. Application of mechanical spectroscopy to the study of glassy biopolymers and related systems, p. 133-156. In: *The glassy state in foods.* J.M.V. Blanshard and P.J. Lillford, eds. Nottingham University Press. Nottingham, UK.
- Kamper, S. and Fennema, O. 1984. Water vapor permeability of edible bilayer films. *J. Food Sci.* 49: 1478.
- Kelly, F.N. et Bueche, F. 1961 Viscosity and glass transition temperature relations for polymer diluent systems. *J. Polym. Sci.* 50: 549-556.
- Kelly, P.M., O'Keefe, A.M. and Phelan, J.A. 1983. In: *Proceedings of IDF Symposium on Physico-chemical aspects of dehydrated protein-rich milk products, 17-19 May 1983, Statens Forsogsmejeri, Hillerod, Denmark*, pp 260-275.
- Kester, J.J. and Fennema, O.R. 1986. Edible films and coatings: A review. *Food Technol.* 40(12): 47-59.
- Kester, J.J. and Fennema, O.R. 1989a. An edible film of lipids and cellulose ethers: barrier properties to moisture vapor transmission and structural evaluation. *J. Food Sci.* 54:1383.
- Kester, J.J. and Fennema, O.R. 1989b. Resistance of lipids films to water vapor transmission. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 66:1139.
- Kinsella, J.E. et Whitehead, D.M. 1987. Milk the Vital Force. *Proceedings of the XXII International Dairy Congress. The Hague, 29 September – 03 October 1986.* D. Reidel Pub. Co. Dordrecht, Netherlands, pp 791-804.
- Kinsella, J.E. and Whitehead, D.M. 1988. Properties of chemically modified proteins, *Advances in Food Emulsions and Foams*, E. Dickinson and G. Stansby, Ed., Elsevier Appl. Sci., NY.
- Kinsella, J.E. and Whitehead, D.M. 1989. Proteins in whey: Chemical, physical and functional properties. *Adv. Food Nutr. Res.* 33: 343-438
- Kinsella, J.E. 1984. Milk proteins: Physicochemical and functional properties. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 21(3): 197-262.
- Klein, B.P. 1987. Nutritional consequences of minimal processing of fruits and vegetables. *J. Food Quality.* 10: 179-193.
- Koelsch, C. 1994. Edible water vapor barriers: properties and promise, *Trends Food Sci. Technol.* 5: 76.

- Koide, K. 1985. *New Food Industry*, 27(6,7), 60-74, 53-63. [Dairy Sci. Abstracts (1987) 49: 5553].
- Kokini, J.L., Cocero, A.M. et Madeka, H. 1995. State diagrams help predict rheology of cereal proteins. *Food Technol.* 368: 74-82.
- Kondo, A. and Van Valkenbourg, J.W. 1979. *Microcapsule processing and technology*. Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y.
- Konstance, R.P. et Strange, E.D. 1991. Solubility and viscous properties of casein and caseinates. *J. Food Sci.* 56 (2): 556 - 559.
- Krochta, J.M., Hudson, J.S. et Avena-Bustillos, R.J. 1990. Casein-acetylated monoglyceride coatings for slice apples products. In: *Proceedings Annual Meeting IFT, Anaheim, CA*. June 16-20.
- Krochta, J.M. 1992. Control of mass transfer in foods with edible-coatings and films. In: *Advances in Food Engineering*. R.P. Singh and M.A. Wirakarstakusumah, Ed. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fl. pp: 517-538.
- Krochta, J.M. 1997. Edible protein films and coatings. In: *Food Proteins and their Applications*. S. Damodaran and A. Palaf, Ed. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.
- Krochta, J.M. and de Mulder-Johnston, C. 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenge and opportunities. *Food Technol.* 1997. 51(2): 61-74.
- Krochta, J.M. and McHugh, T.H. 1996. Water-insoluble protein-based edible barrier coatings and films. US Patent 5543164. Aug. 6, 1996.
- Krochta, J.M., Baldwin, E.A. and Nisperos Carriedo, M. 1994. *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Technomic Publ. Co. Inc., Lancaster, PA.
- Krochta, J.M., Baldwin, E.A. and Nisperos-Carriedo, M. Eds. 1994. *Edible Coating and Films to Improve Food Quality*, Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, PA.
- Kruszewska, I. 1997. A review of commercially available bio-plastics to replace petroleum based plastics in children's toys. *Clean Production Action Report of Greenpeace International Toxic Campaign*. September.
- Kummins, C.A. 1965. Transport through polymer films. *J. Polymer Sci. Part C*. 10:1.
- Kumosinski, F.C., Brown, E.M., Farrell H.M. Jr. 1991a. Three dimensional molecular modeling of bovine caseins: κ -casein. *J. Dairy Sci.* 74: 2879-2897.
- Kumosinski, F.C., Brown, E.M., Farrell H.M. Jr. 1991b Three dimensional molecular modeling of bovine caseins: α_{s1} -casein. *J. Dairy Sci.* 74: 2889-2895.
- Kunte, L.A., Gennadios, A., Cuppert, S.L., Hanna, M.A. et Weller, C.L. 1997. Cast films from soy protein isolates and fractions. *Cereal Chem.* 74 : 115-118.

- Labuza, T. P. 1982. Moisture gain and loss in packaged foods. *Food Technol.* 36(4): 92
- Labuza, T.P. et Breene W.M. 1989. Application of active packaging for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf life foods. *J. Food Process. Preserv.* 13 : 1-70.
- Lamiot, E. 1997. Modifications des propriétés des protéines d'origine agricoles: l'exemple des protéines du lait. *Regard sur la Biochimie*; 1: 60-66
- Landry, S. et Maurisson, E. 2000. *L'économie laitière en chiffres*, CNIEL ed. Paris, 198 p.
- Lawton, J.W. et Wu, Y.V. 1993. Thermal behavior of annealed acetic acid soluble wheat gluten. *Cereal Chem.* 70: 471-475.
- Le Botlan, D. et Ouguerram, L. 1997. Spin-spin relaxation time determination of intermediate states in heterogeneous products from free induction decay nuclear magnetic resonance signals. *Analytica Chimica Acta* 349: 339-347.
- Leufvén, A. and Stöllman, U. 1992. Polymer films as aroma barriers at different temperatures. *Z. Lebensm Unters Forsch.* 194: 355-359.
- Lieberman, E.R. and Guilbert, S.G. 1973. Gas permeation of collagen films as affected by cross-linkage, moisture and plasticizer content. *J.Polym. Sci.* 41: 33 - 43.
- Lillie, M.A. et Gosline, J.M. 1993. The effect of swelling solvents on the glass transition in elastine and other proteins, p. 281-301. In: *The glassy state in foods*. J.M. V. Blanshard and P.J. Lillford, Eds. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Lin, A.A., Kwei, T.K. et Reiser, A. 1989. On the physical meaning of the Kwei equation for the glass transition temperature of polymer blends. *Macromolecules.* 22: 4112-4119.
- Linden, G et Lorient, D. 1994. *Biochimie Agro-industrielle. Valorisation alimentaire de la production agricole*. Ed. Masson.
- Lorient, D., Closs, B. et Courthaudon, J.L. 1991. Connaissances nouvelles sur les propriétés fonctionnelles des protéines du lait et des dérivés. *Le Lait.* 71: 141-171.
- Lourdin, D., Coignard, L., Bizot, H. et Colonna, P. 1997b. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. *Polymer.* 38(21): 5401-5406.
- Madeka, H. et Kokini, J.L. 1996. Effect of glass transition and cross-linking on rheological properties of zein: development of a preliminary state diagram. *Cereal Chem.* 73: 433-438.
- Mahmoud, R. and Savello, P. 1992. Mechanical properties of and water vapor transferability through whey protein films *J. Dairy Sci.* 75: 942.
- Mahmoud R. and Savello, P. 1993. Solubility and hydrolyzability of films produced by transglutaminase catalytic crosslinking of whey protein. *J. Dairy Sci.* 76: 29-35.

- Manheim, C. and Passy, N. 1985. Choice of packages for foods with specific considerations of water activity. In: *Properties of Water in Foods in Relation to Quality and Stability*, D. Simatos and J.L. Multon, Ed., Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht, The Netherlands. 375.
- Marquie, C. 1996. Mise au point et étude de films biodégradables réalisés avec des farines de graines de cotonniers. Ph. D. thesis. Université de Montpellier II. Montpellier, France.
- Marshall, A.S. et Petrie, S.E. 1980. Thermal transition in gelatin and aqueous gelatin solutions. *J. Photographic Sci.* 28: 128-134.
- Maté, J.I., Frankel, E.N. and Krochta, J.M. 1996. Whey protein isolate edible coatings: effect on the rancidity process of dry roasted peanuts. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1736 - 1740.
- Maté, J.I. and Krochta, J.M. 1996. Whey protein coating effect on the oxygen uptake of dry roasted peanuts. *J. Food Sci.* 61: 1202-1206, 1210.
- Mathlouthi, M., De Leiris, J.P. et Seuvre, A.M. Package coating with hydrosorbent products and the shelf life of cheeses. In *Food Packaging and preservation*. M. Mathlouthi, Ed., p. 100-122. Blackie Academic and Professional, Glasgow.
- Matveev, Y.I. Grinberg, V.Y., Sochava, I.V. et Tolstoguzov, V.B. 1997.. Glass transition temperature of proteins. Calculation based on the additive contribution method and experimental data. *Food Hydrocoll.* 11: 125-133.
- Maynes, J.R. et Krochta, J.M. 1994. Properties of edible films from total milk protein. *J. Food Sci.* 59: 909 - 911.
- McClements, D.J., Monahan, F.J., Kinsella, J.E. 1993. Disulfide bond formation affects stability of whey protein isolate emulsions. *J. Food Sci.* 58: 1036-1039.
- Mc Dowell, A.K.R. 1968. Annual Report, NZ Dairy Research Institute, Palmerston North, NZ, p 52.
- Mc Gann, T.C.A., Donnelly, W.J., Kearney, Rd et Buchheim, W. 1980. Composition and size distribution of bovine casein micelles. *Biochim. Biophys. Acta.* 630: 261-270.
- McHugh, T.H. and Krochta, J.M. 1994a. Sorbitol vs glycerol plasticized whey proteins edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *J. Agric. Food Chem.* 42: 841 - 845.
- McHugh, T.H. and Krochta, J.M. 1994b. Dispersed phase particle size effects on water vapor permeability of whey protein-beeswax edible emulsion films. *J. Food Process. Preserv.* 18: 173 - 188.
- McHugh, T.H. and Krochta, J.M. 1994c. Water vapor permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films. *JAOCs.* 71: 307 - 312.

- McHugh, T.H. and Krochta, J.M. 1994d. Permeability properties of edible films; In: Edible Coating and Films to Improve Food Quality. J.M. Krochta, E.A. Baldwin, and M. Nisperos Carriedo, Eds. Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA.
- McHugh, T.H., Avena-Bustillos, R. and Krochta, J.M. 1993. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *J. Food Sci.* 58(4): 899 - 903.
- McRitchie, F. 1978. Proteins at interfaces. *Adv. Prot. Chem.* 32: 283-326.
- Mills, O.E. 1976. Effect of temperature on tryptophan fluorescence of β -Lactoglobulin. *Biochim. Biophys. Acta.* 434:324
- Monahan, F.J., Mc Clements, D.J., Kinsella, J.E. 1993. Polymerization of whey proteins in whey protein-stabilized emulsions. *J.Agric. Food Chem.* 41: 1826-1829.
- Mora-Gutierrez, A. et Baianu, I.C. 1989. ^1H NMR relaxation and viscosity measurements on solutions and dispersions of carbohydrates and starch from corn. *J. Agric. Food Chem.* 37: 1459-1465.
- Morr, C.V. 1967. The effect of oxalate and urea upon centrifugation properties of raw and heated skim milk casein micelles. *J. Dairy Sci.* 50: 1744-1751.
- Morr, C.V. 1982. *Developments in Dairy Chemistry-I. Proteins.* P.F. Fox, Ed. Appl. Sci. Publ. London. Pp. 375-399.
- Morr, C.V. 1987. In: *Milk the vital force. Proceedings of the XXII Int. Dairy Congress.* The Hague, 29 September – 3 October. D. Reidel Pub. Co.Dordrecht, Netherlands, pp. 763-768.
- Morr, C.V. and Ha, E.Y.W. 1993. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33: 431.
- Motoki, M., Aso, H., Seguro, K. 1987a. α -s1 casein film prepared using transglutaminase. *Agric. Biol. Chem.* 51(4): 993-996.
- Motoki, M., Aso, H., Seguro, K. and Nio, N. 1987b. Immobilization of enzymes in protein films prepared using transglutaminase. *Agric. Biol. Chem.* 51(4): 997-1002.
- Myers, A.W., Meyer, J.A., Rogers, C.E., Stannet, V. et Szwarc M. 1961. Studies on the gas and vapor permeability of plastic films and coated papers. VI. The permeation of water vapor; *TAPPI* 44:58
- National Casein Co. 1989. *Gluing guide*, National Casein Company, Chicago, Ill.
- Noël, T.R., Parker, R., Ring, S.G. et Tatham, A. 1995 The glass transition behaviour of wheat gluten proteins. *Int. J. Biol. Macromol.* 17: 81-85.
- Noh, B., Richardson, T. and Creamer, L.K. 1989. Radiolabelings study of the heat induced interactions between α -lactoalbumin, β -lactoglobulin and κ -casein in milk and buffer solutions. *J.Food Sci.* 54(4): 889-893.

- Nomura, S., Hiltner, A., Lando, J.B. et Baer, E. 1977. Interaction of water with native collagen. *Biopolym.* 16: 231-246.
- Ono, T. et Obata, T. 1989. A model for the assembly of bovine casein micelles. *J. Dairy Res.* 56: 453-461.
- Orford, P.D., Parker, R., Ring, S.G. et Smith, A.C. 1989. Effect of water as diluent on the glass transition behavior of malto-oligosaccharides, amylose and amylopectine. *Int. J. Biol. Macromol.* 11 : 91-96.
- Oswin, C.R. 1945. The kinetics of packaged life. 2 Temperature factor. *J. Soc. Chem. Ind.* 64 : 67-70.
- Otte, J., Ju, Z.Y., Skriver, A., and Qvist, K.B. 1996. Effects of limited proteolysis on microstructure of heat induced whey proteins gels at varying pH. *J. Dairy Sci.* 79 : 782 – 790.
- Oudet, C. 1994. *Polymères, structures et propriétés.* Masson. Paris
- Panfil-Kuncewicz, H. 1994. Determination of changes in casein micelle size distribution in milk with selected methods. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 3(2) : 59-66.
- Park, H.J. et Chinnan, M.S. 1990. Properties of edible coatings for fruits and vegetables. Paper No; 90-6510 Int. Winter Meeting, ASAE, Chicago, Ill. December 18-21.
- Park, H.J., Weller, C.L., Vergano, P.J. et Testin, R.F. 1993. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. *J. Food Sci.*, 58: 1361-1364, 1370.
- Parry, R.M. and Carrol, R.J. 1969. Location of κ -casein in milk micelles. *Biochem. Biophys. Acta.* 194: 138-150.
- Pastore, G., Bernu, B., Hansen, J.P. et Hiwatari, Y. 1988. Soft sphere model for the glass transition in binary alloys. II. Relaxation of the incoherent density-density correlation functions. *Phys. Rev. A.*, 38 : 454-462.
- Paulsson, M. et Dejmek, P. 1990. Thermal denaturation of whey proteins in mixture with caseins studied by differential scanning calorimetry. *J Dairy Sci* 73, 590-600
- Peleg, M. 1979a. Characterization of the stress relaxation curves of solid foods. *J. Food Sci.* 44 : 277-281.
- Perez, J. Cavaille, J. Y. et Tatibouet, J. 1990. La transition vitreuse dans les polymères amorphes. *J. Chim. Phys.* 87 : 1923-1967.
- Perez, J. 1994. Theories of liquid glass transition. *J. Food Eng.* 22 : 89-114.
- Phillips, L.G., German, J.B., O'Neill, T.E., Foegeding, E.A., Harwalker, V.R., Kilasa, A., Lewis, B.A., Mangino, M.E., Morr, C.V., Rgenstein, J.M., Smith, D.M., Kinsella, J.E. 1990. Standardized procedure for measuring properties of three proteins, a collaborative study. *J. Food Sci.* 55 : 1441.

- Phillips, L.G., Whitehead, D.M. et Kinsella, J. 1994. Structure-function properties of food proteins. L.G. Phillips, D.A. Whitehead and J. Kinsella, eds. Academic Press, Inc. San Diego.
- Pouplin, M., Redl, A. et Gontard, N. 1998. Glass transition of wheat gluten protein as a function of water, glycerol and sorbitol content. *J. Agric. Food Chem.*
- Ramshaw, E.H. et Dunstone, E.A. 1969. The flavor of milk proteins. *J. Dairy Research* 36: 203-213.
- Redl, A., Morel, M.H., Bonicel, J. Vergnes, B. et Guilbert, S. 1998. Extrusion of wheat gluten plasticized with glycerol: Influence of process conditions on flow behaviour, rheological properties and molecular size distribution.
- Rhone Electra, 1990. New Zealand patent 229 173.
- Rials, T.G. et Glasser, W.G. 1988. Thermal and dynamic properties of hydroxypropyl cellulose films. *J. Appl. Polym. Sci.* 36 : 749-758.
- Ribadeau-Dumas, B. et Grappin, R. 1989. Milk Protein analysis. *Lait.* 69 : 357-416.
- Rico-Peña, D.C. et Torres, J.A. 1990. Oxygen transmission rate of an edible methylcellulose-palmitic acid film. *J. Food Process Eng.* 13 : 125-133.
- Rico-Peña, D.C. et Torres, J.A. 1991. Sorbic acid and potassium sorbate permeability of an edible methylcellulose-palmitic acid film : water activity and pH effects. *J. Food Sci.* 56 : 497-499.
- Richardson, S.J. et Baianu, I.C. 1987. Mobility of water in starch powders determined by NMR. *Starch/Stärke.* 39 : 198-203.
- Roeper, J. et Winter, G.J. 1982. XXI International Dairy Congress, Brief communications. Vol I ; Moscow, pp. 97-98.
- Rogers, C.E. 1985. Permeation of gases and vapours in polymers, p 11-65. In : *Polymer Permeability*. J. Comyn, Ed. Elsevier Appl. Scienc. London and New York.
- Rolle, R.S. et Chism III, G.W. 1987. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *J. Food Qual.* 10: 157-177.
- Rose, D. 1969. A proposed model of micelle structure in bovine milk. *J Dairy Sci.* 51: 1897-1902.
- Ross, Y.H. 1995. Phase transitions in foods. Academic Press, Inc. San Diego, CA.
- Ross, Y.H. et Karel, H. 1991. Water and molecular weight effect on glass transition in amorphous carbohydrates and carbohydrates solutions. *J. Food Sci.* 56 : 1676-1681.
- Rothfus, J.A. 1996. Potential β -sheets surfaces of corn and wheat proteins. *J. Agric. Food Chem.* 44 : 3143-3152.

- Salame, M. 1986. Barrier polymers, p. 48-54. In : The Wiley Encyclopedia of packaging technology. M. Bakker, Ed., John Wiley and sons, New York.
- Sapru, V. et Labuza, T.P. 1996. Moisture transfer simulation in packaged cereal-fruit systems. *J. Food Eng.* 27 : 45-62.
- Salzberg H.K. et Simonds, M.R. 1965. US Patent 3 186 918.
- Savary, C., Colonna, P. et Della Valle, G. 1993. Matériaux d'emballage à base d'amidons et de leurs dérivés. *Industrie des céréales.* 17-29.
- Scandola, M. et Pezzin, G. 1978. The low temperature of elastin II. The solvated protein. *Biopolym.* 17: 212-223.
- Scandola, M., Ceccorulli, G. et Pizzoli, M. 1991. Molecula motions of polysaccharides in the solid state: dextran, pullulan and amylose. *Int. J. Biol. Macromol.* 13: 254-260.
- Schmidt, D.G. 1982. Association of caseins and casein micelle structure. In: *Developments in dairy chemistry. I. Proteins.* Ed. Fox, P.F. Applied Sciences Publishers; London. Pp 61-86.
- Schwartzberg, H.G. 1986. Modeling of gas and vapor transport through hydrophilic films. In: *Food Packaging and Preservation: Theory and Practice* (M. Mathlouthi, ed.), pp 115 135. Elsevier Applied Science Publishers, New York, NY.
- Sears, J.K. et Darby, J.R. 1982. *The technology of plasticizers.* Wiley Interscience, New York.
- Sharp, M. 1987. *Florida Entomologist.* 70: 225.
- Shen, M.C. et Eisenberg, A. 1967. Glass transition in polymers, p. 407-481. In: *Progress in solid state chemistry.* H. Reiss, Ed., Pergamon Pres, New York, NY.
- Shewfelt, R.L. 1986. Post harvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. *Food Technol.* 40: 70-75.
- Shewfelt, R.L. 1987. Quality of minimally processed fruits and vegetables. *J. Food Qual.* 10: 143-156.
- Shewry; P.R. and Tatham, A.S. 1990. The prolamins storage proteins of cereal seeds. Structure and evolution. *Biochem J.* 267: 1-12.
- Shimada, K. and Cheftel, J.C. 1989. Sulfhydryl group/ disulfide bond interchange reactions during heat induced gelation of whey protein isolate. *J. Agric. Food Chem.* 37: 161.
- Schogren, R.L. 1993. Effects of moisture and various plasticizers on the mechanical of extruded starch, p. 141-150. In: *Biodegradable polymers and packaging.* C. Ching, D. Kaplan, E. Thomas, Eds. Technomic Publishing, Lancaster, PA.
- Singh, H. and Fox, P.F. 1989. Heat induced changes in casein. *Bull IDF* 238: 24

- Sjögren, L. 1989. Mode coupling theories of the glass transition. In : Basic features of the glassy state. J. Colmenero and A. Algeria. World Sci. Singapore, 137-151.
- Slade, L. et Levine, H. 1993a. The glassy state phenomenon in food molecules, p. 35-102. In : The glassy state in foods. J.M. Blanshard and P.J. Lillford, Eds., Nottingham Niversity, Loughborough.
- Slade, L. et Levine, H. 1993b. Water relationships in starch transitions. Carbohydrate Polym. 21 : 105-131.
- Slattery, C.W. and Evard, R. 1973. A model for the formation and structure of casein micelles from subunits of variable composition. Biochem. Biophys. Acta. 317: 529-538
- Smith, S.E. 1947. The sorption of water vapor by high polymers. J. Am. Chem. Soc. 69: 646-651.
- Smith, S.A. 1986. Polyethylene, low density In: The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology. M. Bakker, ed. John Wiley and Sons, New York. pp: 514 - 523.
- Soloshenko, V.M., Sergeev, V.A., Bezruckov, M.G. 1984. Structure of protein solutions. Part I. Investigation and interpretation of viscosity anomalies. Nahrung. 28 (5) : 459 - 472.
- Somanathan, N., Naresh, V., Arumugam, V., Ranganathan, T.S. et Sanjeevi, R. 1992. Mechanical properties of alkali treated casein films. Polym J. 24: 603-611.
- Sosulski, F.W. et Imafidon, G.I. 1990. Aminoacid composition and nitrogen-to-protein conversion factor for animal and plant foods. J. Agric. Food Chem. 38: 1351-1356.
- Southward, C.R. 1989. Uses of Casein and Caseinates. Ch. 5 . In: Developments in Dairy Chemistry-4. Functional Milk Proteins. P.F. Fox (Ed.) Elsevier Appl. Sci. England. pp:173.
- Southward, C.R. 1994. Utilisation of Milk Components: Casein. In: Modern Dairy Technology. Volume I. Advances in Milk processing. R.K. Robinson, ed. Chapman and Hall. London. pp. 375-432.
- Stepto, R.F. et Tomka, I. 1987. Injection moulding of natural hydrophilic polymers in the presence of water. Chimia, 41: 76-81.
- Swaigood, H.E. 1982. Chemistry of milk proteins, In: Developement in Dairy Chemistry, Vol 1, Fox, P.F., Ed., Aplied Science Publishers, London.
- Swaigood, H.E. 1992. Chemistry of the caseins. Pp 63-110. In Advances in Dairy Chemistry. Ed. P.F. Fox, elsevier Applied Science, London, G.B.
- Taylor, C.C. 1986. Cellophane In: The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology. M. Bakker, ed. New York, John Wiley and Sons, New York. pp: 159 - 163.
- Tolstoguzov, V.B., Grinberg Ya, V. et Gourov, A.N. 1985. Some physicochemical approaches to the problem of protein texturization. J. Agric. Food Chem. 33(2): 151-159.

- Torres, J.A. 1994. Edible films and coatings from proteins; In: Protein Functionality in Food Systems. N.S. Hettiarachchy and G.R. Ziegler, Eds., Marcel Dekker, New York, pp: 467-507.
- Towler, C. 1974. Rheology of casein solutions. N.Z.J. Dairy Sci. Technol. 9 : 155 - 160.
- Tuohy, J.J., Downey, J. et Burgess, K.J. 1983. Progress in Food Engineering. C. Contarelli et C. Peri, Eds. Forster-Verlag AG, Küsnacht, Switzerland, pp 703-713.
- Ukai, N., Ishibashi, S., Tsutsumi, T., and Marakami, K. 1976. Preservation of Agricultural products. US Patent. 3, 997, 674.
- Urzendowski, I.R. et Pechak, D.G. 1992 Characterization of food packaging materials by microscopic, spectrometric, thermal and dynamic mechanical analysis. Food structure. 11 : 301-314.
- Vétier, N., Desobry-Banon, S., Ould-Eleya, M.M. et Hardy, J. 1997. Effect of temperature and acidification rate on the fractal dimension of acidified casein aggregates. J. Dairy Sci. 80 : 3161-3166.
- Visser, H. 1991. A new casein micelles model and its consequences for pH and temperature effects on the properties of milk. Pp 135-161. In Protein interactions. Ed. Visser, H. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany.
- Visser, H., Minihan, A., Smits, P., Tjan, S.B. et Heetje, I. 1986. Effects of pH and temperature on the milk salt systems. Neth. Milk Dairy J. 40: 351-368.
- Wade, T., Beattie, J.K., Rowlands, W.N., Augustin, M.A. 1996. Electroacoustic determination of size and zeta potential of casein micelles in skim milk. J. Dairy Sci. 63: 387-404.
- Wall J.S. and Paulis, J.W. 1978. Corn and sorghum grain proteins. In: Advances in Cereal Science and Technology. Vol. II. Y. Pomeranz, ed. AACC. St. Paul; MN. Pp 135-210.
- Walstra, P. 1990. On the stability of casein micelles. J. Dairy Sci. 73: 1965-1979.
- Walstra, P. and Jenness, R. 1984. Casein micelles. Pp 229-253. In Dairy Chemistry and Physics. Ed. John Wiley and Sons, Inc., New York, USA.
- Walstra, P. 1999. Casein submicelles: do they exist? Int. Dairy J. 9: 189-192.
- Watanabe, K. et Okamoto, S. 1973. Formation of yuba-like film from wheat gluten. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkai-Shi. 20: 66-72.
- Watt, I.C. 1983. The theory of water sorption by biological materials. In: Physical Properties of Foods. R. Jowitt, F. Escher, B. Hallström, H.F. Meffert, W.E. Spiess and G. Vos, eds. pp 27
- Waugh, D.F., Creamer, L., Slattery, C.W. and Dresdner, G.W. 1970. Core polymers of casein micelles. Biochemistry. 9: 786-795.

Wetton, R.E. 1986. Dynamic mechanical thermal analysis of polymers and related systems, p. 179-221 In : Developments in polymer characterization, vol 5. J.V. Dawkins, Ed. Elsevier Applied Science Pub., New York, NY.

Wilson, T.W. et Turner, D.T. 1988. Vitrification of water in a hydrogel. *Macromolecules*. 21: 1184-1186.

Woebcken, W. 1995. *International Plastics Handbook*. J. Haim and D. Hyatt, eds. Hanser Publishers. Munich.

Wong, W.S., Camirand, W.M. and Pavlath, A.E. 1994. Development of edible coatings for minimally processed fruits and vegetables. In: J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M.O. Nisperos-Carriedo (Eds.) *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Technomic Publishing Co., Lancaster/Basel. pp 65 - 88.

Wu, L.C. and Bates, R.P. 1973. Influence of ingredients upon edible protein-lipid film characteristics. *J. Food Sci.* 38: 783-787.

Xiong, Y.L. and Kinsella, J.E. 1990. Mechanisms of urea-induced whey protein gelation. *J. Agric. Food Chem.* 38: 1887-1891.

Yannas, I.V. 1972. Collagen and gelatin in the solid state. *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* C7: 49-104.

I. Publications

Perez, C., Desobry, S.A. and Hardy, J. 2000. Physico-chemical properties of sodium caseinate based edible films. In : Proceedings of the International Conference on Engineering and Food (ICEF 8). J. Welti and G. Barbosa-Canovas (Eds), Technomic Pub. Co., Lancaster, PA , USA ; pp 1688-1692.

II. Communications orales dans des congrès internationaux avec actes :

Perez, C., Desobry, S.A. and Hardy, J. 2000. Physico-chemical properties of sodium caseinate based edible films. Paper O-045. ICEF 8 (International Congress on Engineering and Food). April 9-13, Puebla, Mx.

Perez, C., Desobry, S.A., Micard, V. and Redl, A. 2001. Thermal behavior of sodium caseinate based edible films. Paper 56-2. IFT Annual Meeting (Institute of Food Technologist). June 23-27, New Orleans, USA.

Perez, C., Desobry, S.A. and Hardy, J. 2001. Functional properties of sodium caseinate films: effects of type and plasticizer concentration. Paper 56-3. IFT Annual Meeting (Institute of Food Technologist). June 23-27, New Orleans, USA.

III. Autres publications et communications

Perez, C. 2000. "L'emballage actif". Emballage et Alimentaire. Sécurité, Qualité et Innovation. Journée Technique, CRITT - ARILEST. Communication orale. 21 Juin, Nancy, Fr.

Perez, C., Desobry, S.A. and Hardy, J. 2000. Physical and physico-chemical properties of caseinate based edible films as affected by plasticizer type and content. Poster. 2nd Int. Symposium on Food Packaging. Ensuring the Safety and Quality of Foods. ILSI-Europe (International Life Science Institute). Novembre 8-10, Vienna, Aus.

**AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE**

VU LES RAPPORTS ÉTABLIS PAR
Madame VOILLEY Andrée, Professeur ENSBANA, Dijon
Madame CONTARD Nathalie, Professeur, Université Montpellier II

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Mademoiselle PEREZ PEREZ/Maria Cristina Irma

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE
une thèse intitulée :

«Structure et propriétés mécaniques et de transfert de films comestibles à base de
caséinate de sodium»

en vue de l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : «PROCEDES BIOTECHNOLOGIQUES & ALIMENTAIRES»

Fait à Vandoeuvre le, 12 septembre 2001

Le Président de l'I.N.P.L.,

J. HARDY



NANCY BRABOIS
2, AVENUE DE LA
FORET-DE-HAYE
BOITE POSTALE 3
F. 54 201
VANDOEUVRE CEDEX

INPL
Nancy-Brabois
Service Commun de la Documentation

Résumé :

Le caséinate de sodium (CS) possède des propriétés fonctionnelles particulièrement intéressantes. Le CS a été choisi comme matière première pour l'étude et la mise au point de films comestibles. La fabrication des films homogènes, transparents et flexibles est basée sur la dispersion du CS en milieux aqueux et l'incorporation des plastifiants (e.g. glycérol, sorbitol). La solution filmogène a été évaluée, ainsi que les propriétés d'hydratation, les propriétés barrière à l'eau et aux gaz, la résistance mécanique, le comportement thermique et optique des films. En parallèle, des études structurales (microscopie électronique à balayage, microscope environnemental, rugosité et RMN) ont été aussi exécutées pour expliquer des transferts de vapeur d'eau liés à la mobilité des protons. Les propriétés thermiques du système CS-plastifiant-eau ont été caractérisées par l'analyse enthalpique différentielle modulée (MDSC) et l'analyse thermomécanique dynamique (DMTA). La perméabilité à la vapeur d'eau des films de CS augmente proportionnellement avec la teneur en plastifiant et des variations de l'humidité relative ambiante. Les films CS - sorbitol étaient plus perméables que les films CS - glycérol. L'effet de l'humidité relative sur la perméabilité au CO₂ et à l'O₂ a été démontrée. Ainsi, cette augmentation se traduit par une diminution des propriétés barrière à la vapeur d'eau, de la résistance mécanique et du module d'élasticité des matériaux, qui peut être reliée aux variations de la température de transition vitreuse du CS. Ces observations sont attribuées aux différences de masse molaire et à la quantité de groupements hydrophiles qui règle les interactions protéine - plastifiant et protéine - protéine dans le film. La température de transition vitreuse des films de CS plastifiés par de l'eau, du glycérol ou du sorbitol a été modélisée selon le modèle de Couchman - Karasz ; un comportement linéaire a été obtenu pour décrire l'effet plastifiant sur une base molaire.

Abstract :

The suitability of sodium caseinate (SC) is based on its functional properties for effective performance in edible films. SC was mixed in distilled water. In order to enhance the functional properties of the films, Glycerol and Sorbitol were added as plasticizers. Film forming solution and films were investigated. Homogeneous, transparent and flexible films were obtained. Films were tested for hydration properties, moisture and gas barrier, mechanical resistance, thermal and optical behavior. Simultaneously, complementary studies concerning the structure of the barrier (scanning electron microscopy, environmental microscopy, roughness and RMN) were also carried out to explain their differences in retarding water vapor transfer and proton mobility. Variations in the glass transition temperature (T_g) relative to water, glycerol and sorbitol contents in the SC films-plasticizer-water system were measured by modulated differential scanning calorimetry (MDSC) and dynamic mechanical thermal analysis (DMTA). Overall, water vapor permeability increases proportionally with the plasticizer content and relative humidity variations. Films containing sorbitol as plasticizer were more permeable than glycerol films. Both films were highly CO₂ and O₂ selective, especially when water activity increases. Films showed also a high elongation percentage. Increase in plasticizer content results in a considerable decrease in the modulus of elasticity and in the tensile strength of films. These observations are attributed to the differences in plasticizer molecular weight and hydrogen bonding strength that controls the protein-plasticizer and protein-protein interactions in the film. For the three plasticizers studied, general behavior of glass transition temperature using SC based films, followed the Couchman-Karasz relation. A linear curve was obtained with the three plasticizers when the glass transition temperature was showed on fractional molar basis.