



HAL
open science

Synthèse et caractérisation des propriétés de dérivés amphiphiles de xanthane obtenus par voie verte de greffage

Mira Abou Dib

► **To cite this version:**

Mira Abou Dib. Synthèse et caractérisation des propriétés de dérivés amphiphiles de xanthane obtenus par voie verte de greffage. Chimie. Normandie Université, 2022. Français. NNT : 2022NORMLH24 . tel-04240491

HAL Id: tel-04240491

<https://theses.hal.science/tel-04240491v1>

Submitted on 13 Oct 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Normandie Université

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité CHIMIE

Préparée au sein de l'Université Le Havre Normandie

Synthèse et caractérisation des propriétés de dérivés amphiphiles de xanthane obtenus par voie verte de greffage

Présentée et soutenue par
MIRA ABOU DIB

Thèse soutenue le 14/12/2022
devant le jury composé de

MME FLORENCE AGNELY	PROFESSEUR DES UNIVERSITES, UNIVERSITE PARIS-SACLAY	Rapporteur du jury
M. JACQUES DESBRIERES	PROFESSEUR DES UNIVERSITES EMERITE, UNIVERSITE PAU PAYS DE L ADOUR	Rapporteur du jury
MME ECATERINA GORE	MAÎTRE DE CONFERENCES, Université Le Havre Normandie	Membre du jury Co-encadrante
MME AUDREY MANIERE	RESPONSABLE R & D, IFF LUCAS MYEYER COSMETICS	Membre du jury
M. JEAN-FRANCOIS STUMBE	PROFESSEUR DES UNIVERSITES, UNIVERSITE DE HAUTE ALSACE	Président du jury
M. MICHEL GRISEL	PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Le Havre Normandie	Directeur de thèse

Thèse dirigée par **MICHEL GRISEL (Unité de Recherche en Chimie Organique et Macromoléculaire)**



Normandie Université

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité Chimie

Préparée au sein de l'Université Le Havre Normandie

Synthèse et caractérisation des propriétés de dérivés amphiphiles de xanthane obtenus par voie verte de greffage

Présentée et soutenue par

Mira ABOU DIB

Thèse soutenue publiquement le 14 décembre 2022
devant le jury composé de

M. Jacques DESBRIERES	Professeur Emérite des Universités Université de Pau et des Pays de l'Adour	Rapporteur
Mme Florence AGNELY	Professeur des Universités Université Paris-Saclay	Rapporteur
M. Jean François STUMBE	Professeur des Universités Université Haute Alsace	Examineur
Mme Audrey MANIERE	Responsable R&D IFF Lucas Meyer Cosmetics	Examinatrice
M. Michel GRISEL	Professeur des Universités Université Le Havre Normandie	Directeur de thèse
Mme Ecaterina GORE	Maître de Conférences Université Le Havre Normandie	Encadrante de thèse

Thèse dirigée par Michel GRISEL et encadrée par Ecaterina GORE au laboratoire URCOM

Remerciements

Ce manuscrit de thèse atteste de la fin de mes années de doctorat à l'Unité de Recherche en Chimie Organique et Macromoléculaire (URCOM) de l'Université du Havre. Ces trois belles années de projet financé par la région Normandie, que je remercie.

Dans un premier temps, je souhaite remercier Mme Florence Agnely et Mr Jacques Desbrières qui ont accepté d'évaluer mes travaux de thèse en tant que rapporteur, Mme Audrey Manière pour son rôle d'examineur ainsi que Mr Jean-François Stumbé pour avoir accepté d'être examinateur et président du jury. Je les remercie pour leurs retours et conseils sur mon manuscrit de thèse mais, également pour la discussion et les échanges constructifs lors de ma soutenance. Merci de m'avoir accordé le grade de docteur en chimie.

À mes chefs Michel et Ecaterina, je vous dis merci pour tout instant de cette thèse, pour le parcours scientifique et pédagogique qui, si j'ose dire, a forgé la chercheuse que je suis aujourd'hui. Je vous suis reconnaissante pour tous les encouragements et les remarques constructives que vous m'avez offerts avec bonne intention et volonté. Travailler avec une bonne dose de positivité et de confiance était un des slogans de ce parcours réussi. Finalement, ma thèse ne pouvait atteindre son achèvement sans un lien humain précieux et sincère qui nous a unis tout au long des trois ans. Je suis très heureuse et fière de vous avoir eu comme encadrants.

Un immense merci à tous les Urcomiens qui m'ont aidé et soutenu tout au long de mon projet de thèse. Un grand merci à Nicolas qui m'a beaucoup écouté et guidé surtout sur la partie RMN du projet. Merci à la souriante Marie-Josée et au seul et unique Vincent L. pour tout l'appui technique et informatique que vous m'avez apporté au quotidien. Merci à Déborah et Faustine pour le soutien lors de mes missions doctorales en enseignement. Merci infiniment à Valérie pour la bonne humeur et toutes les démarches administratives. Merci également à tous les permanents : Adam, Catherine M., Catherine T., Céline P., Daria, Géraldine, Martin, Mohamed, Laure, Sébastien et Vincent D.

Merci à ma stagiaire Marie Lemarchand qui a effectué 8 semaines de travail conséquent sur lequel j'ai pu m'appuyer.

Je tiens à remercier l'ensemble de mes camarades pour l'ambiance au laboratoire et les bons moments passés ensemble. Merci à ceux qui ont pris leur envol : Alexandre, Abdel, Clément, Ismail et Sami. Bon courage à ceux qui soutiennent bientôt leur thèse : Marie, Mohammad, Christine, Benjamin, rassurez-vous, vous n'étiez jamais autant proche de la fin ! Bon courage pour la dernière ligne droite à Aurélie, Bérénice, Charlotte, David et Michèle ! Bonne chance à tous les autres doctorants : Adeline, Axelle, Bessma, Caroline, Cécile, Elyse, Fabian, Floriane, Ghofran, Kouceila, Marie-Samira, Mathieu, Mouiina, Victor, Vitoria.

Je remercie également mes collègues du bureau des ingénieurs, ATER et post-doc : Charbel, Uchchhal et en particulier Aude, Elsa, Léa, Marie-Carole et Wahid pour tout le soutien, l'écoute, les sourires et les encouragements qu'ils m'ont offerts surtout dans la phase intense de rédaction. Merci du fond du cœur !

Je ne peux oublier les visages souriants et joyeux des trois XL-chem : Inès, Silke, Beatriz. Merci pour votre dynamisme les filles.

*« Dans la vie, rien n'est à craindre, tout est à comprendre »
(Marie Curie)*

Si le travail personnel a été indéniable pour la réussite de cette thèse, le soutien et l'amour de ma famille et mes amis ont sans doute été indispensables.

Je remercie le Bon Dieu pour toutes les grâces et bénédictions qu'il remplit dans ma vie quotidienne.

J'offre ce travail de thèse à mon père Ghassan, ma mère Afifi et mon frère Rami et toute ma grande famille : oncles, tantes et cousins. Dieu seul sait combien je suis reconnaissante à tout ce que vous m'avez apporté : amour, rire, écoute, partage, attention, tendresse, générosité... Merci pour tous les sacrifices et le soutien inépuisable à chaque moment rude de ce long parcours, parfois même aride, qu'est la thèse.

*Des milliers de Merci
ne suffisent pas !
Je vous aime fort !!!*



À mes amis, Teddy, Irmand, Ali, Achille, Jeanne et Philippe, Aude et Mayeul, Shirleen, Ketan, Priscilla, Lison, Thomas, Mhammad, Sera, Marie-Josée, Allusa, Yessenia, Berna, de tout cœur je vous dis MERCI pour chaque appel, chaque rencontre, chaque échange et chaque instant motivant.

Merci infiniment à ma grande et tendre famille d'adoption havraise, sœur Monique, sœur Marina et toutes les petites sœurs des pauvres ainsi que tous les résidents de « Ma Maison » qui ont le cœur sur la main et m'ont été une source de joie extrême.

Je remercie également la famille Domini et les cordites pour tous les moments précieux, paisibles et d'attention que vous m'avez procurés surtout pendant ces trois dernières années.

Je dédie ce manuscrit de thèse à l'âme de ma grand-mère Joséphine qui a toujours cru en moi et m'a comblé d'amour. Je le dédie également à mon oncle Elie qui est parti très tôt, peu après ma soutenance, et qui était très fier de sa nièce.

*« Recommande à l'Éternel tes œuvres, Et tes projets réussiront. »
(Proverbes 16 : 3)*

« La vie n'est facile pour aucun de nous. Mais quoi, il faut avoir de la persévérance, et surtout de la confiance en soi. Il faut croire que l'on est doué pour quelque chose, et que, cette chose, il faut l'atteindre coûte que coûte »

(Marie Curie)

Table des matières

Liste des abréviations.....	13
Table des illustrations.....	15
Table des tableaux.....	19
Introduction générale.....	21
Chapitre 1 : Bibliographie.....	27
Introduction : Polysaccharides modifiés et leur rôle	27
Partie 1 : Xanthane	31
1.1. Découverte et importance	31
1.2. Production industrielle	32
1.3. Structure chimique et conformation du xanthane.....	33
1.3.1. Structure primaire	33
1.3.2. Transition conformationnelle ordre-désordre	35
1.3.3. Structure secondaire du xanthane	38
1.4. Propriétés du xanthane en solution	46
1.4.1. Solubilité.....	46
1.4.2. Régime de concentration	48
1.4.3. Propriétés viscosimétriques du xanthane en solution	54
1.4.4. Propriétés rhéologiques du xanthane en solution	58
Partie 2 : État de lieux des différentes voies de modification du xanthane	65
2.1. Voie physique	66
2.2. Voie enzymatique.....	67
2.3. Voie chimique.....	67
2.4.1. Amidation par couplage peptidique.....	69
2.4.2. Greffage par étherification.....	70
2.4.3. Greffage par estérification	72
Partie 3 : Greffage par voie verte d'anhydrides succiniques d'alkényles.....	75

3.1.	Polysaccharides modifiés par les ASA	76
3.2.	Méthodes de détermination de la densité de greffage DS	81
3.2.1.	Détermination qualitative des pics caractéristiques	81
3.2.2.	Quantification du taux de greffage	82
3.3.	Conséquences de la modification sur les propriétés du polymère	85
3.3.1.	Propriétés intrinsèques en solution	85
3.3.2.	Application des polysaccharides amphiphiles à la stabilisation d'émulsions	86
3.4.	Législations et considérations environnementales	87
Partie 4 : Émulsions		91
4.1.	Définition et classification	91
4.2.	Préparation d'une dispersion	92
4.3.	Stabilité des émulsions et phénomènes de déstabilisation	94
4.4.	Stratégies de stabilisation des émulsions.....	96
4.4.1.	Mécanismes de stabilisation par les tensioactifs	97
4.4.2.	Les polysaccharides hydrophobiquement modifiés	98
Conclusion du chapitre 1.....		102
Chapitre 2 : Matériels et méthodes		105
Partie 1 : Modification chimique du xanthane par voie verte		105
1.1.	Réactifs utilisés	105
1.2.	Réaction de greffage : Protocole de synthèse et récupération	105
Partie 2 : Caractéristiques chimiques et thermiques		109
2.1.	Taux de protéine	109
2.2.	FTIR	109
2.3.	RMN.....	110
2.3.1.	Partie expérimentale	110
2.3.2.	Méthode de détermination des degrés de substitution DS.....	111
2.4.	ATG	114

Partie 3 : Propriétés du xanthane en solution.....	117
3.1. Tension superficielle (TS) par la méthode de la goutte pendante	117
3.2. Viscosimétrie à bille roulante	118
3.3. Rhéologie en régimes semi-dilué et concentré.....	120
Partie 4 : Application à la stabilisation d'émulsions.....	125
4.1. Protocole de formulation d'émulsions.....	125
4.2. Microscopie optique.....	127
4.3. Granulométrie	127
4.4. Turbiscan™	129
Chapitre 3 : Résultats et discussions	137
Introduction.....	137
Partie 1 : Synthèse par voie verte de dérivés de xanthanes et caractérisation de leurs propriétés interfaciales	139
Article 1: « Original tools for xanthan hydrophobization in green media: Synthesis and characterization of surface activity »	146
En résumé	169
Partie 2 : Détermination des propriétés intrinsèques et rhéologiques des xanthanes hydrophobiquement modifiés	171
Article 2: « Intrinsic and rheological properties of hydrophobically modified xanthan synthesized under green conditions ».....	176
En résumé	203
Partie 3 : Caractérisation des propriétés émulsionnantes des xanthanes amphiphiles	205
Article 3: « Promising potential of biosourced amphiphilic xanthan as an emulsifier in O/W dispersions »	213
Ouverture	240
Conclusion générale	243
Annexe.....	249
Références bibliographiques.....	253

Liste des abréviations

ANS : 8-Anilinonaphthalene-1-sulfonic acid

CAC : concentration d'agrégation critique

DDSA ou SAC12 : dodeceny succinic anhydride (anhydride succinique de dodécényle)

DMF : N-dimethylformamide

DMSO : Dimethylsulfoxide

DS : degré de substitution, degré de succinylation ou densité de greffage

DSC : Differential Scanning Calorimetry (calorimétrie différentielle à balayage)

DTAB : Dodecyltrimethylammonium bromide

EDAC : 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide

EDTA : Ethylenediaminetetraacetic acid

FDA : U.S. Food and Drug Administration (l'agence américaine des produits alimentaires et des médicaments)

FTIR : Fourier Transform InfraRed spectroscopy (spectroscopie infrarouge par transformée de fourrier)

GC : Gaz Chromatography (chromatographie en phase gazeuse)

HDSA : Hexadeceny succinic anhydride (anhydride succinique d'hexadécényle)

HOBt : Hydroxybenzotriazole

HPLC : High Performance Liquid Chromatography (chromatographie en phase liquide à haute performance)

NHS : *N*-Hydroxysuccinimide

OSA : Octeny succinic anhydride (anhydride succinique d'octényle)

REACH : Registration, Evaluation, Authorization and restriction of CHemicals (Enregistrement, évaluation et autorisation des produits chimiques)

NMR ou **RMN** : Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy (résonance magnétique nucléaire)

SA ou **SACO** : succinic anhydride (anhydride succinique)

SEM : Scanning Electron Microscopy (microscopie électronique à balayage)

TSP : Trimethylsilyl propionic acid sodium salt (triméthylsilylpropanoate de sodium deutéré)

Table des illustrations

Figure 1 : Avantages des polysaccharides	27
Figure 2 : Fonctionnalisations possibles au niveau des trois groupements réactifs des polysaccharides : a) OH, b) COOH, c) NH ₂ (Debele et al., 2016)	29
Figure 3 : Structure chimique du xanthane (Fantou, 2018)	33
Figure 4 : Évolution des proportions acétate et pyruvate en fonction des conditions de fermentation : temps (à gauche) et température (à droite) (García-Ochoa et al., 2000)	34
Figure 5 : Structure chimique du xanthane (Kool et al., 2014a)	34
Figure 6 : Conformations adoptées par le xanthane en fonction de la température et de la force ionique du milieu.....	35
Figure 7 : Pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_{300}$ (mesuré par un spectropolarimètre) en fonction de la température pour différentes concentrations en sel (Milas and Rinaudo, 1979)	36
Figure 8 : Détermination de la température de transition du xanthane par polarimétrie ($T_m = 52\text{ °C}$) et RMN ($T_m = 67\text{ °C}$) (Foss et al., 1987)	37
Figure 9 : Structures ordonnées du xanthane proposées à partir de la modélisation informatique des données de diffraction des rayons X : Une simple hélice 5_1 (Moorhouse et al., 1977) : (a) vue parallèle à l'axe de l'hélice ; (a') vue perpendiculaire à l'axe de l'hélice. Une double hélice antiparallèle (Okuyama et al., 1980) : (b) vue perpendiculaire à l'axe de l'hélice.....	38
Figure 10 : Formes native, dénaturée et renaturée du xanthane (Roy, 2015)	39
Figure 11 : Modèle de la double hélice : (a) deux simples hélices en interaction latérale (Morris, 2006), (b) double hélice de deux brins appariés (Stokke and Christensen, 1996)	40
Figure 12 : Mécanisme proposé par Morris (2019) pour la transition ordre – désordre du xanthane	46
Figure 13 : Les étapes de solubilisation d'un polymère dans une solution aqueuse d'après Colin-Henrion (2008)	47
Figure 14 : Précipitation du xanthane par des solvants organiques en absence de sel (García-Ochoa et al., 2000).....	48
Figure 15 : Régimes de concentration des polymères non associatifs en solution (Fantou, 2018).....	49
Figure 16 : Régime de concentration du xanthane sous forme ordonnée : (a) en présence de NaCl à 0,1 M (Cuvelier and Launay, 1986) (b) en présence de NaCl à 50 mM (Wyatt and Liberatore, 2009)	51
Figure 17 : Régime de concentration du xanthane sous forme désordonnée en absence de sel (Wyatt and Liberatore, 2009).....	52
Figure 18 : Chaîne de polyélectrolyte étirée dans un milieu dilué en absence de sel (Dobrynin and Rubinstein, 2005)	53

Figure 19 : Influence de la salinité sur la viscosité intrinsèque du xanthane à 0,4 g.L ⁻¹ , adaptée de Lecourtier et al. (1986).....	54
Figure 20 : Viscosité intrinsèque du xanthane sous forme ordonnée ([NaCl] = 0,1 M) en fonction de différents traitements salins préalables (Lecourtier et al., 1986).....	57
Figure 21 : Courbes d'écoulement du xanthane (M _w = 7.10 ⁶ g.mol ⁻¹) à différentes concentrations en solution saline à 0,1 M de NaCl (Milas et al., 1985).....	58
Figure 22 : (a) Évolution des modules élastiques G' (symboles pleins) et visqueux (symboles ouverts) en fonction de la fréquence pour une solution de xanthane à 10 g.L ⁻¹ à différentes températures, (b) Courbe maîtresse fréquence – température correspondante (T _{réf} = 20°C) (Choppe et al., 2010).....	60
Figure 23 : Courbe maîtresse fréquence – concentration du xanthane (a) pour C < C** et Créf = 0,8 g.L ⁻¹ ; (b) pour C > C** et Créf = 4 g.L ⁻¹ (Cuvelier and Launay, 1986).....	61
Figure 24 : Courbe maîtresse fréquence-température-concentration avec Créf = 10 g.L ⁻¹ et Tréf = 20°C (Renou et al., 2013).....	62
Figure 25: Différentes voies de modifications du xanthane	65
Figure 26: Schéma réactionnel du greffage de l'octylamine sur le xanthane sous forme ordonnée (Roy et al., 2014).....	69
Figure 27 : Schéma réactionnel du greffage de l'octylamine sur le xanthane sous forme désordonnée (Fantou et al., 2017)	70
Figure 28 : Schéma réactionnel du greffage du bromohexadécane sur le xanthane sous forme ordonnée (Quan et al., 2019).....	71
Figure 29 : Réaction du greffage par palmitoylation du xanthane (A) en palmitoyle de xanthane (B) (Mendes et al., 2011)	72
Figure 30: Réaction de greffage de l'anhydride succinique sur la xanthane (R-OH) par succinylation (B. Wang et al., 2016)	75
Figure 31 : Synthèse des ASA par une ène-réaction entre l'anhydride maléique et un alcène (oléfine) ; R et R' = H ou chaînes aliphatiques (Ramaswamy et al., 1987)	77
Figure 32 : Schéma réactionnel du greffage de DDSA sur la gomme arabique (R-OH) (Wang et al., 2014)	78
Figure 33 : Schéma réactionnel du greffage de l'anhydride succinique (SACO) ou de l'anhydride succinique de dodécényl (SAC12) sur l'alginate (Falkeborg et al., 2015).....	80
Figure 34 : Principales configurations d'une émulsion : simple ou double. a) huile dans eau (H/E); b) eau dans huile (E/H); c) Eau dans huile dans eau (E/H/E); d) Huile dans eau dans huile (H/E/H).....	92
Figure 35 : Mécanismes de déstabilisation des émulsions	94

Figure 36 : Stabilisation des émulsions H/E : A) Par les tensioactifs monomériques, B) Par les chaînes polymériques, C) Par des particules solides (Frelichowska, 2009).....	97
Figure 37 : Schéma d'une émulsion H/E à plusieurs échelles (Legrand, 2013).....	97
Figure 38 : Représentations schématiques de différents types de chaînes polymères en interaction avec une surface/interface hydrophobe (Dickinson, 2018)	98
Figure 39: Schéma montrant la stabilisation de la dispersion des gouttelettes d'huile par les molécules de chitosane hydrophobiquement modifié (HMC) ; l'ancrage de manière covalente des groupes alkyles à l'interface huile-eau forme une couche protectrice autour de chaque gouttelette d'huile (Venkataraman et al., 2013).....	100
Figure 40 : Montage de la réaction	107
Figure 41: Principe de la mesure en réflectance totale atténuée en spectroscopie infrarouge, adaptée de Jernelv et al. (2019)	110
Figure 42: Variation de la masse (TG en bleu) et sa dérivée (DTG en rouge)	115
Figure 43: Profil d'une goutte d'eau pendante dans l'air, obtenu avec la webcam microscope (Gassin, 2014).....	117
Figure 44: Représentation schématique de microviscosimètre à bille, adaptée de Aguni (2009).	119
Figure 45: Rhéologie rotative (gauche) et rhéologie oscillante (droite) (Mezger, 2021).....	121
Figure 46: Essai de cisaillement par rotation sur un échantillon ; la géométrie cône-plan tourne tandis que le plan Peltier est immobile (Mezger, 2021)	121
Figure 47: Représentation de l'écoulement laminaire d'un matériau (Roy, 2015)	121
Figure 48: Essai de cisaillement oscillatoire sur un échantillon ; la géométrie oscille avec une déflexion à différentes positions angulaires 0° / 90° / 180° / 270° / 360° (Netzsch, 2021).....	122
Figure 49: Test oscillatoire d'un échantillon viscoélastique, présenté comme une fonction sinusoïdale en fonction du temps (Mezger, 2021).....	123
Figure 50: Structure chimique de l'isononyle isononanoate	125
Figure 51: Schéma du procédé d'homogénéisation de type rotor-stator, adapté de Poux and Canselier (2004)	126
Figure 52: Microscope optique	127
Figure 53: Schéma des phénomènes qu'un rayon lumineux subit au contact d'une particule (Bodycomb, 2013).....	128
Figure 54: Clichés photographiques d'une dispersion H/E en présence d'un xanthane modifié. J1, J2 et J3 montrent la présence de trois différentes zones (a, b et c).....	129
Figure 55: Schéma du principe physique de la SLSM (Lu et al., 2017)	130

Figure 56: Schéma d'une mesure au Turbiscan™ (Formulation, 2020).....	130
Figure 57: Spectre d'un suivi au Turbiscan™ avec la rétrodiffusion (R en %) et la transmission (T en %) correspondant à l'échantillon de la Figure 54.....	131
Figure 58 : Spectre Δ BS montrant différents phénomènes de déstabilisation dans un même échantillon (Formulation, 2020).....	132
Figure 59 : Réaction de modification chimique du xanthane	140
Figure 60 : Aspect de dérivé de xanthane XG-C16 partiellement soluble dans l'eau	141
Figure 61: Spectre RMN ^1H du précurseur (en bleu) et d'un XG-C12 (en vert).....	142
Figure 62 : Évolution de G' (symbole rempli) et sa dérivée $d\log(G')/dT$ (symbole ouvert) en fonction de la température pour XC12(16.9) et PX à 0,5% m/m.....	172
Figure 63 : Viscosité intrinsèque η des xanthanes modifiés par rapport à PX (20 °C, NaCl 0,01 M). Insert : Coefficients de Huggins et Kraemer des différents xanthanes	173
Figure 64 : Profils d'écoulement des xanthanes modifiés en comparaison à celle de PX à 0,5% m/m et 20 °C ; η_0 et $\dot{\gamma}_{cr}$ représentant la viscosité et la limite du plateau newtonien respectivement	174
Figure 65 : Évolution de G' (symbole rempli) et G'' (symbole ouvert) en fonction de la fréquence pour différents xanthanes modifiés par rapport au PX	175
Figure 66 : Évolution de l'indice TSI en fonction du temps de trois répétitions d'émulsion contenant le même xanthane modifié.	206
Figure 67 : Photos des émulsions contenant de XC8(4.7) ou XC12(4.8) 21 jours (D21) après préparation	208
Figure 68 : Diamètre moyen à D0 et D21 de la phase émulsionnée des différents échantillons contenant du XC8(4.7)	208
Figure 69 : Profils de rétrodiffusion sur 21 jours des émulsions contenant du C8(4.7).....	210
Figure 70 : Présentation des aspects macroscopiques (photos) et microscopiques (clichés de microscopie optique et distribution de la taille des gouttelettes obtenus par granulométrie) de différents HMX à 0,2% m/m en émulsion	212
Figure 71 : Courbes d'étalonnage de l'évolution de la viscosité à cisaillement nul η_0 en fonction de la concentration en xanthane modifié : a) XC8(4.7) et b) XC12(4.8)	240
Figure 72: Représentation du moment magnétique d'un noyau (Kastler and Vetter, 2018).....	249
Figure 73: Orientation des moments magnétiques nucléaires ($S \neq 0$) : à gauche : en l'absence de champ externe. A droite : en présence d'un champ magnétique externe B_0 (inspiré de (Carey, 2000))	250
Figure 74: Levée de dégénérescence des spins de ^1H sous l'effet d'un champ magnétique et l'aspect énergétique de la résonance et de la relaxation (inspiré de (Carey, 2000)).....	251

Table des tableaux

Tableau 1 : Études validant la conformation du xanthane en simple hélice	41
Tableau 2 : Études validant la conformation du xanthane en double hélice (hélicoïde à deux brins) .	42
Tableau 3 : Modèle de dénaturation et renaturation en fonction de la concentration du milieu en xanthane.....	44
Tableau 4 : Valeurs des concentrations critiques du xanthane sous sa forme ordonnée	50
Tableau 5 : Concentrations critiques et pentes des régimes de concentration du xanthane sous forme ordonnée et désordonnée	53
Tableau 6 : Viscosité intrinsèque du xanthane	56
Tableau 7 : Pics correspondants aux groupements fonctionnels au niveau des polysaccharides greffés par le DDSA.....	81
Tableau 8 : Liste des 12 principes de la chimie verte (Poliakoff et al., 2002)	88
Tableau 9 : Masse de ASA et volume d’isopropanol rajoutés dans le réacteur (V _{solution} =300 mL) pour chacun des ratios molaires (monomère xanthane : ASA) étudiés	106
Tableau 10 : Procédures des études thermiques en ATG	115
Tableau 11 : Types de procédures et conditions dans le cadre des études rhéologiques.....	124
Tableau 12 : Composition des formulations	126

Introduction générale

Dans le cadre de l'**écoconception**, la demande de produits naturels et organiques sur le marché devient une préoccupation majeure pour les secteurs pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire. La demande de naturalité est devenue une tendance durable recherchée par les **consommateurs** comme réponse aux **problématiques environnementales et d'éthique** (Agence Bio, 2020; Kerbirio, 2018).

Cette **tendance** oriente la recherche scientifique du domaine de la cosmétologie vers le développement de produits naturels et organiques en respectant les **législations** exigées sur les produits **cosmétiques** ("Regulation (EC) No 764/2008 of the European Parliament and of the Council," 2009). Par conséquent, de nouvelles **stratégies** de formulation sont recherchées en ayant recours à des alternatives aux ingrédients et aux procédés traditionnels qui posent des problématiques environnementales et **sanitaires** (Ferreira et al., 2017; Hanno et al., 2015; Wongthongdee et al., 2017).

L'une des applications les plus concernées serait la formulation des **émulsions stables** pour les produits cosmétiques. Pour stabiliser une dispersion de solvants non miscibles tels que l'eau et l'huile, il faut utiliser des **molécules amphiphiles** ayant une affinité à la fois pour les lipides et l'eau. Ces molécules connues sous le nom de **tensioactifs** sont ainsi capables de faire cohabiter des substances hydrophiles et lipophiles au sein d'une formulation.

Cependant, les tensioactifs sont clairement considérés comme produits indésirables dans les bilans sur la **cosmétovigilance** de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS). À titre d'exemple dans leur rapport de 2010, l'agence cite le tensioactif cocamidopropylbétainamide MEA parmi les substances déclarées **allergiques** ("Cosmétovigilance : Bilan des effets indésirables déclarés à l'AFSSAPS en 2010," 2010).

En effet, les agents tensioactifs causent des sensations **d'irritation** et de brûlure au contact de **la peau et des yeux** et induisent également des irritations au niveau du **système respiratoire** (Olkowska et al., 2011). Il existe plusieurs types de tensioactifs synthétiques dont les anioniques et les cationiques qui sont peu tolérés à cause de leur effets irritants (Charles, 2012).

En outre certains tensioactifs sont détectés dans les effluents industriels et municipaux et s'infiltrent par la suite dans l'environnement aquatique. Ils **contaminent l'écosystème** et sont considérés comme **polluants** toxiques et néfastes pour la **faune et la flore** (Johnson et al., 2017; Olkowska et al., 2011). Les **milieux aquatiques** peuvent contenir par exemple des tensioactifs d'alkylbenzènesulfonates

linéaires toxiques pour les organismes aquatiques (Zhang et al., 2017), des éthylène-glycol qui **perturbent leur système hormonal** (Johnson et al., 2021) ou des surfactants non ioniques tels que les alkylphénolpolyéthoxylates et leurs produits de dégradation qui sont suspectés comme étant des **perturbateurs endocriniens** (Amalric and Bristeau, 2006).

A cause de la mauvaise tolérance des tensioactifs, l'un des défis du monde industriel est de substituer les tensioactifs conventionnels par des alternatives : une stratégie possible consiste à formuler des **émulsions sans tensioactifs**. Une autre stratégie envisageable est le remplacement des tensioactifs conventionnels controversés par des biopolymères amphiphiles tels que les **polysaccharides chimiquement modifiés**.

La première synthèse de polysaccharides amphiphiles fut réalisée par **Landoll** en 1982 (Landoll, 1982). Ce dernier a démontré que la modification des éthers de cellulose avec des chaînes hydrophobes d'époxyde alkylées donne lieu à une nouvelle catégorie de **surfactants synthétiques non ioniques et hydrosolubles**. Depuis ces travaux, de multiples études sur des polysaccharides tels que l'amidon (Agama-Acevedo and Bello-Perez, 2017; Wang et al., 2020), l'alginate (Wu et al., 2018; Yang et al., 2012), la pectine (Lutz et al., 2009; Seslija et al., 2018), le dextrane (Rotureau et al., 2006; Rouzes et al., 2002), l'inuline (Stevens et al., 2001), etc. ont permis d'élargir la gamme des **polymères amphiphiles à caractère émulsionnant**, utiles dans diverses applications et plus particulièrement la stabilisation des émulsions.

Des **travaux précédents** ont été réalisés au laboratoire URCOM sur la modification du xanthane par greffage de chaînes alkyles hydrophobes sur le squelette hydrophile de cet exopolysaccharide. Le polymère hydrophobiquement modifié est valorisé dans la formulation d'émulsions et la stabilisation d'interface huile-eau (Fantou et al., 2019a, 2019b; Roy et al., 2014). Bien que l'objectif de développer des molécules amphiphiles alternatives aux surfactants conventionnels ait abouti, la **nécessité de travailler sur un procédé simple et des conditions douces de synthèse** reste une préoccupation majeure au sein du laboratoire. En outre, si ces premiers travaux menés sur la stabilisation d'émulsions par les divers grades de xanthane amphiphile obtenus ont bel et bien permis de confirmer la « preuve du concept » de la démarche, il est nécessaire de réaliser des investigations complémentaires afin d'établir des relations structure-propriétés. Là sont les motivations de ce sujet de la thèse qui s'intéresse au greffage de chaînes alkyles sur le xanthane par **voie verte respectueuse de l'environnement** et à **l'évaluation du potentiel des différents xanthanes amphiphiles**, qui en seront issus avec pour objectif d'établir des **relations structure-propriétés**.

Ce manuscrit de thèse est divisé en trois chapitres :

Chapitre 1 : Bibliographie

Le premier chapitre est dédié à l'étude bibliographique de quatre thématiques :

- Une **première partie** présente en détail le polysaccharide **xanthane** choisi pour cette étude : sa découverte, sa structure, ses différentes conformations et ses propriétés en solutions.
- La **deuxième partie** s'intéresse aux différentes **voies existantes de modifications** : physiques, enzymatiques et plus particulièrement chimiques du xanthane.
- La **troisième partie** focalise sur une **voie verte de greffage** exploitée pour plusieurs polysaccharides : les conditions réactionnelles, les aspects analytiques pour quantifier le greffage, les conséquences de ce dernier sur les propriétés des polymères et finalement les considérations environnementales de cette voie.
- La **quatrième partie** évoque les concepts généraux des **émulsions** : définition, phénomènes de déstabilisation et les stratégies de stabilisation possibles pour obtenir une dispersion stable dans le temps.

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Le deuxième chapitre présente en premier le protocole de modification chimique développé et employé. Ensuite sont déployés les protocoles et les techniques de caractérisation du xanthane et ses dérivés synthétisés qui permettent d'étudier leurs propriétés chimiques et thermiques (RMN, FTIR, ATG, UV-visible) ainsi que leurs propriétés en solution (tensiométrie par goutte pendante, viscosimétrie à bille, rhéologie). Enfin, le protocole de formulation des émulsions en présence du xanthane modifié ou non ainsi que les techniques de suivi de stabilité d'émulsion (microscopie optique, granulométrie, diffusion statique multiple de la lumière par Turbiscan™) sont détaillés.

Chapitre 3 : Résultats et discussions

Le dernier chapitre est consacré aux principaux résultats élaborés pendant les travaux de cette thèse. Il s'articule autour de **trois articles** publiés ou en cours d'évaluation et se compose donc des trois parties suivantes :

- La **première partie** présente en détail le protocole de modification chimique du xanthane via une estérification par des alkényles anhydride succiniques, menée dans des conditions vertes et respectueuses à l'environnement, ainsi que la caractérisation de la densité de greffage et

de la tension superficielle des xanthanes hydrophobiquement modifiés. Ces travaux ont été valorisés dans une publication intitulée « **Original tools for xanthan hydrophobization in green media: Synthesis and characterization of surface activity** » (Abou Dib et al., 2022) publiée dans le journal Carbohydrate Polymers.

- La deuxième partie évoque l'étude des propriétés thermiques des dérivés de xanthane obtenus ainsi que leurs propriétés intrinsèques et rhéologiques en solution. Une discussion de l'effet de greffage sur les propriétés en régime dilué et concentré montre la particularité de ces polymères modifiés. Cette étude, intitulée « **Intrinsic and rheological properties of hydrophobically modified xanthan synthesized under green conditions** », a été soumise pour publication dans Food Hydrocolloids.
- La troisième partie s'intéresse au potentiel émulsifiant et stabilisant des dérivés amphiphiles de xanthane. Ainsi une étude comparative est menée permettant d'évaluer dans le temps les phénomènes de stabilisation/déstabilisation des émulsions contenant différents grades de dérivés de xanthane. Cette partie, intitulée « **Promising potential of biosourced amphiphilic xanthan as an emulsifier in O/W dispersions** », a également été soumise pour publication dans Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.

Pour finir, les principales conclusions sur ces travaux de thèse, ainsi que quelques perspectives viendront clôturer ce manuscrit de thèse.

Chapitre 1 : Bibliographie

- **Partie 1 : Xanthane**
- **Partie 2 : État de lieux des différentes voies de modification du xanthane**
- **Partie 3 : Greffage par voie verte d'anhydrides succiniques d'alkényles**
- **Partie 4 : Émulsions**

Chapitre 1 : Bibliographie

Introduction : Polysaccharides modifiés et leur rôle

Les **polysaccharides** sont des polymères **biosourcés** produits par des organismes vivants tels que les plantes, les algues ou les bactéries, pour assurer différentes **fonctions** structurales, physiologiques, énergétiques et de protection (Petri, 2015; Shah et al., 2018). Cette classe de polymères est **abondante** et facilement **accessible** dans la nature (Cui, 2001; Laurienzo, 2010; Sara et al., 2020). De nombreux exemples de polysaccharides peuvent être cités : cellulose, pectines, chitine, amidon, alginates, gomme de guar, xanthane, gomme arabique, carraghénane, etc. Les principaux **avantages** des polysaccharides (Barclay et al., 2019; Zhang et al., 2013) sont rassemblés dans la Figure 1.

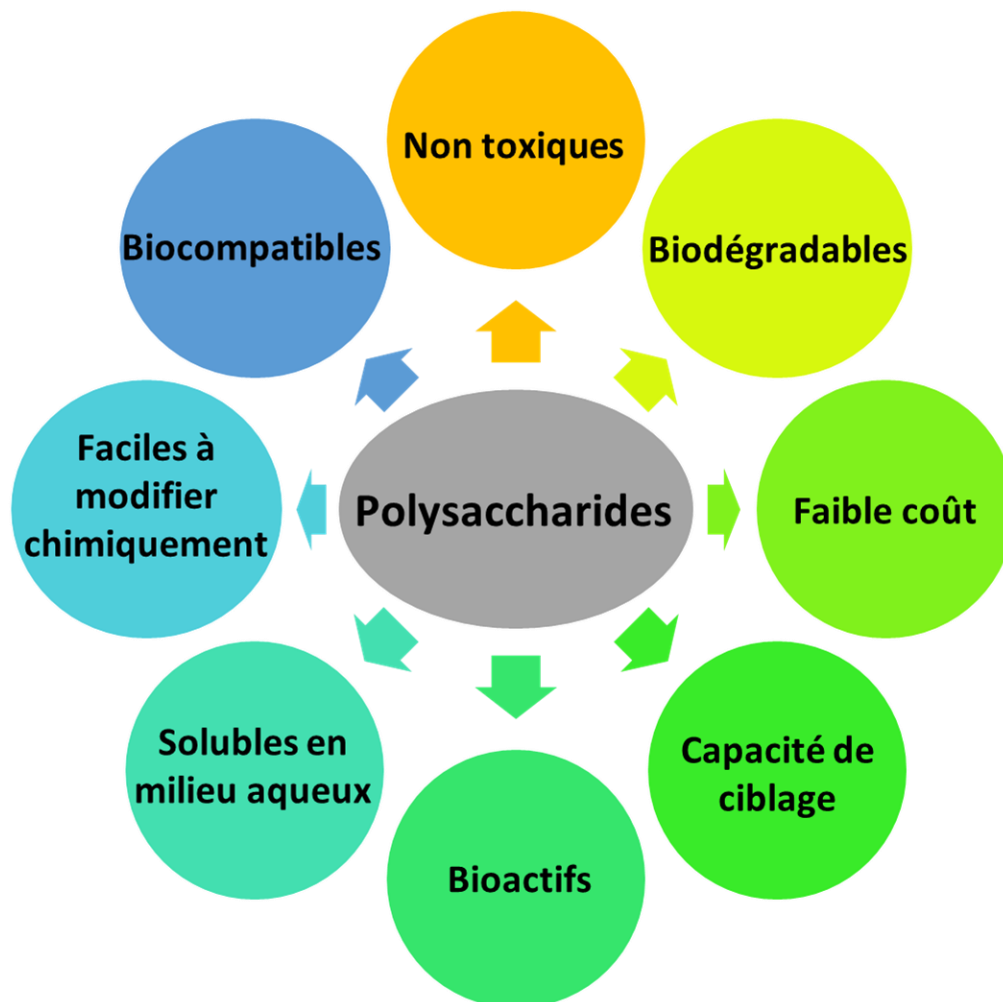


Figure 1 : Avantages des polysaccharides

Ces biopolymères, sous forme native ou modifiée, possèdent la capacité de rétention d'eau grâce à leurs chaînes **hydrophiles**. Ils présentent des **propriétés** particulières : filmogènes, moussantes et de

capacité de formation d'hydrogel, même à de faibles concentrations, et certains sont **hydrosolubles** (Petri, 2015; Shah et al., 2018).

D'autre part, du fait de leur structure ils possèdent des **fonctions réactives** (Barclay et al., 2019; Shah et al., 2018) qui permettent d'envisager de nombreuses voies de fonctionnalisation telles que :

- L'estérification par les acides carboxyliques et leurs dérivés d'halogénures ou d'anhydrides, telle que, par exemple, l'estérification de l'inuline par un méthacrylate (Vervoort et al., 1997) ou par un di-anhydride (Afinjuomo et al., 2019) ou celle de l'acide hyaluronique par des anhydrides succiniques d'alkyle/aryle (Tommeraas and Eenschooten, 2012) ;
- L'éthérisation par des dérivés époxyde ou par des halogénoalcanes telle la modification hydrophobique de galactomannane par l'éther d'hydroxybutyle (Buwalda et al., 2007; Zody and Morgan, 2001) ;
- L'oxydation telle celle de l'inuline par un periodate suivie d'une réaction avec de l'éthanolamine (Wang et al., 2017) ;
- L'acylation comme dans le cas de la modification de l'amidon par des chlorures d'acyle (Fang et al., 2004) ;
- L'hydrophobisation par un couplage amine-acide telle que les réactions d'amidation au niveau du xanthane (Roy et al., 2014) ou le couplage peptidique au niveau de l'acide hyaluronique (Luo et al., 2000; Tripodo et al., 2015).

La Figure 2 récapitule pour chaque groupement fonctionnel susceptible d'être présent sur les polysaccharides, les différents types de réactions de fonctionnalisation possibles.

Des modifications et des traitements de **fonctionnalisation** sont toujours développés pour élargir la gamme d'application des polysaccharides. Les plus fréquents se focalisent sur la transformation des polysaccharides hydrophiles et hydrosolubles en molécules amphiphiles suite à un **greffage de chaîne hydrophobe** sur le squelette principal. Ce type de modification favorise la capacité à l'auto-assemblage en milieu aqueux et potentialise ces biopolymères dans plusieurs applications telles que l'encapsulation des médicaments et la stabilisation des émulsions (Mendes et al., 2011; Sara et al., 2020).

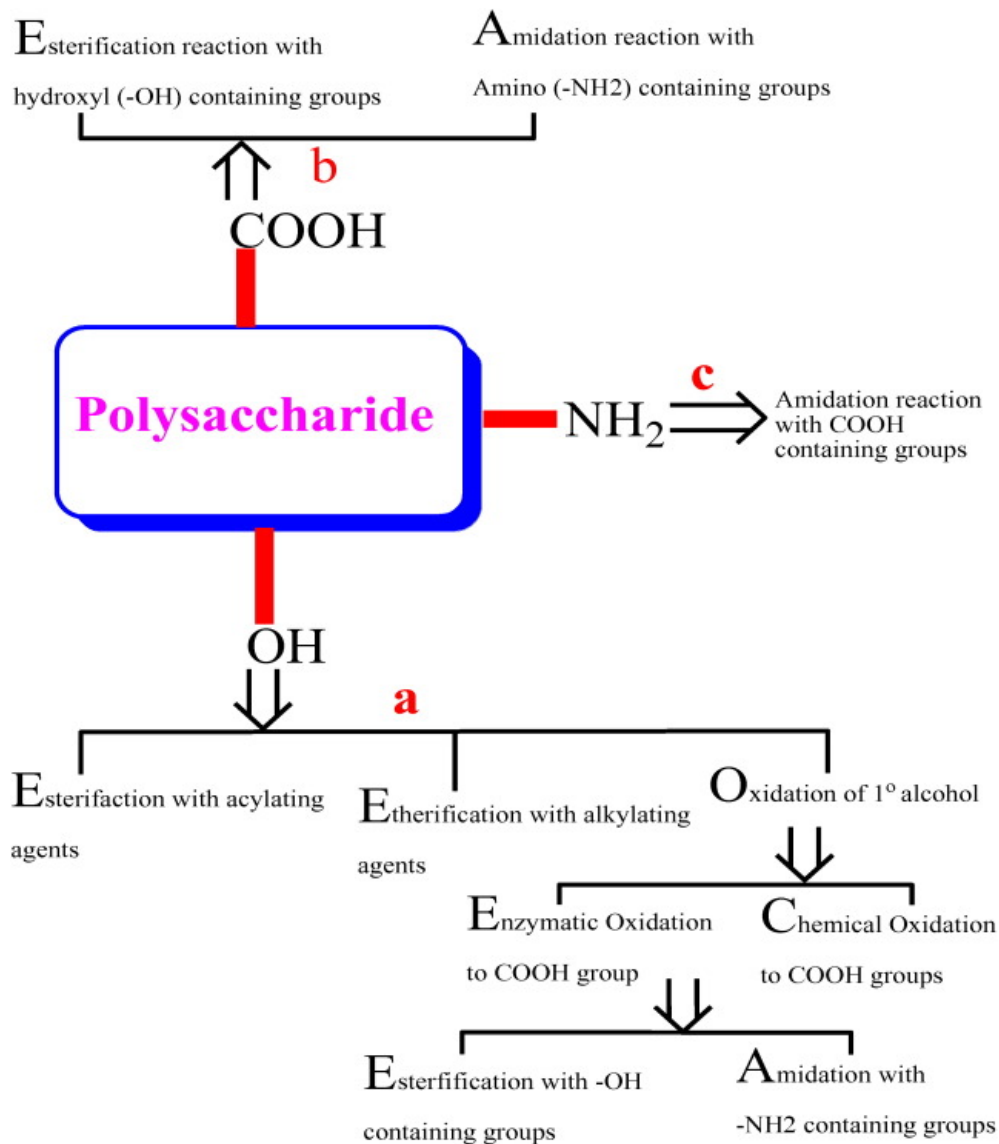


Figure 2 : Fonctionnalisations possibles au niveau des trois groupements réactifs des polysaccharides : a) OH, b) COOH, c) NH₂ (Debele et al., 2016)



À retenir

Le sujet de la thèse porte sur le polysaccharide bactérien le plus important commercialement : le xanthane. La partie suivante donne des explications sur ce polymère, sa production, sa structure et ses différentes propriétés.

Partie 1 : Xanthane

1.1. Découverte et importance

Le xanthane est un **polymère naturel** découvert dans les années 1950 par des scientifiques du Département de l'Agriculture des Etats-Unis dans le cadre de l'exploitation de nouveaux polysaccharides extracellulaires produits par **fermentation bactérienne** à partir de sucres. Jeanes et al. (1961) étaient les premiers à étudier les caractéristiques de cet exopolysaccharide et à chercher ses intérêts commerciaux (Jeanes et al., 1976; Morris, 2006).

La première production industrielle du xanthane démarre en 1961 avec l'entreprise *Kelco* (Etats-Unis). Il fut ainsi le deuxième polysaccharide d'origine microbienne produit en quantité commerciale après le dextrane. En 1969, le xanthane est évalué comme **molécule non toxique et non irritante** et fut autorisé en tant qu'additif alimentaire par l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments. À partir de 1974, le xanthane est admis dans la liste européenne des agents épaississants et gélifiants sous le code E415 (Morris, 2006).

La production mondiale de xanthane en **2017** atteint **132 100 tonnes** avec 80 % du marché exploité principalement dans deux domaines : pétrole et gaz, aliments et boissons. Le reste du marché se répartit entre des applications pharmaceutiques, cosmétiques et autres, avec un prix de **2,02 USD** (Dollar américain) par **kg** en 2017. Les **acteurs principaux** du marché sont : *Deosen, Jungbunzlauer, Meihua Holdings Group, Archer Daniels Midland (ADM), Cargill, Incorporated, Fufeng, Hebei Xinhe Biochemical, CP Kelco et Unionchem* (Adroit Market Research, 2019).

Cette large exploitation industrielle du xanthane repose sur plusieurs avantages et propriétés de ce polysaccharide (Mendes et al., 2011; Muhammad et al., 2020; Petri, 2015; B. Wang et al., 2016) :

- **Effet épaississant** : il augmente la viscosité des solutions même à des faibles concentrations ;
- **Propriétés rhéologiques** exceptionnelles et comportement **rhéofluidifiant** apportant des facilités durant les différents procédés mécaniques (mélange, remplissage, pompage, coulage) ;
- **Stabilité** vis-à-vis du pH, de la température et de la force ionique ;
- **Non toxicité et biodégradabilité** : Le squelette cellulosique du xanthane (sous forme désordonnée) peut être dépolymérisé par les cellulases (β -1,4-endoglucanases) (Ahlgren, 1993; Sutherland, 1984), la dégradation est accélérée par hydrolyse acide agissant sur les chaînes latérales (Christensen and Smidsrod, 1996) ;

- **Biocompatibilité:** le xanthane est utilisé comme excipient dans l'administration de médicaments (Dehghan and Girase, 2012; Koop et al., 2012) et comme support de prolifération des cellules humaines (Chellat et al., 2000; Juris et al., 2011) ;
- Amélioration de la **stabilité colloïdale** des émulsions et ralentissement des phénomènes de coalescence et d'Ostwald ¹ et
- Capacité à **stabiliser** des nanoparticules ².

1.2. Production industrielle

La production du xanthane se fait en plusieurs étapes (García-Ochoa et al., 2000; Hublik, 2012; Palaniraj and Jayaraman, 2011). En premier, la *Xanthomonas Campestris*, qui est une bactérie phytopathogène intervenant dans le métabolisme de certains végétaux, subit la fermentation aérobique à une température entre 28 et 32 °C et à pH contrôlé entre 6,5 et 7,5. Le milieu de culture convenable à la croissance de la bactérie est riche en azote, en carbone (glucose, fructose ou amidon) et en sels minéraux (sel de magnésium, de calcium ou de potassium).

Une fois la source de carbone épuisée, la fermentation s'achève et le moût réactionnel obtenu est stérilisé thermiquement afin de détruire les bactéries résiduelles. Ensuite, le xanthane est précipité dans l'isopropanol. La récupération du produit final est obtenue suite à plusieurs étapes de filtration, purification, centrifugation, séchage et broyage.

Différentes bactéries Gram négatif de *Xanthomonas* peuvent être employées pour le procédé de synthèse de la gomme de xanthane, mais la plus utilisée en production industrielle reste la *Xanthomonas Campestris* (Petri, 2015).

¹Dans le cas où la concentration du xanthane est faible, la vitesse de crémage due à la floculation par déplétion est accélérée. De plus, il présente des propriétés interfaciales faibles lui empêchant de stabiliser seul des émulsions (Fantou et al., 2019a, 2019b). Pour contrecarrer cet inconvénient, il serait utile de rajouter des surfactants de faible masse molaire, tels que le SDS ou le Tween 80 (Krstonošić et al., 2019).

²Le xanthane a la capacité de stabiliser des nanoparticules de gomme de laque « shellac » par les interactions électrostatiques dans un pH acide. Un pourcentage de 0,3 % de xanthane est recommandé afin d'éviter l'agrégation de la phase anti-solvant de pH = 1,2. Un pourcentage élevé de xanthane induit un potentiel plus négatif et une densité de charge plus importante (Muhammad et al., 2020).

1.3. Structure chimique et conformation du xanthane

Le xanthane a fait l'objet de très nombreuses études académiques et industrielles du fait de ses propriétés structurales et rhéologiques particulières qui évoluent très sensiblement en fonction des conditions de production et d'expérimentation. Les paragraphes suivants expliquent en premier lieu la structure du xanthane et ensuite ses propriétés en solution.

1.3.1. Structure primaire

Le xanthane est un **hétéropolysaccharide anionique** de haute masse molaire, elle varie entre 2×10^6 et $50 \times 10^6 \text{ mol.g}^{-1}$ (Dintzis et al., 1970; Holzwarth, 1978; Lecourtier et al., 1986; Southwick et al., 1980). La masse molaire varie selon les conditions de fermentation utilisées (temps, température, milieu de culture).

La structure primaire du xanthane est constituée d'un squelette cellulosique linéaire de β -D-glucose lié en 1-4, dont une unité sur deux est substituée en C3 par une chaîne triosidique. Cette chaîne latérale comporte un α -D-mannose, un acide β -D-glucuronique et un β -D-mannose terminal (Figure 3).

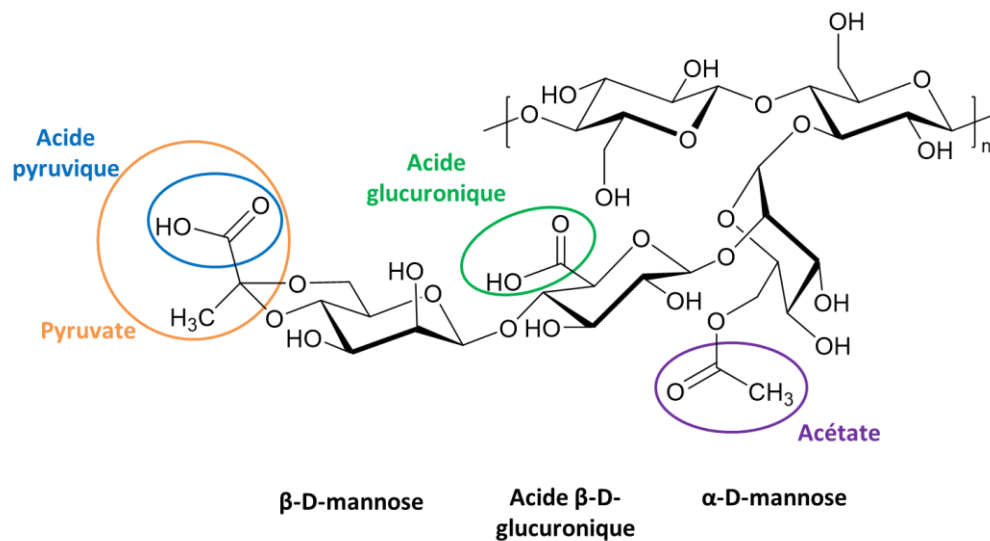


Figure 3 : Structure chimique du xanthane (Fantou, 2018)

Les chaînes possèdent des groupes **pyruvate** et **acétate** dont les proportions dépendent de la nature de la souche bactérienne de Xanthomonas, des conditions de fermentation et des traitements de post-fermentation. La Figure 4 montre que ces proportions augmentent avec le temps de fermentation et baissent lorsque la température passe de 24 à 34 °C.

D'après García-Ochoa et al. (2000) les proportions d'acétate et de pyruvate sont données en pourcentage. Cependant, ces proportions sont souvent exprimées en termes de degré de substitution

DS qui correspond au nombre de groupements acétate ou pyruvate par unité de répétition. Pour un lot de xanthane en provenance de la société Danisco, Roy (2015) et Fantou (2018) ont déterminé par ^1H RMN des degrés de substitution de 0,87 et 0,49 pour respectivement l'acétate et le pyruvate.

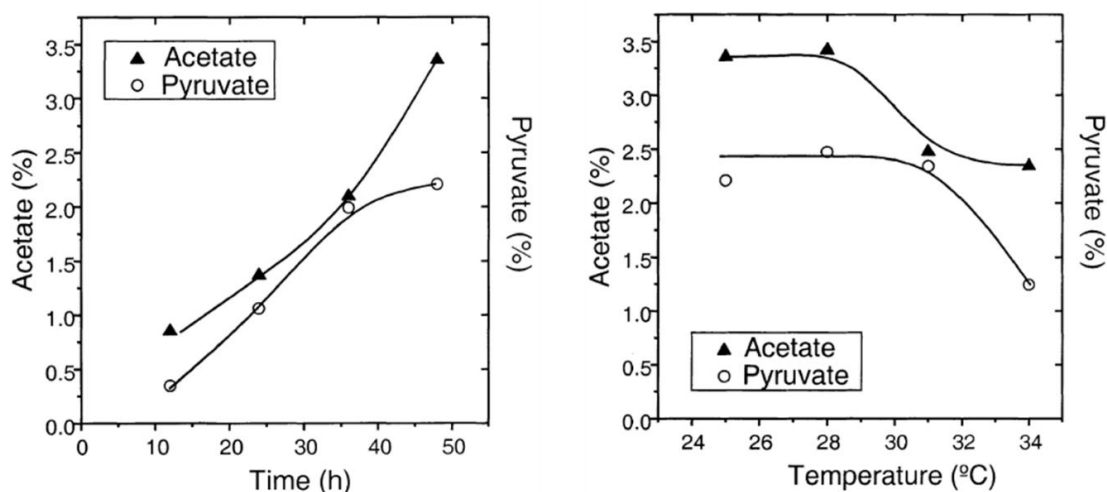


Figure 4 : Évolution des proportions acétate et pyruvate en fonction des conditions de fermentation : temps (à gauche) et température (à droite) (García-Ochoa et al., 2000)

En effet, le mannose interne peut présenter un groupement acétate sur le carbone 6 et le mannose terminal peut présenter un groupement pyruvate sur les carbones 4 et 6 ou bien un groupement acétate sur le carbone 6 (Figure 5). Selon Abbaszadeh et al. (2015), les groupements acétate se trouvent sur 60 à 70 % des mannoses internes alors que les groupements pyruvate se trouvent sur 30 à 40 % des mannoses terminaux. **Ces groupements impactent la stabilité de la structure secondaire du xanthane : les fonctions acétate stabilisent la structure hélicoïdale contrairement aux pyruvate.** Cet aspect sera développé dans les paragraphes suivants.

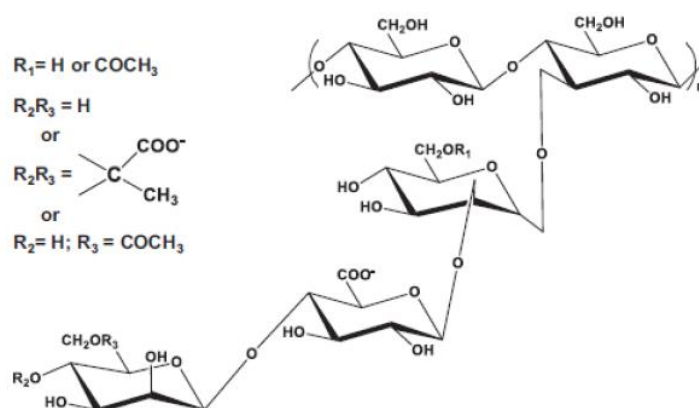


Figure 5 : Structure chimique du xanthane (Kool et al., 2014a)

Le caractère **anionique** du xanthane s'explique par la présence sur chaque chaîne latérale d'une à deux **fonctions acides** carboxyliques dont le pka est compris entre 2,6 et 4 suivant la température et la force

ionique du milieu (Holzwarth, 1976; Milas and Rinaudo, 1981). La première fonction carboxylique se situe au niveau de l'acide β -D-glucuronique et la deuxième peut se situer au niveau du mannose terminal lorsque ce dernier présente un groupement pyruvate. Dans les lots commerciaux de xanthane, ces fonctions sont souvent sous forme de carboxylate de sodium, de calcium ou de potassium. De ce fait, le xanthane possède des **capacités d'échange de protons** en solution (Richardson and Ross-Murphy, 1987; Young et al., 1994).

1.3.2. Transition conformationnelle ordre-désordre

En solution aqueuse, le xanthane peut adopter deux **conformations** différentes :

- Une conformation **ordonnée** et rigide sous forme hélicoïdale, à basse température et/ou force ionique élevée ;
- Une conformation **désordonnée** sous forme de pelote flexible, à haute température et/ou faible force ionique (Milas and Rinaudo, 1979).

Le passage d'une conformation à l'autre est réversible et procède à une **température de transition conformationnelle T_m** . La variation d'enthalpie engendrée pour la transition de la conformation hélicoïdale rigide à conformation flexible vaut $13,9 \text{ J.g}^{-1}$ (Bresolin et al., 1998).

Plus précisément, le xanthane en provenance du moût de fermentation sans avoir subi de traitement thermique est sous une forme **ordonnée** appelée **native**. Une fois le milieu chauffé à une température supérieure à T_m ou dilué jusqu'à une concentration très faible en sel ($[\text{NaCl}] < 10^{-4} \text{ M}$), le xanthane passe sous une conformation **désordonnée**, dite **dénaturée**. La transition de l'état natif à l'état dénaturé est **irréversible** (Figure 6).

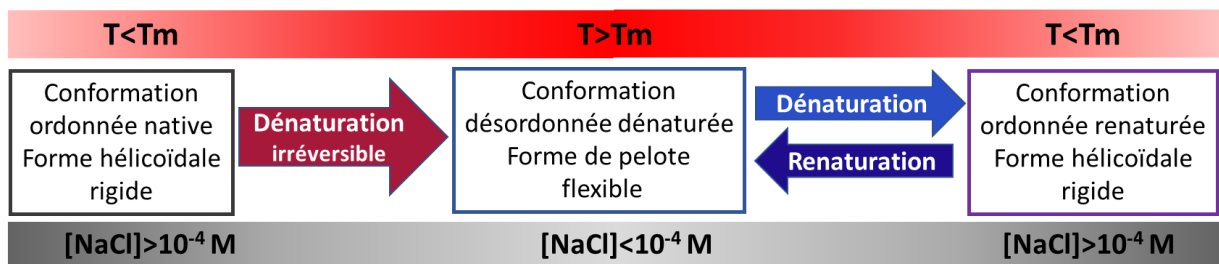


Figure 6 : Conformations adoptées par le xanthane en fonction de la température et de la force ionique du milieu

Lorsque le milieu est refroidi en dessous de la T_m ou que la concentration en sel est suffisamment élevée ($[\text{NaCl}] > 10^{-4} \text{ M}$), le xanthane adopte une nouvelle conformation ordonnée différente de celle de la forme native. Cette nouvelle forme est qualifiée de renaturée. Le passage entre l'état dénaturé et l'état renaturé est cette fois-ci, réversible (Lecourtier et al., 1986).

Détermination de la T_m

De nombreuses **techniques** permettent d'identifier la transition conformationnelle ordre-désordre et de remonter aux différentes formes adoptées par les chaînes de xanthane en solution. On peut citer, en particulier : le **dichroïsme circulaire** (Dentini et al., 1984; Matsuda et al., 2009; Milas and Rinaudo, 1979; Morris et al., 1977), la **polarimétrie** (Foss et al., 1987; Holzwarth and Ogletree, 1979; Lecourtier et al., 1986; Liu et al., 1987; Morris et al., 1977; Norton et al., 1984), la **conductimétrie** (Jones et al., 1987), **l'analyse calorimétrique différentielle** (Agoub et al., 2007; Paoletti et al., 1983; Pelletier et al., 2001), la **RMN** (Foss et al., 1987; Gamini et al., 1991; Morris et al., 1977), la **diffusion de la lumière** (Christensen et al., 1993; Hacche et al., 1987; Lecourtier et al., 1986; Liu et al., 1987; Muller et al., 1984; Paradossi and Brant, 2002), la **microscopie** (Camesano and Wilkinson, 2001; Capron et al., 1998a; Milas et al., 1988; Moffat et al., 2016; Stokke et al., 1986) ou encore la **rhéologie** (Capron et al., 1998b; Kawakami et al., 1990; Lee and Brant, 2002; Milas and Rinaudo, 1986; Pelletier et al., 2001).

La température de transition conformationnelle est **impactée par plusieurs paramètres**, à savoir la force ionique du milieu, le pH, la teneur en acétate et pyruvate au sein du polymère ou encore de la technique d'analyse utilisée. Cependant, la T_m est indépendante de la concentration du xanthane en solution (Milas and Rinaudo, 1979; Sato et al., 1984).

- Comme le montre la Figure 7, lorsque la **concentration en sel** augmente dans le milieu, la **T_m** est décalée vers des valeurs **plus élevées** (Foss et al., 1987; Muller et al., 1986; Norton et al., 1984).

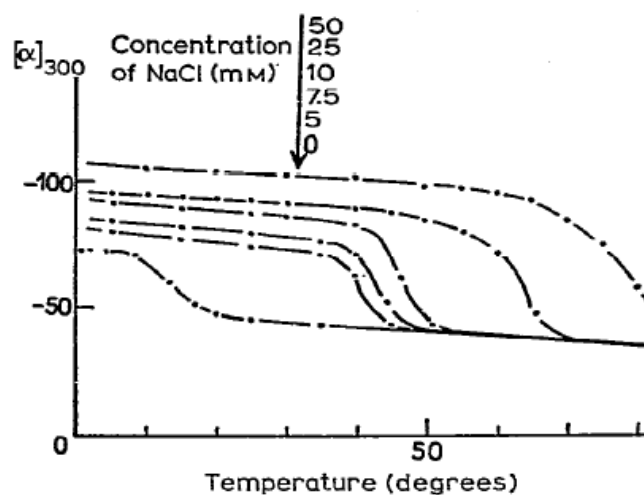


Figure 7 : Pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_{300}$ (mesuré par un spectropolarimètre) en fonction de la température pour différentes concentrations en sel (Milas and Rinaudo, 1979)

- Pour les mêmes raisons, les cations acides présents à des **pH décroissants** entraînent l'**augmentation de la Tm** (Agoub et al., 2007; Christensen and Smidsrod, 1991).
- Les **techniques expérimentales** utilisées peuvent donner lieu à des valeurs de **Tm différentes**. Un exemple est illustré dans la Figure 8 où les deux techniques utilisées, la RMN et la polarimétrie (mesure de la rotation optique OR), reposent sur deux phénomènes moléculaires distincts qui sont respectivement :
 - La mesure des surfaces correspondant aux pics de l'acétate et du pyruvate présents sur les chaînes latérales du xanthane (Morris et al., 1977)
 - L'obtention du spectre de la transition ordre-désordre correspondant au squelette principal du xanthane (Morris et al., 1977)

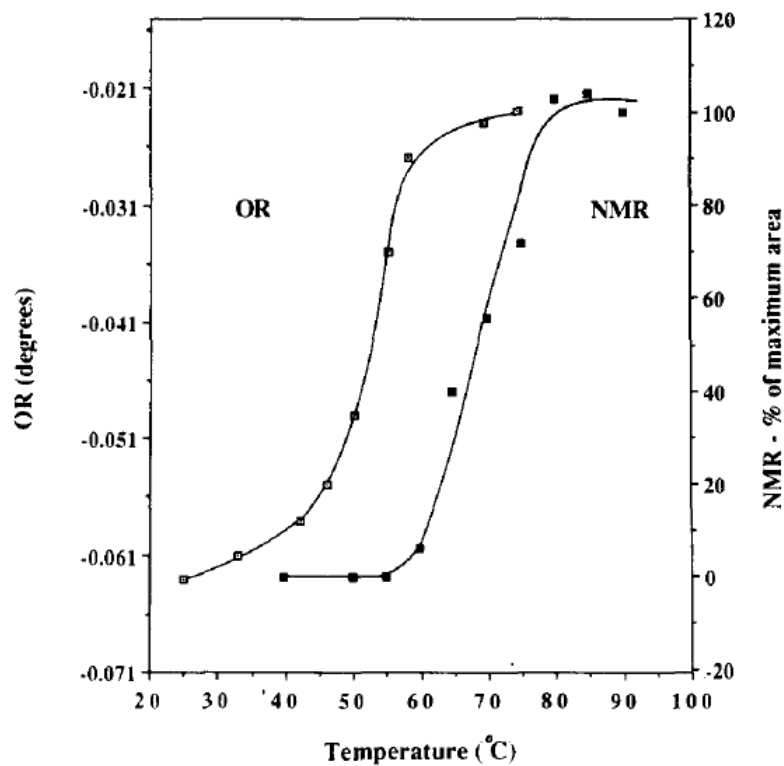


Figure 8 : Détermination de la température de transition du xanthane par polarimétrie ($T_m = 52\text{ °C}$) et RMN ($T_m = 67\text{ °C}$) (Foss et al., 1987)

- Plus la proportion en **pyruvate** au niveau de la chaîne de xanthane est importante, plus la **Tm** sera **basse**. En effet, les groupements pyruvate sont chargés négativement et induisent des répulsions électrostatiques et des contraintes stériques qui déstabilisent la conformation hélicoïdale du xanthane (Holzwarth and Ogletree, 1979; Smith et al., 1981).
- L'effet inverse est obtenu lorsque la teneur en **acétate** est importante. La stabilisation de l'hélice est due aux interactions apolaires entre les groupements méthyliques des acétates ou

encore aux liaisons hydrogène entre l'oxygène de l'acétate et le squelette cellulosique (Dentini et al., 1984; Pelletier et al., 2001; Tako and Nakamura, 1984). Une meilleure stabilisation de la structure hélicoïdale entraîne **l'augmentation de la Tm** (Holzwarth and Ogletree, 1979; Shatwell et al., 1990).

La dépendance de la Tm des conditions expérimentales et de la nature de l'échantillon de xanthane étudié, élargit l'intervalle des valeurs possibles à la Tm et complique la comparaison des données de la littérature. La Tm varie entre 40 et plus de 100 °C (Foss et al., 1987; Rochefort and Middleman, 1987; Roy, 2015).

1.3.3. Structure secondaire du xanthane

Xanthane à l'état solide

Des analyses de diffraction des rayons X révèlent la **conformation hélicoïdale** du xanthane à **l'état solide**. D'une part, Moorhouse et al. (1977) définissent la structure secondaire du xanthane en une **simple hélice droite quintuple 5₁** (5 unités de répétition par tour) de hauteur 4,7 nm. L'hélice est stabilisée par des **liaisons hydrogène intramoléculaires** entre les chaînes principales et les chaînes latérales qui se retrouvent repliées et alignées le long du squelette cellulosique (Figure 9a,a').

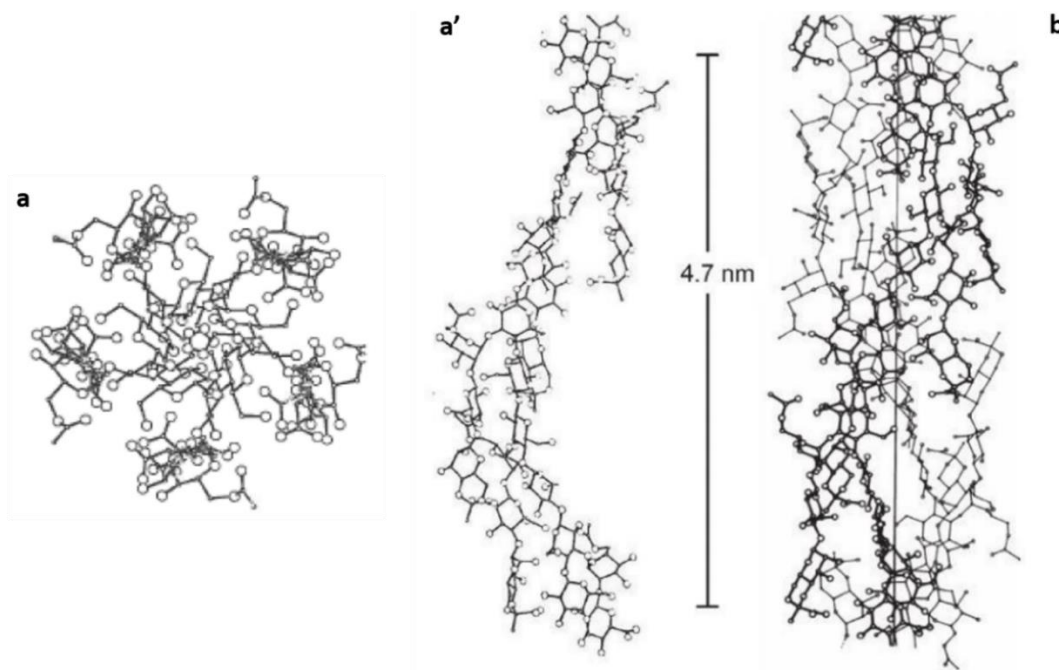


Figure 9 : Structures ordonnées du xanthane proposées à partir de la modélisation informatique des données de diffraction des rayons X : Une simple hélice 5₁ (Moorhouse et al., 1977) : (a) vue parallèle à l'axe de l'hélice ; (a') vue perpendiculaire à l'axe de l'hélice. Une double hélice antiparallèle (Okuyama et al., 1980) : (b) vue perpendiculaire à l'axe de l'hélice

D'autre part, Okuyama et al. (1980) établissent une structure secondaire sous forme de **double hélice 5₁ de deux brins antiparallèles**, également de hauteur 4,7 nm. L'hélice est stabilisée par les liaisons hydrogène **intermoléculaires** entre les deux brins antiparallèles (Figure 9b).



À retenir

Pour les deux équipes, de Moorhouse et de Okuyama, le xanthane adopterait en solution la même conformation ordonnée qu'à l'état solide. Ceci ne permet pas de conclure sur la structure secondaire du xanthane, mais donne lieu à deux hypothèses différentes :

- **Hypothèse 1** : Le xanthane en solution est sous forme d'une **simple hélice** ;
- **Hypothèse 2** : Il est sous forme d'une **double hélice**.

Xanthane en solution

Hypothèse 1 : La **conformation ordonnée** du xanthane se présente sous forme d'une **simple hélice**. La transition ordre-désordre est un **réarrangement intramoléculaire** qui consiste en la rupture des liaisons hydrogène stabilisant l'hélice suivie du déploiement des chaînes latérales et leur éloignement du squelette cellulosique. La **conformation désordonnée**, dénaturée, est sous forme d'une **pelote flexible** (Figure 10).

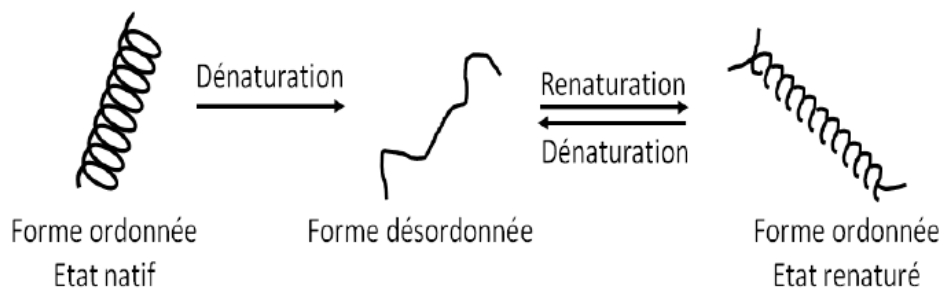


Figure 10 : Formes native, dénaturée et renaturée du xanthane (Roy, 2015)

La preuve essentielle sur laquelle repose cette première hypothèse est la non variation de la masse molaire du xanthane lors de la transition ordre-désordre (Milas et al., 1996, 1995, 1988; Milas and Rinaudo, 1979).

Hypothèse 2 : La conformation ordonnée du xanthane se présente sous forme d'une **double hélice**. La **transition** ordre-désordre est **intermoléculaire** conduisant à la **dissociation** de l'hélice en **deux brins simples** sous forme de pelote flexible. La conformation désordonnée, dénaturée est sous forme d'une pelote flexible.

Deux modèles de l'hélice sont possibles :

- Modèle de deux hélices simples qui interagissent latéralement entre elles par des zones de jonctions ordonnées et désordonnées (Figure 11a)
- Modèle d'une double hélice de deux brins appariés et qui s'ouvrent à partir des extrémités lors de la dénaturation, ce modèle est admis par de nombreux auteurs (Figure 11b)

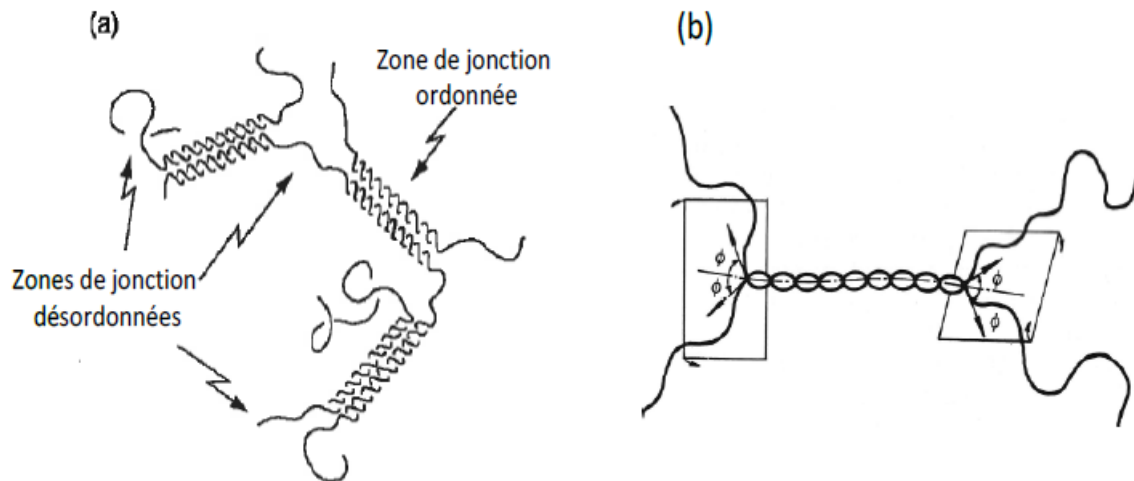


Figure 11 : Modèle de la double hélice : (a) deux simples hélices en interaction latérale (Morris, 2006), (b) double hélice de deux brins appariés (Stokke and Christensen, 1996)

Les études menées par différentes équipes pour identifier la structure secondaire du xanthane en solution permettent de valider soit l'hypothèse 1 et soit l'hypothèse 2 et sont listées respectivement dans les tableaux 1 et 2.

Tableau 1 : Études validant la conformation du xanthane en simple hélice

Auteur	Forme du xanthane	Méthode d'analyse	Structure secondaire établie	Explications ou commentaires
Morris et al., 1977	Ordonnée renaturée	Polarimétrie Dichroïsme circulaire	Conformation hélicoïdale à 1 seul brin	- La transition conformationnelle est indépendante de la concentration de xanthane en solution
Norton et al., 1984	Ordonnée renaturée	Vitesse de la dénaturation et cinétique de la transition ordre-désordre		- La cinétique de la transition est d'ordre 1, ceci est en accord avec un processus de dénaturation intramoléculaire - Sur la même chaîne polymère, il y a des zones ordonnées et des zones désordonnées
Jones et al., 1987	Ordonnée renaturée	Conductivité des solutions aqueuses de xanthane		
Milas et al., 1996, 1995, 1988; Milas and Rinaudo, 1986, 1979 (Figure 10)	Ordonnée native (Xanthane issu d'un moût de fermentation non pasteurisé)	Microscopie électronique	Simple hélice à 1 brin	Le xanthane natif est dénaturé en forme désordonnée par un traitement thermique ou par dilution en absence de sel. Ensuite, le xanthane dénaturé reprend une conformation ordonnée par refroidissement et ajout de sel. Cette fraction renaturée est analysée.
	Ordonnée renaturée	Microscopie électronique	Double hélice à un brin, mais replié sur lui-même	La forme renaturée est plus visqueuse et plus rigide que la forme native

Tableau 2 : Études validant la conformation du xanthane en double hélice (hélicoïde à deux brins)

Auteur	Méthode d'analyse	Méthode de dénaturation	Explications ou commentaires
Christensen et al., 1993; Stokke et al., 1986; Stokke and Christensen, 1996	Microscopie électronique	Dépolymérisation du xanthane en milieu acide (Christensen et al., 1993; Christensen and Smidsrod, 1991) ou en présence d'eau oxygénée et de fer (Christensen et al., 1996)	Dépolymérisation en 2 phases : 1. Phase lente avec une masse molaire peu variable, ceci est expliqué par la présence des interactions intermoléculaires qui résistent à la séparation des brins 2. Phase rapide avec une chute de la masse molaire, ceci s'explique par la rupture des liaisons glycosidiques induisant la dissociation de l'hélice en simples chaînes
Lecourtier et al., 1986	Diffusion de la lumière	Dénaturation par dilution en absence de sel, [NaCl] < 10 ⁻⁵ M	La masse molaire de la forme renaturée vaut la moitié de celle de la forme native. Cette diminution de la masse molaire est accompagnée d'une chute de la viscosité.
Sato et al., 1984 Hatakenaka et al., 1987	Expériences de sédimentation et de viscosité	Dénaturation par dissolution du xanthane dans le cadoxen	La masse molaire du xanthane dissout dans le cadoxen est la moitié de sa masse molaire à l'état natif

Chapitre 1 - Partie 1 : Xanthane

Liu et al., 1987	Diffusion de la lumière Polarimétrie	Dénaturation du xanthane par traitement thermique	La masse molaire du xanthane ne varie pas tandis que la viscosité diminue. Ceci s'explique par une dénaturation partielle et une ouverture progressive de l'hélice à partir des extrémités à cause des répulsions entre les groupements chargés.
	Diffusion statique de la lumière	Dénaturation par dissolution du xanthane dans le cadoxen	La masse molaire du xanthane dissout dans le cadoxen est la moitié de sa masse molaire à l'état natif. Dans ce cas, la dénaturation est totale.
Capron et al., 1998b, 1997 Muller and Lecourtier, 1988	Diffusion de la lumière	Dénaturation du xanthane par traitement thermique	Dénaturation en 2 phases : <ol style="list-style-type: none"> 1. Phase très rapide avec une masse molaire constante et une viscosité croissante, ceci est expliqué par l'extension de la double hélice et le déploiement des chaînes latérales 2. Phase longue induisant la dissociation intermoléculaire de l'hélice de manière soit partielle soit totale, en fonction de la technique de dénaturation utilisée, de la concentration du xanthane ou encore des conditions et du temps de traitement
Moffat et al., 2016	Microscopie à force atomique (la solution de xanthane est adsorbée sur le mica comme substrat chargé)		La double hélice est formée et stabilisée par des associations intramoléculaires. Elle se dissocie partiellement en deux brins simples lors de la dénaturation. Pas de la chaîne = 4,7 nm

Tableau 3 : Modèle de dénaturation et renaturation en fonction de la concentration du milieu en xanthane

Concentration en xanthane	Auteur	Structure secondaire de la forme ordonnée renaturée du xanthane	Explications	Schéma du modèle (d'après de Matsuda) (Matsuda et al., 2009)
Milieu dilué et semi-dilué $C < 10 \text{ g.L}^{-1}$	Capron et al., 1998b	Double hélice à 1 brin replié sur lui-même	La viscosité chute et la masse molaire est divisée par deux lorsque le xanthane passe du natif au renaturé. Ceci indique que la dénaturation est totale.	
Milieu concentré $C > 10 \text{ g.L}^{-1}$	Callet et al., 1989	Double hélice à 2 brins	Le traitement thermique favorise l'agrégation des chaînes, ceci augmente la viscosité du xanthane renaturé par rapport au xanthane natif	
	Capron et al., 1998b Matsuda et al., 2009	Double hélice à 2 brins	La masse molaire et la viscosité du xanthane augmentent avec la dénaturation ainsi que ses propriétés viscoélastiques se retrouvent renforcées, ceci s'explique par une dénaturation définie comme partielle	

Pour avoir une **dissociation totale** de la double hélice, le xanthane doit être traité dans des **conditions favorables** à la dénaturation de façon à avoir un traitement thermique à $T \gg T_m$ et qui soit suffisamment **long**, une **faible force ionique** avec une concentration en sel inférieure à 10^{-4} M ou encore en ayant recours à la dissolution du xanthane dans le **cadoxen** (mélange de cadmium, d'hydroxyde de sodium et d'éthylène diamine). À ces conditions s'ajoute la concentration du milieu en xanthane qui influence également le processus de dénaturation. Le Tableau 3 détaillera les études réalisées sur ce paramètre.

En **milieux dilué et semi-dilué**, la **dénaturation est totale** ; les deux brins se séparent complètement et forment des pelotes dénaturées. Par la suite, la renaturation se fait indépendamment au niveau de chacun des brins. Ainsi, un **simple brin** se replie sur lui-même pour donner lieu à une structure en **double hélice du xanthane renaturé**.

Par contre, en **milieu concentré**, la **dénaturation est partielle** à cause des contraintes stériques provoquées par les chaînes voisines. L'hélice se retrouve ainsi dans un **état intermédiaire** constitué de **zones ordonnées et de zones désordonnées**. Par la suite, la renaturation procède au niveau des zones désordonnées d'une même hélice ou des différentes hélices voisines. Ainsi, la renaturation combinée au phénomène d'agrégation donne lieu à un **réseau de double hélice à deux brins** qui est moins ordonnée et moins compacte que la double hélice native. Un tel réseau favorise un **comportement type gel du xanthane renaturé**.

Hypothèse 3 : Combinaison entre les hypothèses 1 et 2

Selon Morris (Morris, 2019), la **transition** de la conformation dénaturée à la conformation renaturée procède en deux étapes (Figure 12):

- **Étape 1** : La pelote flexible (forme dénaturée) s'organise par un réarrangement intermoléculaire en une simple hélice ;
- **Étape 2** : Chaque deux « simple hélice » s'agencent de façon antiparallèle en une seule double hélice 5_1 .

La **dimérisation des simples hélices** ne peut s'achever que si les conditions expérimentales sont suffisantes et adaptées. Sinon, la transition conformationnelle s'arrête à la première étape. Ce nouveau modèle explique les différences obtenues au niveau des conclusions sur la structure secondaire du xanthane en solution.

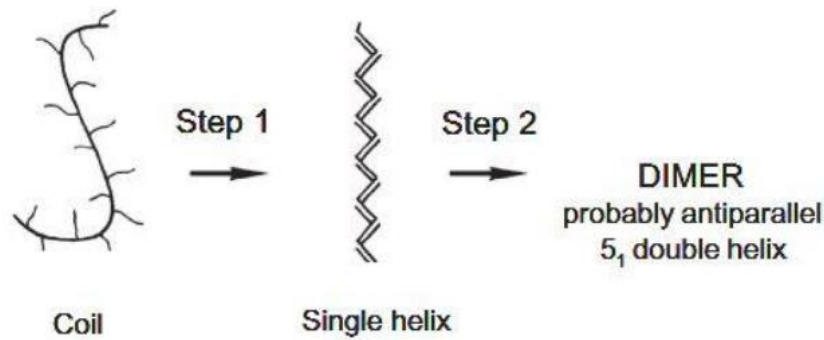


Figure 12 : Mécanisme proposé par Morris (2019) pour la transition ordre – désordre du xanthane

1.4. Propriétés du xanthane en solution

1.4.1. Solubilité

Le xanthane est un biopolymère **hydrophile** et **hydrosoluble**. En effet, la nature anionique des chaînes latérales du xanthane, lui confère une bonne solubilité en solution aqueuse à des températures basses ou élevées (environ entre 10 et 90 °C) (García-Ochoa et al., 2000). Par contre, il est limité par une **vitesse de dissolution faible**.

En effet, la **dissolution d'un polymère** se déroule en plusieurs étapes. D'abord, les grains secs de polymères s'individualisent et se dispersent au sein du solvant aqueux. Ensuite, les molécules d'eau viennent se fixer progressivement sur les macromolécules et réduisent les interactions soluté-soluté. À ce stade, le solvant pénètre dans le soluté et provoque son **gonflement** jusqu'à entraîner l'individualisation des macromolécules. Le soluté se trouve ainsi complètement **dissout** dans la phase solvant (Simon, 2001; Su et al., 2003). Enfin, les macromolécules se structurent par un phénomène d'épaississement ou de gélification (Figure 13).

Pour les hydrocolloïdes tels que le xanthane, la formation de '**fish-eyes**' peut se produire lors de la dissolution. Ainsi, les particules commencent à s'hydrater et une **couche gélatineuse** se forme autour. Cette couche empêche d'une certaine manière le déploiement rapide des chaînes de xanthane, ce qui **bloque la pénétration de l'eau** au sein de la particule pour poursuivre l'hydratation (Su et al., 2003). D'où la nécessité d'améliorer dès le départ la dispersion et l'individualisation des particules en réalisant un saupoudrage lent de la poudre au sein du solvant sous agitation. Il est néanmoins possible de faciliter la solubilisation, par exemple en pré-dispersant la gomme de xanthane dans de la glycérine (« empâtage ») avant d'ajouter l'eau, ceci permettant d'éviter la formation des grumeaux.

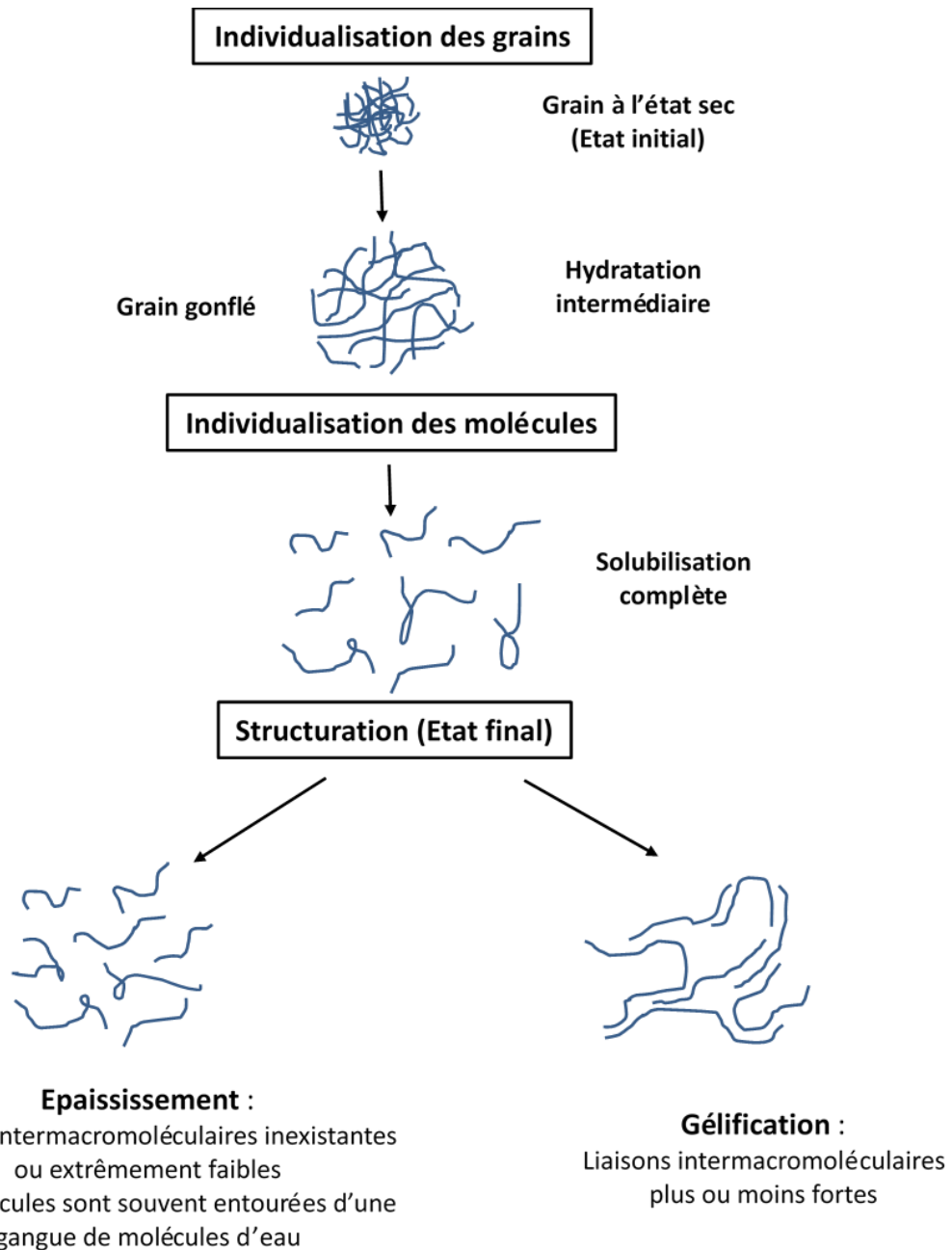


Figure 13 : Les étapes de solubilisation d'un polymère dans une solution aqueuse d'après Colin-Henrion (2008)

En revanche, le xanthane est insoluble dans les solvants organiques. À titre d'exemple, il est insoluble dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), solvant aprotique, que ce soit à température ambiante ou à température élevée. Afin de favoriser sa solubilisation dans ce solvant, Roy et al. (2015) ont procédé par une étape d'acidification qui permet l'écrantage des charges négatives des chaînes latérales entraînant ainsi la solubilisation.

D'autres non solvants existent tels que les alcools et les acétones, et sont généralement employés pour précipiter et purifier le xanthane. La Figure 14 illustre l'effet de l'ajout d'acétone, d'éthanol et l'isopropanol (IPA) sur la solubilité du xanthane. Ainsi plus leur volume est important, plus la précipitation est favorisée. Le volume d'alcool nécessaire à la précipitation peut être réduite par l'ajout de sel (García-Ochoa et al., 2000).

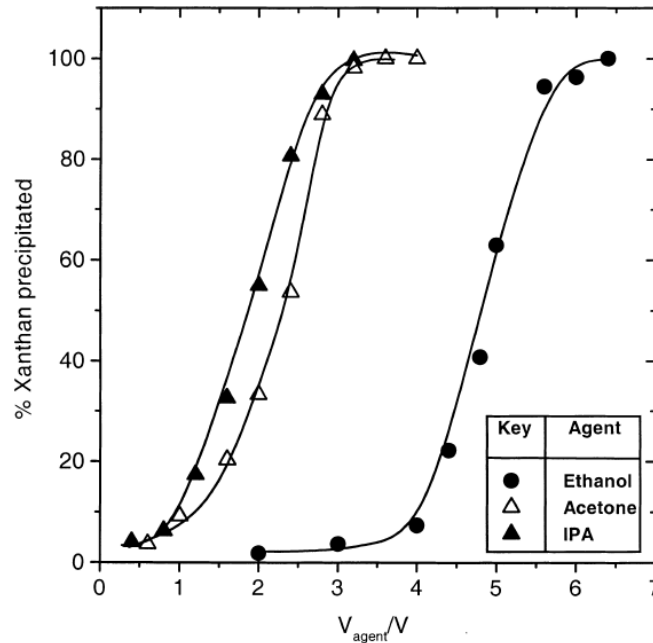


Figure 14 : Précipitation du xanthane par des solvants organiques en absence de sel (García-Ochoa et al., 2000)

1.4.2. Régime de concentration

Le **comportement en solution** des polymères **dépend** principalement de leur **concentration** et de leur **masse molaire**. Comme le xanthane est un polymère hydrophile et anionique, il appartient à la catégorie des polymères non associatifs qui ne présentent pas d'interactions spécifiques telles que des liaisons hydrophobes, ioniques ou de complexation. Ainsi, l'organisation des macromolécules de xanthane est purement gouvernée par les **enchevêtrements** entre ces chaînes de haute masse molaire du fait de **contraintes stériques/topologiques**.

Pour les **polymères non associatifs**, quatre régimes de concentration sont identifiés avec pour chacun des propriétés viscosimétriques et viscoélastiques propres (Bouldin et al., 1988; Perrin and Hourdet, 1997).

Ils sont définis ainsi (Figure 15) :

- **Régime dilué** : Les chaînes macromoléculaires sont dispersées indépendamment au sein de la solution et occupent chacune un espace propre appelé volume hydrodynamique. Ce régime reste identifiable tant que la concentration est inférieure à la concentration critique de recouvrement, notée C^* ;
- **Régime semi-dilué non enchevêtré** : Les chaînes se rapprochent et entrent en contact une fois que la concentration du polymère en solution atteint C^* . Au-delà de C^* , les volumes hydrodynamiques s'interpénètrent et la viscosité s'accroît ;
- **Régime semi-dilué enchevêtré** : Au-delà de C^* , les chaînes interagissent et commencent à s'interpénétrer jusqu'à atteindre une concentration notée C^{**} qui est la concentration d'enchevêtrement. À ce stade, les enchevêtrements sont élastiquement actifs et engendrent des propriétés rhéologiques particulières de la solution ;
- **Régime concentré** : Les chaînes s'enchevêtrent davantage avec des concentrations plus importantes de polymère en solution jusqu'à la formation d'un réseau macromoléculaire complexe.

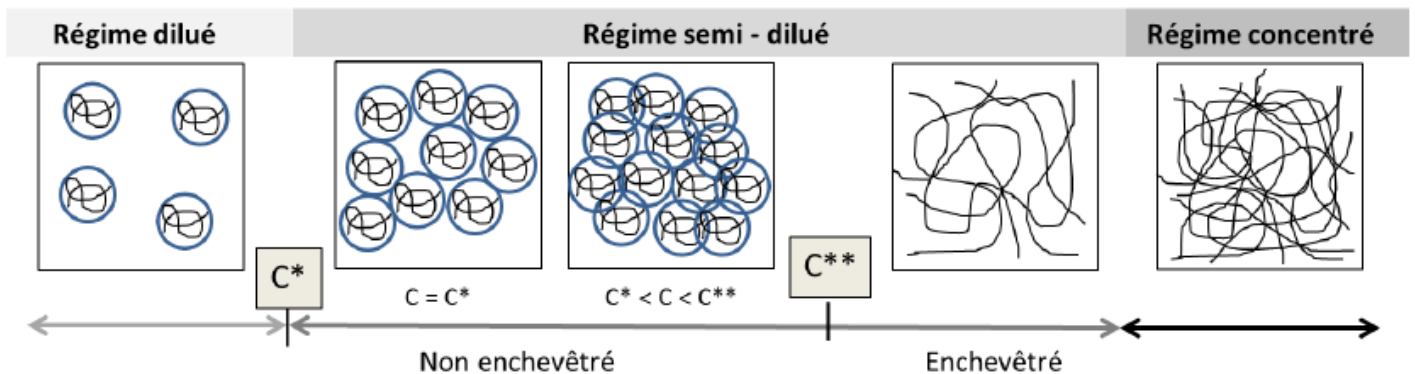


Figure 15 : Régimes de concentration des polymères non associatifs en solution (Fantou, 2018)

Détermination des domaines de concentration

La **détermination de C^* et C^{**}** délimitant les régimes de concentration du xanthane peut être réalisée par le biais de **différentes techniques** telles que la rhéologie, la diffusion de la lumière, la biréfringence électrique ou l'étude de la propagation d'ondes sonores dans les solutions de polymères. Le Tableau 4 montre pour le xanthane sous forme ordonnée, les valeurs des concentrations critiques C^* et C^{**} identifiées dans différentes études de la littérature.

Tableau 4 : Valeurs des concentrations critiques du xanthane sous sa forme ordonnée

Techniques	Auteurs	Conditions	C* (g.L ⁻¹)	C** (g.L ⁻¹)
Diffusion de la lumière	Southwick et al., 1981, 1980	0,03 M NaN ₃	0,15	0,70
	Tinland et al., 1990	0,10 M NaCl	0,40	-
	Rodd et al., 2000	0,10 M NaCl	0,20	0,70
Ondes sonores	Pereira et al., 1982	0,10 M KCl	0,25	-
Rhéologie	Cuvelier and Launay, 1986	0,10 M NaCl	0,30	1,10
	Milas et al., 1990	0,10 M NaCl	0,10	0,60
	Capron, 1996	0,10 M NaCl	0,20	-
	Launay et al., 1998, 1997	0,10 M NaCl	0,20	0,90
	Wyatt and Liberatore, 2009	0,05 M NaCl	0,20	0,80
Biréfringence Et Dichroïsme circulaire	Meyer et al., 1993	0,05 M NaCl	-	2,00

Ces valeurs de **C*** et **C**** **divergent** d'une étude à l'autre. Ces petites variations peuvent s'expliquer par la différence au niveau des techniques et des conditions d'analyse utilisées, de la nature de l'échantillon de xanthane (teneur en pyruvate (Cheetham and Nik Norma, 1989; Smith et al., 1981), polydispersité, masse molaire (Takada et al., 1991)) ; mais également par le fait que le passage d'un régime à l'autre se déroule progressivement, d'où la difficulté parfois de délimiter précisément les domaines de concentrations, en particulier du fait de la forte tendance à l'agrégation du xanthane (Berth et al., 1996; Esquetet and Buhler, 2002; Meyer et al., 1993; Southwick et al., 1980).

Néanmoins, les valeurs de **C*** et **C**** restent dans le même ordre de grandeur et peuvent être approximées respectivement à **0,2 g.L⁻¹** et à **1 g.L⁻¹**.

Parmi ces techniques, les **analyses rhéologiques** sont le plus souvent utilisées pour déterminer la délimitation des domaines de concentration. Ainsi, les concentrations C* et C** sont déterminées en traçant l'évolution de la viscosité au plateau η_0 ³ de la solution de polymère en fonction de la

³ En traçant les courbes d'écoulement correspondant à l'évolution de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement, il est possible de déterminer η_0 correspondant à la viscosité au plateau, à faible cisaillement, dite « viscosité newtonienne » (voir partie 1.4.4).

concentration (Figure 16b) (Wyatt and Liberatore, 2009) ; une autre méthode consiste à représenter en échelle bilogarithmique l'évolution de la viscosité spécifique η_{sp} ($\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0}$) en fonction de la concentration réduite $C[\eta]$ (Figure 16a) (Cuvelier and Launay, 1986; Launay et al., 1997) ; avec η la viscosité de la solution au plateau (à faible cisaillement), η_0 la viscosité du solvant seul, $[\eta]$ la viscosité intrinsèque du xanthane et C la concentration en polymère.

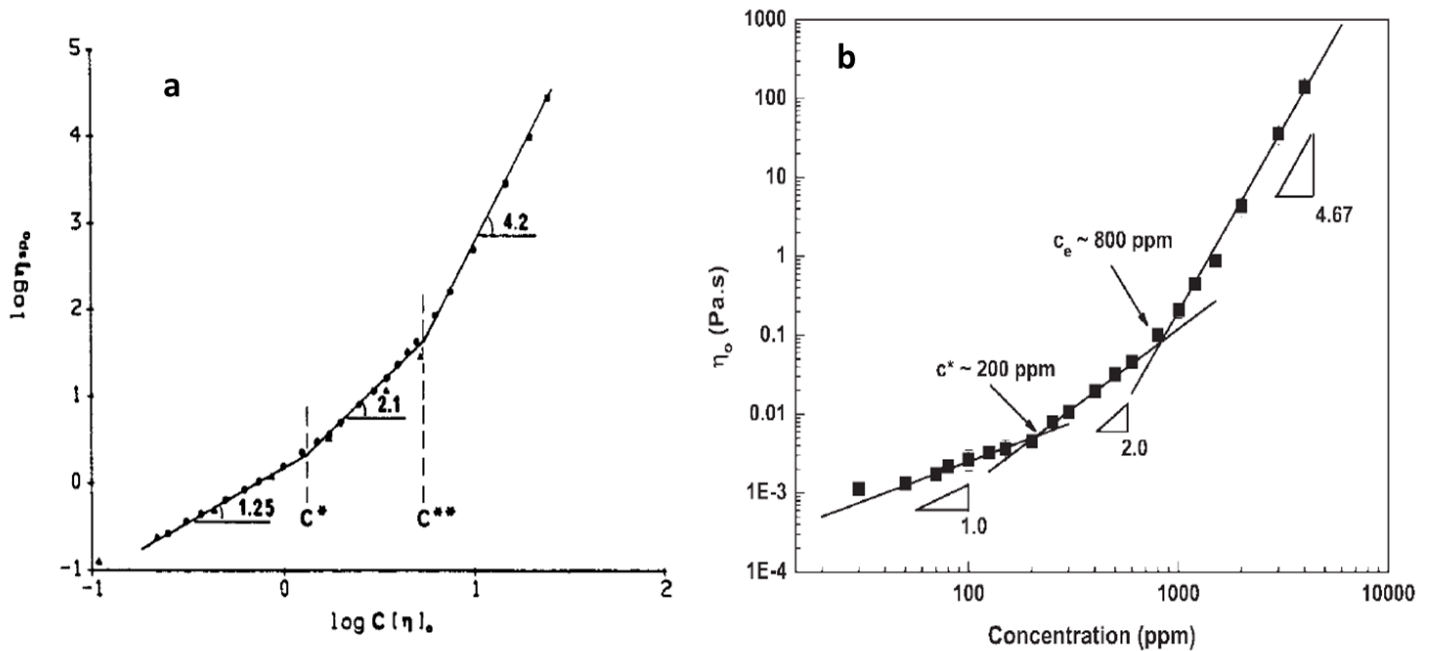


Figure 16 : Régime de concentration du xanthane sous forme ordonnée :

(a) en présence de NaCl à 0,1 M (Cuvelier and Launay, 1986)

(b) en présence de NaCl à 50 mM (Wyatt and Liberatore, 2009)

Chaque **rupture de pente** correspond à une **concentration critique** et indique le passage d'un régime de concentration à un autre. Pour chaque domaine de concentration, une **valeur pente p** qui lui est spécifique. Dans le cas des **polysaccharides neutres flexible**, p est comprise entre 1 et 2 en milieu dilué, entre 2 et 3 en milieu semi-dilué non enchevêtré et entre 3 et 5 en milieu semi-dilué enchevêtré (Morris et al., 1981; Pereira et al., 1982; Robinson et al., 1982). Dans ce dernier domaine, la valeur de la pente informe **sur la nature des interactions** entre les chaînes de polymères. Ainsi, une pente entre 3 et 4 est obtenue pour des polymères linéaires neutres et flexibles qui interagissent uniquement par des **enchevêtrements physiques** (Gennes, 1979). Une pente supérieure à 4 correspond à un système de polymères dans lequel des **interactions spécifiques attractives** entre les chaînes s'ajoutent aux enchevêtrements physiques. Les chaînes d'un tel système sont **hyper-enchevêtrées** (Morris et al.,

1981) ; ce comportement a été décrit pour certains polysaccharides tels que la guar ou la caroube (Launay et al., 1998; Robinson et al., 1982).

Bien que le xanthane sous **forme ordonnée** soit semi-rigide, les pentes des régimes identifiés (Figure 16) sont en accord avec celles déterminées dans la littérature sur les polysaccharides neutres flexibles. Nous pouvons déduire que le xanthane dont les chaînes sont suffisamment écartées, se comporte comme un polymère neutre en solution.

Concernant le xanthane sous **forme désordonnée**, Wyatt et al (2009) ont étudié les régimes de concentration de ce polysaccharide en **absence de sel** (Figure 17) en les comparant aux résultats de la forme ordonnée (Figure 16b).

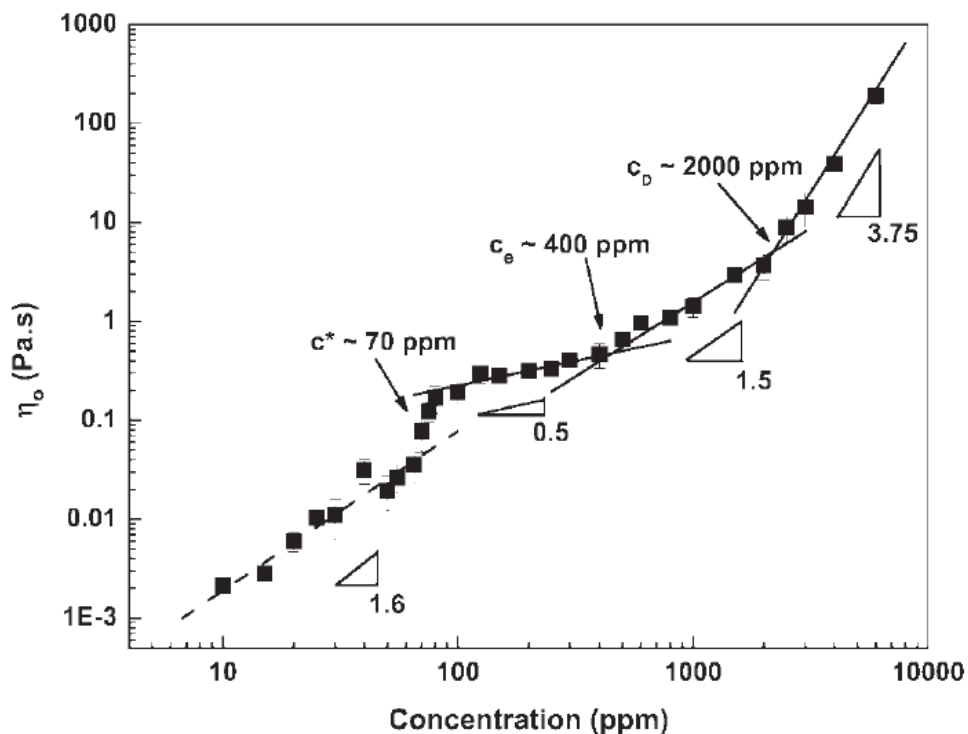


Figure 17 : Régime de concentration du xanthane sous forme désordonnée en absence de sel (Wyatt and Liberatore, 2009)

Comme pour le xanthane sous forme ordonnée, les trois régimes dilué, semi-dilué non enchevêtré et semi-dilué enchevêtré sont observés. Par contre, les concentrations critiques **C*** et **C**** sont dans ce cas plus faibles, les pentes sont différentes et un **quatrième régime** de concentration apparaît à partir d'une concentration critique **C_d = 2 g.L⁻¹** comme le montre le tableau comparatif suivant (Tableau 5).

Tableau 5 : Concentrations critiques et pentes des régimes de concentration du xanthane sous forme ordonnée et désordonnée

Xanthane	Concentrations critiques (g.L ⁻¹)			Pente du régime			
	C*	C** ou C _e	C _d	Dilué	Semi-dilué non enchevêtré	Semi-dilué enchevêtré	Concentré
Forme ordonnée	0,20	0,80	-	1,00	2,00	4,67	-
Forme désordonnée	0,07	0,40	2,00	1,60	0,50	1,50	3,75

La présence d'un régime supplémentaire est expliquée par le **caractère polyélectrolyte** du xanthane dû aux charges négatives portées par ses chaînes latérales. En effet, en absence de sel, les charges ne sont pas écrantées et les chaînes du xanthane dénaturé sont expansées sous l'effet des **répulsions électrostatiques**. Ceci fait référence à la théorie de Dobrynin and Rubinstein (2005) sur les polyélectrolytes flexibles décrits comme une succession de **blobs électrostatiques** qui se repoussent et forment un modèle en bâtonnets rigides (Figure 18). Le volume hydrodynamique d'une telle **chaîne étirée**, est plus important que celui de leur homologue neutralisé, ce qui explique les éventuelles interactions et enchevêtrements entre les chaînes chargées à des concentrations plus faibles (Tableau 5).

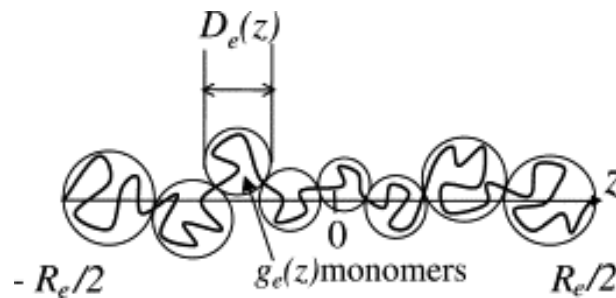


Figure 18 : Chaîne de polyélectrolyte étirée dans un milieu dilué en absence de sel (Dobrynin and Rubinstein, 2005)

Dans ce modèle, la C_d représente la **concentration de recouvrement des blobs** électrostatiques, au-dessus de celle-ci le comportement du polyélectrolyte est similaire à celui d'un polymère neutre flexible gouverné uniquement par des **enchevêtrements physiques**. De plus, une pente de 3,75 répond à la loi de puissance proposée par Gennes sur les polymères flexibles ($\eta \approx M^3 \cdot C^{3,75}$) (Gennes, 1979), ce qui prouve l'**absence d'interactions** spécifiques attractives entre les chaînes du **xanthane** sous forme **désordonnée**.

1.4.3. Propriétés viscosimétriques du xanthane en solution

Comme évoqué précédemment, les propriétés d'un polymère en solution dépendent du régime de concentration. En régime dilué et semi-dilué non enchevêtré ($C \leq 1 \text{ g.L}^{-1}$), les propriétés viscosimétriques du xanthane sont caractérisées par la **viscosité intrinsèque** $[\eta]$. Cette grandeur mesure indirectement le **volume hydrodynamique** occupé par les chaînes en solution et **dépend de** plusieurs paramètres tels que la concentration en polymère, sa masse molaire et sa conformation, mais également des conditions du milieu telles que la nature du solvant, la concentration en sel et la température.

Il est connu d'après Mark-Houwink-Sakurada (MHS) que la viscosité est directement dépendante de la **masse molaire** moyenne viscosimétrique M_w selon $[\eta]=K \cdot M^\alpha$ (avec K et α des constantes qui dépendent de la température et de la nature du polymère et du solvant). Pour le xanthane, les expériences menées par Liu et al. (1987) ou encore Arendt and Kulicke (1998) montrent l'augmentation de la viscosité avec l'augmentation de la masse molaire et valident le fort impact de M_w sur $[\eta]$.

L'influence de la force ionique sur la viscosité intrinsèque du xanthane a été évaluée par Lecourtier et al. (1986). Ainsi, le xanthane natif a été dissout à $0,4 \text{ g.L}^{-1}$ dans des solutions aqueuses à différentes concentrations en sel. La courbe obtenue est illustrée sur la Figure 19. Pour rendre les explications plus claires, nous allons scinder la courbe en quatre parties a, b, c et d en se basant sur principalement sur les travaux de ces auteurs.

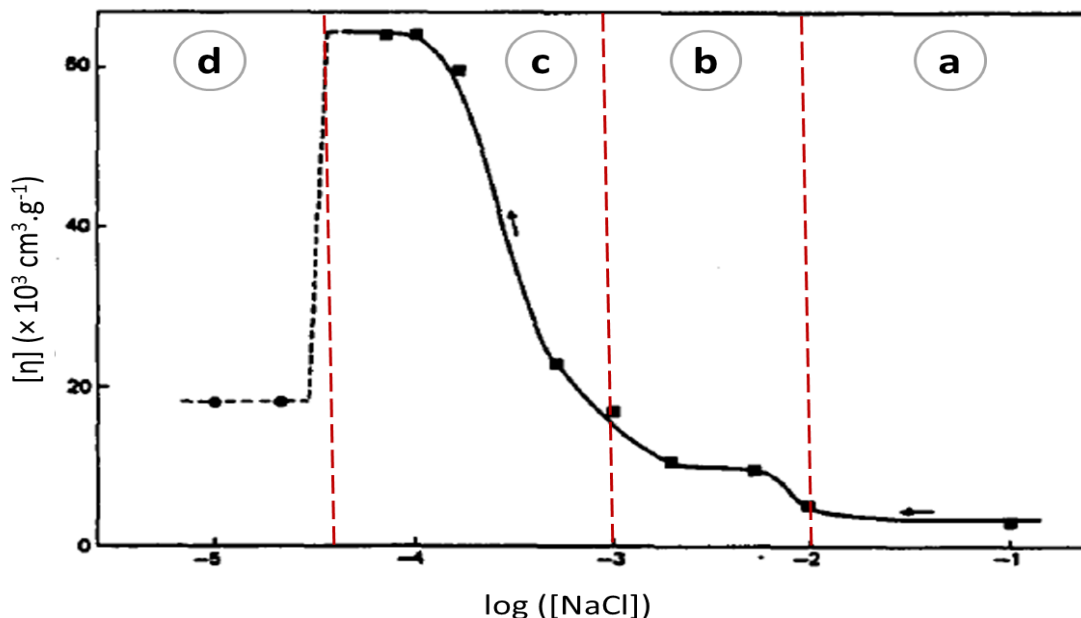


Figure 19 : Influence de la salinité sur la viscosité intrinsèque du xanthane à $0,4 \text{ g.L}^{-1}$, adaptée de Lecourtier et al. (1986)

Partie a : À partir d'une **concentration en sel supérieure à 10^{-2} M**, la **viscosité intrinsèque** est quasiment **constante**. Des résultats similaires sont obtenus par Lund et al. (1990) et Capron et al. (1997) (Tableau 6). Ceci explique que le xanthane, avec une masse molaire invariante, est sous sa **forme native ordonnée**. Par contre, les valeurs des viscosités changent d'une équipe à l'autre à cause des concentrations différentes de xanthane en solution et des températures différentes d'analyse⁴, tout en restant dans le même ordre de grandeur.

Dans ce cas, l'**écranage** des charges portées par le xanthane en présence d'une concentration conséquente en sel devient maximal. Ce phénomène entraîne la **perte de l'étirement** des chaînes, ce qui engendre un volume hydrodynamique moins important en solution donc une viscosité moins importante par rapport au reste de la courbe.

Partie b : En abaissant la concentration en sel entre **10^{-2} M et 10^{-3} M**, la **viscosité augmente** d'une manière lente et progressive. Des variations similaires sont observées par Khouryieh et al. (2007) avec une viscosité qui augmente de 7 320 à 9 290 mL.g⁻¹ lorsque la concentration en sel diminue de 0,04 à 0,002 M. Le xanthane est toujours sous **forme ordonnée**, mais l'**écranage** des charges portées par les chaînes est moindre donc le volume hydrodynamique et la viscosité sont d'autant plus élevés que la concentration en sel diminue.

Partie c : En passant de **10^{-3} M à 10^{-4} M** de sel en solution, l'**augmentation de la viscosité** devient **significative**. Une telle force ionique n'est plus suffisante pour maintenir la forme native du xanthane et la **dénaturation** s'enclenche. Au fur et à mesure que la salinité diminue, la **dissociation des doubles hélices** procède, ce qui se traduit par un volume hydrodynamique de plus en plus important. La viscosité intrinsèque atteint une valeur maximale de 60 000 mL.g⁻¹ pour une concentration en NaCl aux alentours de 10^{-4} M.

Partie d : Lorsque la concentration en sel descend **en dessous de 10^{-4} M**, la **viscosité intrinsèque chute** brutalement suite de la **dissociation totale** de la double hélice en deux brins. Le xanthane se présente sous forme de **pelote dénaturée** avec une masse molaire qui chute de moitié. Le volume hydrodynamique qu'occupe cette dernière est moins important ce qui traduit une viscosité plus faible, qui vaut 18 000 mL.g⁻¹ (ou 15 570 mL.g⁻¹ dans l'étude de Khouryieh et al. (2007)).

⁴ Les viscosités sont mesurées à des températures voisines, soit 20 °C ; 25 °C et 30 °C, pour le xanthane en régime semi-dilué non enchevêtré, à des concentrations entre 0,2 et 1 g.L⁻¹ (Tableau 6). Ceci minimise l'impact de ces deux paramètres sur la viscosité intrinsèque.

Néanmoins, cette dernière est plus élevée que la viscosité du xanthane sous une conformation ordonnée. Ceci s'explique par **l'absence d'écrantage** des charges portées par le polymère, donnant lieu à des chaînes étendues de volume hydrodynamique conséquent (Figure 18).

Ces résultats révèlent clairement la différence des propriétés viscosimétriques entre les **conformations ordonnée et désordonnée** du xanthane. Il existe également des études qui montrent **l'impact** sur la viscosité intrinsèque du type de **conformation hélicoïdale, native ou renaturée**, adoptée par les chaînes de polymère en solution. De manière générale, la forme renaturée présente une viscosité plus importante que la forme native (Tableau 6). En effet, les chaînes de la **forme renaturée sont moins rigides et ordonnées** donc moins compactes que celles sous forme native, ce qui résulte en un volume hydrodynamique plus important et l'obtention d'une solution plus visqueuse. Néanmoins, la viscosité peut être plus ou moins élevée selon les conditions de dénaturation pouvant provoquer une dissociation soit partielle soit totale de la double hélice.

Dans leur étude, Milas et al. (1990) ont remarqué suite à la dénaturation du xanthane à 80 °C pendant une minute, une augmentation de la viscosité entre l'échantillon natif et l'échantillon renaturé, en revanche la **masse molaire reste invariante**. Ces résultats montrent que la **dénaturation n'était que partielle** résultant en une conformation renaturée en double hélice moins ordonnée et moins compacte que celle de la forme native de départ.

Tableau 6 : Viscosité intrinsèque du xanthane

Auteurs	[Xanthane] (g.L ⁻¹)	T (°C)	État	C _{solvant} [NaCl] (M)	M _w (10 ⁶ g.mol ⁻¹)	[η] (mL.g ⁻¹)
Capron et al., 1997	1,0	25	Natif	0,100	5,30	7150
			Natif	0,010	5,20	7400
Lund et al., 1990	0,6	30	Natif	0,086	5,20	5500
			Natif	0,860	5,40	5350
Milas et al., 1990	1,0	25	Natif	0,100	5,25	10300
			Renaturé	0,100	5,25	13200
Muller and Lecourtier, 1988 Lecourtier et al., 1986	0,4	30	Natif	0,100	4,80	3400
			Renaturé 1	0,100	4,00	8500
			Renaturé 2	0,100	2,10	6100

Afin de mieux développer l'impact des conditions de dénaturation sur la viscosité intrinsèque, Lecourtier et al. (1986) ou encore Muller and Lecourtier (1988) ont évalué **l'effet du traitement salin induisant des cycles ordre-désordre-réordre** différents selon les conditions du traitement.

Ainsi, les échantillons de xanthane natif ont subi un **pré-traitement salin** à des concentrations distinctes en NaCl **entre 10^{-1} et 10^{-5} M**. Suite à ce traitement de dénaturation préalable, chaque échantillon a été **renaturé** dans une solution saline de **concentration finale 0,1 M** et se trouve sous une conformation « ré-ordonnée ». Après ces différents cycles, la viscosité intrinsèque a été mesurée à une température (30 °C) en fonction de la concentration en sel du pré-traitement salin (Figure 20).

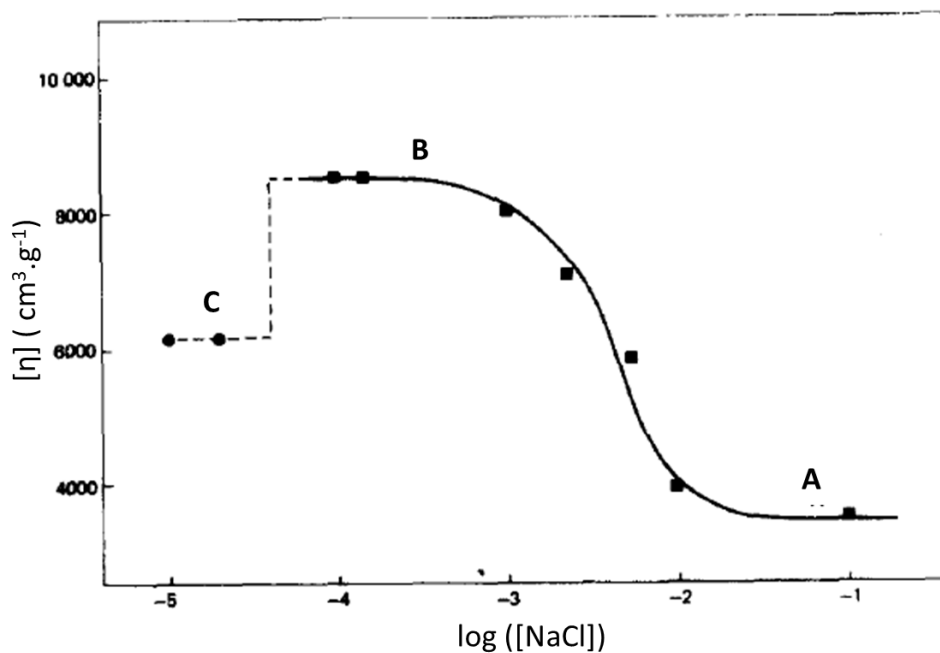


Figure 20 : Viscosité intrinsèque du xanthane sous forme ordonnée ([NaCl] = 0,1 M) en fonction de différents traitements salins préalables (Lecourtier et al., 1986)

Dans la **partie A** de la courbe, aucune dénaturation n'a eu lieu sous une force ionique supérieure à 10^{-2} M et la forme **native en double hélice compacte** est maintenue avec une viscosité constante.

Un prétraitement moins salin (10^{-3} et 10^{-4} M), provoque une dénaturation partielle sans dissociation de la double hélice en deux brins séparés (masse molaire quasi-constante). Ainsi, la renaturation induit une conformation ordonnée **renaturée 1** (tableau 6) en **double hélice** étendue qui est **moins compacte** que celle de la forme native de départ. Ceci explique une viscosité plus élevée atteinte dans la **zone B**.

La dernière **zone C** correspond à prétraitement de force ionique faible ($[NaCl] \leq 10^{-5}$ M) qui a provoqué une dénaturation totale en dissociant la double hélice en deux brins complètement séparés. Ceci est

validé par la chute de la masse molaire de moitié, accompagnée par une diminution de la viscosité (tableau 7). L'état **renaturé 2** n'est qu'une **simple hélice** moins ordonnée que la forme native, résultant en une viscosité plus importante.

1.4.4. Propriétés rhéologiques du xanthane en solution

Comportement d'écoulement en régime permanent

Le xanthane en solution se caractérise par un **comportement** d'écoulement fortement **rhéofluidifiant** et cela dès de faibles concentrations (Cuvelier and Launay, 1986; Milas et al., 1985), comme le montrent les courbes présentées sur la Figure 21.

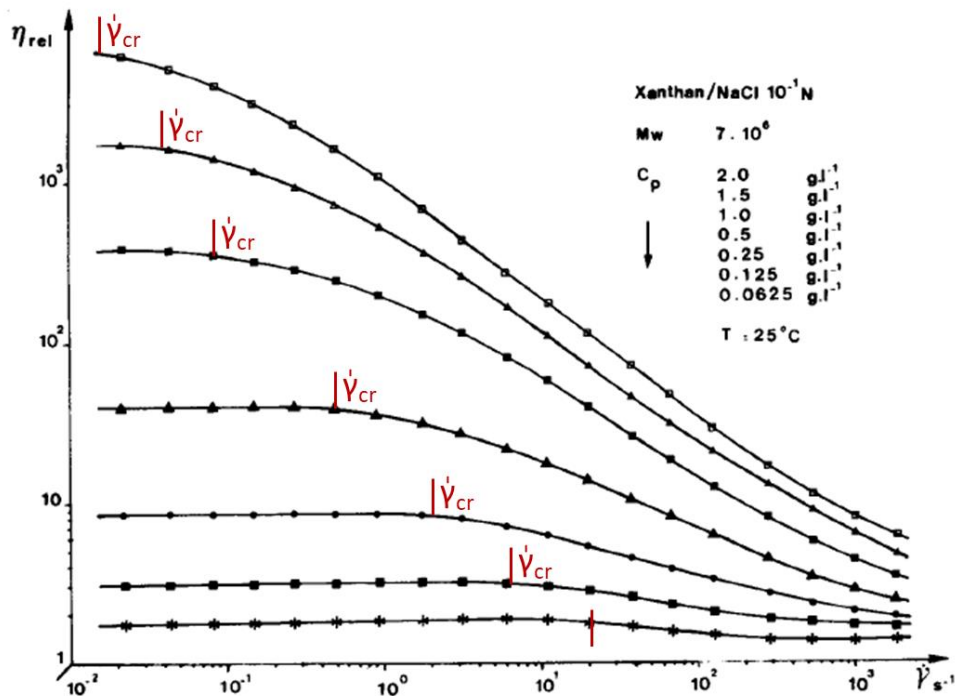


Figure 21 : Courbes d'écoulement du xanthane ($M_w = 7.10^6 \text{ g.mol}^{-1}$) à différentes concentrations en solution saline à 0,1 M de NaCl (Milas et al., 1985).

Pour des **vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$ faibles**, toutes les courbes présentent un **plateau newtonien** caractérisé par une viscosité newtonienne constante η_0 . Ce plateau est de moins en moins visible lorsque la concentration de xanthane augmente au-delà de C^* . Dans la gamme de vitesse de cisaillement étudiée ($\dot{\gamma}$ entre 10^3 et 10^{-2} s^{-1}), η_0 reste atteignable jusqu'à $C = 2 \text{ g.L}^{-1}$.

Lorsque la vitesse de cisaillement dépasse une certaine valeur $\dot{\gamma}_{cr}$ appelée **vitesse de cisaillement critique**, le comportement du xanthane en solution devient **rhéofluidifiant** et obéit à une **loi de**

puissance de type $\eta = k \cdot \dot{\gamma}^n$ (par exemple loi de Cross ou Carreau-Yasuda), avec n l'indice d'écoulement. La valeur absolue de ce dernier augmente et tend vers 1 lorsque le polymère est de plus en plus rhéofluidifiant. Cette augmentation a été observée par Wyatt and Liberatore (2009) ou encore Carnali (1991) lorsque la concentration de xanthane augmente en solution saline (50 mM de NaCl ou 0,02 M de KCl respectivement). Dans un **milieu dilué** en xanthane ($C < C^*$), il existe à haute vitesse de cisaillement, un **second plateau newtonien** de viscosité η_∞ proche de celle du solvant utilisé.

Propriétés viscoélastiques

○ *Influence de la température sur les propriétés viscoélastiques du xanthane*

La Figure 22a représente l'évolution des modules élastiques G' et visqueux G'' en fonction de la fréquence f pour une solution de xanthane à 10 g.L^{-1} sans ajout de sel et pour différentes températures (variant de 5 à 90 °C).

À basse température, G' est supérieur à G'' sur toute la gamme de fréquence, ce qui révèle un comportement de type élastique dominant de la solution de xanthane. L'augmentation de la température fait baisser les valeurs des deux modules G' et G'' et augmenter leur dépendance en fréquence.

Pour une **température de 50 °C**, une inversion de comportement survient à la fréquence de relaxation dite f_T , pour laquelle les deux modules se croisent. En dessous de la fréquence de relaxation, le module visqueux G'' devient plus élevé que le module élastique G' et le xanthane se comporte comme un liquide viscoélastique.

Lorsque la température augmente, la fréquence de relaxation est décalée vers des valeurs plus élevées et sort de la gamme de fréquence étudiée **à partir de 70 °C**. Le xanthane présente ainsi un comportement de type liquide de Maxwell avec G' inférieur à G'' sur toute la gamme de fréquence mesurable.

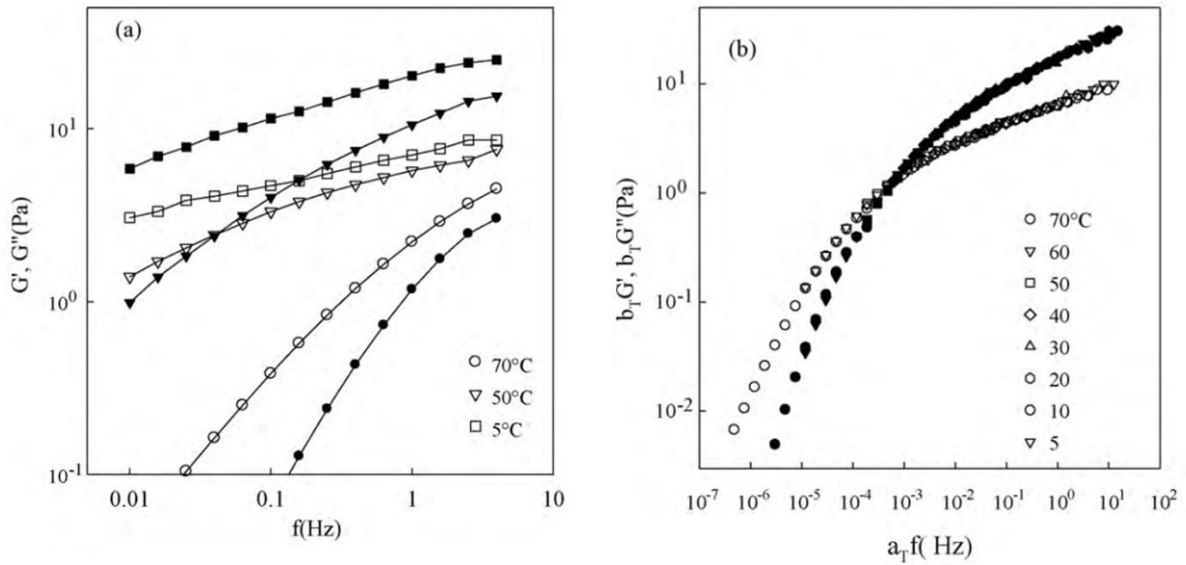


Figure 22 : (a) Évolution des modules élastiques G' (symboles pleins) et visqueux (G'') (symboles ouverts) en fonction de la fréquence pour une solution de xanthane à 10 g.L^{-1} à différentes températures, (b) Courbe maîtresse fréquence – température correspondante ($T_{\text{réf}} = 20^\circ\text{C}$) (Choppe et al., 2010)

Pour savoir si les processus de relaxation d'une solution de polymère sont identiques d'une température à une autre, il est nécessaire de construire une courbe **maîtresse fréquence-température**. Une telle construction consiste à appliquer pour les données de la Figure 22a, le **principe d'équivalence temps-température**. Dans un premier temps, il faut fixer une température de référence, $T_{\text{réf}}$. Ensuite, les valeurs de fréquences et de modules obtenues pour les autres températures sont multipliées respectivement par a_T , le facteur de décalage horizontal et b_T , le facteur de décalage vertical, de manière à obtenir une superposition de toutes les courbes.

La courbe maîtresse construite par Choppe et al. (2010) est représentée sur la Figure 22b et permet d'avoir accès à une gamme de fréquences plus large que celle obtenue expérimentalement.

À haute fréquence et basse température, le xanthane se comporte comme un gel faible avec G' supérieur à G'' avec une faible dépendance en fréquence des deux modules. En revanche, la dépendance devient plus importante et G' devient inférieur à G'' à basse fréquence et haute température, ceci donne lieu à un comportement de type liquide viscoélastique.

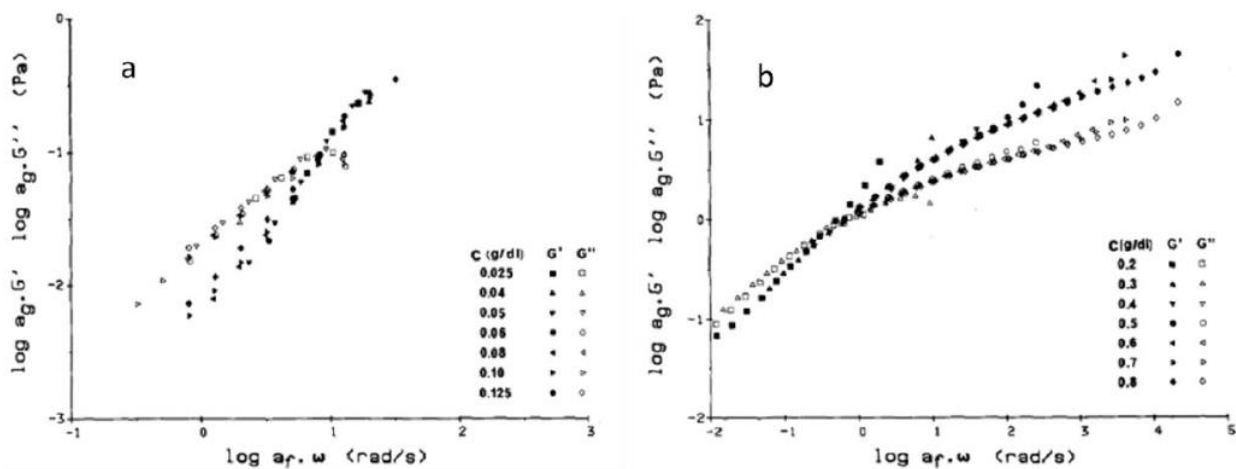
Dans une étude plus ancienne, Rochefort and Middleman (1987) ont évalué les propriétés viscoélastiques du xanthane à 1 g.L^{-1} en absence ou en présence de sel entre 25 et 80°C . Les auteurs ont constaté qu'en absence de sel, les courbes ne se superposent plus à partir de 60°C . Ils ont attribué ces observations à la transition ordre-désordre qui survient entre 40 et 60°C et entraîne une

modification de la structure du xanthane en solution et donc des mécanismes de relaxations associés. Tandis qu'en présence de sel, la construction de la courbe maîtresse est possible vu que la transition est décalée vers 80 °C.

Cependant, ces auteurs ont choisi de faire varier b_T selon la température absolue, en accord avec le modèle de l'élasticité caoutchoutique, même s'il est peu probable que le xanthane obéisse à ce modèle. Ceci explique les contradictions entre ces résultats et ceux de Pelletier et al. (2001), de Choppe et al. (2010) et Renou et al. (2013). Ces derniers ont pu construire une courbe maîtresse unique sur toute la gamme de température étudiée sans impact de la conformation du xanthane. **Ceci indique que les deux conformations ordonnée et désordonnée sont gouvernées par les mêmes mécanismes de relaxation.**

○ *Influence de la concentration sur les propriétés viscoélastiques du xanthane*

Les propriétés viscoélastiques sont fortement influencées par la concentration de polymère en solution et des régimes de concentration associés comme le montre les deux courbes maîtresses suivantes (Figure 23) :



*Figure 23 : Courbe maîtresse fréquence – concentration du xanthane (a) pour $C < C^{**}$ et $Créf = 0,8 \text{ g.L}^{-1}$; (b) pour $C > C^{**}$ et $Créf = 4 \text{ g.L}^{-1}$ (Cuvelier and Launay, 1986)*

En régime dilué et semi-dilué ($C < C^{**}$), le comportement du xanthane en solution est celui d'un liquide viscoélastique avec G' inférieur à G'' sur quasiment toute la gamme de fréquence étudiée (Carriere et al., 1993; Cuvelier and Launay, 1986; Tam and Tiu, 1989; Wyatt and Liberatore, 2009).

En régime concentré ($C > C^{**}$), le comportement bascule de liquide viscoélastique à basse fréquence à gel faible à haute fréquence (Cuvelier and Launay, 1986; Milas et al., 1990; Oviatt and Brant, 1994).

○ *Superposition fréquence-température-concentration*

La construction d'une courbe maîtresse fréquence-température-concentration (Figure 24) à partir des courbes maîtresses fréquence-température à différentes concentrations de xanthane montre une très nette superposition des courbes (Choppe et al., 2010; Renou et al., 2013).

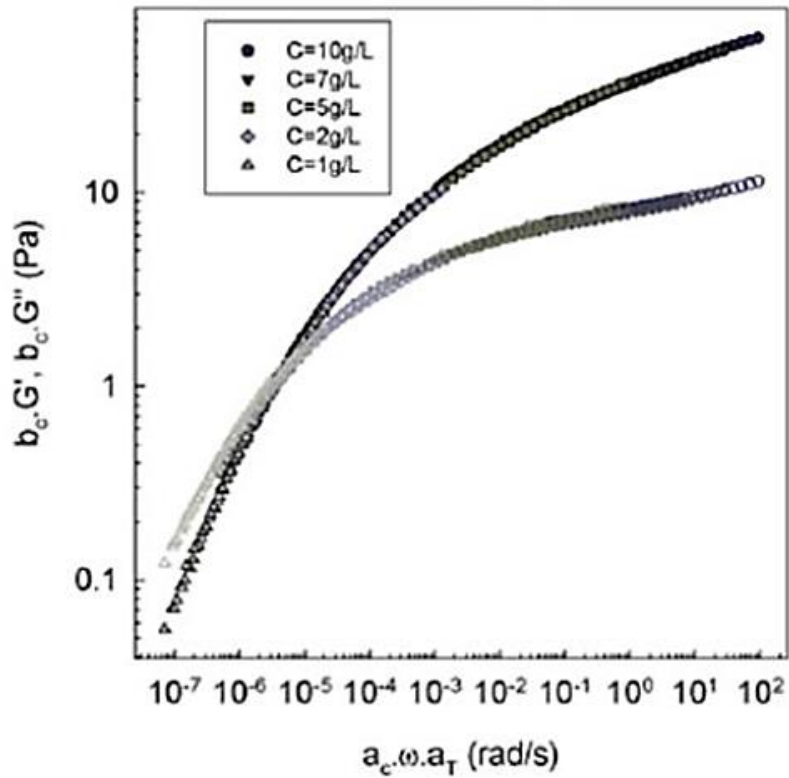


Figure 24 : Courbe maîtresse fréquence-température-concentration avec $Créf = 10 \text{ g.L}^{-1}$ et $Tréf = 20^\circ\text{C}$ (Renou et al., 2013)

Le xanthane présente un comportement de type gel faible à haute fréquence et de type liquide visqueux à basse fréquence. Cette superposition est expliquée par des mécanismes de relaxation identiques, quelles que soient la concentration et la température de la solution.



Conclusion de la partie

Le **xanthane** est un hétéropolysaccharide anionique d'origine bactérienne obtenu par fermentation à partir du *Xanthomonas Campestris*. Sa structure primaire est constituée d'un squelette cellulosique linéaire de β -D-glucose lié en 1-4, dont une unité sur deux est substituée en C3 par une chaîne latérale triosidique, formée par un α -D-mannose, un acide β -D-glucuronique et un β -D-mannose terminal.

En solution, ce polymère hydrophile et hydrosoluble peut adopter **deux conformations** : l'une **ordonnée** sous forme hélicoïdale rigide (à basse température et force ionique élevée) et l'autre **désordonnée** sous forme de pelote flexible (à haute température et faible force ionique). La transition ordre-désordre est réversible et procède à une température de transition conformationnelle **Tm**.

Dans la littérature, deux hypothèses existent sur la **structure secondaire du xanthane** sous conformation ordonnée : une structure en forme d'une simple hélice avec une transition ordre-désordre intramoléculaire ou il s'agit d'une double hélice avec une transition intermoléculaire. Une coexistence des deux formes peut également être possible. En effet, la **structure secondaire est directement liée aux des conditions expérimentales qui gouvernent le cycle de dénaturation-renaturation**.

En plus de ses particularités en tant que **polysaccharide naturel, donc biodégradable, biocompatible, non toxique et non irritant**, le xanthane dans ces deux conformations présente de **propriétés épaississantes et viscosifiantes exceptionnelles** ainsi qu'un comportement fortement rhéofluidifiant faisant de lui un des produits phares de la formulation alimentaire, cosmétique et pharmaceutique ; notamment en tant qu'agent de texture. Ceci motive notre choix de modification du xanthane pour lui conférer d'autres propriétés fonctionnelles.

Partie 2 : État de lieux des différentes voies de modification du xanthane

Depuis sa découverte dans les années cinquante, la gomme de xanthane a été largement étudiée du fait de sa **complexité structurale et conformationnelle** et de son intérêt commercial basé surtout sur ses propriétés épaississantes et viscosifiantes. Néanmoins, ce polymère présente certains inconvénients tels que de faibles propriétés interfaciales (Gunning et al., 1988), une faible vitesse de dissolution (Srivastava et al., 2009) ou encore la possibilité de subir une contamination bactérienne (Abu Elella et al., 2020; Kumar et al., 2018), ce qui ouvre grand la porte devant sa fonctionnalisation pour y remédier. Dans cette partie nous évoquons les différentes **voies de modifications chimiques** du xanthane présentes dans la littérature. Nous verrons que ces différentes voies de modification chimique permettent au xanthane et à ses dérivés d'être envisagés dans de nouvelles applications industrielles telles que le traitement des eaux usées, les applications antibactériennes, l'industrie pétrolière, le domaine pharmaceutique et les applications biomédicales et cosmétiques (Bhat et al., 2022). Doté de plusieurs groupements réactifs sur son squelette, le xanthane peut donc subir différents traitements de modification ou de fonctionnalisation lui permettant d'acquérir de potentielles nouvelles propriétés. Les différentes voies de modification qui ont été exploitées au niveau du xanthane sont résumées dans la Figure 25 et sont détaillées dans les paragraphes suivants.

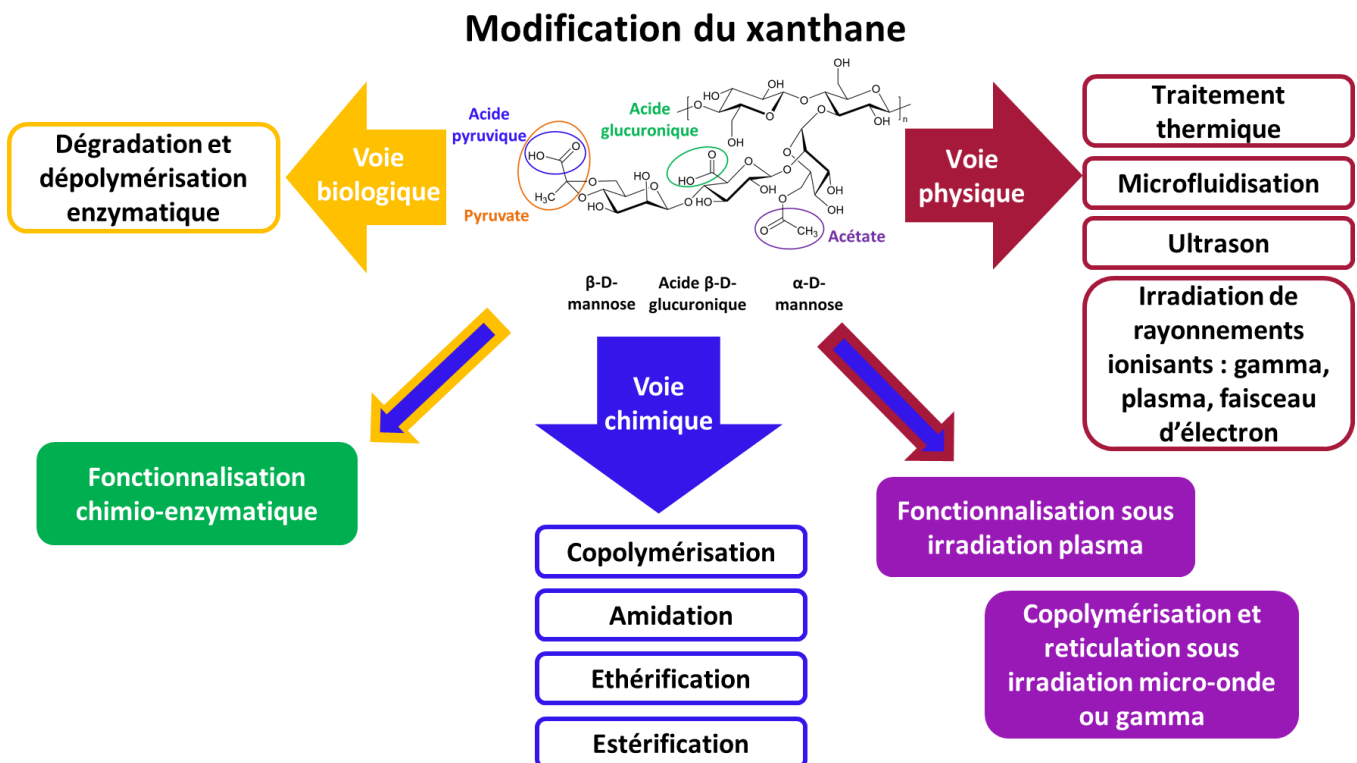


Figure 25: Différentes voies de modifications du xanthane

2.1. Voie physique

Il s'agit là de techniques mécaniques et physiques dans lesquelles aucune entité chimique ou biologique n'intervient autre que la gomme de xanthane. Différentes techniques de modification ont déjà été décrites et exploitées dans la littérature :

Par traitement thermique : le chauffage (« annealing ») d'une solution de xanthane augmente le mouvement libre des chaînes du polymère induisant une baisse des interactions intramoléculaires et une baisse de la viscosité (Iseki et al., 2001; Ong et al., 2018). Ceci est à l'origine du passage de la **conformation d'ordonnée à désordonnée** sous l'effet de l'augmentation de la température.

Un traitement thermique est donc utile pour réorganiser le réseau moléculaire des chaînes : une fois le polymère ait subi le procédé de chauffe et que les chaînes soient en mouvement libre, un simple refroidissement permet le retour des interactions entre les chaînes avec cette fois-ci la possibilité d'obtenir un hydrogel stable (Iijima et al., 2007; Morris, 2019).

Par traitement sous pression, la microfluidisation qui convertit une solution de polymère dans des particules fines stables, peut provoquer sous haute pression, la dégradation des chaînes de polymères et la diminution par la suite de la masse molaire, la viscosité ou encore la viscoélasticité des solutions de xanthanes (Ahmed and Ramaswamy, 2004; Lagoueyte and Paquin, 1998).

Par ultrason : Cette technique utilise les ondes sonores de fréquences très élevées, non perceptibles par l'oreille humaine. Elle engendre la dégradation rapide du polysaccharide au niveau du milieu des chaînes. Pour une exposition longue à l'ultrason, la masse molaire des chaînes est réduite ainsi que la viscosité des solutions. Une baisse de la T_m a également été observée, ce qui s'explique par la diminution des attractions intermoléculaires entre les chaînes dépolymérisées (Li and Feke, 2015; Saleh et al., 2017).

Par irradiation de rayonnements ionisants : Le mode d'action de cette technique sur les polysaccharides se déploie par la scission de chaînes au niveau des liaisons C-O reliant les groupes glycosides à la chaîne principale. Outre la diminution de la masse molaire et de la longueur des chaînes, l'irradiation peut également avoir un impact important sur certaines propriétés du xanthane, telles que son pouvoir **antioxydant** (Yanjie et al., 2010) ou encore ses propriétés rhéologiques (Şen et al., 2016). Comme l'ultrason, elle constitue une technique de **dégradation** et **dépolymérisation** du xanthane sous irradiations gamma (Hayrabolulu et al., 2018; Şen et al., 2016), par faisceau d'électrons (Vieira and Del Mastro, 2003), ou encore sous irradiation plasma (Bulbul et al., 2019).

Il a été également possible d'utiliser les irradiations comme techniques de **modification chimique** ou de **réticulation** sous irradiations gamma (El-Sawy et al., 2020), micro-ondes (Anjum et al., 2015; Makhado et al., 2019) ou encore sous irradiation plasma pour la **fonctionnalisation** des surfaces tel que le greffage d'amine primaire sur le xanthane par un traitement plasma à froid en présence de SiH_xCl_y comme groupements réactifs (Jampala et al., 2005). De telles modifications utilisant des techniques physiques se trouvent parfois catégoriser par certains auteurs dans les voies chimiques en raison de la présence d'autres molécules chimiques pour la fonctionnalisation du polysaccharide.

2.2. Voie enzymatique

La gomme de xanthane est un polysaccharide très stable, qui ne peut être facilement dégradé par la plupart des micro-organismes, cependant certaines enzymes ont été exploitées dans la dégradation du polymère telles que : le Xanthan-lyase (de Sousa et al., 2019; Yang et al., 2014), le xanthanase (Ashraf et al., 2017; Li et al., 2009, 2009), l'acétyl-estérase (Kool et al., 2014b) et la cellulase agissant sur la conformation désordonnée du xanthane (Kool et al., 2013; Rinaudo and Milas, 1980).

Il s'agit d'une catalyse d'une réaction de dépolymérisation en utilisant des enzymes spécifiques ou une combinaison d'enzymes. L'avantage de cette voie de dégradation c'est que l'enzyme agit spécifiquement sur une liaison cible. Par contre, la présence de certains groupements peut ralentir la réactivité d'une enzyme comme c'est le cas des groupements pyruvate présents sur le mannose terminale de la chaîne pendante de xanthane, qui empêchent l'attaque enzymatique sur la chaîne principale, d'où la nécessité de procéder à une modification de la chaîne latérale du xanthane pour favoriser l'accès des enzymes vers la chaîne principale (Cadmus et al., 1982; Riaz et al., 2021).

Outre, la dégradation enzymatique du xanthane, il existe une **voie chimio-enzymatique** de modification qui consiste en une réaction chimique de fonctionnalisation suivie d'une polymérisation enzymatique comme il est décrit dans les travaux d'Arimura et al. (2011) et Kadokawa et al. (2012), permettant l'obtention de xanthane greffé d'amylose.

2.3. Voie chimique

Les réactions chimiques de modifications présentent un intérêt pour le rajout de nouvelles fonctions sur la chaîne de xanthane soit pour la suppression de fonctions préexistantes.

Pour donner un exemple de fonctionnalisation, le traitement du xanthane par le **formaldéhyde** permet l'obtention de groupement acétyl grâce à une réaction entre les groupes OH et les aldéhydes dans un

milieu acide comme l'ont évoqué Su et al. (2003). Cette modification est devenue un outil pour réduire la cristallinité et les interactions intermoléculaires de façon à empêcher la formation d'une couche gélatineuse ou à accélérer la diffusion des molécules au travers de cette couche lors de la solubilisation du polymère. Ceci favorise une **meilleure dissolution** et une **viscosité plus élevée** du xanthane modifié par rapport au non modifié. Le même effet est observé lorsque le xanthane est modifié par l'acide monochloroacétique en milieu basique (Ahuja et al., 2012; Yahoum et al., 2016).

En revanche, il est possible d'ôter les fonctions déjà existantes sur le squelette, tel que la déacétylation qui consiste en l'hydrolyse du xanthane en milieu basique favorisant le départ de groupements acétate (Pinto et al., 2011).

À part les réactions de greffage de simples molécules chimiques, il existe également les réactions de greffage entre le polymère xanthane et un autre polymère tel que :

- **Le poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)** : les copolymères greffés qui découlent, présentent des capacités de transporter un médicament très hydrosoluble, le Levofloxacin, et de permettre sa libération contrôlée en milieu aqueux (Kumar et al., 2017).
- **Le polyalcool vinylique** : les copolymères sont préparés en utilisant un agent de réticulation qui est le glutaraldéhyde, dans le but d'obtenir des microsphères d'encapsulation destinées à la libération contrôlée d'un principe actif, le diclofénac sodique (Ray et al., 2010).
- **Le polyacrylamide** : les copolymères obtenus suite à une irradiation micro-onde permettent une meilleure libération contrôlée de la triamcinolone comme médicament dans des milieux acide ou basique de l'organisme (Anjum et al., 2015).

En effet, deux sites de greffage réactifs sont présents sur le squelette du xanthane : les groupements hydroxyles OH et les groupements acides carboxyliques COOH. Il est donc possible de fonctionnaliser le polymère par rapport à l'un ou l'autre des groupements, ou encore par rapport aux deux en même temps.



À retenir

Dans le cadre de cette thèse, le **greffage de chaînes hydrophobes** sur le xanthane hydrophile représente une piste de modification d'intérêt dans le but de le transformer en un **polysaccharide amphiphile ayant des propriétés de stabilisation d'interface**.

Quelques travaux antérieurs de greffage de longues chaînes alkyles sur le xanthane sont catégorisés suivant le type de la fonction chimique créée : amide, éther et ester.

2.4.1. Amidation par couplage peptidique

Dans le but d'avoir un **greffage sélectif** de chaînes hydrophobes sur le squelette hydrophile du xanthane, des chercheurs ont travaillé sur la modification par réaction d'amidation au niveau des acides carboxyliques (2 groupements COOH VS 11 OH par UR). Roy et al. (2014) ont donc réussi à greffer des chaînes hydrophobes d'octylamine de 8 carbones au niveau des fonctions carboxyliques portées par les acides pyruviques et glucuroniques de la chaîne latérale du xanthane sous sa forme ordonnée hélicoïdale.

La réaction se produit en deux étapes (Figure 26) : 1) l'activation des fonctions carboxyliques dans un milieu acide par un carbodiimide hydrosoluble l'EDAC (1-ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)) et un co-réactif le NHS (N-hydroxysuccinimide) ; 2) la réaction d'amidation entre l'octylamine et les fonctions carboxyles activées.

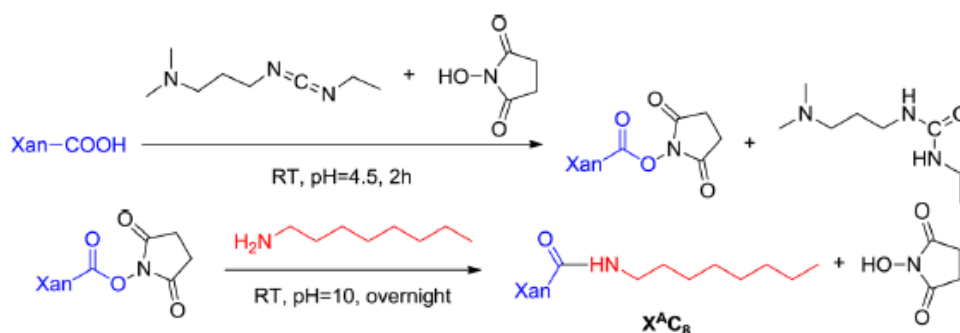


Figure 26: Schéma réactionnel du greffage de l'octylamine sur le xanthane sous forme ordonnée (Roy et al., 2014)

Avec le même type de modification, Fantou et al. (2017) ont continué à explorer le greffage de l'octylamine sur le xanthane, mais cette fois-ci sous sa conformation désordonnée flexible. Cette conformation est atteinte soit dans l'eau à haute température et/ou faible force ionique, soit dans un solvant organique : le diméthylsulfoxyde, DMSO dans lequel le xanthane n'est soluble qu'en état acide.

Ainsi, le xanthane sortant d'une étape préliminaire d'acidification est dissout à 80 °C dans le DMSO pendant 4 heures. Cette température provoque une dépolymérisation du polymère. Une fois la solution retourne à température ambiante, le greffage démarre suite à l'ajout de l'agent de greffage : l'octylamine, l'agent de couplage : le HBTU (O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetraméthyluroniumHexafluorophosphate) et l'agent de déprotonation : le triéthylamine (Figure 27).

Le xanthane modifié sous sa forme désordonnée regagne sa conformation ordonnée une fois dissout dans l'eau.

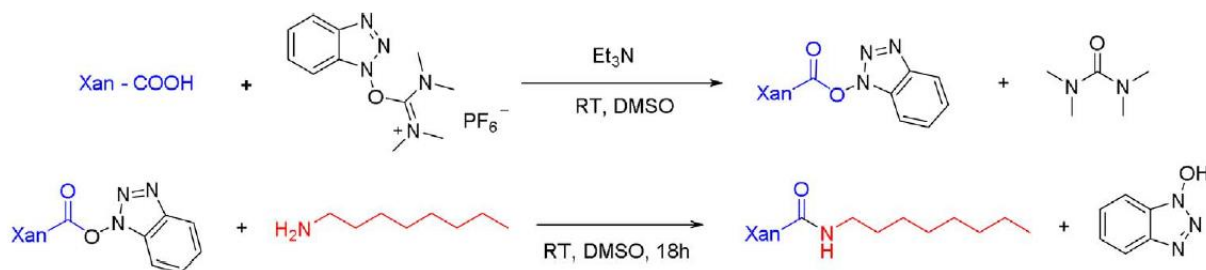


Figure 27 : Schéma réactionnel du greffage de l'octylamine sur le xanthane sous forme désordonnée (Fantou et al., 2017)

Ce mode de greffage par couplage peptidique présente une régiosélectivité particulière vis-à-vis des fonctions portées par le xanthane. Grâce aux greffons, les propriétés d'adsorption du xanthane à l'interface H/E sont fortement améliorées et les dérivés de xanthane hydrophobiquement modifié ont été valorisés dans la stabilisation des émulsions et des interfaces (Fantou et al., 2019a; Roy et al., 2016).

2.4.2. Greffage par éthérisation

Par un bromoalcane

Dans leur étude, Quan et al. (2019) ont procédé par une modification du xanthane sous forme ordonnée via une réaction d'éthérisation entre les groupements hydroxyles et un halogénoalcane à longue chaîne hydrophobe (C16) : le bromohexadécane.

Le xanthane est en premier dissout dans le N-diméthylformamide DMF sous agitation mécanique pendant 12 h sous azote. Cette première étape permet la relaxation de la chaîne du xanthane afin de faciliter au mieux le greffage. Ensuite, la température du milieu est augmentée jusqu'à 60 °C et le pH est rendu alcalin par la soude (Figure 28). Puis le monomère hydrophobe, le bromohexadécane est ajouté au milieu pour une réaction de 9 h sous azote. Le produit greffé est récupéré par précipitation dans l'éthanol et séché 24 h à 90 °C.

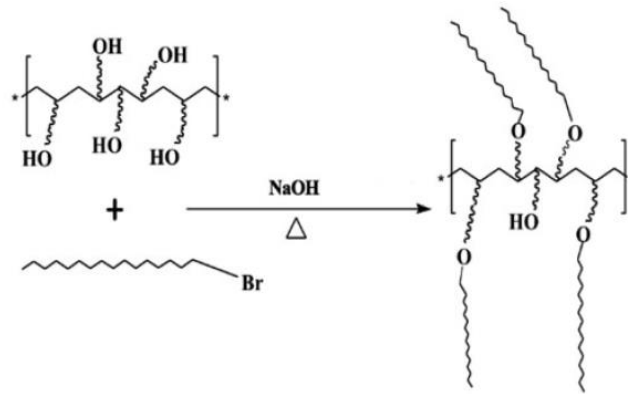


Figure 28 : Schéma réactionnel du greffage du bromohexadécane sur le xanthane sous forme ordonnée (Quan et al., 2019)

Le greffage des chaînes d'alkyle hydrophobes sur le squelette du xanthane réduit faiblement la solubilité du xanthane-C16 surtout à des concentrations élevées. Ensuite, il a été démontré que le polymère greffé présente une plus grande aptitude à établir des associations hydrophobes (avec une concentration d'agrégation critique **CAC** de 0,16 %), ainsi qu'une **meilleure résistance à haute température** et au **sel** comparée au précurseur.

Des analyses de fluorescence par l'ANS (acide 8-anilino-1-naphthalene-sulfonique) et des images issues d'analyse SEM (*Scanning Electron Microscopy*) montrent que la chaîne hydrophile du xanthane natif présente des régions hydrophobes pour des concentrations élevées en solution. Ceci est dû à la présence des liaisons hydrogènes donnant lieu à une conformation spirale de la chaîne cellulosique et permettant la création de domaines hydrophobes dans le réseau de la structure. Bien évidemment, ce dernier devient plus dense permettant d'obtenir un xanthane modifié grâce aux associations hydrophobes intermoléculaires par des liaisons hydrogène.

Outre, des analyses rhéologiques révèlent une meilleure viscosité apparente des xanthanes modifiés grâce aux associations hydrophobes, ce qui réduit le coût d'utilisation de ce polymère.

Par un chloroalcane

Une étude menée par Sara et al. (2020) évoque le greffage de chaînes C8 sur le xanthane par une synthèse de Williamson. L'agent de modification étant un chlorooctane, une réaction d'éthérification se déroule avec les groupes hydroxyles du polymère dans soit l'éthanol soit le DMSO. Une synthèse dans l'éthanol confère au polymère des plus grandes densités de greffage et masse molaire par rapport à la synthèse dans le DMSO. Le xanthane modifié dans l'éthanol présente une CAC plus faible et une capacité de stabilisation d'émulsion plus importante que le xanthane modifié dans le DMSO. Des

analyses thermiques et rhéologiques ont montré que la température de dégradation ainsi que la viscosité diminuent lorsque la densité de greffage est plus faible.

La stratégie de greffage développée par cette équipe occasionne une diminution de la tension de surface en milieu aqueux et une amélioration des propriétés d'adsorption du polymère aux interfaces aqueuse/non polaire.

2.4.3. Greffage par estérification

Par un chlorure d'acyle

L'équipe Mendes et al. (2011) a travaillé sur l'estérification du xanthane par le chlorure de palmitoyle. Les groupes palmitoyles hydrophobes greffés le rendent amphiphile et apte à former spontanément des microcapsules par auto-assemblage. La formation d'une telle matrice stable assure l'encapsulation de cellules vivantes dans des conditions physiologiques.

La réaction de palmitoylation se déroule dans l'eau à basse température entre l'hydroxyle du xanthane et le chlorure de palmitoyle comme agent de greffage pendant 23 h. Le produit modifié est précipité dans de l'éthanol froid. Le schéma réactionnel est présenté sur la Figure 29 :

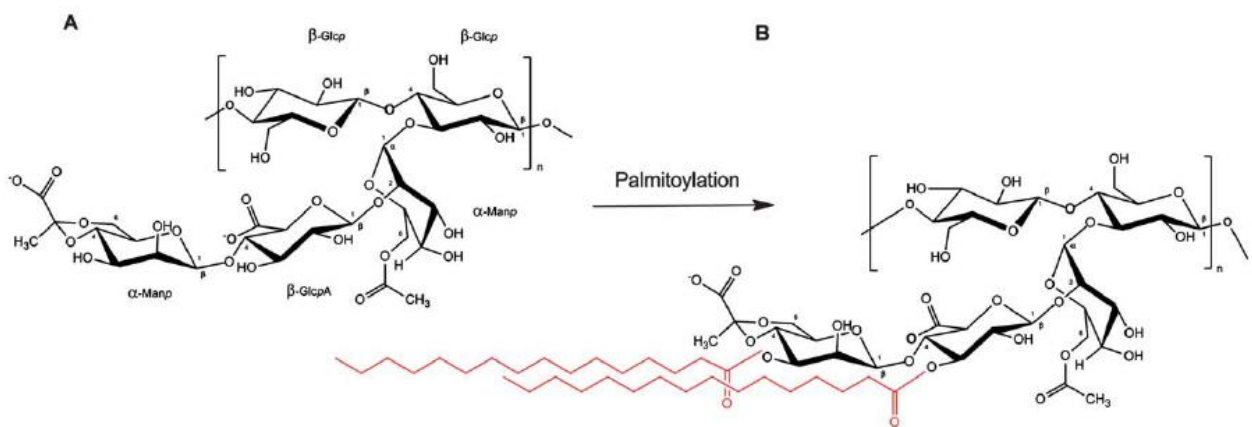


Figure 29 : Réaction du greffage par palmitoylation du xanthane (A) en palmitoyle de xanthane (B) (Mendes et al., 2011)

Plus récemment, Han et al. (2017) ont employé le même type de modification pour obtenir des dérivés d'inuline en milieu aqueux à partir des chlorures d'acyle à différentes longueurs de chaînes alkyles. L'équipe a montré l'efficacité de ces dérivés d'inuline à 10, 12 ou 14 carbones, sur la stabilisation d'émulsions H/E et la formation de gouttelettes de taille de plus en plus petites avec des chaînes alkyles plus longues. En revanche, pour les dérivés à C16, la stabilisation est désormais efficace pour une émulsion E/H.



Conclusion de la partie

Bien que les modifications par voie chimique soient nombreuses, efficaces et parfois même régiosélectives, la plupart des réactions de greffages sont effectuées dans des **conditions incompatibles avec les préceptes de la chimie verte**, avec notamment (a) l'utilisation de solvants organiques coûteux et toxiques, (b) la présence d'agent de couplage, (c) une température élevée ou encore (d) un temps de réaction long. Ces éléments constituent une des principales motivations de notre travail, qui vise à mettre au point de **nouvelles voies chimiques de modifications plus adaptées**, qui à la fois sont efficaces pour améliorer les propriétés du xanthane et répondent aussi aux différents aspects législatifs d'une **chimie verte, durable et responsable**. Ces aspects seront développés dans la partie suivante.

Partie 3 : Greffage par voie verte d'anhydrides succiniques d'alkényles

La stratégie de greffage par estérification utilisant des anhydrides succiniques d'alkényles se développe dans le monde des polysaccharides. Il s'agit d'une réaction d'estérification entre les fonctions OH du xanthane et un anhydride. Avant de détailler comment cette voie a été utilisée pour hydrophobiser des polysaccharides, faisons le point sur différentes modifications du xanthane en présence d'un anhydride simple.

Estérification du xanthane par un anhydride

Des études montrent que le polysaccharide de xanthane a déjà été greffé par l'anhydride maléique (Hamcerencu et al., 2007), par l'anhydride succinique SA (B. Wang et al., 2016) ou encore greffé par le poly(anhydride maléique /1-octadecene) (X. Wang et al., 2016). La Figure 30 montre la réaction entre le xanthane et le SA. Avec un tel type de modification, le nombre des entités ioniques a pu être augmenté suite à un remplacement des -OH par des -COOH via une réaction d'estérification.

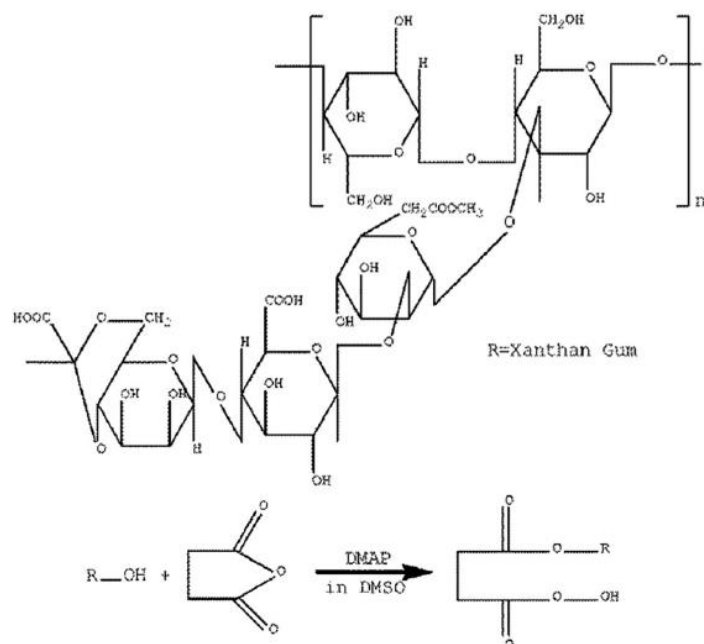


Figure 30: Réaction de greffage de l'anhydride succinique sur la xanthane (R-OH) par succinylation (B. Wang et al., 2016)

Le xanthane modifié présente des modules de stockage G' et de perte G'' plus élevés que ceux du xanthane natif. De cette manière les hydrogels formés par le xanthane modifié sont plus stables et plus élastiques que ceux formés par le natif. Cette propriété est due à une structure rendue plus rigide par

les groupements carboxyles supplémentaires. D'autre part, la présence de nombreuses fonctions acides carboxyliques sur la structure du xanthane, joue un rôle fondamental au niveau des interactions avec un médicament à base de protéines cationiques tel que l'antibiotique gentamicine. Ces interactions polyioniques permettent ainsi la libération du médicament encapsulé par le xanthane (B. Wang et al., 2016).

Cependant les modifications citées précédemment en présence des anhydrides, ne donnent pas des xanthanes hydrophobiquement modifiés d'une part et ne sont pas réalisées dans des conditions simples et respectueuses des principes de la chimie verte d'autre part. Pour cela, la voie est ouverte à une hydrophobisation du xanthane par des anhydrides succiniques d'alkényles (ASA) ayant de longues chaînes alkyles.



En résumé

Les points qui sont abordés dans cette partie donnent une vue d'ensemble sur les **conditions de greffage par les ASA** de plusieurs polysaccharides, les **méthodes** utilisées pour la détermination de l'efficacité du greffage ainsi que sur les **propriétés en solution** et en **émulsion** des biopolymères modifiés via ce type de greffage. Néanmoins, la littérature ne décrit pas de cas de modification du xanthane utilisant les anhydrides dans le but de lui conférer une amphiphilie.

3.1. Polysaccharides modifiés par les ASA

L'utilisation des anhydrides cycliques d'acides carboxyliques comme agent de modification est considérée avantageuse grâce aux conditions douces de réaction et à l'absence de sous-produits d'acide organique. **L'anhydride succinique d'octényle (OSA)** et **l'anhydride succinique de dodécényle (DDSA)** sont les plus utilisés pour greffer hydrophobiquement des biopolymères (Shah et al., 2018).

Le DDSA qui est un agent de réticulation et d'estérification premièrement utilisé avec les biopolymères au milieu du 20^{ème} siècle, présente une chaîne alkyle relativement longue (C12) contrairement à l'OSA avec une chaîne alkyle de 8 carbones. Par conséquent, le DDSA ramène une hydrophobicité plus grande aux protéines et aux polysaccharides sur lesquels il est greffé, ce qui fait de ces dérivés des candidats plus **performants dans l'émulsification** même à des faibles degrés de substitution DS (Soni et al., 2019). Cependant, le DDSA est moins soluble que l'OSA en milieu aqueux, ce qui réduit son utilisation à des quantités limites maximales (Shah et al., 2018).

Les ASA sont des dérivés de l'anhydride succinique dont la synthèse était décrite en 1987 par Ramaswamy et al. Selon le mécanisme réactionnel (Figure 31), la synthèse consiste en une ène-réaction entre l'anhydride maléique et un alcène pétrochimique ou végétal. Dans le cas de la synthèse du DDSA, il s'agit de l'oléfine C12 qui est synthétisée par déshydratation catalytique acide (Al_2O_3) d'un alcool linéaire primaire, l'alcool laurylique (Ramaswamy et al., 1987).

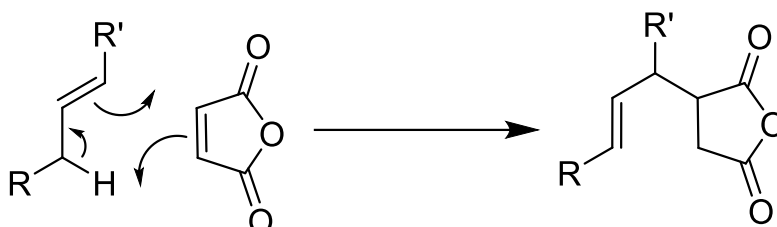


Figure 31 : Synthèse des ASA par une ène-réaction entre l'anhydride maléique et un alcène (oléfine) ; R et R' = H ou chaînes aliphatiques (Ramaswamy et al., 1987)

Dans leur revue Shah et al. (2018) mentionnent qu'il existe plusieurs types de modification des biopolymères par le DDSA :

- Réaction en milieu organique anhydre (DMSO, pyridine)
- Réaction dans un liquide ionique (imidazolium, pyridinium)
- Réaction de traitement de surface
- Réaction par extrusion en absence de solvant et à haute température, $T = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour le DDSA comme anhydride cyclique (Vaidya et al., 2016)
- Réaction en milieu aqueux souvent alcalin

Dans le cadre de ce travail de thèse, c'est la dernière modification qui présente un intérêt particulier. En effet depuis le brevet de Caldwell and Wurzburg en (1953) sur la synthèse en milieu aqueux ou organique de dérivés polysaccharides d'acide carboxylique substitué et le brevet de Ward et al. (2002) sur la production des émulsifiants obtenus suite à la réaction entre des hydrocolloïdes et des anhydrides dicarboxyliques, l'exploitation de cette méthode de greffage ne cesse de s'étendre et d'être optimisée pour répondre au défi actuel de proposer les processus les plus écologiques et les plus verts possibles.

Nous citons donc quelques études non exhaustives sur la modification de certains polysaccharides par des ASA.

L'**amidon** fut l'un des premiers polysaccharides à être modifié par cette méthode (Caldwell and Wurzburg, 1953; Jeon et al., 1999). Les conditions optimales de la préparation de l'ester d'amidon par

un greffage hydrophobe des ASA sur la chaîne principale du polymère dans l'eau sont (1) un pH entre 8,5 et 9 et (2) une température entre 22 et 27 °C (Jeon et al., 1999). L'étude montre également que l'efficacité de la réaction diminue si : (a) le ratio anhydride/amidon augmente, (b) le temps de réaction est prolongé de 6 à 48 h ou (c) la longueur de la chaîne d'alkyle passe de 8 à 18 carbones.

D'autres travaux ont étudié la réaction de greffage à 35 °C entre une suspension d'amidon et de l'OSA préalablement dissout dans l'éthanol (Sweedman et al., 2013) ou encore la réaction d'estérification entre les nanocristaux d'amidon et les DDSA, OSA ou l'acide acétique dans un milieu de réaction vert (Ren et al., 2014). Les conditions optimales de cette dernière étaient (1) un milieu 50/50 : eau/éthanol, un pH de 8,5 à 9,0 et (2) une température de 35 °C.

Autrement, l'estérification des **alkyles polyxylosides** a été effectuée sous l'action de l'anhydride succinique à 110 °C pendant 1 à 8 h sans présence de solvant. Ce processus de synthèse est qualifié comme économique et efficace pour la synthèse de surfactants « verts », respectueux de l'environnement (Renault et al., 2012).

Parmi les polysaccharides les plus connus, il y a la **gomme arabique** (GA) qui une fois hydrophobiquement modifiée, présente un potentiel dans des applications de microencapsulation. Le greffage de GA par le DDSA est exploité par Wang et al. (2014) et représenté par le schéma réactionnel (Figure 32) suivant :

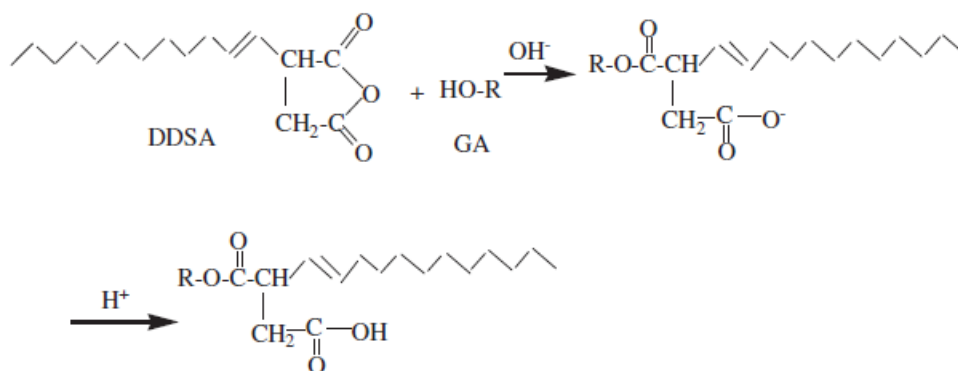


Figure 32 : Schéma réactionnel du greffage de DDSA sur la gomme arabique (R-OH) (Wang et al., 2014)

En s'intéressant toujours à la modification des biopolymères, les travaux de Ehrhardt et al. (1999) sur la synthèse des esters d'inuline greffée par des carboxylates aliphatiques, ont fait le sujet d'un brevet. En absence de solvant, la réaction d'estérification entre les groupements hydroxyles de l'inuline et des

acides carboxyliques saturés présentant entre 2 et 22 carbones prend lieu dans une extrudeuse chauffée entre 100 et 150 °C.

L'une des réactions proposées par l'équipe, l'estérification de l'inuline avec l'anhydride propionique dans l'eau, est menée pendant 24 h à 40 °C en présence d'une résine échangeuse d'ion « Merck ion exchange resin III (OH form) » (Exemple numéro 14 de l'invention (Ehrhardt et al., 1999)). La présence de la résine semble avoir un effet bénéfique au déroulement de la réaction.

En se basant particulièrement sur cette invention, Morros et al. (2011) ont mis en valeur les esters alkyles succiniques d'**inuline**. Ainsi deux cas de figure sont étudiés :

- La réaction de greffage par des anhydrides octényles succiniques (OSA) à 25 °C pendant 8 h dans l'eau pure à pH = 8,3-8,5 montre une efficacité de 94 %. Il est important de noter que la fin de la réaction est détectée lorsque le pH reste constant pendant une heure de réaction.
- La réaction de greffage par des anhydrides dodécényles succiniques (DDSA) dans l'eau à pH = 8,5-9,0 est plus rapide (1 h) et plus efficace en présence du dodecyltriméthylammonium bromide DTAB comme surfactant. Dans ce cas la catalyse micellaire en milieu basique est efficace pour greffer de longues chaînes.

En effet, les molécules de OSA et DDSA ne sont pas totalement solubles dans les milieux aqueux, d'où la nécessité dans certains cas de procéder à une dissolution préalable ou à l'utilisation d'additifs, tels que le DTAB qui est un surfactant cationique favorisant la solubilisation du DDSA dans l'eau. Il est éliminé en fin de réaction par échange cationique sur une colonne.

Une autre équipe s'est aussi intéressée aux biosurfactants **d'inuline** modifiée par l'OSA ou le DDSA. La réaction implique les groupements hydroxyles de l'inuline et elle est décrite comme non spécifique. Son efficacité varie entre 59 et 95 % (Kokubun et al., 2013). Cette méthode de greffage montre que l'OSA-inuline et le DDSA-inuline sont produits en milieu aqueux alcalin et constitue un procédé de synthèse « vert », respectueux de l'environnement et faiblement consommateur d'énergie (Kokubun et al., 2018).

Un autre biopolymère, **l'alginate**, est également concerné par la modification par les anhydrides succiniques (Figure 33). Le greffage est réalisé en milieu aqueux neutre pendant 4 h de réaction à 30 °C. Ces conditions de travail sont respectueuses des principes de chimie verte. L'estérification se fait

généralement au niveau des groupements hydroxyles secondaires en position C2 et C3 et/ou des groupes carboxyles (Falkeborg et al., 2015; Falkeborg and Guo, 2015).

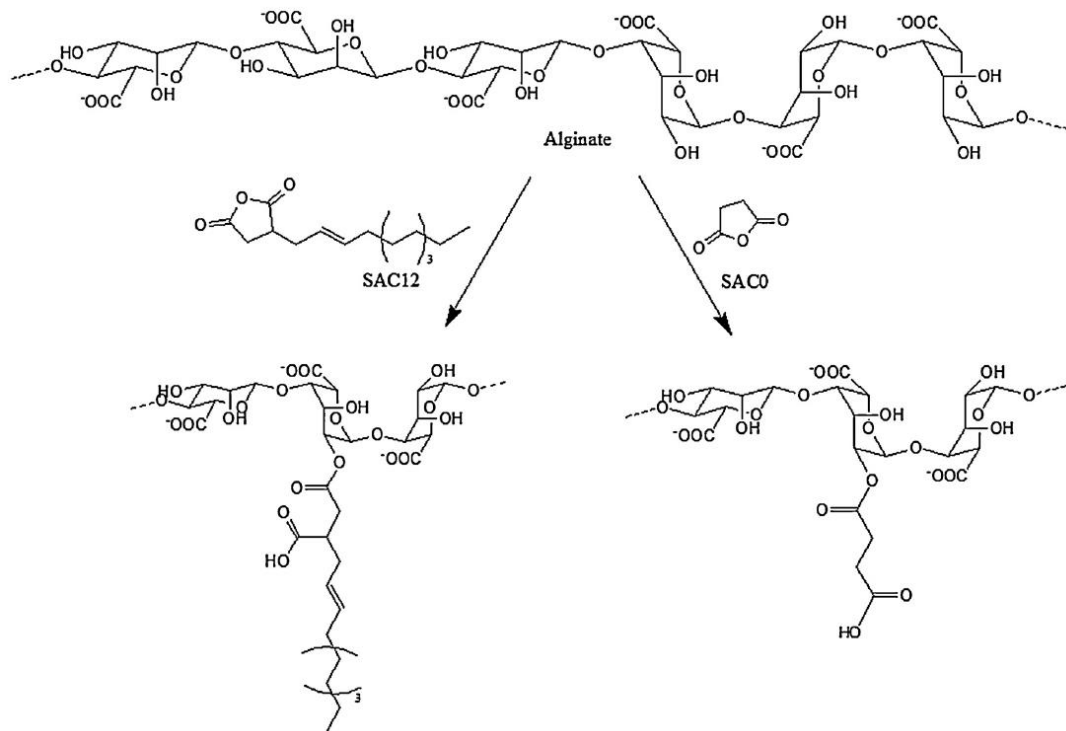


Figure 33 : Schéma réactionnel du greffage de l'anhydride succinique (SAC0) ou de l'anhydride succinique de dodécényle (SAC12) sur l'alginate (Falkeborg et al., 2015)

D'autres études montrent que les anhydrides alkényles succiniques ont été greffés par estérification aux polysaccharides suivants :

- La **gomme de Karaya** dans un milieu aqueux alcalin de pH = 8,5 après 7 à 8 h de réaction à 25 °C (Padil et al., 2015b)
- L'hydrolysate de la **gomme de Guar** à 45 °C pendant 2 h en présence de bicarbonate de sodium NaHCO₃ (Soni et al., 2019)
- La gomme de **cajou** (Biswas et al., 2020)
- L'acide **hyaluronique** (Tommeraaas and Eenschooten, 2012)
- La pectine (Chen et al., 2015)
- L'agarose (Xiao et al., 2019)
- Le pullulane (Omar-Aziz et al., 2020)
- La gomme de kondagogu (Venkateshaiah et al., 2021)
- Le xyloglucane de graine de tamarin (Dilbaghi et al., 2020).

Après avoir vu plusieurs polysaccharides modifiés par des anhydrides succiniques d'alkyles et les conditions de synthèse, le paragraphe suivant se focalise sur un aspect analytique décisif, quels que soient les processus de fonctionnalisation envisagés : la **caractérisation de la densité de greffage**.

3.2. Méthodes de détermination de la densité de greffage DS

Les modifications mentionnées précédemment nécessitent des analyses pertinentes afin de valider la réactivité du greffage. Il s'agit principalement des **analyses infrarouges** pour la détermination de pics caractéristiques d'une part et d'autre part des analyses en **spectroscopie RMN du proton ¹H** et des **dosages chimiques** pour la détermination de la **densité de greffage de chaînes hydrophobes**.

3.2.1. Détermination qualitative des pics caractéristiques

Plusieurs équipes utilisent les analyses de **spectroscopie infrarouge** par transformée de fourrier FTIR pour vérifier de manière simple et rapide la présence ou non de pics correspondants aux chaînes hydrophobes. Les pics caractéristiques repérés dans la littérature sont mentionnés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Pics correspondants aux groupements fonctionnels au niveau des polysaccharides greffés par le DDSA

Fonctionnalité	ν (cm ⁻¹)	Littérature
Liaison ester du carbonyle (-COOH)	1743	(Soni et al., 2019)
	1720-1740	(Wang et al., 2014)
	1728	(Falkeborg and Guo, 2015)
	1727	(Padil et al., 2015a)
Relaxation du carbonyle (C=O) d'un ester	1732	(Ren et al., 2014)
	1726	(Padil et al., 2015b)
	1724	(Kokubun et al., 2013)
Relaxation asymétrique d'un carbonyle (COO ⁻)	1572	(Padil et al., 2015b)
	1571	(Kokubun et al., 2013)
Acides libres des greffons (free acids)	1649	(Falkeborg and Guo, 2015)
Déformation (C-H) dans =CH et -CH	1400	(Soni et al., 2019)
Relaxation (C-H) de CH ₃ et CH ₂ (fractions d'alcane du DDSA)	2850-2990	(Soni et al., 2019)
	2925-2854	(Falkeborg et al., 2015)
Relaxation de C-H aliphatique des substituants alkyles	2932	(Padil et al., 2015b)

L'absence de pics de C=O à 1855 et 1781 cm^{-1} et de C-O à 1070 cm^{-1} permet de s'assurer de l'absence des résidus anhydrides dans le produit final (Falkeborg and Guo, 2015). Autrement, l'absence de résidus de OSA ou DDSA dans le produit final peut également être évaluée en fin de réaction par des mesures en HPLC (Morros et al., 2011).

3.2.2. Quantification du taux de greffage

Le **DS** est une grandeur qui pour un polysaccharide représente soit le **degré de substitution** en groupements spécifiques (ex : acétate et pyruvate dans cas du xanthane), soit la **densité de greffage** des chaînes hydrophobes. Pour ce dernier cas, le DS impacte directement les propriétés d'un polymère. À titre d'exemple, un **DS élevé** confère au polymère un *pouvoir suspensif accru des dérivés, ralentit très fortement la dynamique de relaxation des chaînes amphiphiles, diminue la concentration d'agrégation critique et augmente l'adsorption du polymère à l'interface eau-huile* (Fantou, 2018) ou encore *améliore l'activité de surface d'un polymère* (Ehrhardt et al., 1999). De ce fait, il est indispensable de déterminer la valeur du DS de la manière la plus fiable et la plus précise possible.

La spectroscopie RMN du proton ^1H au niveau du xanthane fut utilisée au départ pour déterminer qualitativement et attribuer les pics acétate (2.09 ppm) et pyruvate (1.4 ppm) présents sur ce polymère (Morris et al., 1977; Paradossi and Brant, 1982). Ensuite, la première quantification des proportions d'acétate et pyruvate fut développée par Rinaudo et al. (1983). Des conditions particulières ont été exigées pour cette analyse : 1) baisser la viscosité des solutions de xanthane en procédant par une hydrolyse enzymatique partielle et en réalisant l'acquisition à haute température (90 °C), 2) déterminer chimiquement suite à un titrage acido-basique la proportion en acétate afin de pouvoir calculer la quantité relative de pyruvate. Depuis ces travaux, il a été possible de s'affranchir du dosage en utilisant une référence interne par exemple le TSP (0 ppm) ou l'acétate de sodium (1.8 ppm) (Aguni, 2009; Esquenet, 2003; Roy, 2015). Cependant, la baisse de la viscosité reste indispensable pour mener cette quantification ce qui nécessite souvent une dépolymérisation partielle ou totale du polymère modifié. Parmi les conséquences, les valeurs récoltées incluent non seulement le nombre des greffons en soi, mais aussi les fractions molaires des différentes fonctionnalités des unités de répétition.

Néanmoins, la RMN reste une méthode de caractérisation à la fois qualitative et quantitative fiable et précise qui a été largement employée pour quantifier le DS des dérivés succiniques de différents polymères (Falkeborg et al., 2015; Falkeborg and Guo, 2015; Han et al., 2017; Kokubun et al., 2013; Morros et al., 2011; Padil et al., 2015b; Sara et al., 2020; Sweedman et al., 2013; B. Wang et al., 2016;

Ward, 2002). Certains travaux montrent qu'il est également possible de déterminer le DS par HPLC, électrophorèse capillaire (Stojanovic et al., 2005) ou chromatographie gaz GC (Renault et al., 2012).

D'autres méthodes analytiques sont également envisageables et ne requièrent pas de matériel coûteux, ni d'étape de dépolymérisation préalable du polymère (Stojanovic et al., 2005). Certaines de ces méthodes sont énumérées ci-dessous :

1. Le titrage direct des groupes carboxyles avec une solution de soude à molarité connue
2. Le titrage en retour (*back titration*) qui est la méthode recommandée par l'ISO/TC 93/WR3
3. La méthode de précipitation par le sel de cuivre et un titrage en retour par l'EDTA
4. La méthode colorimétrique de précipitation à l'acide J et au nitrate d'uranyle.

Ainsi, l'équipe Stojanovic et al. (2005) a travaillé sur l'amidon carboxyméthylé. Les DS obtenus par les trois premières méthodes citées ci-dessus révèlent des valeurs très hétérogènes en particulier dans le cas d'échantillons pour lesquels les densités de greffage sont élevées. Cependant, la méthode de titrage en retour confirmée par l'ISO/TC 93/WR3 semble la plus adaptée.

Ultérieurement, l'équipe Plate et al. (2012) compare deux méthodes de détermination du DS de l'OSA sur l'amidon. La première est **approuvée en 2009 par la FAO** (Food and Agriculture Organization of the United Nations), elle consiste en deux étapes : l'acidification des groupes carboxyliques libres suivie d'un titrage basique. Cette méthode multi-étapes est relativement longue et implique l'utilisation d'une **grande quantité de solvant** (ici le 2-propanol) pour le lavage.

Une deuxième méthode plus simple est utilisée par Bhosale and Singhal (2006) qui requiert moins d'étapes et nécessite donc moins de temps. Celle-ci repose sur le principe de la saponification des OSA et la quantification du taux de base consommée.

Dans certains cas, les valeurs de DS fournies par cette dernière s'avèrent supérieures à celles obtenues avec la méthode de la FAO. L'équipe a confirmé que la méthode de Bhosal et Singhal surestime le DS pour les amidons hydrolysés. Ceci est dû aux saccharides réducteurs présents dans le milieu.

La méthode décrite par Bhosal et Singhal permet une détermination rapide et facile du DS seulement au niveau des amidons non hydrolysés. Pour les amidons hydrolysés, la méthode de la FAO reste la plus adaptée.

Le titrage acido-basique fut une méthode fréquemment exploitée par plusieurs autres équipes (Chen et al., 2014; Falkeborg and Guo, 2015; Jeon et al., 1999; Morros et al., 2011; Padil et al., 2015b, 2015a;

Ren et al., 2014; Sara et al., 2020; Soni et al., 2019; Wang et al., 2014) pour la détermination du DS ou autrement du pourcentage d'hydrophobie des biopolymères modifiés.



À retenir

Chacune des méthodes de détermination de DS présente des avantages et des inconvénients. Cependant, pour avoir à la fois une **analyse qualitative et quantitative** du greffage, l'analyse RMN reste la méthode la plus fiable si aucune dépolymérisation préalable n'est exécutée.

Finalement, il existe plusieurs facteurs qui influencent la densité de greffage d'un biopolymère tels que :

- La **concentration des greffons**, les anhydrides succiniques d'alkyles (Morros et al., 2011; Shah et al., 2019; Soni et al., 2019)
- Le **ratio molaire** (Falkeborg et al., 2015)
- Le **pH** du milieu réactionnel (Morros et al., 2011; Shah et al., 2019)
- La **durée** de la réaction (Falkeborg et al., 2015; Morros et al., 2011; Shah et al., 2019)
- La **température** de la réaction (Falkeborg et al., 2015; Morros et al., 2011; Shah et al., 2019)
- Les **additifs** ajoutés à la réaction et leur concentration : DTAB (Morros et al., 2011), NaHCO₃ (Soni et al., 2019)
- La présence ou non d'un **prétraitement thermique** du polymère (Chen et al., 2014)

À titre d'exemple, un prétraitement hydrothermique à 60 °C de l'amidon de maïs induit une augmentation du degré de substitution lors du greffage par l'OSA. Par contre, il existe deux méthodes de traitement hydrothermique qui sont capables de modifier les propriétés physico-chimiques sans pour autant détruire la structure des grains, à savoir le traitement à l'humidité et à la chaleur, HMT (*Heat-moisture treatment*) et le traitement par recuit, ANN (*annealing*). Ces traitements influencent particulièrement les domaines amorphe/cristallin et engendrent souvent un gonflement des grains. Ainsi les grains sont plus accessibles à la pénétration des gouttelettes d'OSA. Ceci explique la meilleure efficacité de greffage (Chen et al., 2014).



En résumé

Quelle que soit la technique utilisée, la détermination de la densité de greffage constitue un paramètre essentiel dans la compréhension du comportement des polymères modifiés en solution et en émulsion.

3.3. Conséquences de la modification sur les propriétés du polymère

3.3.1. Propriétés intrinsèques en solution

Un greffage de résidus hydrophobes sur les polysaccharides engendre sûrement des modifications des propriétés que ce soit sur leur forme poudre ou dissoute en solution. Ainsi, de nouvelles propriétés peuvent apparaître pour offrir à ces polysaccharides hydrophobiquement modifiés de nouveaux horizons d'application. Dans les paragraphes suivants, nous présentons certains de ces aspects :

1. Une approche visuelle sur la **morphologie des surfaces** pour le polymère natif ou modifié peut être évaluée par une analyse SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Le greffage change la morphologie de surface par exemple de la gomme de karaya et donne lieu à une structure plus poreuse avec plus de cavités (Padil et al., 2015b).
2. Une amélioration de la **dispersibilité** des polymères dans les solvants non polaires est observée. En effet, les polysaccharides à l'état natif sont polaires et hydrophiles ; ils présentent donc une faible dispersibilité dans les solvants non polaires et une difficulté à s'assimiler à des entités hydrophobes. Cependant, le fait de greffer des chaînes alkyles hydrophobes sur le squelette du polymère :
 - Procure une meilleure dispersibilité au sein de solvants non polaires, tels que le chloroforme, le dichlorométhane et le toluène. Ce changement est d'autant plus poussé que le nombre et la longueur des greffons sont plus élevés comme c'est le cas les nanocristaux d'amidon modifié (Ren et al., 2014).
 - Permet une meilleure affinité du polymère modifié en contact avec une surface non polaire, validée par un angle de contact plus faible que celui du polymère non modifié, tel qu'observé pour l'alginate (Falkeborg and Guo, 2015).
3. Une amélioration du caractère associatif liée à la **concentration d'agrégation critique CAC**. Il a été constaté que la CAC diminue avec l'augmentation du degré de modification (Kokubun et al., 2013; Wang et al., 2014) et également avec l'augmentation de la longueur de la chaîne d'alkyle du greffon (Han et al., 2017; Kokubun et al., 2018, 2013). Le polymère présente alors un caractère associatif plus important en solution.

4. Un maintien ou un changement des propriétés rhéologiques : par exemple pour la gomme de karaya, le comportement d'écoulement reste le même, cependant les mesures montrent une viscosité apparente du polymère modifié supérieure à celle du polymère non modifié, cela est expliqué par une masse molaire plus élevée pour le polymère greffé (Padil et al., 2015b).

3.3.2. Application des polysaccharides amphiphiles à la stabilisation d'émulsions

La modification des biopolymères tels que l'amidon, l'inuline, l'alginate, la gomme de guar ou de karaya et la gomme arabique, par les anhydrides succiniques d'alkyles, OSA et DDSA, permet l'obtention des **polymères amphiphiles**. Les émulsifiants issus de polysaccharides naturels sont utiles pour des applications alimentaires et non alimentaires telles que la récupération du pétrole et la polymérisation en émulsion (Padil et al., 2015a). L'une des applications les plus valorisantes et prometteuses des polysaccharides hydrophobiquement modifiés est la **stabilisation des émulsions huile dans eau H/E** (Ward, 2002).

Les émulsions H/E sont des systèmes hétérogènes de dispersion des gouttelettes d'huile dans une phase continue aqueuse. Les **émulsions conventionnelles** sont thermodynamiquement instables et se séparent assez rapidement en deux phases non miscibles. Néanmoins, l'ajout d'un agent de stabilisation pendant le processus d'émulsification, permet l'obtention d'émulsions H/E cinétiquement stables (Bouyer et al., 2012; Falkeborg and Guo, 2015).

Dans le monde industriel, il y a principalement deux types de stabilisateurs, les agents épaississants et les émulsifiants :

- Les **épaississants** apportent de la viscosité à la phase aqueuse des émulsions et ralentissent le crémage des gouttelettes d'huile.
- Les **émulsifiants** s'adsorbent à l'interface eau-huile, en tant que molécules amphiphiles dont l'activité de surface est importante et forment un film protecteur autour des gouttelettes d'huile. Ceci empêche l'agrégation et stabilise l'émulsion.

Les **biopolymères amphiphiles** issus des hydrocolloïdes naturels sont utilisés comme épaississants et émulsifiants dans des secteurs alimentaire et non alimentaire pour leur **non toxicité, biodégradabilité, disponibilité et leurs propriétés physicochimiques** intéressantes (Falkeborg et al., 2015; Kokubun et al., 2013; Padil et al., 2015b; Sweedman et al., 2013).

Ils possèdent également un potentiel particulier dans l'**encapsulation** de composés lipophiles non polaires (Sweedman et al., 2013) tels que des protéines de soja (Soni et al., 2019) ou de substances actives comme la beta carotène (Kokubun et al., 2018).

Certains de ces polymères modifiés dévoilent des propriétés supplémentaires à la stabilisation des émulsions et des interfaces, telles que l'effet **antioxydant** parfois exigé dans l'industrie alimentaire. À titre d'exemple, Falkeborg and Guo (2015) ont montré l'efficacité de l'alginate greffé par l'anhydride dodécényle succinique (DDSA) à rivaliser avec les acides salicyliques dans les réactions avec des radicaux hydroxyles et ainsi à protéger les lipides contre l'oxydation dans un système huile de poisson-eau.



En résumé

La voie de greffage des polysaccharides par les anhydrides succiniques d'alkyles, OSA et DDSA permet entre autres d'acquérir des propriétés émulsionnantes. Il est maintenant nécessaire de vérifier si le procédé de greffage choisi est en accord avec l'objectif primordial de cette thèse qui est de travailler avec un procédé de greffage qui respecte au mieux les aspects législatifs et environnementaux d'une chimie verte et écologique.

3.4. Législations et considérations environnementales

Dans la politique d'une chimie verte et durable, la recherche scientifique est confrontée à des limitations basées sur les douze commandements de la chimie verte (Tableau 8).

Les méthodes de greffage par couplage peptique qui ont été développées au sein de notre laboratoire par Roy (2015) et Fantou (2018) lors des travaux antérieurs à cette thèse présentent malgré leur sélectivité et leur efficacité, des inconvénients vis-à-vis de la chimie verte : a) l'utilisation de solvant organique, le DMSO, (b) la présence d'agents de couplage, les carbodiimides, (c) une température élevée, (d) un temps long de réaction et de récupération, (e) une réaction multi-étapes avec l'utilisation de plusieurs réactifs.

Ainsi le défi serait de mettre au point une méthode de synthèse plus douce et plus respectueuse de l'environnement.

Tableau 8 : Liste des 12 principes de la chimie verte (Poliakoff et al., 2002)

Green chemistry principles

1. It is better to prevent waste than to treat or clean up waste after it is formed.
2. Synthetic methods should be designed to maximize the incorporation of all materials used in the process into the final product.
3. Wherever practicable, synthetic methodologies should be designed to use and generate substances that possess little or no toxicity to human health and the environment.
4. Chemical products should be designed to preserve efficacy of function while reducing toxicity.
5. The use of auxiliary substances (e.g., solvents, separation agents, and so forth) should be made unnecessary wherever possible and innocuous when used.
6. Energy requirements should be recognized for their environmental and economic impacts and should be minimized. Synthetic methods should be conducted at ambient temperature and pressure.
7. A raw material or feedstock should be renewable rather than depleting wherever technically and economically practicable.
8. Unnecessary derivatization (blocking group, protection/deprotection, temporary modification of physical/chemical processes) should be avoided whenever possible.
9. Catalytic reagents (as selective as possible) are superior to stoichiometric reagents.
10. Chemical products should be designed so that at the end of their function they do not persist in the environment and break down into innocuous degradation products.
11. Analytical methodologies need to be developed further to allow for real-time in-process monitoring and control before the formation of hazardous substances.
12. Substances and the form of a substance used in a chemical process should be chosen so as to minimize the potential for chemical accidents, including releases, explosions, and fires.

La méthode que nous prétendons exploiter, vise le greffage des anhydrides succiniques d'alkyle dans un **milieu aqueux** sans solvant organique et à des **températures proches de l'ambiante**. En plus le **temps de réaction** est relativement court ainsi que le protocole de récupération du polysaccharide modifié est rapide et simple. De cette manière, les **principes 5 et 6** de chimie verte seront respectés par rapport à l'ancienne méthode de greffage. En plus, il s'agit d'une **synthèse mono-étape** dans laquelle seuls deux réactifs sont employés, le xanthane et l'ASA, et incorporés dans le produit final, ce qui répond au **second principe** de la chimie verte, contrairement à l'ancien protocole. Ensuite, concernant l'origine des réactifs utilisés, le xanthane est un polysaccharide naturel produit par des bactéries alors que les ASA sont historiquement synthétisés à partir de produits pétro-sourcés : l'anhydride maléique et les oléfines. Néanmoins, des études montrent qu'il est possible d'obtenir des oléfines à partir des huiles végétales telles que l'huile de tournesol (Quesada et al., 2003) et que l'anhydride maléique qui à la base est produit à partir du benzène et du n-butane, peut être synthétisé selon des procédés verts à partir du furfural issu de la biomasse (Lan et al., 2014; Li et al., 2018). Ceci répond au **principe 7** de la chimie verte. **Par conséquent, ce processus de synthèse de biopolymères hydrophobiquement modifiés est qualifié comme économique et efficace pour la synthèse de surfactants verts, respectueux de l'environnement et faisant appel à des procédés économes en énergie** (Kokubun et al., 2013).

Certains polymères modifiés tels que les dérivés octényles succiniques de l'amidon sont déjà couramment employés dans des applications industrielles. Néanmoins, des restrictions élaborées en 1994 par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux, la FDA (U.S. Food and Drug Administration), sont en vigueur. Ainsi, un **DS = 0,02** (équivalent à un ajout de **3 % massique de OSA** par rapport à la masse de l'amidon) représente la limite autorisée par la FDA (FDA, 1994; Plate et al., 2012; Shah et al., 2018).

Ultérieurement pour travailler dans un cadre de synthèse verte, il serait indispensable de contrôler l'absence de sous-produits toxiques et indésirables d'une part et d'étudier la biodégradabilité des produits élaborés d'autre part, afin de valider le **principe 10** de la chimie verte.

À ce propos, des estimations de biodégradabilité sont élaborées par Morros et al. (2011). L'équipe mentionne que les molécules obtenues suite au greffage (Esters octényles et dodécényles succiniques d'inuline) sont suggérées être plus **biodégradables** que les éthers β -hydroxyalkyle inuline à cause de la simplicité de clivage au niveau des liaisons esters. Dans une autre étude portant sur la modification de la gomme de kondagogu par les ASA, la biodégradation du polysaccharide non modifié et modifié a été évaluée selon la méthode standard européenne basée sur la norme ISO 14851:1999. Il a été montré que les dérivés de kondagogu présentent une excellente biodégradabilité dans des conditions aérobies (Venkateshaiah et al., 2021).



Conclusion de la partie

Nous avons vu dans cette partie une voie de greffage de polysaccharides par estérification par des anhydrides succiniques d'alkényles, qualifiée comme une modification chimique verte respectueuse de l'environnement réalisée dans des conditions simples et douces. Nous avons vu également qu'il existe différentes techniques pour caractériser le taux de greffage dont la RMN qui est une méthode qualitative et quantitative fiable et précise. Les polysaccharides obtenus sont hydrophobiquement modifiés et présentent des propriétés recherchées dans le cadre de cette étude pour le polymère xanthane, en particulier une aptitude à la stabilisation des émulsions et un abaissement de la tension superficielle / interfaciale.

Dans la partie suivante, on s'attarde à expliquer les émulsions et leurs phénomènes de stabilisation.

Partie 4 : Émulsions

4.1. Définition et classification

Selon l'IUPAC, les **émulsions** constituent une dispersion d'un liquide ou d'un cristal liquide sous forme de fines gouttelettes (milieu dispersé interne) dans un autre liquide dispersant (milieu continu externe) avec lequel il est spontanément non miscible (Everett and Koopal, 2001). Au niveau macroscopique, les émulsions apparaissent comme homogènes alors qu'au niveau microscopique, elles restent hétérogènes (Sjöblom, 2006). Ce sont des systèmes colloïdaux thermodynamiquement instables dans lesquels les phases tendent à se séparer au cours du temps pour réduire la surface interfaciale totale du système (Kabalnov, 1998; Salager, 1988; Tadros, 2009).

Il s'agit donc d'un mélange entre deux ou plusieurs liquides :

- À **caractère hydrophile** (ou lipophobe) constituant la phase aqueuse (désignée par le symbole E) ;
- À **caractère hydrophobe** (lipophile) constituant la phase organique huileuse ou grasse (désignée par le symbole H).

Chacune de ces phases peut contenir différents composés (agents de texture, colorants, conservateurs, parfums, vitamines ...) en fonction des propriétés finales recherchées selon le domaine d'utilisation de l'émulsion (alimentaire, pharmaceutique, cosmétique, phytosanitaire ou autre) (Tadros, 2010).

Selon la complexité de l'émulsion, deux catégories sont décrites : les émulsions simples contenant deux phases et les émulsions multiples comportant trois phases différentes (Figure 34).

Parmi les **émulsions simples**, il existe deux types :

- Les émulsions **huile dans eau (H/E)** pour lesquelles la phase huileuse est dispersée dans la phase aqueuse. Elles sont également appelées émulsions directes.
- Les émulsions **eau dans huile (E/H)** pour lesquelles la phase aqueuse est dispersée dans la phase huileuse. Elles sont connues sous le terme d'émulsions inverses (Salager et al., 2006).

Pour les **émulsions multiples**, il s'agit de systèmes multiphasiques complexes représentant une émulsion dans laquelle les gouttelettes contiennent elles-mêmes une émulsion. Ainsi, une première émulsion, E/H ou H/E, est dispersée dans une nouvelle phase continue respectivement aqueuse ou huileuse. Ceci donne finalement place soit à une émulsion eau dans huile dans eau E/H/E ou à une émulsion huile dans eau dans huile H/E/H (Khan et al., 2006; Klojdová et al., 2019; Schmidt et al., 2015).

Emulsions simples		Emulsions multiples	
a) H/E	b) E/H	c) E/H/E	d) H/E/H

Figure 34 : Principales configurations d'une émulsion : simple ou double. a) huile dans eau (H/E); b) eau dans huile (E/H); c) Eau dans huile dans eau (E/H/E); d) Huile dans eau dans huile (H/E/H)

Il est également possible de distinguer les émulsions en fonction de la taille des gouttelettes : les **macroémulsions** ($> 1 \mu\text{m}$, d'apparence opaque) et les **nanoémulsions** ($< 100 \text{ nm}$, d'apparence transparente à légèrement turbide). Ces deux sous-catégories de systèmes dispersés biphasiques sont thermodynamiquement instables (Salager et al., 2006) contrairement aux **microémulsions** (microdomaine de 10 à 50 nm, d'apparence transparente ou translucide) qui se forment spontanément et font partie d'une catégorie différente : celle des systèmes monophasiques thermodynamiquement stables (Salager et al., 2001). Dans le cadre des travaux de la thèse, seules les macroémulsions H/E sont considérées.

4.2. Préparation d'une dispersion

Pour un système dispersé biphasique, les phases ne peuvent se mélanger que sous l'effet d'un **apport énergétique** fourni par action mécanique du procédé d'émulsification. En effet, la taille et la distribution de la phase dispersée d'une émulsion dépend du mécanisme et de la puissance de scission des gouttelettes. Il s'avère également que la stabilité de l'émulsion ne dépend pas seulement des propriétés de l'émulsifiant, mais également des paramètres du procédé d'émulsification (Schubert and Engel, 2004).

Les procédés d'émulsification les plus employés sont les suivants :

- **L'agitation mécanique** utilisant des systèmes disperseur-mélangeur à cisaillement modéré tels que les mobiles d'agitation radiaux (pale, hélice, défloculeuse) ou bien avec les homogénéiseurs tels que le système **rotor-stator** à très fort cisaillement. C'est logiquement le système rotor-stator qui est le plus couramment utilisé, principalement en raison de son efficacité. Il est constitué d'un stator à plusieurs orifices et d'un rotor tournant à grande vitesse. Il agit comme une pompe centrifuge qui aspire le mélange par le bout, pour l'expulser

par les orifices. C'est le procédé le plus utilisé pour créer des émulsions (Poux and Canselier, 2004; Urban et al., 2006) ;

- Les **homogénéiseurs ultrasons**, où les ondes physiques ultrasonores induites par cavitation acoustique dans un liquide créent des contraintes de compression et de traction qui conduisent à la formation des gouttelettes de petites taille (Behrend and Schubert, 2001; Modarres-Gheisari et al., 2019; Stang et al., 2001; Taha et al., 2020) ;
- Les **homogénéiseurs haute pression** fonctionnent selon le principe de la pompe à haute pression à piston, où une pré-émulsion est forcée sous haute pression à passer par une vanne étroite, correspondant à une zone d'homogénéisation à cisaillement fort, ensuite à la sortie de la pompe, une baisse de pression subite engendre un phénomène d'éclatement des gouttelettes (Poux and Canselier, 2004; Schultz et al., 2004) ;
- Ou encore **l'émulsification par membrane**, qui est une technique adaptée aux produits sensibles au cisaillement. En effet, la phase dispersée est pressée à travers les pores d'une membrane pour former des gouttelettes qui sont ensuite détachées et emportées par l'écoulement de la phase continue au niveau de la surface de la membrane (Charcosset et al., 2004; Suzuki et al., 1996).

L'énergie fournie par le procédé d'émulsification doit être suffisante pour déformer l'interface jusqu'à la formation de gouttelettes et ensuite pouvoir les scinder en gouttelettes de plus petite taille (Boom, 2008; Salager et al., 2006; Walstra, 1993). Cette formation de gouttelettes fines augmente l'aire interfaciale et par conséquent la tension interfaciale entre la phase continue et la phase dispersée augmente elle aussi. Ceci représente un état énergétique beaucoup moins stable que celui du système initial où les deux phases sont complètement séparées (Tadros, 2009). En accord avec la thermodynamique, il est évident que le système tend à gagner son état initial le plus stable caractérisé par la tension interfaciale la plus faible.

4.3. Stabilité des émulsions et phénomènes de déstabilisation

La stabilité d'une émulsion s'articule principalement autour de trois axes :

- La **stabilité chimique** qui traduit l'absence de réaction entre les différentes matières constituant l'émulsion ;
- La **stabilité microbiologique** traduisant l'absence de prolifération bactérienne ;
- La **stabilité physique** qui doit garantir une stabilité structurale sans séparation des phases (Bouyer et al., 2012).

Nous allons donc nous intéresser à ce troisième aspect, la stabilité physique. En effet, puisque les émulsions sont des systèmes métastables, autrement dit elles sont thermodynamiquement instables, mais potentiellement cinétiquement stables (Capek, 2004; Salager et al., 2006), il est préférable de ralentir au mieux les phénomènes de déstabilisation des émulsions.

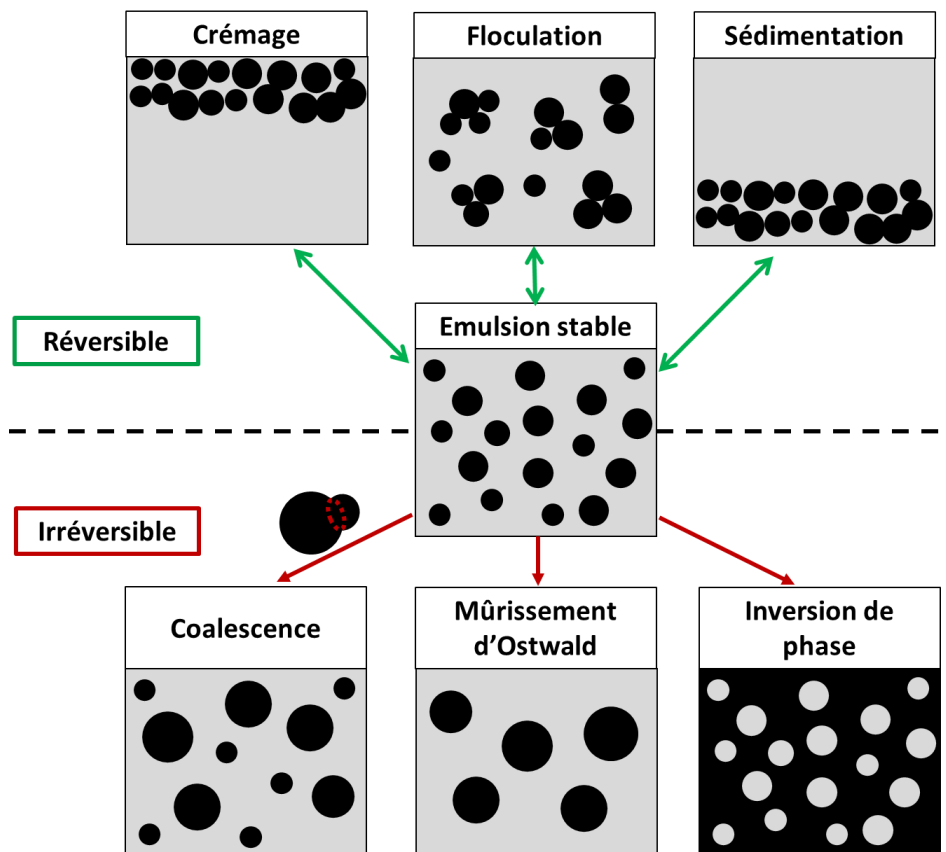


Figure 35 : Mécanismes de déstabilisation des émulsions

Ces différents phénomènes de déstabilisation (Figure 35) sont les suivants :

- Le **crémage**, qui est une séparation gravitationnelle avec une phase dispersée moins dense que la phase continue ; pour une émulsion H/E, on observera la migration des gouttelettes d'huile vers la surface (Dickinson et al., 1994; Robins, 2000; Sęk and Józwiak, 2015);

- La **sédimentation**, qui est une séparation gravitationnelle avec une phase dispersée plus dense que la phase continue ; pour une émulsion E/H, les gouttelettes d'eau migrent vers le fond de l'échantillon (Leal-Calderon et al., 1996; Souza et al., 2015);
- La **floculation**, qui traduit l'agrégation des gouttelettes en flocs ou agglomérats sous l'effet des forces attractives (Dickinson, 2019, 2010; Drakos and Kiosseoglou, 2008);

Pour ces trois formes de déstabilisation, il n'y a pas de rupture du film interfacial : l'intégrité individuelle des gouttelettes reste intacte. Ces phénomènes peuvent être qualifiés comme **non destructifs** et **réversibles**. En effet une simple agitation permet de redisperser les gouttelettes.

Cependant, ces phénomènes entraînant une proximité des gouttelettes, sont précurseurs d'un quatrième phénomène plus sévère : la coalescence.

- La **coalescence** représente la rupture du film interfacial entre deux ou plusieurs gouttelettes dispersées et leur fusion de manière à réduire la tension interfaciale entre les deux liquides (González-Ochoa et al., 2003; Langevin, 2019).

Contrairement à la coalescence, un autre phénomène de déstabilisation intervient au sein d'une émulsion, mais qui ne nécessite pas un rapprochement entre les gouttelettes :

- Le **mûrissement d'Ostwald**, qui représente la diffusion à travers la phase dispersante du contenu des petites gouttelettes vers les plus grosses en raison d'une pression de Laplace plus élevée pour les gouttelettes ayant une plus petite taille (Kabalnov, 2001; Taylor, 1998; Weiss et al., 2000).

Il existe un dernier phénomène de déstabilisation qui peut survenir durant le stockage des émulsions :

- L'**inversion de phase** pour laquelle une émulsion E/H se transforme en H/E et inversement. Ce phénomène est dû à différents paramètres de la formulation tels que la température, la salinité, la proportion volumique des phases et le choix du tensioactif (Maffi et al., 2021; Perazzo et al., 2015; Sjöblom, 2006; Tadros, 2010).

Il existe différents outils qui permettent de détecter et suivre les phénomènes de déstabilisation au sein d'un échantillon tels que : la microscopie, la granulométrie (Chantrapornchai et al., 1998; Guzey and McClements, 2006), la diffusion statique multiple de la lumière comme le Turbiscan™ (Mengual et al., 1999), la conductimétrie (Al-Malah et al., 2000; Guéguen et al., 1996), la turbidimétrie (Pearce and Kinsella, 1978) et les techniques ultrasonores (Dickinson et al., 1997). Certaines de ces techniques seront utilisées dans la présente étude et seront détaillées dans la partie « Matériels et méthodes ».

Certaines techniques combinent plusieurs types d'analyse tels que l'analyse optique de la transmission d'un échantillon et la mesure des tailles des gouttelettes lors d'une déstabilisation accélérée via la centrifugation de l'échantillon (Hoffmann, 2016; Żbikowska et al., 2020). Avec ces différentes techniques, il est possible de suivre dans le temps (sur plusieurs jours, voire plusieurs mois) la taille des gouttelettes, leur agencement spatial et leur comportement d'agrégation ce qui permet d'évaluer la qualité d'une émulsion en termes de stabilité.

4.4. Stratégies de stabilisation des émulsions

Les phénomènes de déstabilisation peuvent constituer un atout dans le cadre de certaines applications cosmétiques ou pharmaceutiques, telles que la libération de principes actifs (Khan et al., 2006; Li et al., 2010). Cependant, dans le cadre de notre étude, l'objectif est d'améliorer la stabilité des émulsions H/E.

En effet, la stabilité d'une émulsion est gouvernée par de nombreux facteurs tels que le pH, la force ionique, la viscosité, la température ou encore le ratio entre la phase dispersée et la phase continue (Guzey and McClements, 2006).

Pour ce faire, différentes stratégies sont envisageables :

- Ralentir les phénomènes de crémage et de sédimentation en jouant sur la **viscosité** de la phase continue. Dans le cas d'une émulsion H/E, on peut ajouter dans la phase aqueuse des agents épaississants tels que les polysaccharides comme la gomme de xanthane (Krstonošić et al., 2009) ou encore les carraghénanes (Fabra et al., 2008) qui constituent des agents stabilisants naturels et hydrosolubles.
- Empêcher les phénomènes de floculation en modifiant la **force ionique ou le pH** de l'émulsion ce qui peut engendrer des répulsions électrostatiques et contrer les forces attractives entre les gouttelettes dispersées (Isusi et al., 2021; Kalliola et al., 2018; Protonotariou et al., 2013).
- Éviter les phénomènes de coalescence en **stabilisant l'interface eau/huile**. Afin de baisser la tension interfaciale et maintenir les gouttelettes en suspension, il est possible d'utiliser trois types de molécules émulsionnantes (Frelichowska, 2009): A) les tensioactifs monomériques, B) les chaînes polymériques ou C) les particules solides (Figure 36).

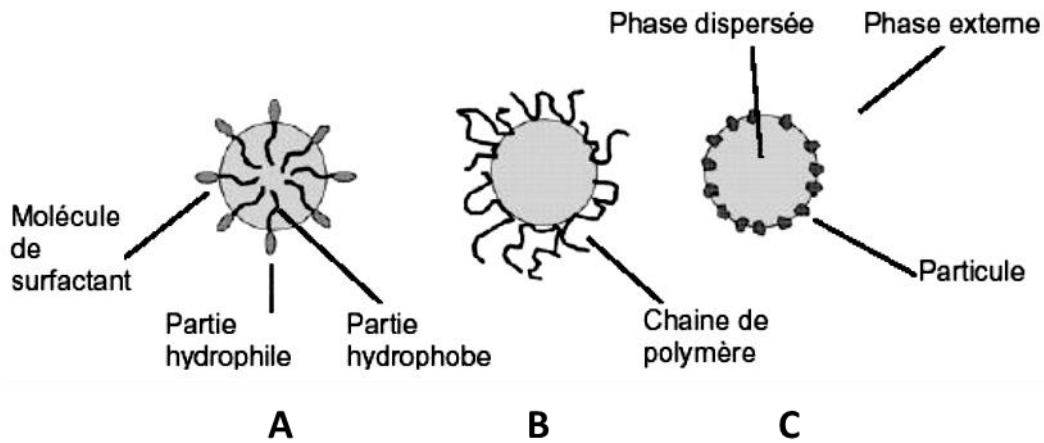


Figure 36 : Stabilisation des émulsions H/E : A) Par les tensioactifs monomériques, B) Par les chaînes polymériques, C) Par des particules solides (Frelichowska, 2009)

Les paragraphes suivants décriront la stabilisation par les tensioactifs ainsi que par les chaînes polymériques. La stabilisation par les particules solides donnant lieu à des émulsions de Pickering (Pickering, 1907; Ramsden and Gotch, 1904) ne sera pas développée dans ce manuscrit.

4.4.1. Mécanismes de stabilisation par les tensioactifs

Les tensioactifs sont des molécules amphiphiles qui se caractérisent par la présence au niveau de leur structure d'une tête hydrophile et d'une queue hydrophobe ayant des affinités respectivement avec la phase aqueuse et la phase huileuse de l'émulsion (Hutin, 2019a; Laprent, 1995). Avec cette double affinité, les tensioactifs ont la capacité de s'orienter à l'interface eau-huile ce qui permet de réduire la tension interfaciale entre les deux liquides (Figure 37). Différents types de tensioactifs existent : les tensioactifs chargés (anioniques, cationiques ou zwitterioniques) et les tensioactifs neutres non chargés (Laprent, 1995; Salager, 2002). Cependant ces molécules présentent des effets néfastes toxicologiques et environnementaux (Cserhádi et al., 2002; Kralova and Sjöblom, 2009; Liwarska-Bizukojc et al., 2005), d'où la nécessité de trouver des solutions alternatives à leur utilisation.

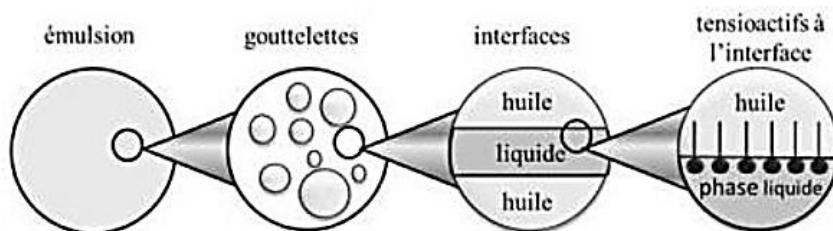


Figure 37 : Schéma d'une émulsion H/E à plusieurs échelles (Legrand, 2013)

4.4.2. Les polysaccharides hydrophobiquement modifiés

Les polysaccharides modifiés constituent une alternative à l'utilisation des tensioactifs conventionnels. En effet, parmi les polysaccharides, seuls la gomme arabique (Chanamai and McClements, 2002; Dickinson, 2003) et certains galactomannanes (Garti and Reichman, 1994; Wu et al., 2009) sont utilisés comme émulsifiants naturels dans certaines applications industrielles alors que la plupart des polysaccharides n'ont que peu de propriétés de surface. En revanche, ils possèdent de nombreux groupements réactifs (-OH ; -COOH ; -NH₂) fonctionnalisables via des modifications chimiques. Il a été ainsi possible depuis les travaux de Landoll (1982), d'ouvrir largement la porte aux polysaccharides hydrophobiquement modifiés ayant des propriétés amphiphiles pour la stabilisation des émulsions et des interfaces (Durand and Dellacherie, 2006).

L'absorption des polysaccharides amphiphiles à une surface peut être assimilée au modèle des copolymères aléatoires (Figure 38a) (Dickinson, 2018). Par rapport aux autres modèles de copolymères synthétiques (b, c, d, e et f), le modèle de copolymère aléatoire (a) est le plus favorable pour stabiliser une interface huile-eau, car ayant à la fois plusieurs entités hydrophobes qui s'absorbent à la surface hydrophobe (phase huileuse) et aussi plusieurs entités hydrophiles qui se déploient dans la phase hydrophile (aqueuse).

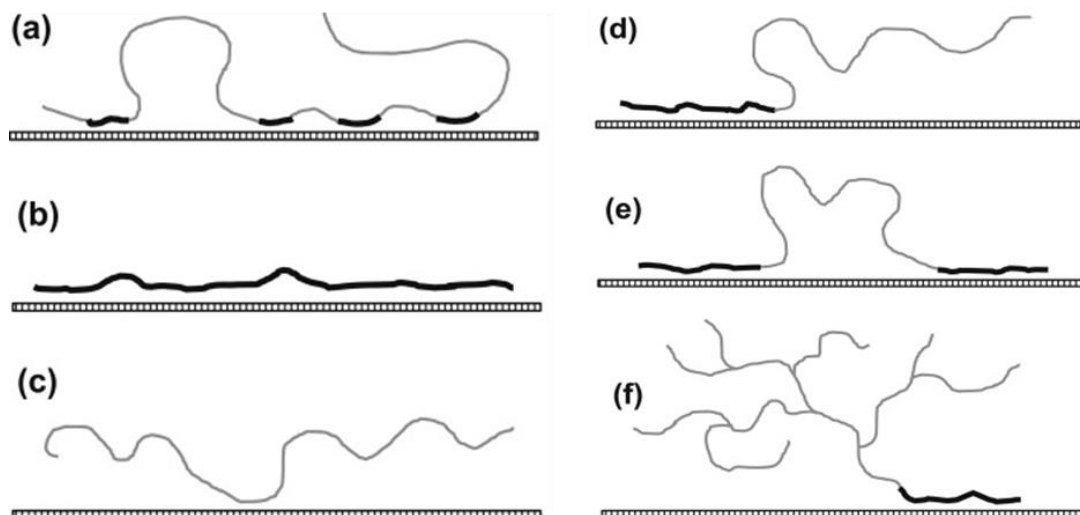


Figure 38 : Représentations schématiques de différents types de chaînes polymères en interaction avec une surface/interface hydrophobe (Dickinson, 2018)

(a) copolymère aléatoire ; (b) homopolymère, forte adsorption ; (c) homopolymère, faible adsorption ; (d) copolymère di-bloc ; (e) copolymère tri-bloc ; (f) copolymère ramifié,

(lignes grises = parties hydrophiles de la chaîne ; lignes noires épaisses = parties hydrophobes absorbantes)

Le mode d'action des dérivés de polymères est étroitement lié à leurs **propriétés d'agrégation micellaire en solution**. C'est ici que la concentration du polymère joue un rôle principal dans la formation d'une émulsion. En effet, en dessus de la concentration d'agrégation critique CAC, ces polymères modifiés sont mieux adsorbés aux interfaces que dans leur état natif et sont capables de diminuer la tension interfaciale, de former de film protecteur autour des gouttelettes d'huile et de stabiliser une émulsion H/E (Falkeborg and Guo, 2015; Kokubun et al., 2018).

Un autre élément important doit être pris en compte : la masse molaire du polymère modifié qui joue un rôle important dans la stabilisation des émulsions. Ainsi deux scénarios sont possibles :

- Un polymère de **masse molaire élevée** augmente la viscosité d'une solution et la stabilité d'une émulsion ;
- Un polymère de **masse molaire faible** (obtenue suite à un traitement enzymatique) permet une diffusion rapide des petites molécules vers l'interface des gouttelettes d'huile. Ceci améliore la stabilité de l'émulsion (Sweedman et al., 2013).

En plus d'avoir un rôle principal dans la formation et la stabilisation des émulsions, il est possible que les polymères hydrophobiquement modifiés contribuent avec d'autres molécules chimiques à l'amélioration de la qualité d'une dispersion. Pour mettre en valeur ce rôle de support, Venkataraman et al. (2013) ont travaillé sur un système d'émulsion contenant le Corexit 9500A d'une part et un chitosane modifié par des chaînes de 12 carbones (avec le n-dodécyl aldéhyde comme agent de greffage) d'autre part.

Le Corexit 9500A est un dispersant chimique qui réduit la tension interfaciale entre l'huile et l'eau. Cette action facilite par la suite la formation de petites gouttelettes d'huile de faible énergie. Une émulsion H/E est ainsi créée et la stabilisation peut être efficacement améliorée par l'action du chitosane hydrophobiquement modifié.

En effet les chaînes alkyles hydrophobes greffées sur la chaîne de polymère s'ancrent dans les gouttelettes d'huile en formant une espèce de couche autour des gouttelettes (Figure 39). Ensuite, les répulsions électrostatiques entre les chaînes du polymère cationique sont renforcées, ce qui empêche le phénomène de coalescence entre les gouttelettes et l'émulsion est rendue plus stable (Venkataraman et al., 2013; Ward, 2002)

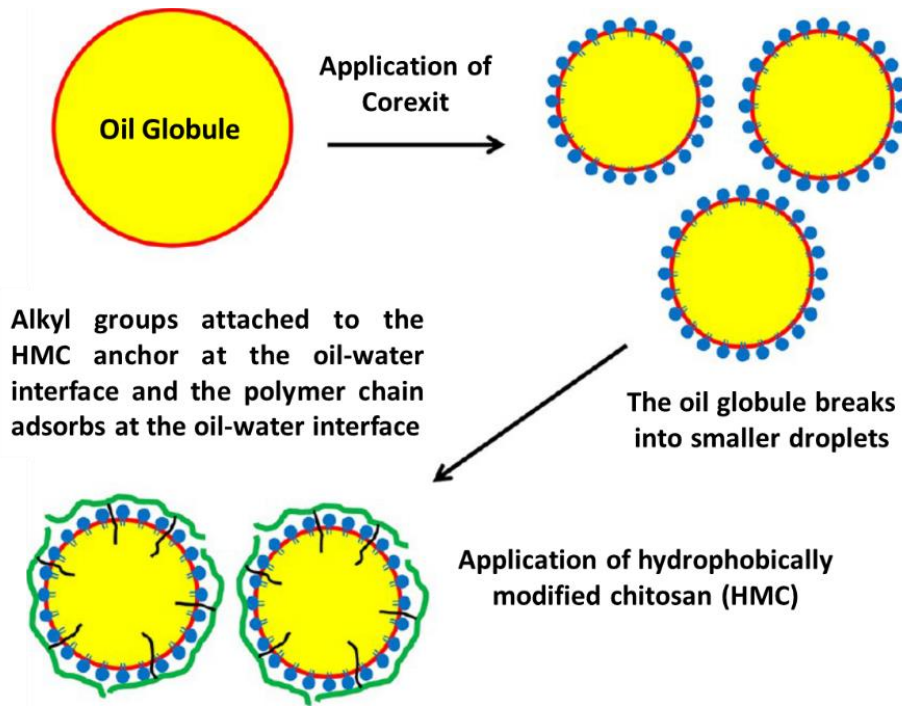


Figure 39: Schéma montrant la stabilisation de la dispersion des gouttelettes d'huile par les molécules de chitosane hydrophobiquement modifié (HMC) ; l'ancrage de manière covalente des groupes alkyles à l'interface huile-eau forme une couche protectrice autour de chaque gouttelette d'huile (Venkataraman et al., 2013)



Conclusion de la partie

Les **émulsions** sont des systèmes **thermodynamiquement instables** formés par un mélange d'au moins deux liquides immiscibles qui ont tendance à se séparer spontanément au cours du temps. Il s'agit donc de systèmes complexes à élaborer, ainsi qu'à maintenir stables, face à de nombreux mécanismes de déstabilisation : crémage, sédimentation, floculation, coalescence, mûrissement d'Ostwald ou inversion de phase.

Différentes stratégies sont envisageables pour maintenir stable une émulsion de type huile dans eau (H/E) : la modulation des conditions physicochimiques du mélange telles que le **pH** et la **force ionique**, qui jouent un rôle dans les forces répulsives entre les gouttelettes de la phase huileuse dispersée, l'ajout **d'épaississant** tel que les polysaccharides qui changent la viscosité de la phase aqueuse dispersante ce qui ralentit le mouvement des gouttelettes ou encore l'utilisation des **composants amphiphiles** ayant à la fois affinité pour les deux liquides pouvant ainsi stabiliser l'interface eau-huile.

Cette dernière stratégie est la plus efficace et la plus utilisée. Bien que dans la majorité des cas, il s'agit des tensioactifs qui sont des molécules de faible poids moléculaire présentant des effets néfastes toxiques et environnementaux, une nouvelle catégorie de composants s'est développée utilisant les polymères amphiphiles, en particulier les **polysaccharides hydrophobiquement modifiés** qui constituent une alternative à l'utilisation des tensioactifs conventionnels.

Conclusion du chapitre 1

Le **xanthane** est un hétéropolysaccharide anionique, hydrophile et hydrosoluble, d'origine bactérienne qui en solution peut adopter deux conformations : l'une ordonnée sous forme hélicoïdale rigide et l'autre désordonnée sous forme de pelote flexible présentant chacune des **propriétés rhéologiques particulières**. Ce polymère naturel possède d'excellentes propriétés **viscosifiantes** même à des faibles concentrations, ce qui lui permet d'être employé comme agent épaississant et de texture dans diverses applications telles que la stabilisation des dispersions. Cependant, ce polymère ne présente que de **faibles propriétés interfaciales** ce qui suscite l'attention vers sa modification via ses groupements réactifs hydroxyliques et carboxyliques, pour lui conférer de **nouvelles propriétés fonctionnelles**.

En effet, différentes méthodes physiques, enzymatiques ou chimiques de fonctionnalisation du xanthane sont décrites dans la littérature. Concernant les méthodes chimiques, de nombreuses réactions de modification sont efficaces et parfois même régiosélectives, cependant la plupart d'entre elles sont effectuées dans des conditions incompatibles avec les préceptes de la **chimie verte**. Il a été donc nécessaire de développer et proposer une nouvelle voie de greffage écologique et respectueuse de l'environnement qui confère au xanthane des propriétés interfaciales. Cet objectif est au cœur des travaux de cette thèse.

La réalisation de cet **objectif** est basée sur une voie de greffage de polysaccharides par estérification par des anhydrides succiniques d'alkényles, réalisée dans l'eau dans des conditions simples et douces de greffage : absence de solvant organique coûteux et toxique, absence d'agent de couplage et de catalyseur, température proche de l'ambiante, temps de réaction court. En plus d'être qualifié comme **verte et durable**, cette voie a permis aux polysaccharides hydrophobiquement modifiés d'acquérir de nouvelles propriétés utiles dans différentes applications industrielles telles que l'encapsulation des molécules actives ou encore la stabilisation des interfaces, qui sont recherchées dans le cadre de la modification du xanthane.

Ces polymères macromoléculaires amphiphiles recherchés constituent l'une des stratégies de **stabilisation des émulsions** qui à la base sont des systèmes thermodynamiquement instables. Ainsi, les tensioactifs conventionnels controversés du fait de leurs effets sanitaires et environnementaux néfastes dû à leur faible poids moléculaire peuvent être substitués par des polysaccharides amphiphiles biosourcés. Ce qui sera discuté dans le cadre de cette thèse.

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

- **Partie 1 : Modification chimique du xanthane par voie verte**
- **Partie 2 : Caractéristiques chimiques et thermiques**
- **Partie 3 : Propriétés du xanthane en solution**
- **Partie 4 : Application à la stabilisation d'émulsion**

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Partie 1 : Modification chimique du xanthane par voie verte

1.1. Réactifs utilisés

Le xanthane employé dans cette étude a été offert par Cargill (France). Les degrés de substitution en acétate and pyruvate ont été déterminés par analyse RMN ^1H et sont respectivement de 0,56 et 0,59 pour une unité de répétition (UR). Le taux d'humidité, mesuré par analyse thermogravimétrique s'élève à 11,3 % et le taux en protéine, déterminé par la procédure de Bradford, est de 0,95 %.

Pour la réaction de modification chimique du xanthane, les réactifs suivants ont été utilisés : l'acide chlorhydrique (HCl, Fisher Scientific), l'hydroxyde de sodium (NaOH, Fisher Scientific), le 2-octén-1-yle anhydride succinique (OSA, Sigma Aldrich), le 2-dodécén-1-yle anhydride succinique (DDSA, Sigma Aldrich) et l'hexadécényl anhydride succinique (HDSA, TCI chemicals). Ces produits sont utilisés sans aucune purification préalable.

L'eau ultrapure (grade 1, résistivité de 16.8 M Ω .cm à 25 °C) a été utilisée comme solvant pour les réactions. Les solvants utilisés (sans purification préliminaire) pour les étapes de récupération du polymère sont : l'isopropanol, l'éthanol et l'acétone, provenant du fournisseur Hauguel.

1.2. Réaction de greffage : Protocole de synthèse et récupération

La modification chimique du xanthane par les anhydrides succiniques d'alkényle (ASA) s'effectue dans l'eau grâce à une réaction d'acylation (estérification sans perte d'une molécule H_2O) ou autrement succinylation entre les fonctions hydroxyles du xanthane et l'anhydride des ASA. Différents dérivés de xanthane ont été préparés en utilisant les agents de greffage : OSA, DDSA et HDSA et en s'inspirant des protocoles de Falkeborg et al. (2015), Jeon et al. (1999), Sweedman et al. (2013). Le protocole opérationnel de la synthèse est le suivant :

Une solution aqueuse de xanthane à 2,5 g.L $^{-1}$ est préparée en saupoudrant la gomme de xanthane dans l'eau ultrapure sous agitation mécanique à température ambiante. Une fois la dissolution terminée, la solution est stockée à 4 °C pendant une nuit.

Les agents de greffage DDSA et HDSA, étant solides et faiblement solubles en phase aqueuse (Shah et al., 2018), il a été nécessaire de les disperser préalablement dans 3 fois leur masse d'isopropanol afin de permettre une meilleure répartition de l'agent de greffage dans le milieu réactionnel. Par contre, l'OSA sous forme liquide est directement utilisé étant mieux soluble en phase aqueuse.

Les quantités d'agent de greffage introduites (Tableau 9) sont calculées théoriquement par rapport aux fonctions hydroxyles présentes par unité de répétition. En effet, sur un monomère xanthane, il y a 11 fonctions hydroxyles : 5 OH sur la chaîne principale et 6 OH sur la chaîne trisidique. Ce sont ces derniers qui présentent la meilleure accessibilité et par conséquent réactivité sur l'unité de répétition. Nous pouvons donc calculer en pourcentage le degré de substitution (= degré de succinylation = densité de greffage) DS théorique qui est défini comme étant le nombre de greffons pour 100 unités de répétition. Ainsi, le ratio molaire (monomère de xanthane : ASA) doit être équivalent à (1:6) pour un DS théorique de 600 % ce qui correspond à 6 greffons par unité de répétition du polysaccharide.

Tableau 9 : Masse de ASA et volume d'isopropanol rajoutés dans le réacteur (Vsolution=300 mL) pour chacun des ratios molaires (monomère xanthane : ASA) étudiés

Agent de greffage ASA	Ratio molaire (monomère de xanthane : ASA)	Masse ASA (g)	Volume d'isopropanol (mL)
OSA	1:6	1,011	/
	1:3	0,505	/
DDSA	1:15	3,300	12
	1:6	1,281	5
	1:3	0,639	3
	1:1	0,213	2
HDSA	1:6	1,550	10
	1:3	0,775	5
	1:1	0,258	2

La synthèse est réalisée en milieu aqueux à une température fixée à 30 °C qui représente la température à laquelle le greffage s'est avéré comme le plus réactif pour d'autres polysaccharides (Bhosale and Singhal, 2006; Falkeborg et al., 2015) tout en assurant par mesure rhéologique que le xanthane reste sous sa forme ordonnée.

La réaction est réalisée dans un réacteur de 500 mL à couvercle quadricol pendant 24 h sous agitation mécanique (Heidolph-TORQUE Core, Allemagne) en utilisant une ancre en PTFE (Figure 40). Une fois l'OSA, ou le mélange DDSA-isopropanol ou HDSA-isopropanol ajouté dans la solution aqueuse de xanthane présente à 30 °C dans le réacteur, le pH diminue traduisant l'apparition de nouveaux sites d'acide carboxylique dans le milieu réactionnel, induits par l'ouverture de l'anhydride succinique par hydrolyse ainsi que par le greffage du xanthane. Il s'avère ainsi **nécessaire de maintenir le pH du milieu réactionnel constant pendant toute la durée de la réaction** afin de contrôler la réaction ; après plusieurs tentatives, un **dispositif de régulation de pH automatisé** a pu être mis en place, permettant de maintenir le pH à la valeur souhaitée par introduction goutte à goutte d'une solution de soude (2 M) dans le milieu réactionnel, pendant l'ajout de l'agent de greffage et tout au long de la réaction de modification. Le système d'ajustement est constitué d'un transmetteur (M300 process transmitter, Mettler Toledo, Suisse) qui évalue de manière continue les conditions dans lesquelles se trouve la sonde de pH (digital ISM pH/ORP sensor InPro 3253i/SG/225 ; Mettler Toledo, Suisse) (Figure 40). Lorsque l'électrode détecte dans le milieu réactionnel la moindre diminution de pH par rapport à la valeur fixée, le transmetteur convertit le pH en signal électronique qui commande le fonctionnement de la pompe péristaltique (Preciflow, Lambda Laboratory Instruments, République Tchèque). Ainsi cette dernière démarre en engendrant des cycles de compression et dépression sur un tuyau flexible en silicone, ce qui permet l'introduction goutte à goutte de la solution NaOH (2M) à l'intérieur du réacteur. Une fois que le pH atteint la valeur fixée, la pompe s'arrête.

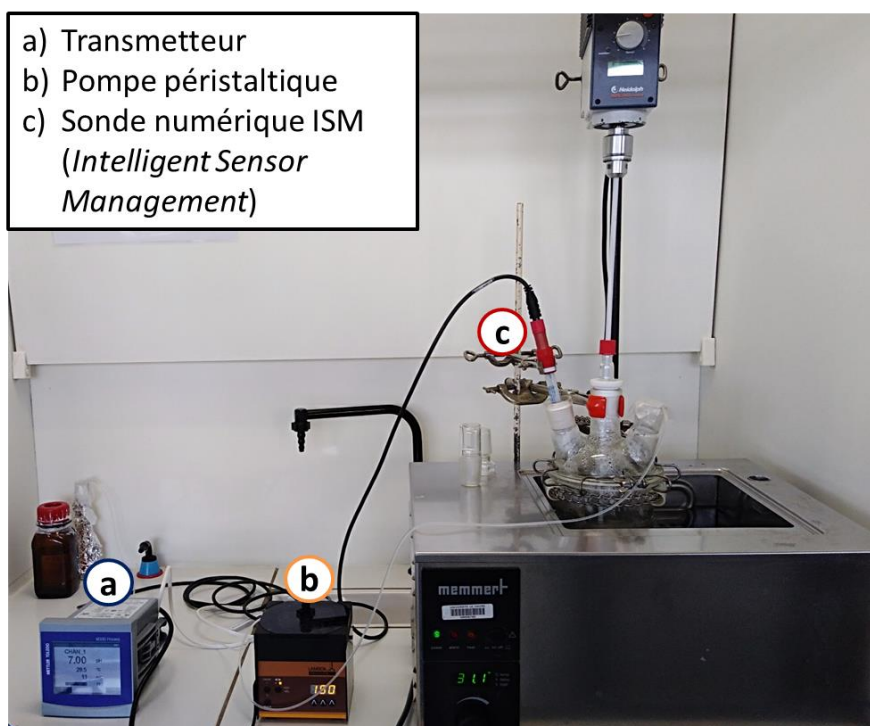


Figure 40 : Montage de la réaction

À la fin de la réaction, la dispersion est neutralisée à un pH=6 par l'ajout de HCl (2,5 M) permettant la protonation de toutes les fonctions carboxylates. La récupération du polymère modifié se fait par précipitation du milieu réactionnel (V = 300 mL) dans six fois son volume d'isopropanol (V = 1,8 L) sous forte agitation magnétique. Ainsi, le xanthane précipite en même temps que l'isopropanol dissout d'éventuels résidus de l'agent de greffage (OSA, DDSA ou HDSA). La purification est poursuivie par filtration et lavages successifs à l'acétone, très bon solvant vis-à-vis des ASA, puis à l'isopropanol pour éliminer toute trace restante notamment de DDSA ou HDSA n'ayant pas réagi, qui se trouve parfois piégée sous forme de solides blancs dans la masse de xanthane précipité. Le polymère récupéré est mis à l'étuve à 40 °C pendant 24 h pour séchage, pesé et enfin il est stocké à 4 °C. Les dérivés de xanthane seront notés XG-C8 ; XG-C12 et XG-C16 (ou encore XC8, XC12 et XC16) pour les xanthanes greffés respectivement par des chaînes d'octényle, dodécényle et hexadécényle.

Le **précurseur** correspond à un xanthane non modifié ayant subi toutes les conditions de synthèse et de récupération décrites ci-dessus, mais sans ajout de l'agent de greffage (OSA, DDSA ou HDSA). Il constituera la **référence non greffée**.

L'optimisation du protocole de greffage, la validation du protocole de purification ainsi que la vérification de la solubilité des xanthanes synthétisés sont détaillés dans le chapitre 3 Partie 1.

Partie 2 : Caractéristiques chimiques et thermiques

2.1. Taux de protéine

Le dosage de la teneur totale en protéines de la gomme de xanthane est réalisé par la méthode de Bradford (Bradford, 1976) en utilisant un spectrophotomètre UV-visible. Le principe de cette méthode repose sur la capacité du pigment de Bleu de Coomassie G-250 à s'adsorber aux résidus d'acides aminés. Ceci implique l'augmentation de la longueur d'onde d'absorbance maximale de la solution de bleu de Coomassie de 465 nm à 595 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée avec l'albumine du sérum bovin (BSA, Fraction V, MP Biomedicals) comme protéine de référence à des concentrations entre 0,01 et 0,7 g.L⁻¹. Ensuite au moyen de la mesure de la densité optique à 595 nm, la teneur en protéine dans l'échantillon du xanthane utilisé est calculée et elle vaut 0,947 ± 0,201 %.

2.2. FTIR

La spectroscopie infrarouge est une spectroscopie vibrationnelle non destructive basée sur la capacité d'un échantillon à absorber un rayonnement incident polychromatique. En effet, la majorité des molécules présentent une capacité d'absorption dans l'infrarouge moyen qui va de 4000 à 400 cm⁻¹ (longueur d'onde de 2,5 à 25 μm). L'énergie du rayonnement absorbée par une molécule correspond à la fréquence de vibration de certaines liaisons chimiques de la molécule (Stuart, 2015). Il existe différents modes de vibration des liaisons chimiques : modes d'élongation (symétrique et asymétrique) et modes de déformation angulaire (cisaillement, balancement, rotation, torsion) (Yadav, 2005).

Dans le cas de notre étude, un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier, Frontier (Perkin-Elmer, Etats-Unis) en mode réflectance totale atténuée (ATR-FTIR) a été utilisé pour valider la réussite du greffage. L'échantillon (solide ou liquide) est déposé directement sur le cristal en diamant et séléniure de zinc ayant un indice de réfraction élevé (n_c) supérieur à celui de l'échantillon (n_e). Ainsi, le faisceau IR traverse le cristal avec un angle supérieur à l'angle critique et subit une réflexion totale à l'intérieur du cristal. La réflexion au niveau de l'interface cristal/échantillon engendre une onde évanescente qui pénètre de quelques micromètres (0,5-5 μm) dans l'échantillon et qui sera atténuée suite à l'absorption du rayonnement IR par l'échantillon (Blum and John, 2012). L'absorption de cette onde évanescente est utilisée pour construire un spectre d'absorption infrarouge (Jernelv et al., 2019).

Après une ou plusieurs réflexions totales à l'intérieur du cristal, le faisceau IR sort du cristal en direction du détecteur (Figure 41).

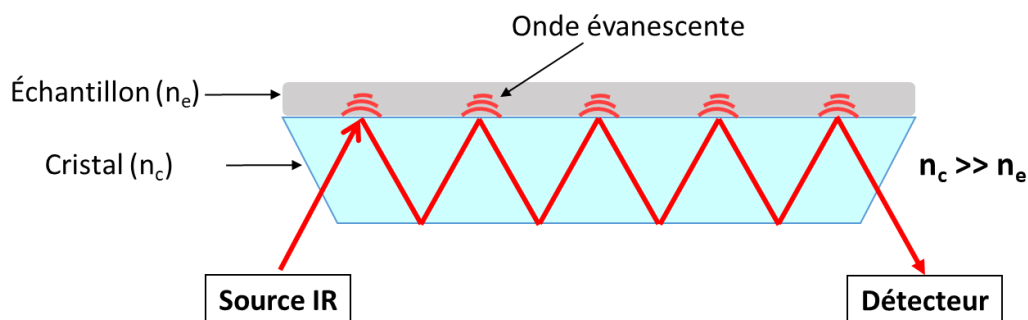


Figure 41: Principe de la mesure en réflectance totale atténuée en spectroscopie infrarouge, adaptée de Jernelv et al. (2019)

L'analyse est réalisée sur la gamme de nombre d'ondes allant de 4000 à 650 cm^{-1} avec une résolution de 8 cm^{-1} . Les spectres résultants sont traités sur le logiciel Spectrum (version 10.4.00.0190).

2.3. RMN

La résonance magnétique nucléaire est une technique spectroscopique non destructive qui permet de déterminer la structure moléculaire et la pureté d'un échantillon à l'état solide ou liquide homogène.

La technique utilisée pour analyser les échantillons en RMN est dite impulsionnelle. Elle est composée d'une phase d'excitation puis d'une phase de détection, permettant d'enregistrer le signal dans le temps lors de la relaxation des noyaux. Ce signal est qualifié de « signal de précession libre » ou FID pour « Free Induction Decay ». Après traitement mathématique par transformée de Fourier, le FID donne un spectre RMN résolu en fréquence, dans lequel chaque pic, ou groupe de pics magnétiquement équivalents, correspond à un atome avec un environnement chimique particulier. Des détails théoriques sur la RMN se trouvent en Annexe.

2.3.1. Partie expérimentale

Dans le cadre de la thèse, la résonance magnétique nucléaire du proton RMN ^1H est utilisée en tant que méthode quantitative permettant de déterminer les degrés de substitution en acétate et pyruvate du xanthane brut ainsi que la densité de greffage des xanthanes modifiés en présence du 2.2.3.3-d(4)-3-(Trimethylsilyl)propanoate de sodium (TSP) comme référence interne.

Préparation des échantillons :

Pour toutes les analyses, des solutions de xanthane (modifié ou non) sont préparées à 5 g.L⁻¹ dans de l'H₂O. La préparation des échantillons de RMN se fait selon le protocole adapté de Esquenet (2003) :

Dans un premier temps, un volume de 1 mL de la solution à 5 g.L⁻¹ est congelé puis lyophilisé pendant 15 h. Dans un deuxième temps, la poudre obtenue (5 mg) est dissoute dans 1 mL de D₂O à température ambiante et la solution est ensuite à nouveau congelée puis lyophilisée pendant 15 h. Cette étape est répétée deux fois avant que la poudre soit prête à la solubilisation dans 1 mL d'une solution de D₂O contenant 5×10⁻³ M de TSP. Ces multiples étapes effectuées sur l'échantillon permettent l'échange des protons labiles des groupements hydroxyles par des atomes de deutérium, permettant de réduire à la fois l'intensité du signal résiduel de l'eau et des groupements OH du xanthane et d'améliorer la qualité du spectre et son interprétation.

Appareil et paramètres d'acquisition des mesures :

Les spectres RMN ¹H sont enregistrés sur appareil Brücker Avance III HD Ultrashield™ 300 MHz équipé d'une sonde SEI inverse (1H/13C) à haute sensibilité en proton, à la température de 80 °C (T = 353 °K) afin de diminuer la viscosité des solutions de xanthane (modifié ou non) permettant ainsi une relaxation adéquate des protons. La séquence WATERGATE W5 (WATER suppression by GrAdient Tailored Excitation) (Piotto et al., 1992) est employée pour éliminer le pic résiduel du solvant, et ainsi améliorer la qualité des spectres. Pour les paramètres de l'expérience W5, un délai de 0,3 msec a été retenu pour la suppression efficace du signal de l'eau. L'acquisition procède avec un nombre d'itérations de 256, ce qui permet d'obtenir un rapport signal sur bruit suffisamment élevé pour une exploitation quantitative des spectres.

2.3.2. Méthode de détermination des degrés de substitution DS

La présence du TSP comme référence interne fait apparaître un singulet qui intègre pour neuf protons et dont la position correspond à un déplacement chimique $\delta = 0$ ppm (parties par million). Les groupements acétate et pyruvate présents sur les chaînes latérales du xanthane comportent chacun trois protons équivalents. Ils sont identifiés respectivement sous forme de singulet à 2,16 et 1,46 ppm. Ainsi, en connaissant la quantité de TSP présente dans un échantillon de RMN, il est possible de remonter aux proportions d'acétate et de pyruvate dans le xanthane natif étudié ainsi qu'à la densité de greffage des différents échantillons de xanthane modifiés, à travers les intégrations des pics correspondants. Le traitement de données est réalisé via la méthode d'intégration par une déconvolution basée sur un modèle mathématique (Laplacien) en utilisant l'algorithme GSD (Global

Spectral Deconvolution) du logiciel MestReNova. Le choix de cette méthode ainsi que celui des pics intégrés sont détaillés dans le chapitre 3 Partie 1.

a. Détermination des degrés de substitution en acétate et pyruvate

La méthode de quantification des degrés de substitution en acétate et en pyruvate sur la chaîne latérale du xanthane a été développée par Esquenet (2003).

Soit $n_{acétate}$ et $n_{pyruvate}$ respectivement le nombre de mol des groupements acétate et pyruvate par gramme de polymère :

$$n_{acétate} = \frac{\frac{I_{acétate}}{3} \times [TSP]}{\frac{I_{TSP}}{9} \times [xanthane]}$$

$$n_{pyruvate} = \frac{\frac{I_{pyruvate}}{3} \times [TSP]}{\frac{I_{TSP}}{9} \times [xanthane]}$$

$I_{acétate}$, $I_{pyruvate}$ et I_{TSP} représentent les intégrations respectives des pics de l'acétate, du pyruvate et du TSP ; $[TSP] = 5.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ la concentration de la référence interne et $[xanthane] = 5 \text{ g.L}^{-1}$ la concentration en xanthane.

On définit A et P, respectivement le nombre de substituants acétate et pyruvate par unité de répétition (UR) xanthane.

$$A = \frac{n_{acétate} \times M_{xanthane}}{1 - n_{pyruvate} \times M_{pyruvate} - n_{acétate} \times M_{acétate}}$$

$$P = \frac{n_{pyruvate} \times M_{xanthane}}{1 - n_{pyruvate} \times M_{pyruvate} - n_{acétate} \times M_{acétate}}$$

Avec $M_{xanthane} = 821 \text{ g.mol}^{-1}$, $M_{pyruvate} = 72 \text{ g.mol}^{-1}$ et $M_{acétate} = 43 \text{ g.mol}^{-1}$ les masses molaires respectivement de l'unité de répétition du xanthane sans acétate ni pyruvate, du groupement pyruvate et du groupement acétate.

Le xanthane utilisé dans notre étude présente A = 0,56 acétate et P = 0,59 pyruvate par une unité de répétition de xanthane. Donc les degrés de substitution en acétate et pyruvate du xanthane sont de $DS_{acétate} = 56 \%$ et $DS_{pyruvate} = 59 \%$.

Par conséquent, la masse molaire de l'unité de répétition du xanthane non modifié, M_{UR} est calculée comme suit :

$$M_{UR} = M_{xanthane} + A \times M_{acétate} + P \times M_{Pyruvate}$$

c. Détermination du degré de succinylation des xanthanes modifiés

Le taux de greffage correspondant au nombre d'alkényles succiniques greffés par une unité de répétition du xanthane est calculé en s'inspirant de la méthode de quantification mise au point par (Roy, 2015).

On définit %ASA le nombre de greffons par unité de répétition xanthane :

$$\%_{ASA} = \frac{n_{ASA}}{n'_{UR}} \quad (1)$$

Avec n_{ASA} le nombre de moles de ASA greffé et n'_{UR} le nombre de moles de l'unité de répétition du xanthane modifié.

Il est possible de déterminer le nombre de moles de ASA greffés à partir des intégrations du pic des protons des méthylènes du greffon à 1,28 ppm et du pic de la référence interne TSP à 0 ppm comme suit :

$$n_{ASA} = n_{méthylène} = \frac{I_{méthylène} \times n_{TSP}}{h \times \frac{I_{TSP}}{9}} \quad (2)$$

Avec $h = 6 ; 14$ ou 24 correspondant respectivement au nombre de protons présents dans les méthylènes de l'octényle, du dodécényle et de l'hexadécényle ; $n_{TSP} = 5.10^{-6}$ mol le nombre de moles de la référence interne présente dans le tube

$$n'_{UR} = \frac{m_{xanthane}}{M'_{UR}} \quad (3)$$

Avec $m_{xanthane} = 5.10^{-3}$ g la masse de xanthane dans le tube et M'_{UR} la masse de l'unité de répétition du xanthane modifié

$$M'_{UR} = M_{UR} + \%_{ASA} \times M_{ASA} \quad (4)$$

Ainsi, pour déterminer %ASA, il est nécessaire de connaître M'_{UR} . Or, M'_{UR} dépend également de la %ASA. Pour résoudre ce système, la méthode itérative suivante est utilisée :

- Donner une valeur fixe de %ASA.
- Introduire cette valeur dans l'équation **(4)** pour avoir une estimation de M'_{UR} .
- Résoudre l'équation **(3)** pour obtenir n'_{UR} .
- Introduire la valeur obtenue dans l'équation **(1)** pour déterminer %ASA.

Ce cycle d'itération est répété jusqu'à obtenir une valeur constante de %ASA. Pour notre système, le nombre de greffons par unité de répétition (%ASA) n'évolue plus à partir de 3 itérations.

Le degré de succinylation en pourcentage correspond donc au nombre de greffons sur 100 unités de répétition. Donc $DS = \%ASA \times 100$.

Les DS sont déterminés à partir soit de répétitions appelées intra-réactionnelles (α) réalisées sur des échantillons issus d'un seul et même produit de réaction, soit à partir de répétitions nommées inter-réactionnelles (β) effectuées sur des échantillons issus de plusieurs produits synthétisés dans les mêmes conditions de greffage.

2.4. ATG

L'Analyse Thermo Gravimétrique (ATG) est une technique qui fournit des informations qualitatives et quantitatives sur les changements physiques ou sur les réactions chimiques qui ont lieu au sein d'un matériau en fonction de la température. L'ATG est une balance qui mesure la variation de masse d'un échantillon en fonction de la température. Ces variations, gain(s) ou perte(s) de masse, peuvent avoir des origines diverses telles que la déshydratation, la déshydrohalogénéation, la décomposition thermique, l'oxydation, etc. Les analyses ATG peuvent être menées sous différentes atmosphères : air, azote, gaz inerte, etc.

L'appareil utilisé pour les analyses est l'ATG Setaram SetSys (Setaram Instrumentation, Caluire-et-Cuire, France) 12 équipé des logiciels Acquisition Module et Data processing Module (Version 1.54a).

Une masse entre 10 et 15 mg de xanthane (natif, précurseur ou modifié) est pesée dans une nacelle en alumine. La nacelle est par la suite suspendue à la balance située dans le four de l'ATG.

Les programmes pour les études de détermination du taux d'humidité des échantillons ou du profil de décomposition du xanthane sont réalisés sous azote. Les procédures sont résumées dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Procédures des études thermiques en ATG

Analyse	Taux d'humidité		Profil de décomposition	
	R ₁	I ₁	R ₂	I ₂
Rampe R ou Isotherme I				
Conditions (température et vitesse de chauffe)	30-110 °C v=10 °C/min	110 °C t=45 min	30-900 °C v=20 °C/min	900 °C t=25 min

Les deux représentations graphiques obtenues sont la variation de la masse (TG) ainsi que la dérivée de cette variation (DTG) en fonction de la température (Figure 42).

Le suivi de TG permet de calculer le pourcentage de la perte en masse partielle ou totale de l'échantillon. Le suivi de la DTG permet de mettre en évidence les températures (T_{peak}) pour lesquelles les pertes sont les plus importantes ce qui correspond au pic de DTG. Il est également possible de définir les températures du début (T_{initiale}) et de fin (T_{finale}) du pic, donc de la variation massique. En effet, ces grandeurs permettent de comparer deux échantillons ayant une même perte en masse, mais qui présentent des DTG différents, permettant de conclure sur des liaisons chimiques et interactions différentes entre les deux échantillons.

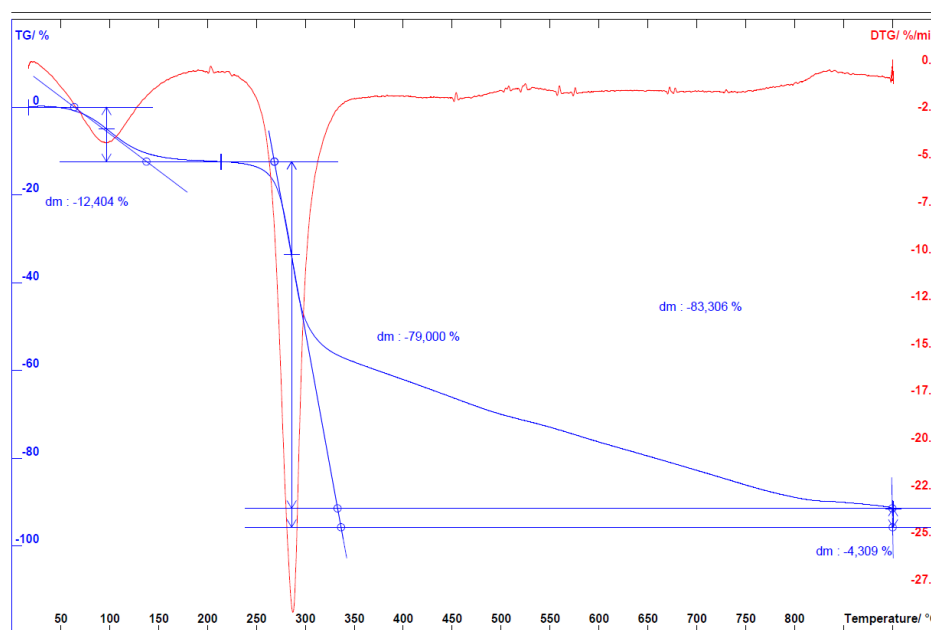


Figure 42: Variation de la masse (TG en bleu) et sa dérivée (DTG en rouge)

Partie 3 : Propriétés du xanthane en solution

3.1. Tension superficielle (TS) par la méthode de la goutte pendante

Le tensiomètre à goutte permet la détermination de la tension superficielle (TS) ou interfaciale (TI) dynamique entre respectivement un liquide et un gaz ou deux liquides non miscibles. La mesure est déterminée par une analyse numérique de la forme du profil d'une goutte liquide (de densité d_1) formée soit dans l'air soit dans un autre liquide de densité différente (d_2). Pour la tension interfaciale, la méthode de la goutte pendante est employée lorsque $d_1 > d_2$; dans le cas contraire, c'est la méthode de la goutte montante qui est plus adaptée (Hutin, 2019b).

La forme de la goutte dépend d'un équilibre entre gravité et capillarité, en effet la force de gravité a tendance à allonger la goutte sous forme de poire alors que les forces de surface ou d'interface forcent la goutte à prendre une forme sphérique.

À l'équilibre, la goutte axisymétrique répond à l'équation de Young-Laplace qui relie proportionnellement la différence de pression (pression de Laplace) entre l'intérieur et l'extérieur de la goutte avec les principaux rayons de courbure (R_1 et R_2) par la tension interfaciale γ selon l'équation suivante :

$$\Delta P = (P_{int} - P_{ext}) = \gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right)$$

Avec l'évolution de la méthode de calcul numérique (Arashiro and Demarquette, 1999), deux nouveaux paramètres interviennent dans la détermination de la tension interfaciale : D_E le diamètre équatorial (diamètre maximum) de la goutte et D_S le diamètre dans le plan horizontal situé à une distance D_E de l'origine, autrement appelé apex, le point le plus bas de la goutte (Figure 43). Ainsi, le rapport D_S/D_E a été introduit dans des formules empiriques basées sur l'équation de Young-Laplace, permettant de calculer la tension interfaciale (Fordham and Freeth, 1948; Stauffer, 1965).

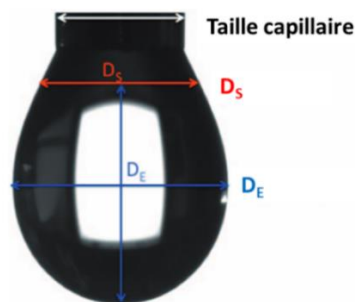


Figure 43: Profil d'une goutte d'eau pendante dans l'air, obtenu avec la webcam microscope (Gassin, 2014)

Dans le cadre de notre étude, la méthode de la goutte pendante est utilisée pour réaliser les mesures de TS des solutions de xanthane modifié et non modifié solubilisés dans l'eau ($d_1 = 1$). Ainsi, la goutte pend à l'extrémité d'un capillaire droit exposé à l'air ambiant. La goutte est maintenue en équilibre entre la gravité et les forces de surface. Afin de garantir une meilleure précision de mesure, la goutte doit atteindre un maximum de taille sans qu'elle ne tombe de la seringue sous son propre poids (Arashiro & Demarquette, 1999 ; Berry et al., 2015 ; Miquelim et al., 2010).

L'appareil employé est un goniomètre Digidrop GBX (GBX, Irlande) constitué d'un dispositif comportant une source de lumière, une caméra à grande vitesse (25 image/s), une seringue ainsi qu'un pousse seringue pour produire les gouttes pendantes. La seringue est positionnée entre la source de lumière et la caméra qui enregistre l'image de l'ombre de la goutte pendante formée. Le calcul de la tension superficielle a été effectué en fonction du rapport D_s/D_E caractérisant la forme de la goutte. Ce traitement a été réalisé par le logiciel Windrop++ (GBX, Irlande). Toutes les mesures ont été effectuées à température ambiante.

3.2. Viscosimétrie à bille roulante

Le viscosimètre à bille est un outil permettant de déterminer la viscosité dynamique et/ou cinématique (si la densité est connue) ainsi que la viscosité intrinsèque des fluides selon la loi de Stokes. Il est utilisé pour les liquides dont la viscosité est indépendante de la vitesse de cisaillement. Ce comportement idéal est couramment dénommé «viscoélasticité newtonienne» (DIN 53015, 2019; ISO 12058-1, 2018). Donc cette technique peut être appliquée aux liquides newtoniens ainsi que pour la détermination des viscosités d'un liquide non newtonien en régime dilué.

Le principe du viscosimètre à chute de bille de Höppler consiste à mesurer le temps d'écoulement d'une bille qui roule sans vitesse initiale sous l'action de la pesanteur à travers un liquide présent dans un tube capillaire cylindrique incliné à un certain angle par rapport à l'horizontale (Queimada et al., 2003). Le temps d'écoulement pour un parcours défini dans le capillaire est mesuré par deux capteurs inductifs (Figure 44).

Deux principaux avantages se présentent avec cette méthode : le besoin d'un petit volume de solution ($V = 400 \mu\text{L}$) et la possibilité de varier l'angle d'inclinaison du tube ce qui permet d'avoir des mesures simples et précises avec des gradients de cisaillement différents (mais non connus).

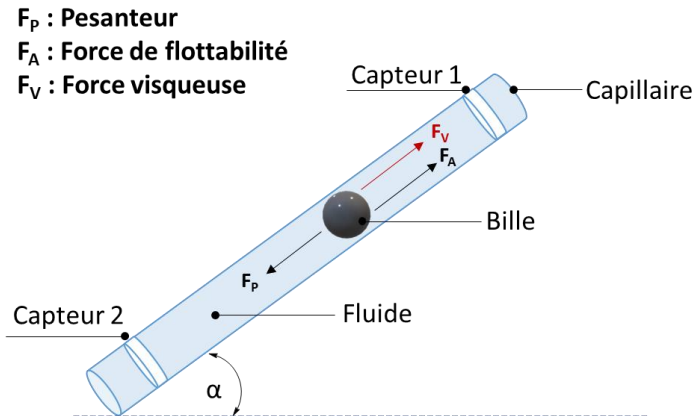


Figure 44: Représentation schématique de microviscosimètre à bille, adaptée de Aguni (2009).

Dans le cadre de la thèse, les mesures sont réalisées avec un micro-viscosimètre automatisé AMVn (Anton Paar, Graz, Autrich) équipé d'un capillaire en verre de 1,6 mm de diamètre et de 17,9 cm de long dans lequel se déplace une bille en acier inoxydable (DIN : 1,4125) de 1,5 mm de diamètre. La température est fixée à 20 °C par effet Peltier intégré au viscosimètre. Les mesures sont effectuées avec un angle d'inclinaison décroissant : 80, 60 et 40° dans le but de vérifier si les solutions aux concentrations sélectionnées possèdent des viscosités qui ne dépendent pas de la vitesse de cisaillement engendrée par l'une ou l'autre des inclinaisons. Effectivement, toutes les données obtenues ont montré des valeurs similaires pour les angles indiquant que les mesures ont été effectuées dans le régime newtonien. Il a donc été possible de choisir un des trois angles, ici 60°, pour comparer les échantillons entre eux.

En effet la viscosité dynamique de l'échantillon η est calculée à partir de la constante de calibration $K_{(\alpha)}$ qui est propre à chaque angle d'inclinaison (α), de la durée de la chute $t_{(\alpha)}$ et de la différence de densité $\Delta\rho$ entre la bille et l'échantillon mesuré.

$$\eta = K_{(\alpha)} \cdot (\rho_B - \rho_S) \cdot t_{(\alpha)}$$

η : viscosité dynamique de l'échantillon (mPa.s)

$K_{(\alpha)}$: constante de calibrage du système de mesure pour un angle (α) d'inclinaison (mPa.cm³.g⁻¹)

ρ_B : densité de la bille (g.cm⁻³) (ρ bille en acier = 7.7 g.cm⁻³)

ρ_S : densité de l'échantillon mesuré (g.cm⁻³)

$t_{(\alpha)}$: temps de roulement de la bille (s)

Les résultats sont enregistrés sous format Excel par le logiciel VisioLab Windows.

3.3. Rhéologie en régimes semi-dilué et concentré

La rhéologie est la science qui sert à décrire et à analyser les propriétés de déformation et d'écoulement de tous les types de matière (Barnes et al., 1989). D'une façon plus générale, la rhéologie étudie la réponse en termes de viscosité, élasticité et plasticité de chaque matériau aux sollicitations mécaniques qu'il subit.

Il existe trois catégories de matériaux :

- Les **solides élastiques idéaux** ayant la caractéristique de restituer entièrement l'énergie stockée lors d'une sollicitation. Ce sont des matériaux très durs et rigides tels que les roches et l'acier. Leur comportement de déformation est instantané et réversible, il est ainsi associé à celui du ressort de Hooke.
- Les **liquides newtoniens** ou visqueux idéaux inversement aux solides élastiques, ont la caractéristique de dissiper entièrement l'énergie stockée lors d'une sollicitation. Ils coulent ainsi de manière irréversible sous une contrainte de déformation. Un tel comportement est associé au modèle analogique d'un amortisseur. Les deux liquides les plus connus de cette catégorie sont l'eau et l'huile.
- Les **matériaux viscoélastiques** qui combinent des propriétés visqueuses et élastiques. Plusieurs modèles analogiques représentant des associations de ressorts et d'amortisseurs montés en série ou en parallèle, sont associés à ces matériaux : Modèle de Maxwell, Kelvin-Voigt, Zener, Burgers, Wagner, etc. On distingue dans cette catégorie deux types de matériaux distincts :
 - Les **liquides viscoélastiques** qui sont liquides au repos. Cependant, ils présentent certaines propriétés élastiques lorsqu'ils sont soumis à une déformation rapide et importante. Exemples : les shampoings et les colles.
 - Les **solides viscoélastiques** qui ont une consistance rigide au repos. Cependant, ils peuvent plus ou moins couler lorsqu'ils sont soumis à une force de déformation suffisamment grande. Exemples : les dentifrices, les crèmes et les gels.

La majorité des matériaux ont un comportement viscoélastique, notamment les polymères y compris le polysaccharide xanthane que nous étudions.

Pour caractériser un échantillon, deux techniques de mesure rhéologique peuvent être utilisées : la rhéologie rotative et la rhéologie oscillante (Figure 45).

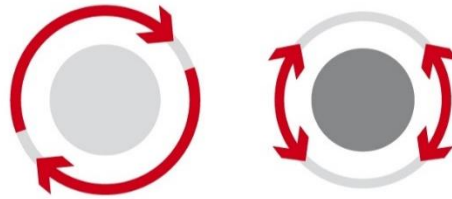


Figure 45: Rhéologie rotative (gauche) et rhéologie oscillante (droite) (Mezger, 2021)

En rhéologie rotative, le cisaillement est appliqué à un échantillon contenu entre deux plans parallèles. Le plan supérieur est mis en mouvement de rotation autour de son axe (la géométrie) alors que le plan inférieur est stationnaire et immobile (le plan Peltier), comme le schématise la Figure 46 :

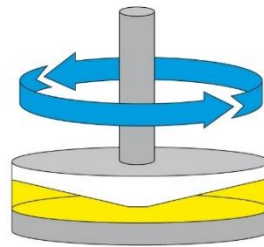


Figure 46: Essai de cisaillement par rotation sur un échantillon ; la géométrie cône-plan tourne tandis que le plan Peltier est immobile (Mezger, 2021)

Ainsi l'échantillon dans l'entrefer des deux plans de surface S peut plus ou moins se déformer et s'écouler selon la force de cisaillement appliquée \vec{F} (parallèle à la S). Dans le cas particulier d'un écoulement laminaire, le matériau peut être modélisé comme un empilement de couches planaires individuelles et minces qui glissent les unes par rapport aux autres, sans transfert de matière (Figure 47). Le ratio de la force de cisaillement par rapport à la surface constitue la contrainte de cisaillement :

$$\tau = \frac{F}{S}$$

(Avec F en N, S en m^2 et σ en Pa)

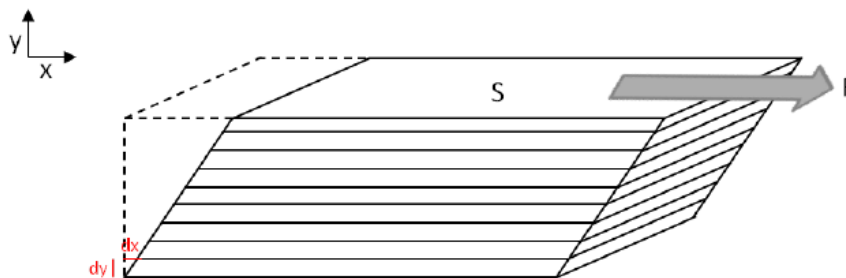


Figure 47: Représentation de l'écoulement laminaire d'un matériau (Roy, 2015)

L'application de la contrainte de cisaillement engendre un déplacement relatif des couches, ce qui correspond à la déformation du matériau γ (en %) :

$$\gamma = \frac{dx}{dy}$$

Avec dx le déplacement d'une couche par rapport à une autre et dy la distance entre deux couches voisines.

Entre les deux plans, il se crée un gradient de vitesse décrivant la variation spatiale de la vitesse d'écoulement. Ce gradient autrement appelé vitesse ou taux de cisaillement $\dot{\gamma}$ (en s^{-1}) est défini comme étant la dérivée de la vitesse de déformation par rapport au temps :

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt}$$

Une fois la contrainte et la vitesse de cisaillement déterminées, il est possible de remonter à la viscosité du matériau η (en Pa.s) selon :

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

Les tests rotationnels peuvent être réalisés selon deux modes de fonctionnement différents :

- Rotation avec vitesse de cisaillement contrôlée (*controlled shear rate CSR*) ;
 - Rotation avec contrainte de cisaillement contrôlée (*controlled shear stress CSS*).

En rhéologie oscillante, le modèle à deux plans peut également être utilisé pour expliquer les tests oscillatoires. Cependant, au lieu d'avoir un mouvement de rotation continue sur l'échantillon, le plan supérieur se déplace avec un mouvement d'oscillation rotationnelle de va-et-vient (Figure 48). Ainsi un cisaillement harmonique est appliqué sur l'échantillon.

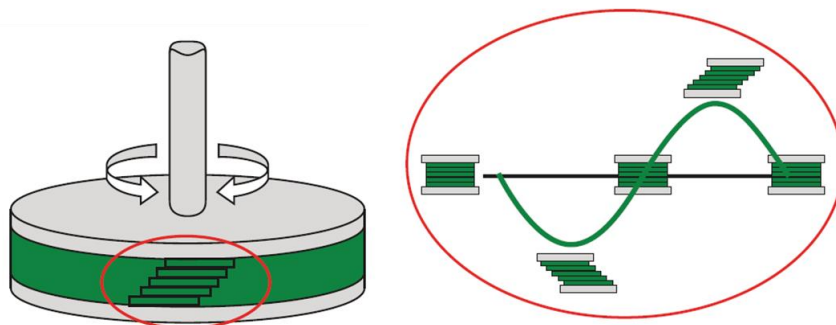


Figure 48: Essai de cisaillement oscillatoire sur un échantillon ; la géométrie oscille avec une déflexion à différentes positions angulaires $0^\circ / 90^\circ / 180^\circ / 270^\circ / 360^\circ$ (Netzsch, 2021)

Les tests oscillatoires peuvent être réalisés selon deux modes de fonctionnement différents :

- Oscillation avec déformation de cisaillement contrôlée (*controlled shear deformation CSD*)
- Oscillation avec contrainte de cisaillement contrôlée (*controlled shear stress CSS*)

Prenons le cas d'un test CSD : une sollicitation de déformation sinusoïdale $\gamma(t)$ est appliquée sur l'échantillon en fonction du temps à une fréquence angulaire donnée ω (en $\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$). La réponse mesurée est une contrainte $\tau(t)$ qui également doit être sinusoïdale. Ceci est valable lorsque l'échantillon n'est pas soumis à une déformation très élevée.

$$\text{Sollicitation : } \gamma(t) = \gamma_0 * \sin(\omega t)$$

$$\text{Réponse : } \tau(t) = \tau_0 * \sin(\omega t + \delta)$$

L'angle de déphasage δ représente le décalage temporel entre la courbe sinusoïdale de la sollicitation imposée et la courbe sinusoïdale résultante (Figure 49).

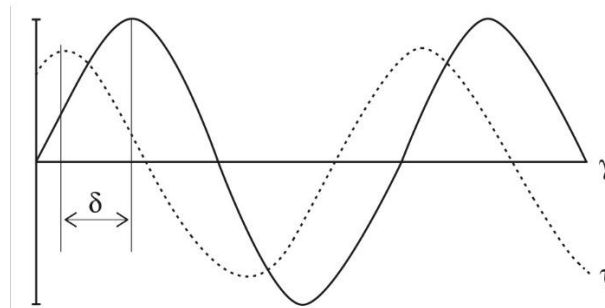


Figure 49: Test oscillatoire d'un échantillon viscoélastique, présenté comme une fonction sinusoïdale en fonction du temps (Mezger, 2021)

La valeur du déphasage informe sur le caractère viscoélastique du matériau étudié.

- $\delta = 0^\circ$ pour un solide élastique idéal
- $0^\circ < \delta < 45^\circ$ pour un solide viscoélastique
- $45^\circ < \delta < 90^\circ$ pour un liquide viscoélastique
- $\delta = 90^\circ$ pour un liquide visqueux idéal

Ainsi la contrainte enregistrée peut être décomposée en deux composantes l'une élastique et l'autre visqueuse tel que :

$$\tau(t) = \gamma_0 [G' \sin(\omega t) + G'' \sin(\omega t + \delta)]$$

Avec G' le module élastique (ou module de conservation) en Pa.s

$$G' = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cos \delta$$

Et G'' le module visqueux (ou module de perte) en Pa.s

$$G'' = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \sin \delta$$

Le rapport entre G'' et G' correspond à tangente de l'angle de déphasage :

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

Les différents types de mesure qui ont été réalisés pour la caractérisation des échantillons de xanthane précurseur et modifiés sont résumés dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Types de procédures et conditions dans le cadre des études rhéologiques

Types de tests	Conditions	Informations recherchées
Balayage en amplitude	γ de 0,1 à 100 %, $f = 1$ Hz, $T = 20$ °C	G' ; G'' ; domaine de linéarité
Balayage en température	T de 10 à 70 °C, $v_{\text{rampe}} = 2$ °C/min, $f = 1$ Hz, $\gamma = 9$ %	G' ; G'' ; T_m
Balayage en fréquence	f de 20 à 10^{-4} Hz, $T = 20$ °C, $\gamma = 9$ %	G' ; G'' ; point de croisement
Rampe d'écoulement	$\dot{\gamma}$ de 0,01 à 3500 s^{-1} pendant 300 s, $T = 20$ °C	Viscosité à cisaillement nul (Modèle de Carreau)

Partie 4 : Application à la stabilisation d'émulsions

4.1. Protocole de formulation d'émulsions

Dans le cadre de ce travail, nous avons fait le choix d'étudier l'impact du xanthane, natif ou modifié, incorporé à une dispersion référente ayant fait l'objet de travaux antérieurs au laboratoire. Le mode de préparation décrit ci-après permet de préparer de manière contrôlée et parfaitement reproductible 20 grammes de dispersion. Cette « émulsion » Huile dans Eau (O/W) consiste en une dispersion de 20 % m/m de phase huileuse dans 80 % m/m de phase aqueuse. Du xanthane précurseur non modifié ainsi que des xanthanes modifiés avec des chaînes alkyle C8, C12 ou C16 ayant des densités de greffage allant de 1 à 16 % sont utilisés pour constituer la phase aqueuse. La phase grasse est composée d'isononyle isononanoate (ININ) (Figure 50) de 0,856 g/cm³ de densité, fourni par la Stéarinerie Dubois (Boulogne Billancourt, France).

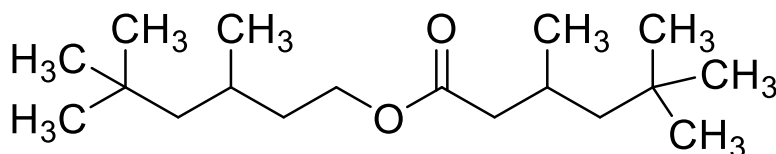


Figure 50: Structure chimique de l'isononyle isononanoate

Le protocole de dispersion est adapté de celui qui a été optimisé au sein du laboratoire lors des travaux de thèse de Céline Fantou (Fantou, 2018). Il sera détaillé dans le paragraphe suivant :

Pour la phase aqueuse, le xanthane (natif, précurseur ou modifié) est préalablement dissout à une concentration allant de 0,125 à 0,625 % m/m dans l'eau ultra pure sous agitation magnétique à température ambiante pendant une nuit. Le conservateur NaN₃ est ajouté à 300 ppm dans la solution afin d'éviter toute contamination bactérienne. Le pH neutre de la solution est ajusté à un pH acide de 4,3 par ajout goutte par goutte de HCl 0,1 M. La conductivité ionique est également ajustée à 1 mS/cm par l'ajout de NaCl(s).

La phase grasse (m = 4 g), composée uniquement de l'huile ININ est versée sur la phase aqueuse (m = 16 g). Les deux phases non miscibles sont chauffées dans un bain-marie à 30 °C dans le but de contrôler exactement la température du procédé de dispersion. Une fois les deux phases atteignent les 30 °C, le

mélange est homogénéisé pendant 3 minutes à une vitesse de 20 000 tr/min au moyen d'un Ultra-Turrax numérique T25 (IKA, Fribourg, Allemagne) équipé de la tête de dispersion S25N-10G (Figure 51).

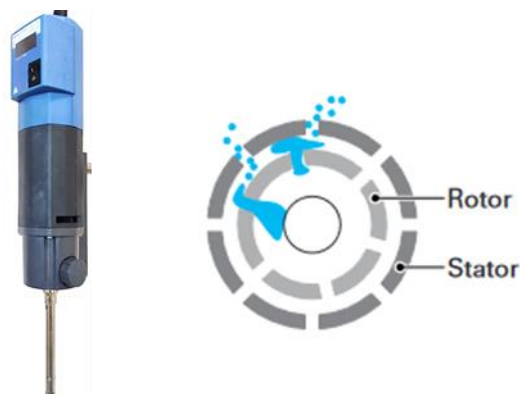


Figure 51: Schéma du procédé d'homogénéisation de type rotor-stator, adapté de Poux and Canselier (2004)

La dispersion est ensuite dégazée sous vide afin d'éliminer l'air incorporé lors du processus d'homogénéisation. La composition massique des émulsions est détaillée dans le Tableau 12 suivant.

Tableau 12 : Composition des formulations

Phase	Produit	% massique
Grasse apolaire	Isononyl isononanoate ININ	20
Aqueuse polaire	Xanthane (natif, précurseur ou modifié)	0,2 à 0,5
	Conservateur	0,025
	Eau ultra pure	QSP

Les dispersions sont préparées sur une masse totale de 20 g étant donné que les quantités de xanthane modifié disponibles pour chacun des grades sont limitées. Préalablement aux différentes études, la reproductibilité a été testée en préparant à minima 2 dispersions selon le même protocole puis en les caractérisant de façon sommaire. Une fois cette vérification faite, chaque émulsion a ensuite été préparée en double pour réaliser deux études en parallèle : un suivi par Turbiscan™ des phénomènes de déstabilisation et un suivi macroscopique et microscopique à l'aide du microscope optique et du granulomètre.

Les dispersions préparées en présence du précurseur seul constituent les échantillons références.

4.2. Microscopie optique

Le microscope optique est un appareil de routine utilisé pour visualiser facilement et rapidement les microstructures d'une émulsion. Ainsi des observations qualitatives des émulsions sont réalisées à l'aide d'un microscope droit Ni-U NIKON équipé d'une caméra DS-Fi3 (5,9 MP CMOS 2880x2048 à 15 images/secondes), d'un multiplicateur (x10), de différents objectifs (x10, x20, x40, x100) (Figure 52). Les images sont enregistrées et analysées avec le logiciel NIS-Elements imaging software.



Figure 52: Microscope optique

Un volume de 5 μL de l'émulsion est placé entre lame et lamelle permettant de visualiser les microstructures sous lumière blanche. Des images sont ainsi enregistrées aux grossissements x100, x200, x400 montrant différentes observations telles que la taille, la forme, le nombre et la répartition des gouttelettes d'huile ainsi que la présence ou non de certains phénomènes de déstabilisation d'émulsions tels que la floculation et la coalescence.

4.3. Granulométrie

La diffusion statique de la lumière (SLS) permet de mesurer la taille et la distribution de colloïdes dispersés, c'est-à-dire aussi bien des particules que des gouttelettes d'huile dispersées dans une phase aqueuse. En effet lorsqu'un rayon lumineux heurte une particule dans un milieu dispersé, il subit

plusieurs phénomènes liés à la diffusion de la lumière : la diffraction, la réflexion, la réfraction, l'absorption et la transmission (Figure 53).

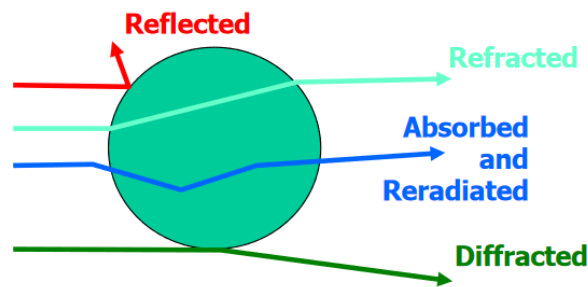


Figure 53: Schéma des phénomènes qu'un rayon lumineux subit au contact d'une particule (Bodycomb, 2013)

Ces phénomènes dépendent du ratio du diamètre de la particule ou de la gouttelette \varnothing par rapport à la longueur d'onde incidente λ . Ainsi en fonction de ce ratio plusieurs approximations mathématiques sont proposées :

- Théorie de Fraunhofer si $\varnothing \gg \lambda$ (le diamètre doit être au moins 40 fois supérieur à la longueur d'onde du faisceau laser ; par exemple pour $\lambda = 405 \text{ nm}$ ($0,405 \mu\text{m}$), \varnothing doit être supérieur à $40 \times 0,405 = 16,2 \mu\text{m}$). Cette théorie ne prend en compte que les phénomènes de diffraction et ne nécessite pas de connaître les propriétés optiques de l'échantillon.
- Théorie de Mie si $\varnothing > \lambda$, ce modèle prend en compte les phénomènes de diffraction et de réfraction et il nécessite la connaissance de l'indice de réfraction moyen des colloïdes dispersés avec sa partie réelle ainsi que l'imaginaire.
- Théorie de Rayleigh si $\varnothing < \lambda$.

Les mesures sont menées sur un granulomètre à diffraction laser SALD-7500 nano (Shimadzu, Kyoto, Japon) combiné à une cellule de mesure SALD BC 75 correspondant à un batch de 7 mL et un agitateur mécanique. Cet appareil est équipé d'un laser semi-conducteur violet (405 nm) et d'un système optique à transformation inverse de Fourier.

Les mesures sont réalisées en mode dilué afin d'éviter les effets de diffusion multiple (Terescenco, 2018).

Les essais préliminaires d'émulsions réalisés avec les xanthanes modifiés ont montré souvent une séparation en trois parties du milieu comme le montre la Figure 54 : une phase inférieure aqueuse (c), une phase émulsionnée (b) et une huile surnageante non émulsionnée (a). Afin d'étudier les

phénomènes de déstabilisation, un volume d'environ 5 μL du centre de chacune des parties (b) et (c) est prélevé puis dilué dans de l'eau ultra pure jusqu'à obtention d'une valeur d'absorbance comprise entre 0,16 et 0,20. L'échantillon est homogénéisé dans la cellule de mesure par agitation mécanique.

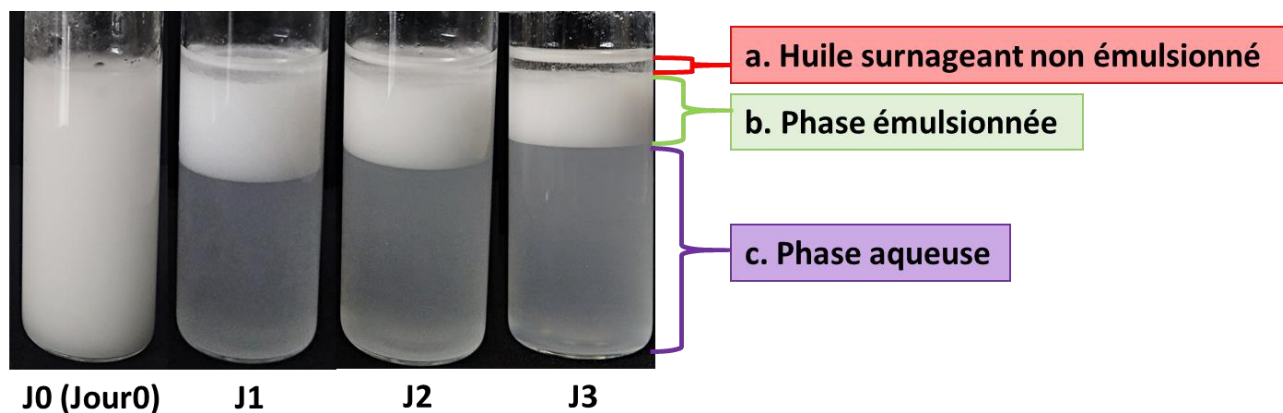


Figure 54: Clichés photographiques d'une dispersion H/E en présence d'un xanthane modifié. J1, J2 et J3 montrent la présence de trois différentes zones (a, b et c)

Trois répétitions sont réalisées pour chaque mesure en utilisant la théorie de Fraunhofer. Les données sont collectées et traitées à l'aide du logiciel WingSALD II-7500 (Version 3.1, Shimadzu, Kyoto, Japon). Les résultats peuvent être représentés sous deux types de courbes de distribution différentes, mais complémentaires quant à la microstructure des échantillons :

- La **distribution en nombre** attribue le poids des gouttelettes les plus nombreuses à toutes les autres gouttelettes présentes dans le milieu dispersant.
- La **distribution en volume** privilégie les gouttelettes ou agrégats de gouttelettes les plus volumineux même s'ils sont peu nombreux dans le milieu.

C'est cette dernière qui semble être la plus adaptée pour étudier les phénomènes de déstabilisation des émulsions. Il est ensuite possible de comparer les échantillons entre eux en utilisant différentes valeurs statistiques : la moyenne, la médiane, le mode, etc.

4.4. Turbiscan™

Le Turbiscan™ est basé sur la technique de la diffusion statique multiple de la lumière SMLS (Static Multiple Light Scattering) reposant sur la loi physique de Lambert-Beer.

Comme le montre la Figure 55, une onde lumineuse (LED avec $\lambda_{\text{air}} = 880 \text{ nm}$) est émise en direction de l'échantillon. Cette lumière nommée incidente (Incident or Emitted Light EL) peut ensuite subir deux types de phénomènes en fonction de la concentration de l'échantillon :

- Dans un **milieu dilué** (zone claire à turbide), la lumière subit un phénomène de transmission T, dont l'intensité est détectée et collectée par un détecteur placé à 180 °C par rapport à EL.
- Dans un **milieu concentré** (zone turbide à opaque), la lumière subit un phénomène de rétrodiffusion R ou BS (pour Backscattering), dont l'intensité est détectée et collectée par un détecteur placé à 45 °C par rapport à EL.

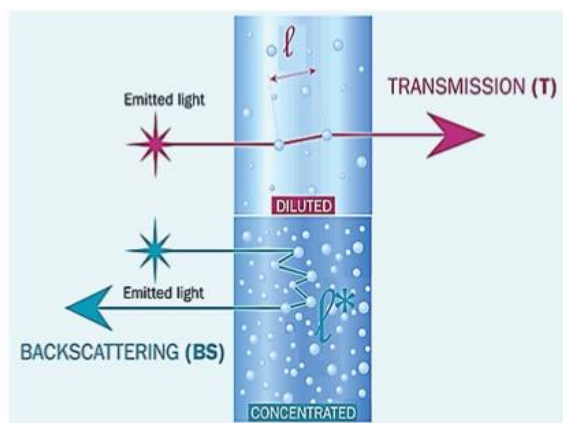


Figure 55: Schéma du principe physique de la SLSM (Lu et al., 2017)

Le Turbiscan™ est équipé d'une tête de lecture portée par un moteur assurant un balayage vertical au niveau de la cellule cylindrique contenant l'échantillon (Figure 56). Ainsi un scan est réalisé entre le bas du tube en verre et le ménisque de l'échantillon permettant de :

- Mesurer la turbidité d'un échantillon
- Détecter les variations de taille des particules dispersées (coalescence, floculation)
- Détecter une séparation de phase (sédimentation, crémage)

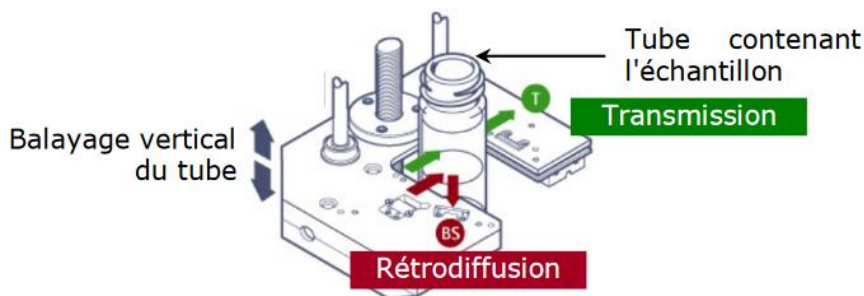


Figure 56: Schéma d'une mesure au Turbiscan™ (Formulation, 2020)

En effet, les valeurs de T et R dépendent de la taille des particules, leur concentration et de leur état d'agrégation. Ils sont obtenus respectivement par les équations suivantes :

$$T = T_0 \exp\left(\frac{-3r_i \phi Q_s}{d}\right)$$

$$R = \sqrt{\frac{3\phi(1-g)Q_s}{2d}}$$

Avec r_i le rayon interne de la cellule de mesure, T_0 la transmittance de la phase continue, d et ϕ sont respectivement le diamètre moyen et la fraction volumique des gouttelettes dispersées, g et Q_s deux paramètres optiques d'après la théorie de Mie.

En général, si la transmission T est inférieure à 0,2 %, le spectre de rétrodiffusion est analysé. Sinon, c'est celui de la transmission qui est pris en compte. La Figure 57 représente les spectres T et R qui correspondent à trois jours de mesure réalisée au niveau de l'échantillon de la Figure 54.

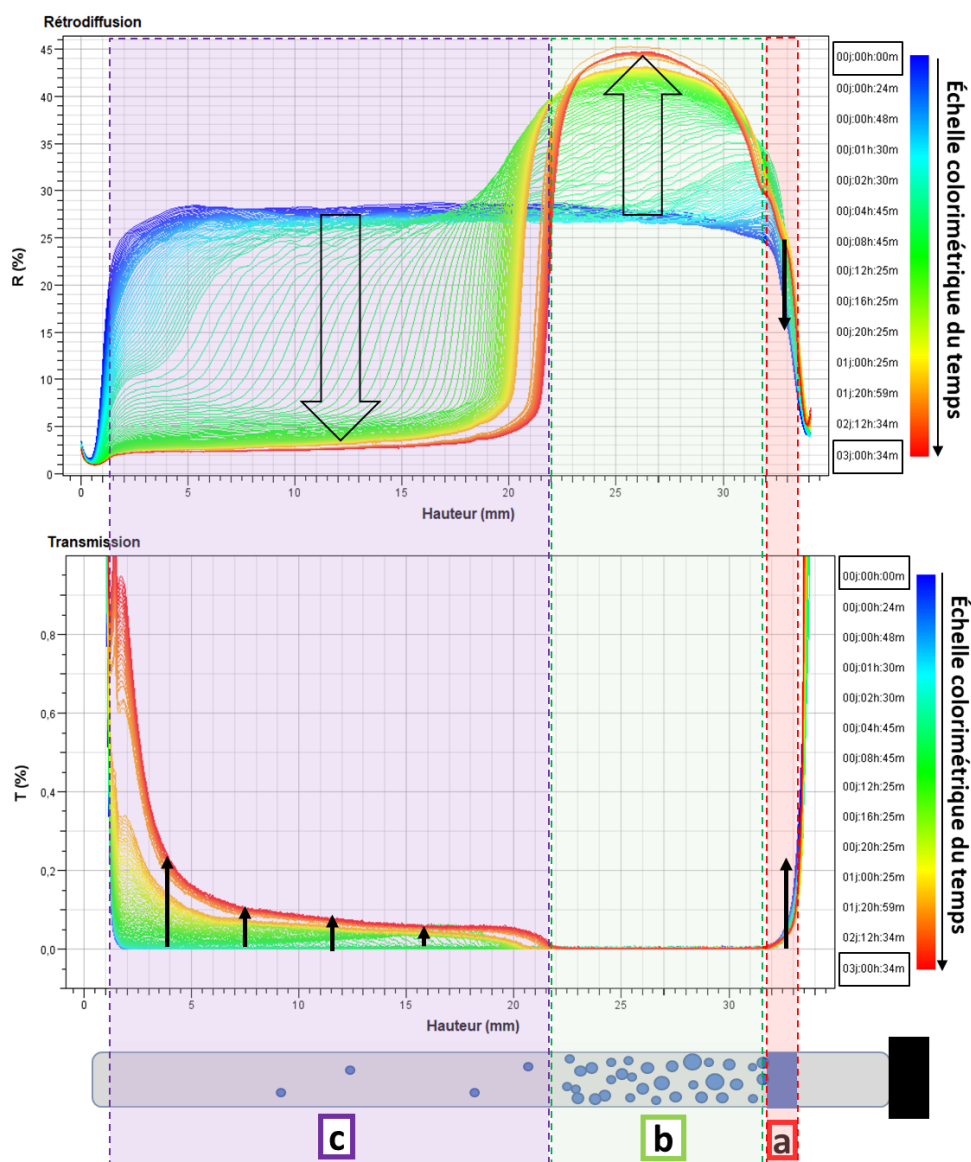


Figure 57: Spectre d'un suivi au Turbiscan™ avec la rétrodiffusion (R en %) et la transmission (T en %) correspondant à l'échantillon de la Figure 54.

Il est possible de distinguer à travers l'évolution de ces deux grandeurs, la présence de trois zones à comportements différents :

- 1) **Zone violette (0-22 mm)** : R baisse et T augmente, ce qui traduit une clarification et une baisse d'opacité due à la coalescence et à la migration des gouttelettes d'huile du fond vers le haut.
- 2) **Zone verte (22-31 mm)** : R augmente et T s'annule, traduisant une augmentation d'opacité accrue due à la présence accrue de gouttelettes. C'est le phénomène de crémage.
- 3) **Zone rouge (31-33 mm)** : R baisse et T augmente indiquant la présence de clarification à cause du phénomène de relargage d'huile de la dispersion.

Ces trois zones correspondent à la déstabilisation en trois phases : c, b et a, respectivement de la dispersion décrite dans la partie précédente (4.3).

Un échantillon pourrait être qualifié comme stable dans le temps seulement si les scans se superposent parfaitement au niveau du spectre de la transmission et également celui de la rétrodiffusion.

Il est également possible de présenter d'évolution avec les spectres de Delta T ou Delta R. La fonction « Delta » consiste à soustraire le scan de référence (par défaut le premier) aux autres scans, c'est-à-dire à utiliser ce scan de référence comme un blanc pour amplifier les variations et les percevoir plus facilement (Formulation, 2020). Un exemple de spectre Delta R (Δ BS) révélant plusieurs phénomènes de déstabilisation est représenté dans la Figure 58.

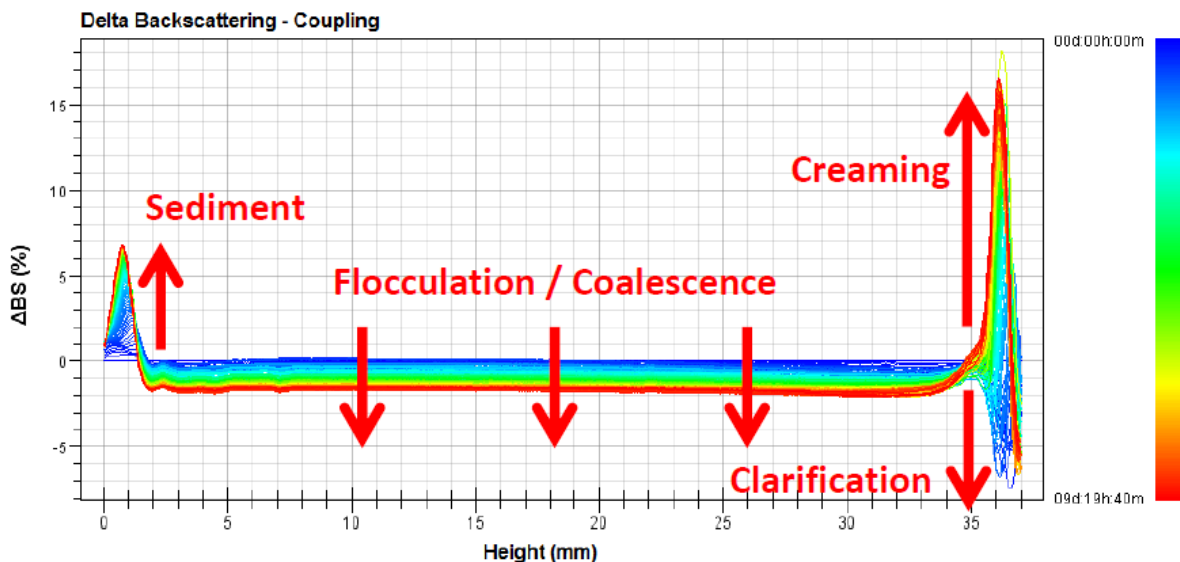


Figure 58 : Spectre Δ BS montrant différents phénomènes de déstabilisation dans un même échantillon (Formulation, 2020).

En complément aux résultats obtenus sous format de spectre de pourcentage en transmission et rétrodiffusion, un indice développé par Formulacion peut être récolté et pris en compte dans le traitement des données : l'indice de stabilité Turbiscan™ TSI (Turbiscan Stability Index). En effet, le TSI représente la cinétique de déstabilisation d'un échantillon. Il est obtenu par la formule mathématique suivante :

$$TSI = \sum_i \frac{\sum_h |Scan_i(h) - Scan_{i-1}(h)|}{H}$$

Avec :

- H: Hauteur de l'échantillon entre le bas du tube et le ménisque
- $Scan_i(h)$: scan $i(h)$ à hauteur h donnée.
- $Scan_{i-1}(h)$: scan $i-1(h)$ à hauteur h donnée.
- i : le temps entre 1 et k (avec k = temps total/vitesse de scan)

Un tel indice a été conçu par Formulacion pour donner une idée de la stabilité d'un échantillon, ainsi plus le TSI est faible, plus l'échantillon est stable (Formulacion, 2020; Luo et al., 2017). Cependant, il reste un indice de comparaison plutôt industriel d'où la nécessité d'analyser les spectres de suivi entièrement.



Conclusion du chapitre 2

La **modification chimique** du xanthane par les anhydrides succiniques d'alkényle (ASA) a été réalisée dans l'eau grâce à une réaction de succinylation entre les fonctions hydroxyles du xanthane et l'anhydride des ASA. Différents dérivés de xanthane ont été préparés en utilisant plusieurs agents de greffage : OSA, DDSA et HDSA.

Plusieurs techniques ont été mises en œuvre pour caractériser les **propriétés chimiques et thermiques** du xanthane modifié : méthode de Bradford et spectrophotométrie UV (taux de protéine), FTIR (valider la réussite du greffage), RMN (déterminer la structure moléculaire, le degré de substitution et la pureté), ATG (déshydratation, décomposition thermique).

Les **propriétés du xanthane en solution** ont été mises en évidence par des études de tensiométrie, viscosimétrie à bille et rhéologie (balayages en amplitude, en fréquence, en température et rampe d'écoulement).

Ensuite, l'impact du xanthane, natif ou modifié, a été étudié pour stabiliser des dispersions Huile-dans-Eau. L'analyse des dispersions a été réalisée en s'appuyant sur plusieurs approches pour observer et mieux **comprendre les phénomènes de stabilisation et de déstabilisation** : a) analyse macroscopique, b) analyse de la microstructure (taille et distribution des gouttelettes), c) suivi par diffusion statique multiple de la lumière utilisant l'analyseur Turbiscan™.

Chapitre 3 : Résultats et discussions

- **Partie 1 : Synthèse par voie verte de dérivés de xanthanes et caractérisation de leurs propriétés interfaciales**
- **Partie 2 : Détermination des propriétés intrinsèques et rhéologiques des xanthanes hydrophobiquement modifiés**
- **Partie 3 : Caractérisation des propriétés émulsionnantes des xanthanes amphiphiles**

Chapitre 3 : Résultats et discussions

Introduction

Les multiples résultats élaborés suite aux travaux de recherche menés au sein du laboratoire URCOM sont décrits et discutés dans ce chapitre. De façon générale, ces travaux portent essentiellement sur le développement d'une voie verte de modification chimique du xanthane par des greffons alkyles hydrophobes, la caractérisation chimique et physicochimique des dérivés amphiphiles obtenus et finalement l'étude de leurs propriétés de stabilisation des émulsions et des interfaces leur permettant potentiellement de substituer les tensioactifs conventionnels.

Comme déjà évoqué dans le premier chapitre, le xanthane qu'il est sous conformation ordonnée ou désordonnée, présente sur sa structure deux groupements réactifs aptes à la fonctionnalisation par réaction chimique. Plusieurs modifications chimiques ont été décrites dans la littérature, y compris celle développée auparavant dans le laboratoire URCOM sur le greffage de chaînons hydrophobes via une réaction d'amidation par couplage peptidique entre des alkylamines et les fonctions acides carboxyliques situées sur les chaînes latérales du xanthane ordonné (Roy, 2015) et désordonné (Fantou, 2018). Cependant, la plupart de ces réactions sont effectuées dans des conditions polluantes et peu écologiques. Il est donc nécessaire de se tourner vers des protocoles de greffage verts et respectueux à l'environnement.

1. Développement et optimisation d'un protocole de greffage du xanthane par voie verte

Pour répondre à l'enjeu environnemental et écologique, un protocole de modification par estérification des groupements hydroxyles du xanthane par des anhydrides alkényles succiniques a été développé et optimisé. Il s'agit donc d'une chimie respectueuse des principes de la chimie verte et durable : réactifs et solvant non toxiques, température basse, réaction mono-étape sans catalyseurs ni agents de couplage... (voir chapitre 1 partie 3). Ainsi, il a été possible de greffer des chaînes hydrophobes de longueurs différentes, octényles, dodécényles et hexadécényles, sur le squelette du xanthane sous sa forme ordonnée. Ensuite, un protocole de détermination du degré de succinylation par analyse RMN ^1H a également été optimisé afin d'obtenir des valeurs précises et reproductibles pour quantifier les dérivés amphiphiles synthétisés. Trois facteurs ont été évalués pour moduler le taux de greffage : le pH du milieu, le temps de réaction et le ratio molaire agent de greffage/monomère xanthane en plus de la longueur de la chaîne alkyle. Une fois parfaitement caractérisés chimiquement, des mesures de la tension superficielle ont été menées sur ces dérivés. Il a été ainsi possible de

démontrer que le greffage permet au xanthane d'acquérir une activité de surface qu'il ne possédait pas sans ces greffons hydrophobes. Ces résultats constituent la première partie de ce chapitre et seront présentés dans l'article « Original tools for xanthan hydrophobization in green media: Synthesis and characterization of surface activity » (Abou Dib et al., 2022) publié dans Carbohydrate Polymers.

2. Propriétés thermiques, intrinsèques et rhéologiques du xanthane hydrophobiquement modifié

Une fois les protocoles de synthèse et de quantification mis au point et les prometteuses propriétés de surface étudiées, les caractérisations des dérivés de xanthane ont été poursuivies par une étude sur les propriétés de dégradation thermique des dérivés à l'état poudre, ce qui a permis de démontrer que le greffage confère une stabilité thermique à la gomme. Ensuite, les propriétés viscosimétriques et rhéologiques ont été étudiées en milieu dilué et concentré pour comprendre l'effet qu'apporte le greffage sur les propriétés physicochimiques des dérivés en solution ainsi que son impact sur la conformation hélicoïdale du polysaccharide. Les résultats obtenus sont soumis dans Food Hydrocolloids sous le titre « Intrinsic and rheological properties of hydrophobically modified xanthan synthesized under green conditions » et seront détaillés dans la deuxième partie du chapitre.

3. Etude de la capacité des xanthanes amphiphiles à la stabilisation des émulsions

Après avoir compris, le comportement en solution des xanthanes modifiés, et mis en évidence leurs particulières propriétés de surface, l'ultime étape a été de mettre en valeur leurs propriétés de stabilisation d'interface eau/huile. Ainsi, des dispersions huile dans eau ont été préparées en présence des dérivés de xanthane comme agent stabilisant. Les mélanges ont été suivis macroscopiquement ainsi que microscopiquement au cours du temps par microscope optique, granulométrie laser et diffusion statique multiple de la lumière, permettant de comprendre les phénomènes de stabilisation/déstabilisation gouvernant le milieu. Contrairement à son seul rôle de viscosifiant ralentisseur de coalescence et crémage sous sa forme native, le xanthane hydrophobiquement modifié a ainsi été valorisé en tant que polymère amphiphile jouant le rôle d'un émulsifiant qui stabilise l'interface huile/eau. Il a également été possible d'évaluer l'impact du taux de greffage et de la longueur de chaînes greffées sur l'efficacité de l'émulsification et de proposer des voies d'amélioration de cet effet telles que : l'augmentation de la concentration du modifié ou encore l'ajout de xanthane natif pour avoir une synergie entre le natif viscosifiant et le modifié émulsifiant. Cette troisième partie a fait l'objet d'une troisième publication soumise dans Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects sous le titre : « Promising potential of biosourced amphiphilic xanthan as an emulsifier in O/W dispersions ».

Partie 1 : Synthèse par voie verte de dérivés de xanthanes et caractérisation de leurs propriétés interfaciales

Cette première partie décrit en détail le protocole de modification chimique du xanthane via une estérification par des alkényles anhydrides succiniques (ASA) menée dans des conditions vertes et respectueuses à l'environnement ainsi que la caractérisation de la densité de greffage et de la tension superficielle des xanthanes hydrophobiquement modifiés. Ce travail a fait l'objet de la publication suivante : « **Original tools for xanthan hydrophobization in green media: Synthesis and characterization of surface activity** » publiée dans Carbohydrate Polymers.

À notre connaissance, différentes réactions de modification chimique ont été décrites dans la littérature, cependant aucune n'a été effectuée dans des conditions compatibles avec les préceptes de la chimie verte. Ainsi, nous nous sommes efforcés d'élaborer un protocole de greffage en s'appuyant sur une voie verte proposée dans le cadre d'autres polysaccharides, en l'adaptant pour greffer sur le xanthane hydrophile des entités hydrophobes d'alkényles à différentes longueurs de chaînes (octenyl, C8 ; dodécenyl, C12 et hexadécenyl, C16). La réaction se déroule dans l'eau entre le xanthane seul et l'agent de greffage sans l'utilisation de solvants organiques coûteux et toxiques, ni d'agent de couplage. Les conditions sont simples, douces et écologiques : une température proche de l'ambiante, des temps relativement courts ainsi qu'une seule étape réactionnelle. Des caractérisations en RMN du proton sont effectuées pour quantifier le taux de greffage des xanthanes hydrophobiquement modifiés en fonction des différents paramètres de la réaction afin d'identifier l'impact de chacun d'eux sur la réactivité du greffage et de comprendre les différents mécanismes et phénomènes qui gouvernent la réaction de modification. Finalement, les propriétés interfaciales des xanthanes modifiés à DS défini ont été caractérisées afin de mettre en évidence l'activité de surface acquise par le polymère grâce aux chaînons hydrophobes greffés.

Principaux résultats

Le xanthane a été chimiquement modifié par les anhydrides succiniques d'alkényle (ASA) via une réaction d'estérification, ici nommée réaction de succinylation, entre les fonctions hydroxyles du xanthane et l'anhydride des ASA (Figure 59). La synthèse se déroule dans l'eau à 30 °C selon le protocole détaillé dans le chapitre 2 partie 1. Différents dérivés de xanthane ont été préparés en utilisant plusieurs agents de greffage : OSA, DDSA et HDSA, et en modulant différents paramètres de la réaction : le pH (entre 5 et 9), l'excès molaire de l'agent de greffage par rapport au monomère de

xanthane (de 1 jusqu'à 15 d'excès molaire en ASA) et le temps de réaction (entre 2 h et 4 jours). Les différentes étapes du protocole de greffage ont ainsi été modulées et optimisées, et la quantification de la densité de greffage des xanthanes modifiés hydrophobiquement réalisée par RMN. Les principaux résultats sont détaillés dans les paragraphes qui suivent.

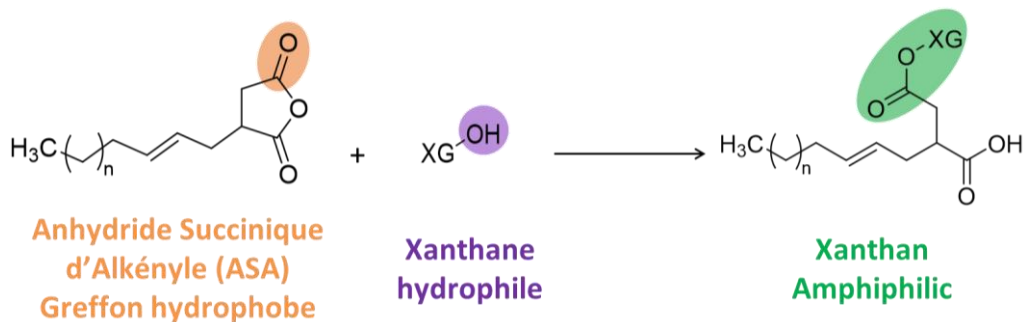


Figure 59 : Réaction de modification chimique du xanthane

Méthode d'optimisation du protocole de greffage

Concernant la variable temps de réaction, deux stratégies pouvaient être envisagées afin de suivre la cinétique de la réaction pendant un temps donné :

- Réaliser une série de réactions distinctes stoppées chacune à une durée de réaction donnée ;
- Réaliser sur une seule réaction en réalisant plusieurs prélèvements à différents temps de réaction.

La première stratégie envisagée s'est avérée compliquée à mettre en œuvre, en particulier du fait du nombre élevé d'expériences à réaliser pour obtenir des résultats probants. Pour cette raison, nous avons procédé à l'emploi de la stratégie des prélèvements successifs ($V = 15$ mL) qui est expérimentalement plus simple à mettre en place ; cependant elle peut présenter certaines perturbations de la réaction du fait de modification du volume et de la composition du mélange réactionnel à mesure de l'avancement de la réaction.

D'autres synthèses ont été également réalisées en augmentant le volume réactionnel à 1500 mL en utilisant un réacteur de 2 L. Ces réactions nous ont permis de récupérer une masse plus grande de xanthanes modifiés, utile pour mener de multiples analyses et caractérisations des propriétés en solution et en émulsion des xanthanes modifiés.

Vérification du protocole de purification

La récupération du polymère modifié se fait par précipitation dans de l'isopropanol. En effet, lors de cette étape, des traces restantes de DDSA et HDSA se trouvent parfois piégées sous forme de solides blancs emprisonnés dans la masse de xanthane précipité. Pour cela, il fallait en premier lieu valider l'efficacité du protocole de purification, tout en s'assurant de l'absence de toute trace d'ASA résiduel dans le polymère purifié.

Le test suivant a été donc réalisé : pour un milieu réactionnel donné dans lequel des particules non réagies de DDSA insoluble sont visibles à l'œil nu, le volume présent dans le réacteur a été divisé en deux parties égales V_1 et V_2 :

- V_1 : Ce premier volume a subi les étapes classiques de la récupération du polymère, à savoir : la précipitation dans l'isopropanol, les lavages à l'acétone et l'isopropanol et le séchage à l'étuve (consulter les détails dans le chapitre 2 partie 1) ;
- V_2 : Ce deuxième volume a été soumis à une étape préliminaire de centrifugation qui a permis d'isoler le culot contenant le DDSA non réagi du reste de la solution. C'est donc juste la partie surnageante qui a été utilisée par la suite pour les mêmes étapes classiques de la récupération.

Une fois les polymères issus de V_1 et V_2 séchés, ils ont été analysés par RMN ^1H . Les DS déterminés se sont avérées identiques, permettant de démontrer l'efficacité du protocole de récupération et sa capacité à éliminer toutes traces résiduelles d'ASA n'ayant pas réagi.

Ultérieurement les dérivés de xanthane obtenus en fin de réactions ont été caractérisés par spectroscopie infrarouge IRFT. En comparant les spectres des dérivés à celui des ASA seuls, l'absence des pics d'élongation symétrique et asymétrique des liaisons C=O de l'anhydride confirme bien l'efficacité du protocole de purification à éliminer toutes traces résiduelles des ASA.

Vérification de la solubilité des xanthanes modifiés

Il est évident que le fait de greffer des entités hydrophobes sur le xanthane le rend moins hydrosoluble. Ainsi plus les chaînes alkyles greffées sont longues et/ou plus le nombre de greffons est élevé, plus élevée est la probabilité d'obtenir un dérivé partiellement soluble, voire insoluble, dans l'eau. Parmi tous les xanthanes modifiés synthétisés, seuls quelques XG-C16 présentaient des difficultés à leur solubilisation complète dans l'eau lors de la préparation d'une solution à 5 g.L^{-1} qui devait servir pour la quantification des DS. Ces dérivés présentaient un aspect très visqueux dans l'eau avec une couleur trouble blanchâtre (Figure 60). Ces derniers sont exclus des études physicochimiques ainsi que de la suite du travail.



Figure 60 : Aspect de dérivé de xanthane XG-C16 partiellement soluble dans l'eau

Ainsi, la valeur de DS maximale qui a pu être déterminée tout en conservant la solubilité dans l'eau avec des chaînes alkyles à 16 carbones est de l'ordre de $5,1 \pm 1,3$ %. Les autres grades de xanthane modifié avec des greffons C8 ou C12 restent solubles avec des DS allant respectivement jusque environ 10 % et 20 %.

Choix du pic d'intégration pour la détermination du DS

Le traitement des données est réalisé avec le logiciel MestReNova dans lequel l'intégration peut être faite selon deux méthodes d'exploitation :

- Par simple intégration des surfaces des pics ;
- Par une déconvolution basée sur un modèle mathématique (Laplacien) en utilisant l'algorithme GSD (Global Spectral Deconvolution) du logiciel MestReNova.

La Figure 61 compare le spectre d'un xanthane modifié par le DDSA (DS = 15 %) à celui de son précurseur. Le spectre du précurseur (en bleu) ne montre aucun pic supplémentaire à ceux attribués au xanthane natif, à savoir celui de l'acétate à 2,16 ppm et celui du pyruvate à 1,46 ppm. Ce résultat confirme qu'il n'y a aucune altération survenue par les conditions de la réaction, ni ceux de la précipitation et la purification du polymère. Par contre, au niveau du spectre du xanthane modifié (en vert), il y a l'apparition de pics supplémentaires correspondant aux protons des chaînes alkyles du DDSA.

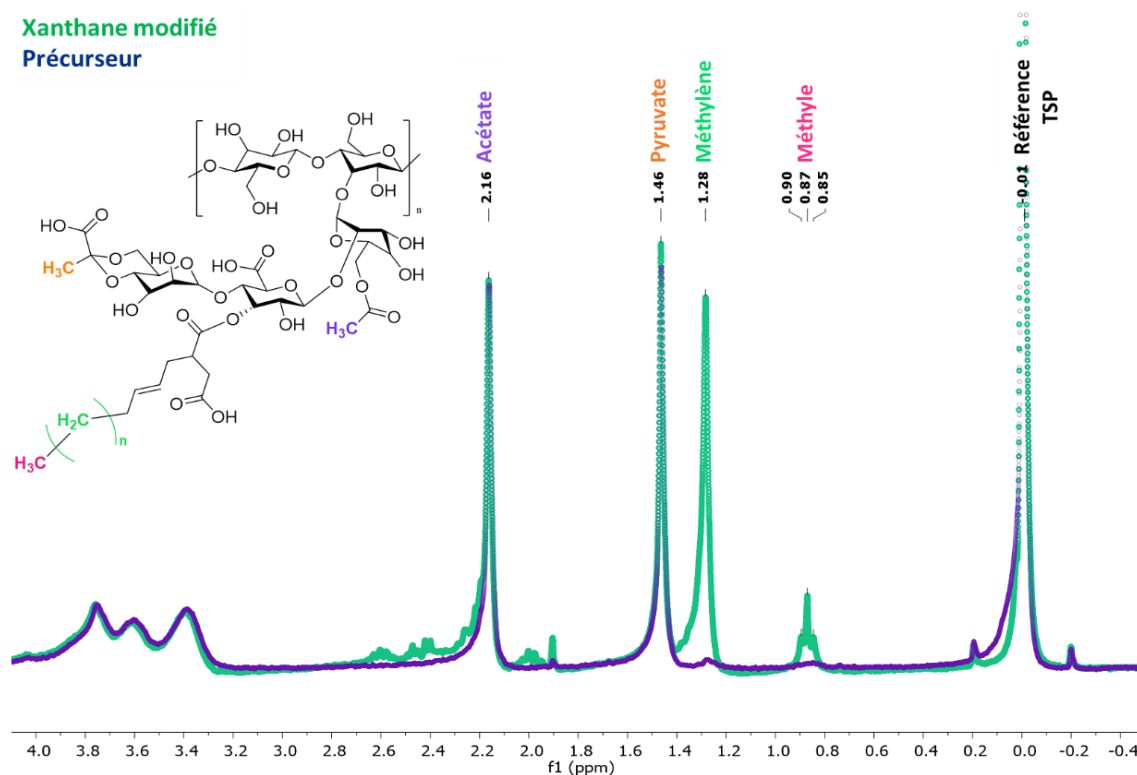


Figure 61: Spectre RMN ^1H du précurseur (en bleu) et d'un XG-C12 (en vert)

La **quantification des chaînes greffées** peut être menée soit par rapport au triplet du méthyle à $\delta = 0,87$ ppm, qui intègre pour 3 protons soit par rapport au singulet des méthylènes à $\delta = 1,28$ ppm, qui lui intègre pour $2n$ protons ($2n = 6$ ou 14 ou 24 protons pour un greffage respectivement avec l'OSA, le DDSA ou le HDSA). La densité de greffage (DS en pourcentage) qui en découle représente le nombre de chaînes alkyles greffées par 100 unités de répétition.

Afin d'homogénéiser la méthode d'intégration pour toutes les analyses de caractérisation par RMN, nous avons choisi d'écarter l'intégration du triplet de méthyle, puisqu'il est souvent difficile de distinguer précisément les 3 pics du triplet (surtout lorsque le greffage est faible) et de mener des calculs par rapport à des signaux relativement faibles vu qu'ils n'intègrent que pour 3 protons. Par contre, l'intégration du singulet des méthylènes est plus adaptée avec un pic intense qui intègre pour 6, 14 ou 24 protons dans les cas respectifs de XG-C8, XG-C12 et XG-C16.

Il fallait ensuite déterminer pour ce singulet des méthylènes la méthode d'intégration la plus adéquate entre une simple intégration des aires en dessous des pics et la méthode de déconvolution. En effet, la méthode de la simple intégration des surfaces est efficace et simple lorsque les pics à doser sont bien distincts et suffisamment éloignés des autres pics du spectre. Ceci est loin d'être le cas ici, avec le pic des méthylènes qui se positionnent à un déplacement chimique de $1,28$ ppm qui est proche du pic du pyruvate à $1,46$ ppm (voir le spectre vert sur la Figure 61), d'où la difficulté à délimiter nettement ces deux pics voisins. Ainsi, la méthode de déconvolution permet de mieux intégrer les signaux en s'appuyant sur des modèles mathématiques qui déterminent précisément l'aire des pics.

En partant de ces constats, la détermination des densités de greffage des chaînes alkényles sera réalisée par rapport au singulet des méthylènes via la méthode d'intégration par déconvolution.

Par la suite, les produits issus de la réaction ont été principalement caractérisés en **RMN du proton**, vu que les spectres obtenus par analyses qualitatives par infrarouge ne présentaient qu'une faible résolution ne nous permettant pas de mener une interprétation détaillée et précise. Ainsi, il a été possible de valider l'efficacité du greffage par la présence des pics caractéristiques de la chaîne alkyle, en particulier le méthyle à $0,87$ ppm et les méthylènes à $1,24$ ppm, et de déterminer le degré de succinylation (DS) de chacun des dérivés de xanthane synthétisés.

Afin d'évaluer **l'effet du pH** sur l'efficacité du greffage de l'un des ASA (DDSA) sur le xanthane, trois intervalles ont été sélectionnés : acide (5-5,5), neutre (7-7,5) et basique (8.5-9). Les résultats ont montré qu'un pH basique permet une réactivité réactionnelle optimale avec des valeurs de DS élevées

et reproductibles par rapport aux deux autres pH acide et neutre. En effet, un milieu alcalin permet l'activation des groupements hydroxyles du xanthane, ce qui rend ces sites disponibles à l'attaque nucléophile par les anhydrides. Par conséquent, le pH a été fixé dans cet intervalle (8,5-9) pour la suite de l'étude.

Dans un second temps, **l'effet du temps de réaction** a été évalué également pour le greffage avec le DDSA. Deux observations ont été faites : 1) La densité de greffage augmente avec le temps pour des durées courtes à moyennes (globalement entre 2 et 8 h) alors que 2) pour des durées longues (> 8h) la densité de greffage diminue pour des temps réactionnels plus longs. Donc la réactivité augmente pour atteindre un optimum de greffage avant finir par diminuer en fonction du temps. Ceci est attribué à la domination de la réaction inverse à l'estérification, ce qui correspond à l'hydrolyse des esters en chaînes latérales.

Concernant **l'effet du ratio molaire** (DDSA : monomère xanthane), deux scénarios ont pu être constatés : 1) une réactivité basse traduite par des DS relativement bas ($DS < 4\%$) si une quantité insuffisante de l'agent de greffage est utilisée (ratio 1:1), cela d'autant plus que l'anhydride est sensible à l'hydrolyse en milieu aqueux basique, 2) une réactivité basse si la quantité de DDSA est élevée (ratio 1:15) ceci s'explique par la formation d'une phase grasse plus hydrophobe qui empêche la diffusion du DDSA vers le xanthane en phase aqueuse et donc moins de chaînes alkyles finalement greffées. Par conséquent, une quantité suffisante, mais non excessive en ASA constitue le compromis pour une meilleure réactivité.

Finalement, **l'effet de la longueur de la chaîne alkyle** montre qu'un HDSA à 16 carbones est moins réactif en solution aqueuse que le DDSA (C12), ceci est dû d'une part à l'hydrophobie accrue de la phase grasse inhibant la diffusion du HDSA en phase aqueuse et d'autre part, au fait que des chaînes longues greffées sur le xanthane peuvent rendre les sites hydroxyles réactifs non accessibles pour le greffage. Autrement, le greffage par des OSA (C8, aspect huileux) est moins réactif que celui par DDSA. Bien que les chaînes alkyles soient dans ce cas plus courtes donc normalement la diffusion de ces greffons hydrophobes devrait être plus simple, l'aspect liquide des OSA les rend plus susceptibles à l'hydrolyse en milieu aqueux, de ce fait il y a moins d'agent de greffage réactif pour l'attaque nucléophile des hydroxyles du xanthane. Par conséquent, le DDSA constitue l'agent de greffage permettant d'obtenir un intervalle de DS plus ample allant jusqu'à 16% en moyenne.

Une fois tous les paramètres maîtrisés, il a été nécessaire d'évaluer les propriétés de surface des dérivés hydrophobiquement greffés. Une analyse de la tension superficielle (TS) de solution contenant

du xanthane à 0,2% a été menée avec un suivi pendant 20 minutes. Après avoir confirmé l'absence d'activité de surface pour le xanthane précurseur comme pour le natif ($TS = 72 \text{ mN/m} = TS \text{ de l'eau}$), les résultats sur les modifiés ont montré une baisse de la tension de l'eau en fonction du temps jusqu'à 58 et 37 mN/m pour respectivement un XC12 fortement greffé ($DS = 16,9\%$) et un XC16 de longue chaîne alkyle. Par conséquent, la présence de greffons hydrophobes confère au xanthane des propriétés interfaciales qui donnent aux dérivés HMX un potentiel d'agent de stabilisation d'interfaces tel dans le cas d'émulsions Huile dans Eau (H/E).

Les résultats détaillés sont présentés dans la publication suivante.

Article 1: « Original tools for xanthan hydrophobization in green media: Synthesis and characterization of surface activity »

Carbohydrate Polymers 291 (2022) 119548



Contents lists available at ScienceDirect

Carbohydrate Polymers

journal homepage: www.elsevier.com/locate/carbpol



Original tools for xanthan hydrophobization in green media: Synthesis and characterization of surface activity

Mira Abou Dib, Nicolas Hucher, Ecaterina Gore, Michel Grisel*

Normandie Univ, UNILEHAVRE, FR 3030 CNRS, URCOM, 25 rue Philippe Lebon, BP 1123, 76063 Le Havre cedex, France

ARTICLE INFO

Keywords:

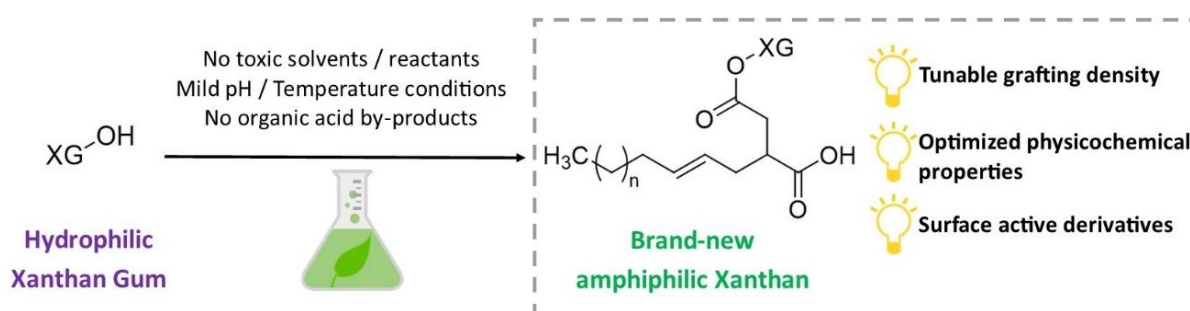
Xanthan
Green chemical modification
Alkenyl succinic anhydrides
¹H NMR spectroscopy
Surface active derivatives

ABSTRACT

Xanthan gum (XG) was modified through esterification using various alkenyl succinic anhydrides in green media. FTIR and NMR spectroscopy confirmed that the alkenyl succinic hydrophobic groups were successfully grafted on octenyl-grafted (XG-C8), dodecyl-grafted (XG-C12), and hexadecyl-grafted (XG-C16) xanthan backbone. Grafted chains were evaluated by degree of succinylation (DS). Modification enhance the surface activity of xanthan by decreasing surface tension from 72 until 37 and 58 mN/m due to respectively long alkenyl chain for XG-C16 (DS = 2.2 ± 0.2%) and high grafting rate for XG-C12 (DS = 16.9 ± 1.9%). These original tools are of great interest to optimize both the DS and the properties of xanthan gum by varying reaction parameters like pH range, reaction time and the mole excess of the grafting reagents to xanthan monomeric units.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119548>

Original tools in xanthan hydrophibization



Highlights

- Xanthan gum was modified with a series of alkenyl succinic anhydrides under mild and green reaction conditions
- Varying reaction parameters allowed controlling the degree of succinylation
- High grafting rate sharply decreases the surface tension of xanthan derivatives
- Grafting longer alkenyl chain led to a higher surface activity of xanthan derivatives
- Succinylated xanthan may be used for emulsion stabilization

Abstract

Xanthan gum (XG) was modified through esterification using various alkenyl succinic anhydrides in green media. FTIR and NMR spectroscopy confirmed that the alkenyl succinic hydrophobic groups were successfully grafted on octenyl-grafted (XG-C8), dodecenyl-grafted (XG-C12), and hexadecenyl-grafted (XG-C16) xanthan backbone. Grafted chains were evaluated by degree of succinylation (DS). Modification enhances the surface activity of xanthan by decreasing surface tension from 72 until 37 and 58 mN/m due to respectively long alkenyl chain for XG-C16 ($DS = 2.2 \pm 0.2 \%$) and high grafting rate for XG-C12 ($DS = 16.9 \pm 1.9 \%$). These original tools are of great interest to optimize both the DS and the properties of xanthan gum by varying reaction parameters like pH range, reaction time and the mole excess of the grafting reagents to xanthan monomeric units.

1. Introduction

Polysaccharides are widely used in many industrial areas due to their availability, low cost, biodegradability, non-toxicity and functional properties (Barclay et al., 2019). Among them, xanthan is well known for its outstanding thickening capacities and ability to stabilize dispersions. However, due to poor interfacial properties xanthan has to be used combined with conventional surfactants, these latter low molecular weight compounds owning negative toxicological and environmental impacts (Johnson et al., 2017; Olkowska et al., 2011). To overcome these problems, intensive researches have been devoted to polysaccharides chemical modification as reported for chitosan (Babak et al., 2005), inulin (Stevens et al., 2001), alginate (Yang et al., 2012) or xanthan (Mendes et al., 2011) to increase their potentialities as amphiphilic biopolymers combining both texture and interfacial properties, thus giving access to innovative formulations.

Xanthan is an anionic bacterial heteropolysaccharide produced by *Xanthomonas campestris*. Its structure consists of a linear cellulosic backbone of β -D-glucose substituted on every two units with a pendant trisaccharidic side chain containing a β -D-glucuronic acid between an inner α -D-mannose and a terminal β -D-mannose (Jansson et al., 1975) with acetate and pyruvate functionalities varying with fermentation conditions (Casas et al., 2000).

Due to its structure, xanthan can undergo various modification treatments to acquire new functionalities. Literature reports different methods through physical, chemo-enzymatic (Arimura et al., 2011), and chemical (Mendes et al., 2011; Sara et al., 2020) pathways or plasma irradiation (Hua et al., 1997).

Many studies regarding chemical grafting on xanthan polysaccharide have been carried out, mainly with grafting onto hydroxyl functions by alkylation, acetylation, etherification, acetylation, acylation, esterification, oxidation or copolymerization reactions (Patel et al., 2020; Salazar et al., 2019; Sara et al., 2020), and functionalization onto carboxyl groups allowing selective grafting such as thiolation and amidation reactions (Fantou et al., 2017; Roy et al., 2014; Mendes et al., 2013).

Nevertheless, modifications are mainly performed using either (1) toxic and expensive solvents, (2) derivatization with coupling agents, (3) high temperature, (4) prolonged reaction time or all together.

Among these reactions, Roy and Fantou succeeded in modifying xanthan under both its ordered (Roy, 2015) and disordered (Fantou, 2018) conformations via carbodiimide-mediated amidation. Corresponding hydrophobically modified xanthans (HMX) were demonstrated as promising in emulsion stabilization (Fantou et al., 2019a, 2019b).

Nevertheless, such a grafting reaction is unfortunately considered as polluting and presents several drawbacks according to green chemistry principles: use of carbodiimide, multi-step synthesis carried out at high temperature, use of organic solvents, etc., thus impeding industrial development. Therefore, there is a need to develop more environmentally respectful methods. The present work aims grafting hydrophobic alkyl residues onto xanthan backbone using green and sustainable protocol.

According to literature, using cyclic carboxylic acid anhydrides as biopolymers grafting agents is advantageous due to milder reaction conditions and absence of organic acid by-products (Shah et al., 2018). Different polysaccharides such as alginate (Falkeborg et al., 2015), starch (Ren et al., 2014), karaya (Padil et al., 2015), inulin (Morros et al., 2011) were successfully chemically modified by octenyl succinic anhydride (OSA) or dodecenyl succinic anhydride (DDSA) in aqueous alkaline medium. The esterification reaction takes place between polysaccharide hydroxyls and anhydrides carboxylic end. Corresponding derivatives show better dispersibility and homogeneity in hydrophobic medium (Shah et al., 2018) but also non-toxicity (Venkataraman et al., 2013) and good biodegradability due to easy ester bonds cleavage (Morros et al., 2011); a remarkable example is octenyl starch derivatives approved by US FDA for food applications with grafting around 3 % (w/w) (Shah et al., 2018).

Regarding such ecological and efficient reactions (Kokubun et al., 2013; Renault et al., 2012), the aim of the present project was to develop an innovative HMX through esterification using different alkenyl succinic anhydrides (ASA) as grafting agents. A protocol for xanthan chemical modification in aqueous medium at low temperature was first developed and optimized. Then chemical and physicochemical

properties of HMX were characterized and finally, unprecedented interfacial properties were evidenced.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Xanthan Gum (XG) was kindly offered by Cargill (France). Substitution degrees of acetate and pyruvate as determined by ^1H NMR were 0.56 and 0.59 per monomeric unit, respectively. Moisture content (11.3 %) was measured by thermogravimetry, and protein content as determined by the Bradford procedure was 0.95 %. 2,2,2,3,3-d(4)-3-(trimethylsilyl) propionic acid sodium salt (TSP) was purchased from Alfa Aesar (USA), hydrochloric acid and sodium hydroxide from Fisher Scientific (USA), (2-Dodecen-1-yl) succinic anhydride (DDSA) and 2-Octen-1-ylsuccinic anhydride (OSA) from Sigma Aldrich (USA), Hexadecenyl succinic anhydride (HDSA) from TCI chemicals (Japan). Ultra-pure water (16.8 M Ω .cm resistivity) was used. All chemical reagents were analytical grades.

2.2. Synthesis

Full details are given in Results and Discussion section (3.1).

2.3. Confirmation of structure modification by FT-IR spectroscopy

FT-IR measurements were recorded in absorbance mode over the 4000-650 cm^{-1} region at a resolution of 8 cm^{-1} , using a Perkin Elmer Frontier FT-IR spectrometer (PerkinElmer, USA) with ATR mode (Diamond/Zinc Selenide crystal). Spectrum analysis was performed on the Spectrum program Version: 10.4.00.0190.

2.4. Determination of the degree of succinylation (DS) by ^1H NMR

DS of modified xanthan was quantified by proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR) analysis. First xanthan solutions (either native or modified) were prepared by dissolving gum powder at 5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ in H_2O ; then NMR samples were prepared according to the following protocol adapted from (Esquenet, 2003).

First, 1 mL of xanthan solution was freeze-dried to obtain 5 mg of polymer powder. Then, the polymer powder was dissolved in 1 mL of D_2O at room temperature (RT) and the corresponding solution was then freeze-dried again. This later step was repeated twice before dissolving the resulting powder in 1 mL of D_2O solution containing 5×10^{-3} M of TSP as internal quantification reference. This procedure

allowed the exchange of labile protons of hydroxyl groups by deuterium atoms in order to reduce the residual water signal intensity, thus improving both the spectrum quality and interpretation.

All ^1H NMR spectra were recorded using a Bruker Avance 300 MHz spectrometer (Bruker, Germany) at 80 °C to reduce the solutions viscosity thus allowing adequate protons relaxation. WATERGATE W5 sequence (WATER suppression by GrAdient Tailored Excitation) was used to eliminate the solvent peak (Piotto et al., 1992) and to improve the spectra quality. 256 scans were run for all samples, which led to obtain a high enough signal-to-noise ratio for quantitative exploitation. All ^1H NMR spectra were analyzed using MestReNova software (14.1). Integration was done according to a deconvolution based on a mathematical model (Laplacian) using the Global Spectral Deconvolution (GSD) algorithm of the MestReNova software.

Degree of succinylation was calculated as follows:

$$\%_{ASA} = \frac{n_{ASA}}{n'_{RU}} \quad (1)$$

With:

- n_{ASA} the number of moles of ASA calculated by comparing the integration of the methylene protons group of grafted alkenyl (1.28 ppm) and $\text{C}_6\text{H}_9\text{D}_4\text{NaO}_2\text{Si}$ (TSP as internal reference at 0 ppm).
- n'_{RU} the number of moles of modified repeating units of xanthan. Its value was calculated by dividing the introduced mass of polymer by its repeating unit molecular weight.

M'_{RU} was determined by incrementing calculations using equations (1) and (2).

$$M'_{RU} = M_{RU} + \%_{ASA} \times M_{ASA} \quad (2)$$

With M_{RU} the molecular mass of non-modified xanthan and M_{ASA} the molecular mass of ASA.

All measurements were conducted in duplicates/triplicates, and the results are reported as means \pm standard deviations (SD).

2.5. Surface tension measurements

Surface tension (ST) was measured using the pendant drop method on a Digidrop GBX goniometer (GBX, France). To this purpose, a drop of solution was suspended from a vertical syringe and then kept in balance between gravity and surface forces (Berry et al., 2015). Surface tension was monitored over

time using a high-speed camera (25 images/s). ST calculation was performed with using Windrop++ software; ST was followed over a period of time until reaching stabilization.

3. Results and discussion

3.1. Xanthan succinylation

A series of xanthan derivatives was prepared as illustrated in Fig. 1, using OSA, DDSA or HDSA inspired from previously reported methods (Falkeborg et al., 2015; Jeon et al., 1999; Sweedman et al., 2013). The reaction proceeded according to the following general methodology: xanthan aqueous solution (0.25 % w/v) was prepared by xanthan powder dissolution in ultrapure water under mechanical stirring at RT until complete dissolution; then polysaccharide solution was stored overnight at 4 °C. OSA was used as is; DDSA and HDSA being solids were dispersed in isopropyl alcohol at 1:3 ratio (w/w).

Succinylation was performed on 300 mL polymer solution in a 500 mL multi-necked flask at 30 °C during 24 h under mechanical stirring (Heidolph-TORQUE Core, Germany) with PTFE anchor shaft. Grafting agent was progressively added to the xanthan solution and then pH was maintained between 8.5 and 9.0 with adding 2 M NaOH solution using an automated control system for the whole reaction duration. Indeed, M300 process transmitter constantly checks the pH of the mixture through connected digital ISM pH/ORP sensor (InPro 3253i/SG/225; Mettler Toledo, Switzerland). Any pH change induces the start of the peristaltic pump (Preciflow; Lambda Laboratory Instruments, Czech Republic) thus injecting NaOH to get constant pH value.

At the end of the reaction, pH was brought to 6.0 with HCl solution to convert all carboxylate groups to acid form. Succinylated product was then precipitated in isopropanol excess (1.8 L) and washed once with acetone and twice with isopropanol in order to remove any unreacted acid. HMX residue was dried at 40 °C for 24 h and then stored at 4 °C. Resulting HMX were noted as **XG-C8**, **XG-C12** and **XG-C16** for octenyl-grafted, dodecenyl-grafted and hexadecenyl-grafted xanthan, respectively.

All HMX remained fully water soluble thus allowing pouring back in water for further physicochemical characterizations. Samples degree of succinylation (DS) was determined using ¹H NMR analysis.

Reaction optimization was performed by varying either the reaction pH range, the reaction time and the grafting reagents molar excess. Precursor refers to samples subjected to the same treatment apart from adding OSA, DDSA or HDSA.

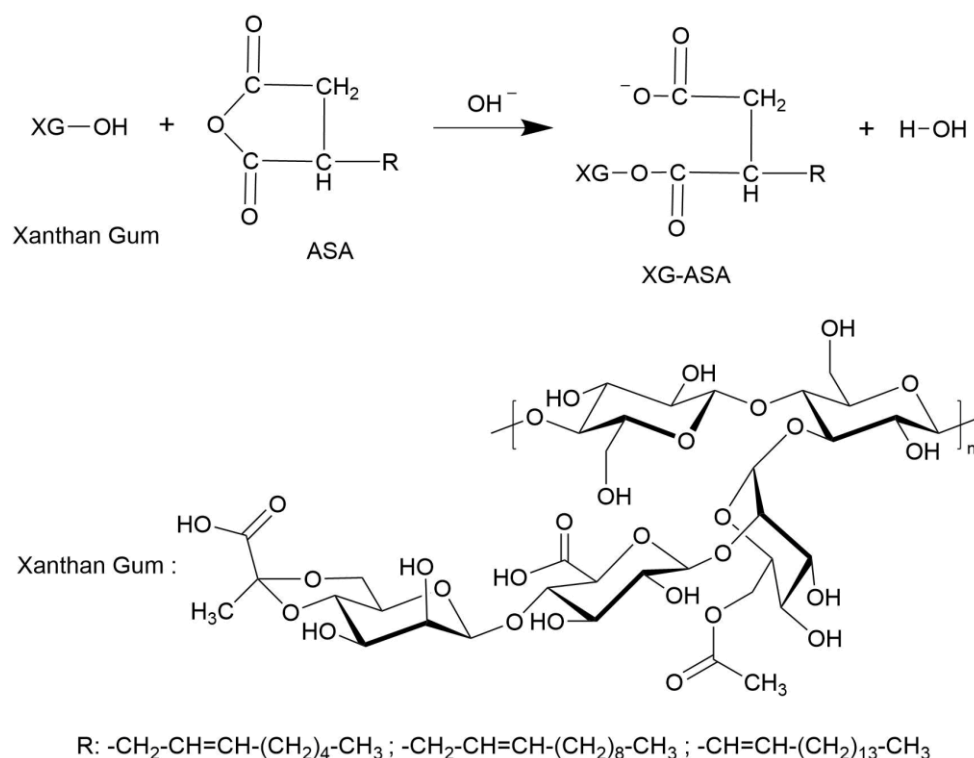


Fig. 1. Reaction scheme of succinylation of xanthan with ASA

3.2. Samples chemical analysis

HMX were first analyzed using either FT-IR and ¹H NMR. To this end, FT-IR spectra of native xanthan, HMX and grafting agents (OSA; DDSA and HDSA) were recorded and compared (data not shown). A crucial outcome is the absence of anhydride moieties on any of the FTIR analysis, thus demonstrating efficient washing and purification steps whatever the grafting agent used. In addition, grafting was confirmed with two weak peaks at 1561 cm⁻¹ and 1733 cm⁻¹ corresponding to asymmetric COO⁻ stretching and ester carbonyl stretching on HMX spectra, respectively; this is in accordance with the literature (Kokubun et al., 2013; Padil et al., 2015). In addition, stretching bands of alkane moieties (CH₂ and CH₃) at 2924-2858 cm⁻¹ slightly increased after alkenyl succinic group grafting as mentioned by (Bai et al., 2009). Thus, FTIR spectra allowed confirming the effective grafting of alkyl moieties onto the polysaccharide backbone; nevertheless, due to low spectra resolution impeding any quantitative analysis, ¹H NMR analysis were envisaged to get both qualitative and quantitative information on HMX samples.

HMX degree of succinylation was quantified by ¹H NMR at 80 °C in the presence of TSP as internal reference. Fig. 2 reports the NMR spectra of a xanthan derivative grafted with DDSA, superimposed with the one for unmodified xanthan (precursor). Firstly, one can notice that the xanthan precursor

spectrum shows no additional peaks to those attributed to native xanthan, namely, acetate at 2.16 ppm and pyruvate at 1.46 ppm (Rinaudo et al., 1983). This confirms that no polysaccharide degradation occurred due to either reaction conditions and precipitation and purification steps, and this was also checked through a comparison of intrinsic viscosity determination for both the precursor and the native xanthan (data not shown).

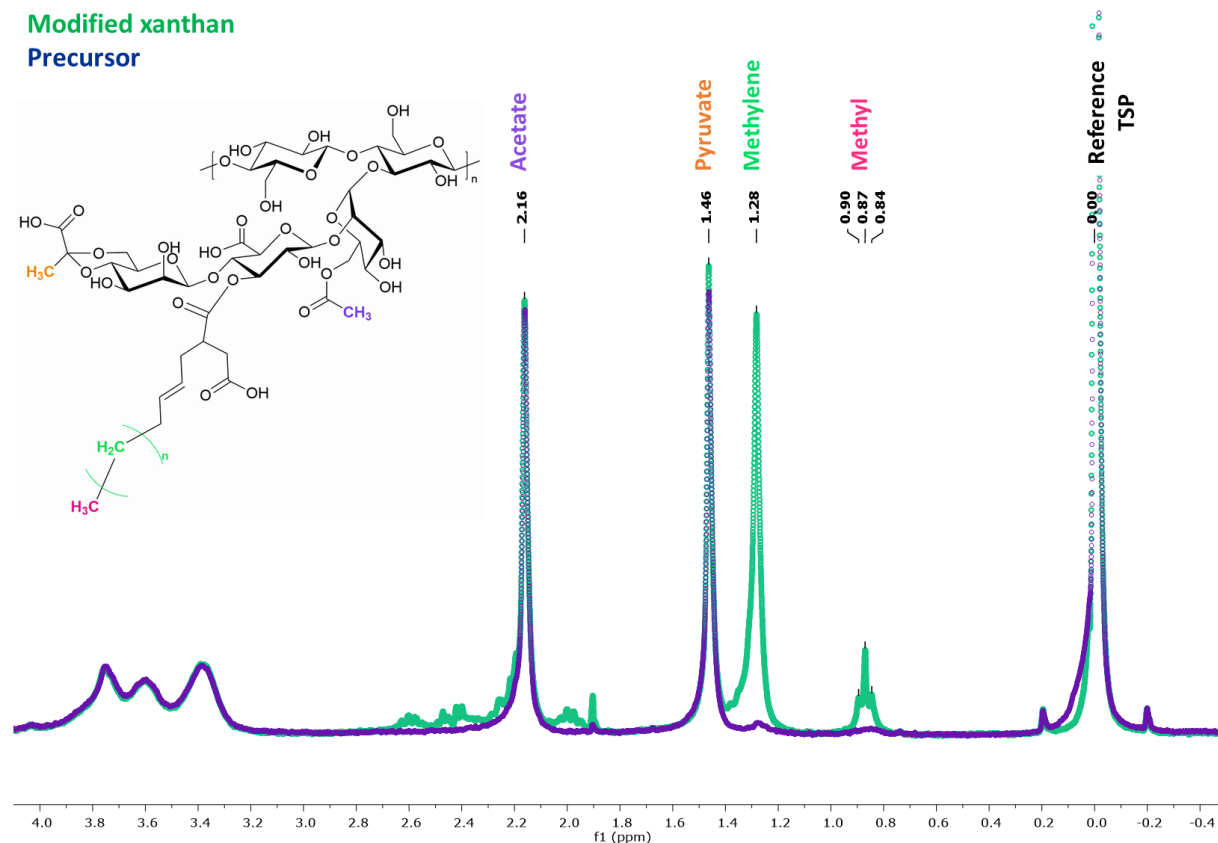


Fig. 2. ^1H NMR spectra of the precursor (bleu) and modified xanthan (green) in D_2O at 80°C

NMR spectrum of XG-C12 displayed two specific peaks in the upfield region: peaks at 0.87 ppm and 1.28 ppm corresponding to the dodecyl methyl and methylene protons, respectively. These observations validate the effectiveness of the grafting method; it also allows grafted chains quantification, either C8, C12 or C16, by quantifying either the methyl peaks which integrates for 3 protons or the methylene peaks which integrates for 8, 14, 24 protons respectively for XG-C8, XG-C12 or XG-C16. Resulting DS (%) represents the number of alkenyl chains grafted per 100 repeat units.

Proceeding to methyl triplet integration is theoretically the most suitable for grafted chain percentage determination since it is the unique alkenyl moiety terminal unit. However, succinylated xanthan NMR spectra often present weak methyl group signals since it only integrates for 3 protons; thus, accurate

distinguishing of the 3 peaks triplet can be very tricky especially for low grafting densities. Hence, it was decided to integrate the intense peaks corresponding to methylene since they integrate for 8, 14, 24 protons for octenyl, dodecenyl or hexadecenyl substituents, respectively.

Calculations based on methylene peaks integration were performed using GSD method. This method is more suitable than areas below the peaks integration since the methylene and pyruvate signals appear quite close thus making it difficult to precisely delineating them. DS was calculated either from a range of analysis carried out on different HMX samples issued from the same reaction product (so-called intra-reaction (α)) or from repetitions carried out on samples issued from different preparation under the same grafting conditions, so-called inter-reaction (β).

DS calculation made it possible the optimization of the reaction conditions; then, results allowed targeting the desired grafting rates by modulating reaction conditions such as pH, xanthan/ASA ratio, alkenyl chains length and the duration of the reaction. The following parts of the paper highlight the effects of reaction parameters on HMX grafting rates.

3.3. Effect of pH range

Given that succinylation reaction depends on the pH of the medium, we first investigated the effect of pH of the reaction on the reaction rate and efficacy focusing on DDSA. For this series of experiments, the molar ratio (xanthan monomer: DDSA) was fixed at (1:15) with two different reaction times, namely 8 h and 24 h. Three distinct pH ranges were tested: 5.0-5.5; 7.0-7.5 and 8.5-9.0. DS as a function of both reaction time and pH are reported on fig. 3.

The highest DS values were obtained at pH range of 7.0-7.5. However, corresponding SD values were high in spite of repetitions, for either intra or inter reaction. On the opposite, other tested conditions gave DS with much less variation thus indicating a better control for the reaction conditions.

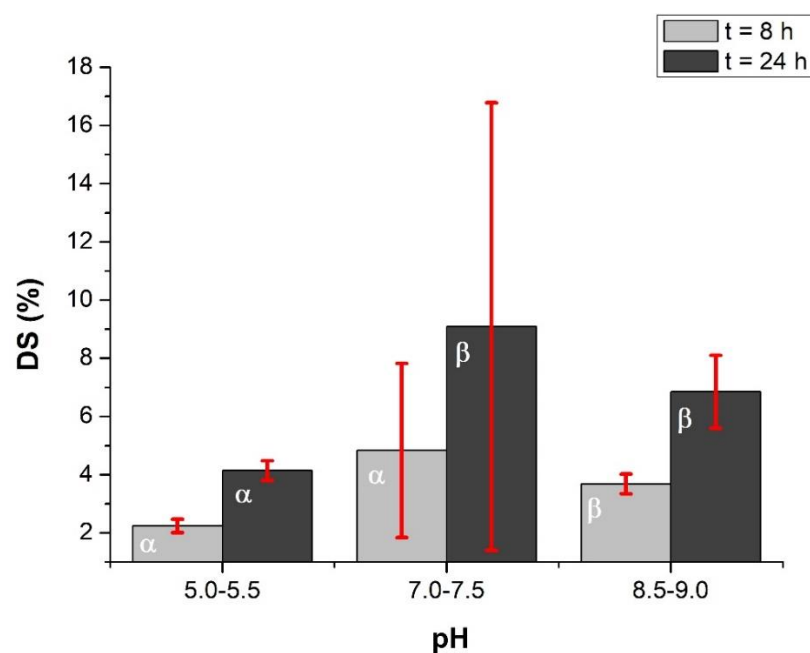


Fig. 3. Effect of varying the reaction pH on DS for two reaction times: 8 h (gray) and 24 h (black). Reaction temperature was 30 °C, molar ratio (xanthan monomer: DDSA) 1:15, intra-reaction (α) and inter-reaction (β) repetitions

Otherwise, increasing pH range from 5.0-5.5 to 8.5-9.0, leads to higher DS values from 2.2 ± 0.2 % to 3.7 ± 0.3 % for a reaction time of 8 h and from 4.1 ± 0.3 % to 6.8 ± 1.3 % for 24 h of reaction. Based on these observations, one can conclude that carrying out the reaction in acidic medium does not allow reaching optimal activation of the polymer hydroxyl groups, thus inducing fewer reactive sites available for nucleophilic attack by anhydrides moieties; oppositely, alkaline conditions allow favoring hydroxyl groups nucleophilicity. Nevertheless, different authors reported that strongly alkaline conditions (pH > 9) boost the hydrolysis of anhydride moieties if compared to succinylation reaction (Jeon et al., 1999; Song et al., 2006). Thus, pH conditions require to be carefully chosen and fixed over the whole duration of the reaction to ensure optimal conditions for polymer chemical modification. Despite that acidic condition can prevent from hydrolysis side reactions (Fig. 4), it is interesting to note that higher DS values were finally obtained with longer reaction time. Thus, regardless of the reaction duration, a pH between 8.5 and 9.0 demonstrated the best reactivity for grafting reaction under these conditions. Hence, the pH range of 8.5-9.0 was selected for the subsequent experiments.

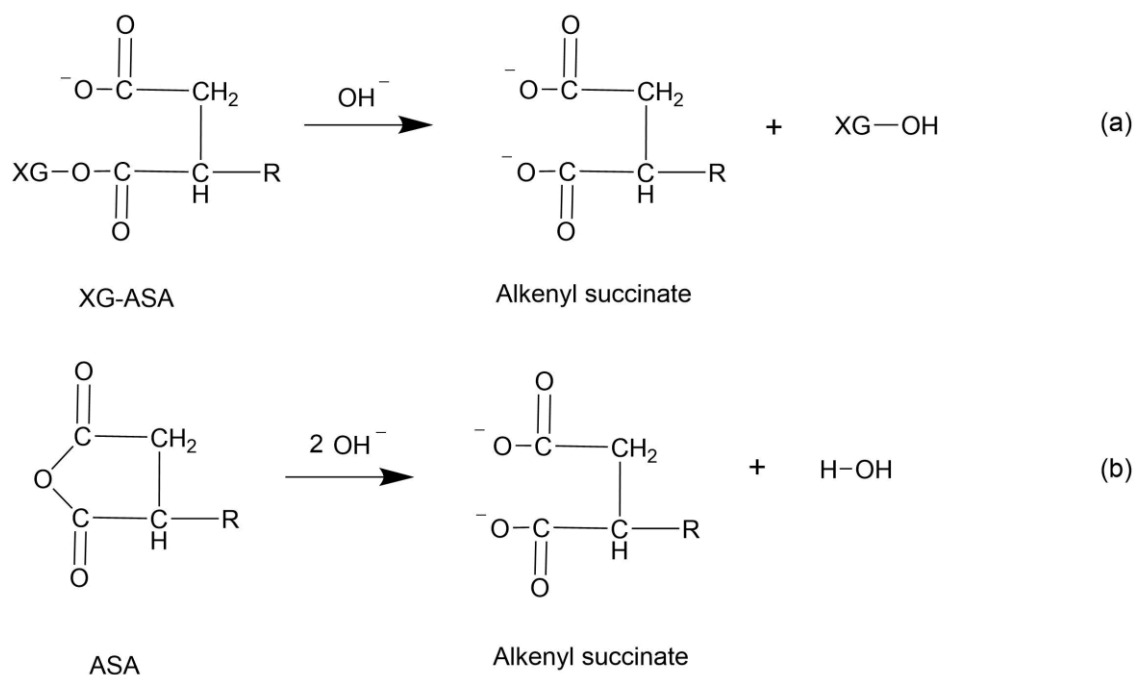


Fig. 4. Side reactions during ASA modification.

3.4. Reaction duration effect

A series of xanthan derivatives was prepared with varying the duration of the reaction. Indeed, this study consisted of kinetic monitoring starting from 2 h up to 4 days for a reaction with fixing the xanthan monomer: DDSA molar ratio at 1:6 or 1:15. Kinetics monitoring were performed by successive samplings of 15 mL at different time intervals (volume ratio of sampling varying from 5 to 25 %), each aliquot being-treated and analyzed by NMR. Results expressed as the average DS are reported on Fig.5.

First, one can observe that below 24 h duration, succinylation appears less reactive when xanthan:DDSA ratio is lower; thus, the more grafting agent introduced into the medium the less efficient becomes the reaction. Indeed, for a given xanthan concentration, a higher DDSA amount induces a more hydrophobic fatty phase, which decreases the DDSA availability and, consequently, its diffusion into the aqueous phase so its reactivity decreases. This is consistent with previous observations (Jeon et al., 1999).

Secondly, it is striking that DS values for the ratio (1:15) keep fairly low over the whole period of reaction. So, the reaction duration effect on the grafting rate remains almost insubstantial for this ratio. On the opposite, for 1:6 ratio, degree of succinylation significantly increases when the reaction is monitored from 2 to 8 h. Thus, it comes that prolonging the period of time until 8 h enhances the

dodecyl succinylation reaction by promoting diffusion between the grafting agents and polymer molecule as it was already described elsewhere (Bhosale & Singhal, 2006).

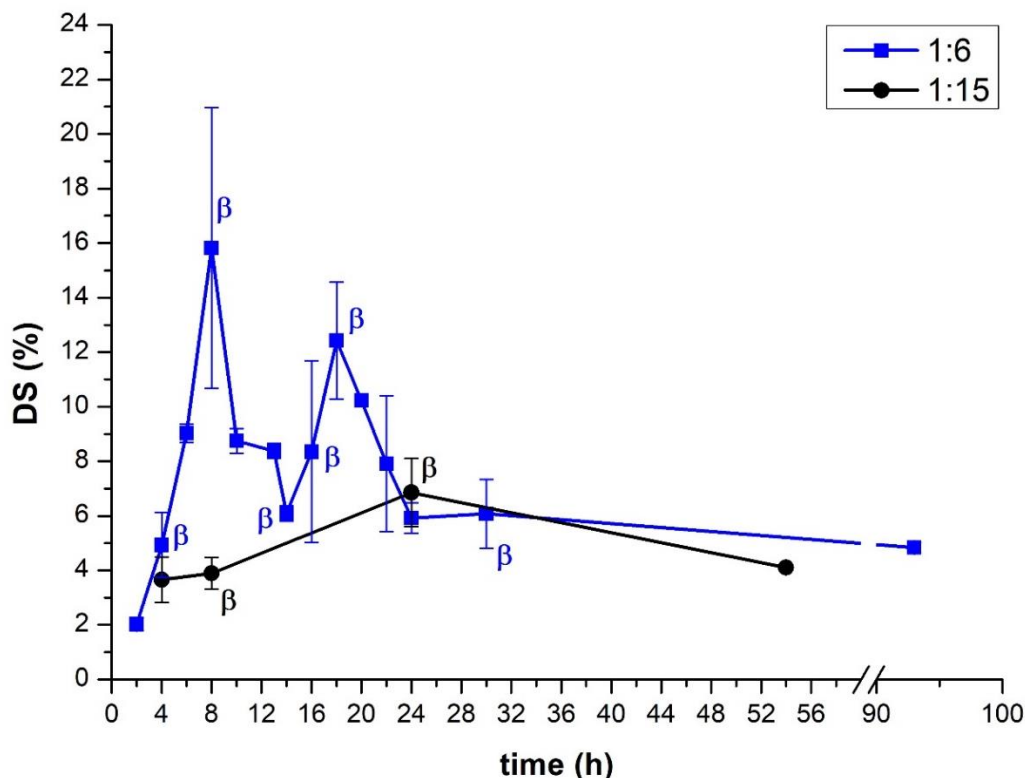


Fig. 5. Effect of increasing the reaction duration on DS for two molar ratio (xanthan monomer: DDSA) 1:15 (black) and 1:6 (blue). Inter-reaction (β) and intra-reaction (no symbol) repetitions. (30 °C, pH 8.5-9.0)

Then, still for the (1:6) ratio above 8 h up to 24 h, DS fluctuates between 5 and 12 %. This could be related to disturbances generated by the successive sampling procedure as leading to volume and medium composition changing. Finally, over 24 h, the degree of succinylation slightly decreases or remains fairly constant. An explanation may be that as the reaction progresses, DDSA is depleted due to succinylation and hydrolysis. Thus, reverse reaction corresponding to ester side-chain hydrolysis (Fig. 4.a) becomes predominant and induces a DS decrease; this is in agreement with observations by (Jeon et al., 1999) and (Song et al., 2006) when DDSA and OSA grafting on starch.

3.5. Effect of polymer:ASA ratio

On the basis of the results exposed above, it was decided to investigate the effect of xanthan:DDSA molar ratio within the first 8 h of reaction time. As 1:15 ratio appeared less efficient to reach high DS, further ratios corresponding to lower DDSA quantities were tested, namely 1:3 and 1:1.

Fig. 6. gives the effect of xanthan to DDSA molar ratio on the DS values over the first 8 h of reaction. Corresponding DS values with SD are also reported in Table 1.

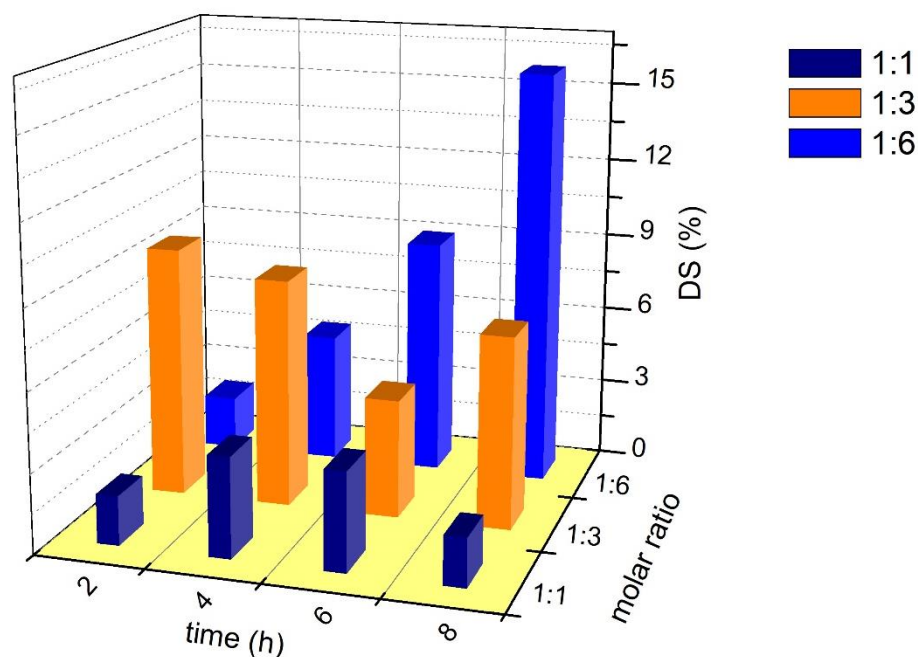


Fig. 6. Effect of decreasing the polymer:DDSA molar ratio on DS for a reaction time up to 8 h. (30 °C; pH 8.5-9.0).

Table 1: Means and standard deviations of DS associated to fig. 6.

Time \ Molar ratio	2 h	4 h	6 h	8 h
1:6	2.0 ± 0.2	4.9 ± 1.2*	9.0 ± 0.3	15.8 ± 5.1*
1:3	9.5 ± 0.9	8.7 ± 1.2	4.5 ± 0.2	7.3 ± 0.3
1:1	1.87**	3.8 ± 0,5	3.7 ± 0.1	1.8 ± 0.5

*inter-reaction repetitions

**no repetition

It is striking that 1:1 ratio leads to low degree of succinylation whatever the reaction time within the first 8 h. This can be interpreted as the result of low availability of non-hydrolyzed DDSA reactant thus limiting the possibility of reaction with xanthan hydroxyl groups. On the contrary, for 1:3 ratio, higher DS values are reached thus confirming that DDSA molecular species diffusion in the aqueous media towards xanthan molecules is easier in such a way that the succinylation reaction becomes more efficient from the first hours of reaction. Nevertheless, DS tends to decrease when reaction time is

prolonged for the same reasons as mentioned above, namely the domination of reverse reactions following the DDSA depletion.

3.6. Alkenyl chain length effect

To go further, the effect of the ASA grafting agents alkenyl chain length was investigated. Thus, in addition to DDSA, this part describes the grafting of both OSA and HDSA. Based on the results discussed in the previous paragraph, reactions were carried out at 1:3 molar ratio with kinetic monitoring between 2 h and 8 h, using successive sampling of 15 mL from the reaction medium to perform chemical analysis over the period of time explored. Fig. 7 refers to the study of the effect of alkenyl chain length over 8 h of reaction.

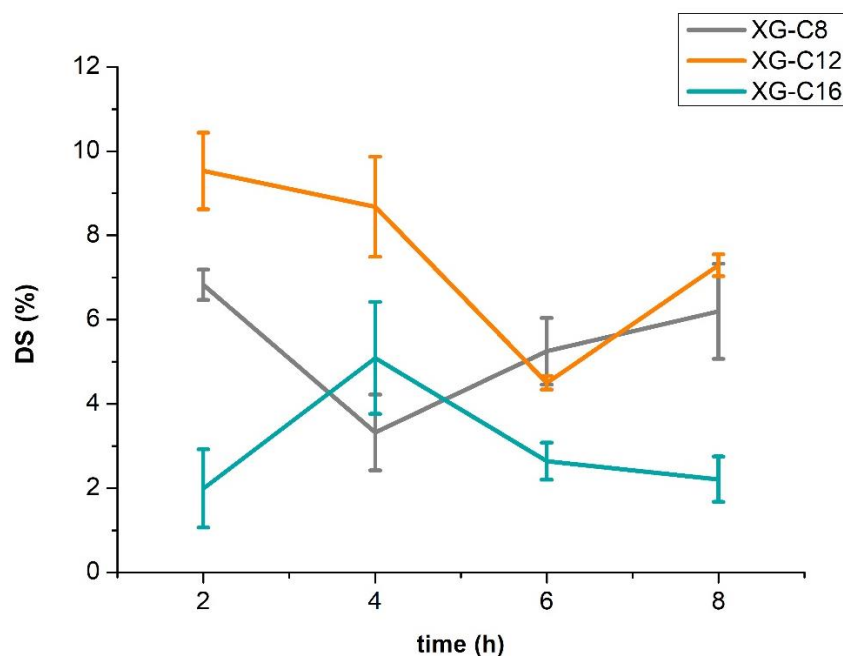


Fig. 7. Effect of varying hydrophobic chain length on DS for a reaction time between 2 h and 8 h of reaction. Molar ratio (xanthan monomer: DDSA) 1:3; inter-reaction repetitions. (30 °C, pH 8.5-9.0)

DS values are higher for XG-C12 compared to XG-C16 for all the reaction duration. An explanation is that the ASA fatty phase is more hydrophobic when alkenyl chains is longer. Hence, HDSA owns a slower diffusion capacity into the aqueous phase than DDSA, leading to less efficient grafting reaction. In addition, grafting longer chain alkenyl onto xanthan polymer could make inaccessible other hydroxyl to react with further anhydride moieties. Similar result was reported by (Jeon et al., 1999) for starch succinylation.

This phenomenon should lead to an increase in the grafting rate for the less hydrophobic compound such as OSA, but the opposite is actually observed. Nevertheless, there is another factor that should be considered, related to ASA solubility and stability differences in the aqueous medium. Indeed, anhydrides are unstable in aqueous medium so they hydrolyze and lose reactivity due to the ring opening (Falkeborg et al., 2015). Therefore, they are inactive in relation to the nucleophilic attack of hydroxyl groups. OSA, whose alkenyl chain is shorter, being more soluble than DDSA in aqueous media (Shah et al., 2018), makes it less resistant to hydrolysis and therefore less available for succinylation reaction. Hence the degree of succinylation of XG-C8 are higher than those of XG-C12.

3.7. HMX surface activity

Xanthan gum is described as hydrophilic non-adsorbing polysaccharide owning poor or no surface activity in aqueous solution (Tempio & Zatz, 1981). Nevertheless, it is obvious that chemical modification of such a polysaccharide with hydrophobic groups brings amphiphilic properties, thus theoretically leading to surfaces properties changing. When dissolved in water, amphiphilic molecules are well-known to diffuse at the air/water interface whereby hydrophilic polysaccharide backbone extends into water while hydrophobic alkenyl chains are oriented towards the air phase (Sweedman et al., 2013). Therefore, dynamic ST measurements are useful to evidence surfaces properties changing between precursor and HMX; in particular, monitoring ST over time has to be carefully considered as it may evidence species diffusion motion depending on different parameters such as concentration, temperature and degree of substitution.

In the present work ST measurements over time were performed on different HMX samples issued from the ASA grafting. ST was measured using pendant drop method, thus allowing monitoring the ST evolution over a period of time up to 20 minutes to prevent any artefact such as evaporation. A series of HMX derivatives owning various DS were selected (table 2); experiments were performed at 0.2 % (w/w) polymer concentration in deionized water. Xanthan precursor molecule (e.g. without chemical grafting) was taken as reference. Results are reported on fig. 8.

Table 2: DS value of the selected HMX.

HMX	XG-C8	XG-C12	XG-C16
	/	2.2 ± 0.2	2.2 ± 0.5
DS (mean ± SD%)	4.1 ± 0.9	4.1 ± 0.3	/
	/	8.4 ± 0.8	/
	/	16.9 ± 1.9	/

First, ST for both native and precursor xanthan remains constant (72 ± 1 mN/m) over the whole period of measurement thus unambiguously confirming the absence of xanthan surface activity as currently reported in the literature (Curves are not shown to ensure good readability).

As visible in Fig. 8, no surface activity is observed for low grafted XG-C12 (DS < 9 %) and for XG-C8 xanthan derivatives as ST remains constant, equal to water value. On the contrary, a slow but marked ST decrease is observed for both XG-C16 and high grafted XG-C12 (DS = 16.9 ± 1.9 %) derivatives, thus illustrating the occurrence of marked surface activity for the corresponding HMX specimen. Indeed, ST first sharply decreases during the first 10 minutes before stabilizing, with a constant value much lower than the one for pure water. This clearly demonstrates that both highly grafted XG-C12 and XG-C16 molecules do gradually diffuse into the air/water interface since they are large and bulky molecules (Tømmeraas et al., 2011). Then, one can establish that HMX surface activity behaves as follows:

- For low DS and short alkenyl moieties, no surface activity is observed for either XG-C8 and XG-C12. This can be explained by low hydrophobicity provided to the polymer, thus remaining insufficient to modify polysaccharide interfacial properties. It can be assumed that in such conditions macromolecules mainly interact through intramolecular interactions.
- On the opposite either for long alkenyl moieties or high DS, ST significantly decreases to 37 ± 1 mN/m in the presence of XG-C16 while it reaches 58 ± 1 mN/m for XG-C12 owning high DS. Thus, the longer the alkenyl chain or the higher the grafting rate, the lower the final ST as a result of hydrophobicity increasing (Lin & Chen, 2006; Rouzes et al., 2002).

These results are in good accordance with previous observations establishing that the hydrophobicity increasing is suitable to reduce ST (Aziz et al., 2020). Another striking point is that XG-C16 ST lowering occurs rapidly within the first 100 seconds, thus illustrating high HMX molecules initial diffusion rate in water. This allows understanding that such an amphiphilic polymer is effective in stabilizing interfaces without molecular surfactants as previously reported (Fantou et al., 2019a).

Finally, HMX show significant capability to lower air/water ST as far as grafted residues own long alkyl residues and/or minimum grafting rate. This is in good accordance with results reported for other polymers modified with ASA such as pullulan (Aziz et al., 2020), sugar beet pectin (Chen et al., 2015) and hyaluronic acid (Tommeraas & Eenschooten, 2012).

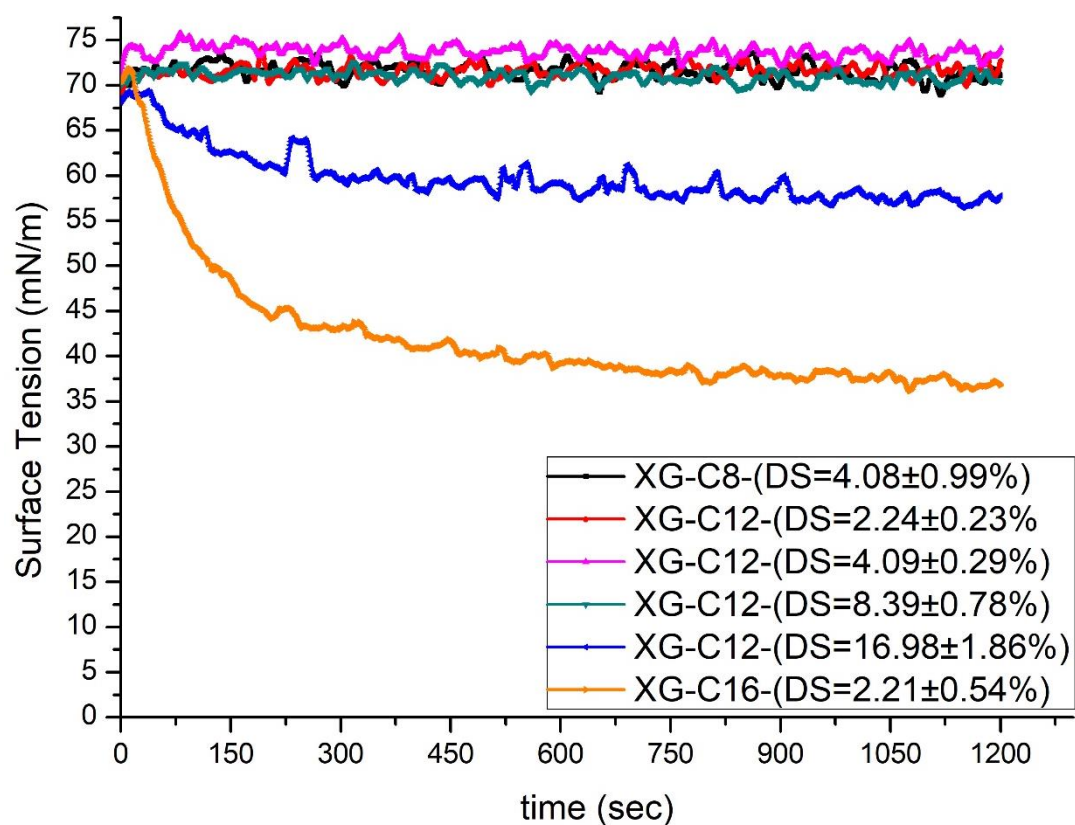


Fig. 8. Surface tension against time for aqueous HMX solutions (0.2 % w/w, RT); curves smoothed via 15 points Savitzky-Golay filter.

4. Conclusion

In this study, xanthan gum was chemically modified with three different alkenyl succinic anhydrides, namely octenyl, dodecenyl and hexadecenyl, in green conditions. Grafting one-step reaction with only two compounds took place in water at low temperature and slightly alkaline conditions. Moreover, it required no catalysts, no organic or toxic solvents, and did not generate any organic by-products. Optimal conditions for each hydrophobically modified xanthan (HMX) derivatives (C8, C12 and C16) were investigated through NMR analysis, thus allowing accurate control of degree of succinylation (DS) ranging from 1 to 16 % depending on the pH, reaction duration, molar ratio and alkyl chain length. The highest DS was obtained with grafting DDSA (C12) to xanthan under the following reaction conditions: 30 °C, pH 8.5-9.0, molar ratio (xanthan monomer: DDSA) 1:6, 8 h of reaction. The hydrophobic succinic alkenyl grafted moieties induce surface activity for HMX owing either longer alkenyl chains or higher grafting rate. Interestingly, for XG-C16 (DS = $2.21 \pm 0,54$ %) the water surface tension was better lowered compared to all other derivatives thus offering significant potentialities to stabilize interfaces with such a low modified polymer. Furthermore, it could be possible to investigate the grafting of other alkenyl succinic anhydrides such as nonanyl, tetradecenyl etc. These original tools to obtain hydrophobically new-branded modified xanthan gums is of great interest to acquire new functional material with promising potential applications in interfaces and emulsions stabilization offering both, academic and industrial applications. Indeed, the process that has been developed, involving mild reaction conditions, a short reaction time and cheap chemicals, could be easily optimized and transposed on a large scale. The effective capacity to stabilize emulsions with these new classes of xanthan gum derivatives will be studied soon.

Acknowledgments

Authors acknowledge the Region Normandie and FEDER for grant and financial support. Authors thank Maria Antonieta ANAYA CASTRO for the fruitful discussions.

References

- Arimura, T., Omagari, Y., Yamamoto, K., & Kadokawa, J. (2011). Chemoenzymatic synthesis and hydrogelation of amylose-grafted xanthan gums. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49(4), 498–503. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.06.003>
- Aziz, M. O., Yarmand, M. S., Khodaiyan, F., Mousavi, M., Gharaghani, M., Kennedy, J. F., & Hosseini, S. S. (2020). Chemical modification of pullulan exopolysaccharide by octenyl succinic anhydride: Optimization, physicochemical, structural and functional properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.158>
- Babak, V. G., Desbrières, J., & Tikhonov, V. E. (2005). Dynamic surface tension and dilational viscoelasticity of adsorption layers of a hydrophobically modified chitosan. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 255(1), 119–130. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.12.029>
- Bai, Y., Shi, Y.-C., & Wetzel, D. L. (2009). Fourier Transform Infrared (FT-IR) Microspectroscopic Census of Single Starch Granules for Octenyl Succinate Ester Modification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6443–6448. <https://doi.org/10.1021/jf900445w>
- Barclay, T. G., Day, C. M., Petrovsky, N., & Garg, S. (2019). Review of polysaccharide particle-based functional drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 221, 94–112. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.067>
- Berry, J. D., Neeson, M. J., Dagastine, R. R., Chan, D. Y. C., & Tabor, R. F. (2015). Measurement of surface and interfacial tension using pendant drop tensiometry. *Journal of Colloid and Interface Science*, 454, 226–237. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.05.012>
- Bhosale, R., & Singhal, R. (2006). Process optimization for the synthesis of octenyl succinyl derivative of waxy corn and amaranth starches. *Carbohydrate Polymers*, 66(4), 521–527. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.04.007>
- Casas, J. A., Santos, V. E., & García-Ochoa, F. (2000). Xanthan gum production under several operational conditions: Molecular structure and rheological properties☆. *Enzyme and Microbial Technology*, 26(2), 282–291. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(99\)00160-X](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(99)00160-X)

- Chen, H.-M., Fu, X., & Luo, Z.-G. (2015). Esterification of sugar beet pectin using octenyl succinic anhydride and its effect as an emulsion stabilizer. *Food Hydrocolloids*, 49, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.008>
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 25–39. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5)
- Esquenet, C. (2003). *Propriétés structurales et dynamiques des solutions de polyélectrolytes rigides et semi-rigides et de polysaccharides associatifs* [Thesis, Université Joseph Fourier (Grenoble)]. <http://www.theses.fr/2003GRE10159>
- Falkeborg, M., Paitaid, P., Shu, A. N., Pérez, B., & Guo, Z. (2015). Dodecanyl succinylated alginate as a novel material for encapsulation and hyperactivation of lipases. *Carbohydrate Polymers*, 133, 194–202. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.103>
- Fantou, C. (2018). *Synthèse et caractérisation de dérivés amphiphiles du xanthane: Application à la stabilisation d'émulsions* [Thesis, Normandie]. <http://www.theses.fr/2018NORMLH38>
- Fantou, C., Comesse, S., Renou, F., & Grisel, M. (2019a). Hydrophobically modified xanthan: Thickening and surface active agent for highly stable oil in water emulsions. *Carbohydrate Polymers*, 205, 362–370. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.052>
- Fantou, C., Comesse, S., Renou, F., & Grisel, M. (2019b). Impact of backbone stiffness and hydrophobic chain length of modified xanthan on oil in water emulsion stabilization. *Carbohydrate Polymers*, 216, 352–359. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.079>
- Fantou, C., Roy, A. N., Dé, E., Comesse, S., Grisel, M., & Renou, F. (2017). Chemical modification of xanthan in the ordered and disordered states: An open route for tuning the physico-chemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 178, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.039>
- Hua, Z. Q., Sitaru, R., Denes, F., & Young, R. A. (1997). Mechanisms of oxygen- and argon-RF-plasma-induced surface chemistry of cellulose. *Plasmas and Polymers*, 2(3), 199–224. <https://doi.org/10.1007/BF02766154>
- Jansson, P., Kenne, L., & Lindberg, B. (1975). Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. *Carbohydrate Research*, 45(1), 275–282. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)85885-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)85885-1)
- Jeon, Y.-S., Lowell, A. V., & Gross, R. A. (1999). Studies of Starch Esterification: Reactions with Alkenylsuccinates in Aqueous Slurry Systems. *Starch - Stärke*, 51(2–3), 90–93. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-379X\(199903\)51:2<90::AID-STAR90>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-379X(199903)51:2<90::AID-STAR90>3.0.CO;2-M)

- Johnson, A. C., Donnachie, R. L., Sumpter, J. P., Jürgens, M. D., Moeckel, C., & Pereira, M. G. (2017). An alternative approach to risk rank chemicals on the threat they pose to the aquatic environment. *The Science of the Total Environment*, 599–600, 1372–1381. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.039>
- Kokubun, S., Ratcliffe, I., & Williams, P. A. (2013). Synthesis, Characterization and Self-Assembly of Biosurfactants Based on Hydrophobically Modified Inulins. *Biomacromolecules*, 14(8), 2830–2836. <https://doi.org/10.1021/bm4006529>
- Lin, L.-H., & Chen, K.-M. (2006). Preparation and surface activity of modified soy protein. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(4), 3498–3503. <https://doi.org/10.1002/app.24651>
- Mendes, A. C., Baran, E. T., Nunes, C., Coimbra, M. A., Azevedo, H. S., & Reis, R. L. (2011). Palmitoylation of xanthan polysaccharide for self-assembly microcapsule formation and encapsulation of cells in physiological conditions. *Soft Matter*, 7(20), 9647. <https://doi.org/10.1039/c1sm05594a>
- Mendes, A. C., Baran, E. T., Reis, R. L., & Azevedo, H. S. (2013). Fabrication of phospholipid–xanthan microcapsules by combining microfluidics with self-assembly. *Acta Biomaterialia*, 9(5), 6675–6685. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.01.035>
- Morros, J., Levecke, B., & Infante, M. R. (2011). Hydrophobically modified inulin from alkenyl succinic anhydride in aqueous media. *Carbohydrate Polymers*, 84(3), 1110–1116. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.077>
- Olkowska, E., Polkowska, Ż., & Namieśnik, J. (2011). Analytics of Surfactants in the Environment: Problems and Challenges. *Chemical Reviews*, 111(9), 5667–5700. <https://doi.org/10.1021/cr100107g>
- Padil, V. V. T., Senan, C., & Černík, M. (2015). Dodeceny succinic Anhydride Derivatives of Gum Karaya (*Sterculia urens*): Preparation, Characterization, and Their Antibacterial Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(14), 3757–3765. <https://doi.org/10.1021/jf505783e>
- Patel, J., Maji, B., Narayana Moorthy, N. S. H., & Maiti, S. (2020). Xanthan gum derivatives: Review of synthesis, properties and diverse applications. *RSC Advances*, 10(45), 27103–27136. <https://doi.org/10.1039/D0RA04366D>
- Piotto, M., Saudek, V., & Sklenář, V. (1992). Gradient-tailored excitation for single-quantum NMR spectroscopy of aqueous solutions. *Journal of Biomolecular NMR*, 2(6), 661–665. <https://doi.org/10.1007/BF02192855>
- Ren, L., Dong, Z., Jiang, M., Tong, J., & Zhou, J. (2014). Hydrophobization of starch nanocrystals through esterification in green media. *Industrial Crops and Products*, 59, 115–118. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.014>

- Renault, B., Portella, C., Marinkovic, S., & Estrine, B. (2012). Synthesis and Surface Properties of Succinic Acid End-Capped Alkyl-Polyxylosides. *Journal of Surfactants and Detergents*, 15(2), 191–198. <https://doi.org/10.1007/s11743-011-1298-8>
- Rinaudo, M., Milas, M., Lambert, F., & Vincendon, M. (1983). Proton and carbon-13 NMR investigation of xanthan gum. *Macromolecules*, 16(5), 816–819. <https://doi.org/10.1021/ma00239a018>
- Rouzes, C., Durand, A., Leonard, M., & Dellacherie, E. (2002). Surface Activity and Emulsification Properties of Hydrophobically Modified Dextran. *Journal of Colloid and Interface Science*, 253(1), 217–223. <https://doi.org/10.1006/jcis.2002.8357>
- Roy, A. (2015). *Synthèse et caractérisation de dérivés amphiphiles du xanthane* [Thesis, Le Havre]. <http://www.theses.fr/2015LEHA0028>
- Roy, A., Comesse, S., Grisel, M., Hucher, N., Souguir, Z., & Renou, F. (2014). Hydrophobically Modified Xanthan: An Amphiphilic but Not Associative Polymer. *Biomacromolecules*, 15(4), 1160–1170. <https://doi.org/10.1021/bm4017034>
- Sara, H., Yahoum, M. M., Lefnaoui, S., Abdelkader, H., & Moulai-Mostefa, N. (2020). New alkylated xanthan gum as amphiphilic derivatives: Synthesis, physicochemical and rheological studies. *Journal of Molecular Structure*, 127768. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127768>
- Shah, N. N., Soni, N., & Singhal, R. S. (2018). Modification of proteins and polysaccharides using dodecyl succinic anhydride: Synthesis, properties and applications—A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 2224–2233. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.099>
- Song, X., He, G., Ruan, H., & Chen, Q. (2006). Preparation and Properties of Octenyl Succinic Anhydride Modified Early Indica Rice Starch. *Starch - Stärke*, 58(2), 109–117. <https://doi.org/10.1002/star.200500444>
- Stevens, C. V., Meriggi, A., Peristeropoulou, M., Christov, P. P., Booten, K., Levecke, B., Vandamme, A., Pittevels, N., & Tadros, T. F. (2001). Polymeric Surfactants Based on Inulin, a Polysaccharide Extracted from Chicory. 1. Synthesis and Interfacial Properties. *Biomacromolecules*, 2(4), 1256–1259. <https://doi.org/10.1021/bm015570l>
- Sweedman, M. C., Hasjim, J., Tizzotti, M. J., Schäfer, C., & Gilbert, R. G. (2013). Effect of octenylsuccinic anhydride modification on β -amylolysis of starch. *Carbohydrate Polymers*, 97(1), 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.041>
- Sweedman, M. C., Tizzotti, M. J., Schäfer, C., & Gilbert, R. G. (2013). Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 905–920. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.040>

- Tempio, J. S., & Zatz, J. L. (1981). Interaction of Xanthan Gum with Suspended Solids. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(5), 554–558. <https://doi.org/10.1002/jps.2600700523>
- Tømmerraas, K., & Eenschooten, C. (2012). *Aryl/Alkyl Succinic Anhydride Hyaluronan Derivatives* (United States Patent No. US20120283213A1). <https://patents.google.com/patent/US20120283213A1/en>
- Tømmerraas, K., Mellergaard, M., Malle, B. M., & Skagerlind, P. (2011). New amphiphilic hyaluronan derivatives based on modification with alkenyl and aryl succinic anhydrides. *Carbohydrate Polymers*, 85(1), 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.02.011>
- Venkataraman, P., Tang, J., Frenkel, E., McPherson, G. L., He, J., Raghavan, S. R., Kolesnichenko, V., Bose, A., & John, V. T. (2013). Attachment of a Hydrophobically Modified Biopolymer at the Oil–Water Interface in the Treatment of Oil Spills. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5(9), 3572–3580. <https://doi.org/10.1021/am303000v>
- Yang, J. S., Jiang, B., He, W., & Xia, Y. M. (2012). Hydrophobically modified alginate for emulsion of oil in water. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1503–1506. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.046>

En résumé

Le protocole de greffage développé permet la modification chimique du xanthane via une réaction de succinylation en présence d'anhydrides alkényles succiniques (ASA) comme agent de greffage. Trois grades d'anhydride ont été employés : l'octényle (OSA), le dodécényle (DDSA) et l'hexadécényle (HDSA), présentant une chaîne alkyle à respectivement 8, 12 et 16 carbones. Les conditions optimales correspondant à chaque dérivé de xanthane ont été définies suite à une détermination précise du degré de succinylation (DS) par analyse RMN. Une large gamme de xanthane hydrophobiquement modifié (HMX) ayant des DS entre 1 et 16 % a été obtenu en faisant varier un ou plusieurs paramètres de la réaction : le pH, la durée de la réaction, le ratio molaire des réactifs (monomère de xanthane : ASA) et la longueur de la chaîne alkyle.

Contrairement à un xanthane non modifié ne présentant pas de propriétés interfaciales, les analyses de tension superficielle ont montré que les HMX possèdent une activité de surface en raison de chaînes d'alkényle greffées. Plus la chaîne est longue ou plus le DS est élevé, plus la tension superficielle de l'eau est baissée. La meilleure activité de surface a été obtenue pour le XG-C16 pourtant très peu modifié (DS = 2,2%) ce qui peut lui offrir un potentiel particulier à stabiliser les interfaces.

En effet, le procédé simple de modification qui a été développé dans le cadre de ce travail, simple respecte les préceptes de la chimie verte puisque la réaction est réalisée à basse température en une seule étape avec seulement deux composés, les ASA et la gomme xanthane qui est un biopolymère peu coûteux et abondant ; seuls de faibles quantités de NaOH et HCl sont exigés. Elle est effectuée dans l'eau sans besoin de solvant organique ou toxique et ne génère aucun sous-produit organique. Nul besoin de catalyseur ou de travailler sous pression ou sous gaz inerte. En plus, la réaction est réalisée sur des temps de réaction relativement courts et présente un rendement > 90%. Concernant la précipitation dans un alcool, elle peut être considérée comme une méthode de récupération simple, efficace et rapide. Tout cela signifie qu'un faible coût énergétique est nécessaire pour le procédé et qu'il est certainement possible de le transposer et de l'optimiser à grande échelle.

Ouverture

Dans l'article 1, nous avons décrit un travail purement de recherche dans lequel la synthèse a été réalisée à petite échelle (réacteur de 500 mL). Néanmoins, nous avons déjà réussi à transposer la synthèse dans un plus grand réacteur de 2 L.

Nous avons également pu réduire de moitié la quantité d'isopropanol utilisée pour la récupération grâce à des tests d'optimisation menés au laboratoire. Il sera également possible de recycler par distillation le mélange alcool/eau du protocole de récupération.

De plus, il serait possible d'étendre le greffage vers d'autres alkényles anhydrides succiniques tels que le nonanyle, le tétradécényle, etc.

Au final, de multiples domaines d'applications académiques et industrielles sont ouverts à ces dérivés amphiphiles de xanthane, par exemple la stabilisation des émulsions ou encore l'encapsulation d'actifs dans les secteurs cosmétique, agro-alimentaire et pharmaceutique.

Sur la base de ces résultats prometteurs, la suite du travail vise à étudier le comportement de ses dérivés de xanthane en solution à travers la détermination des propriétés intrinsèques viscosimétriques et rhéologiques dans différents régimes de concentration, depuis le dilué au concentré.

Partie 2 : Détermination des propriétés intrinsèques et rhéologiques des xanthanes hydrophobiquement modifiés

Cette deuxième partie évoque la détermination des propriétés thermiques des dérivés de xanthane par analyse thermogravimétrique ainsi que les propriétés intrinsèques viscosimétriques et rhéologiques en solution. Une étude visant à élucider l'effet de greffage, tant en fonction de la longueur de greffon que par le degré de substitution, sur ces différentes propriétés a ainsi été menée afin de démontrer les propriétés particulières de ces polymères modifiés.

En premier lieu, la caractérisation des propriétés thermiques à l'état non hydraté (poudre) de deux dérivés XC12(6.3) et XC12(16.9), moyennement et fortement modifiés, montre que l'introduction de greffons hydrophobes sur la chaîne de polymère induit une légère diminution de la teneur en humidité du polysaccharide et confère une stabilité thermique plus importante au xanthane mise en évidence : (1) par l'augmentation de la température de décomposition principale d'une part et (2) par un ralentissement de la vitesse de décomposition à haute température d'autre part.

La détermination de la température de transition conformationnelle par mesures rhéologiques (mesure des propriétés viscoélastiques lors du balayage en températures) à différentes concentrations (de 0,5 à 5 g.L⁻¹) a permis de montrer d'une part que la transition commence dans tous les cas au-delà de 30 °C, confirmant que le xanthane est sous forme ordonnée lors de la réaction de greffage, et d'autre part que l'incubation d'une solution de xanthane pendant 48 heures à 30 °C n'affecte pas ces propriétés viscoélastiques, ni sa conformation.

Ensuite, l'évolution de G' et G'' en fonction de la température montre pour les xanthanes modifiés comme pour PX et le natif, que les modules restent constants jusqu'à 35 °C, mais au-delà on observe une baisse des modules (voir G' dans la Figure 62) correspondant à la transition conformationnelle de xanthane semi-rigide à double hélice en chaîne simple sous forme de pelote flexible. La détermination de la température de transition conformationnelle T_m par rapport au minimum de $d\log(G')/dT$ montre une légère baisse de T_m (de 52 à 46 °C, environ) pour le xanthane le plus modifié XC12(16.9), révélant une conformation légèrement moins stable du squelette semi-rigide du xanthane. Ceci peut être attribué à l'affaiblissement des liaisons hydrogènes et des interactions des chaînes latérales qui stabilisaient l'hélice engendrant une dissociation plus rapide de brins de la double hélice.

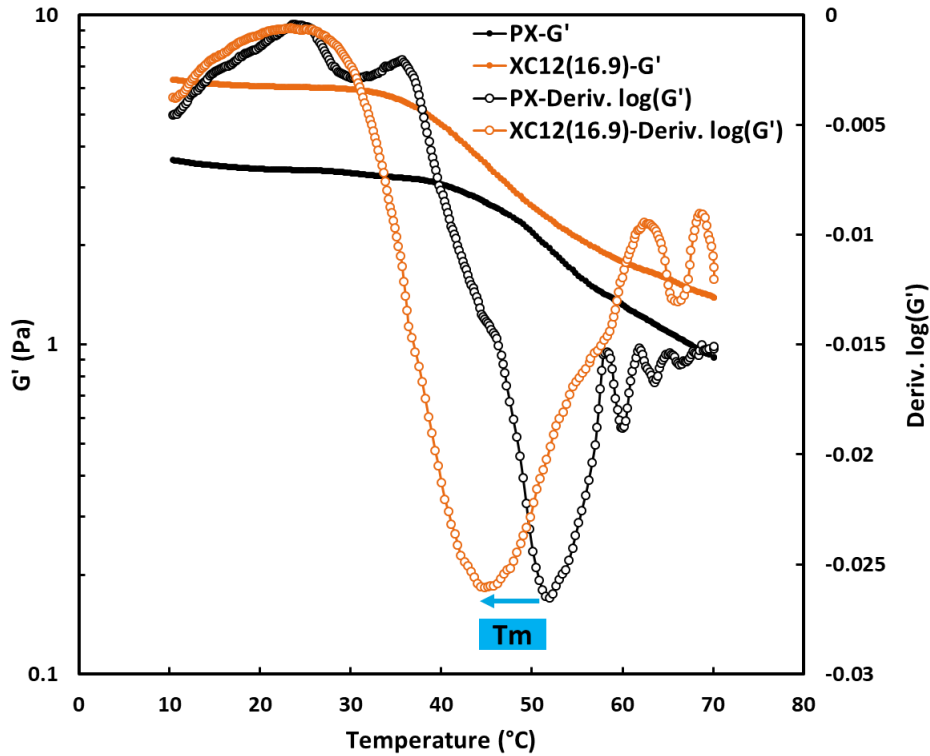


Figure 62 : Évolution de G' (symbole rempli) et sa dérivée $d\log(G')/dT$ (symbole ouvert) en fonction de la température pour XC12(16.9) et PX à 0,5% m/m.

Par la suite, la détermination de la viscosité intrinsèque en utilisant le viscosimètre à bille nous a permis de comparer trois grades de xanthane :

- 1) Natif,
- 2) Précipité obtenu suite à une solubilisation du xanthane natif à l'eau ultrapure à $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ suivi d'une précipitation immédiate dans d'isopropanol (selon le protocole de précipitation décrit dans le chapitre 2 partie 1),
- 3) Précurseur ayant subi toutes les étapes du protocole de greffage (solubilisation, incubation dans le réacteur à 30 °C et récupération par précipitation), mais en absence d'agent de greffage.

Les résultats ont montré des valeurs de viscosité intrinsèque très proches, traduisant une masse molaire viscosimétrique invariable. Ceci indique sans aucune ambiguïté qu'aucune dégradation du polymère n'a été induite durant le procédé de synthèse.

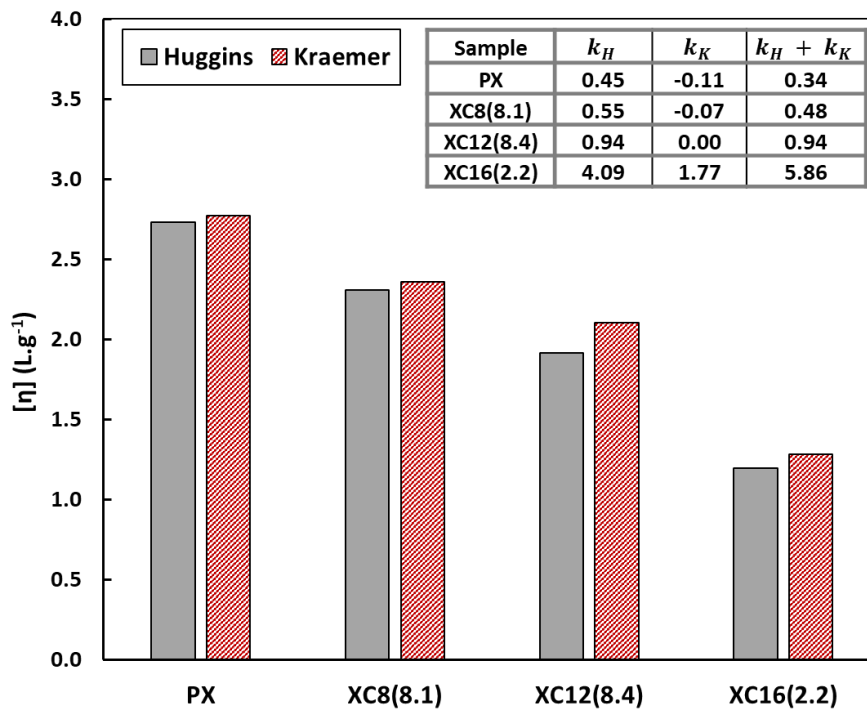
Ensuite, les propriétés intrinsèques des dérivés modifiés en solution ont été évaluées, pour déterminer l'effet du greffage sur le comportement des chaînes en régime dilué. De ce fait, la viscosité intrinsèque

qui est relative au volume hydrodynamique qu'occupe une chaîne de polymère, a été déterminée en utilisant plusieurs modèles (détaillés dans l'article 2). Nous représentons ici les plus pertinentes d'entre elles : équation Huggins et celle de Kraemer selon :

$$\eta_{réduite} = [\eta] + k_H[\eta]^2C \quad (Huggins)$$

$$\eta_{inhérente} = [\eta] + k_K[\eta]^2C \quad (Kraemer)$$

La viscosité intrinsèque $[\eta]$ est obtenue par l'extrapolation à concentration nulle de l'évolution de chaque viscosité en fonction de la concentration. La Figure 63 représente une comparaison entre des xanthanes fortement modifiés pour chacune des longueurs de chaînes alkyles. Les équations de Huggins et Kraemer donnent des proches pour un même échantillon permettant ainsi de formuler des interprétations fiables.



**Figure 63 : Viscosité intrinsèque $[\eta]$ des xanthanes modifiés par rapport à PX (20 °C, NaCl 0,01 M).
Insert : Coefficients de Huggins et Kraemer des différents xanthanes**

La comparaison des différents xanthanes au précurseur non modifié (PX) indique une baisse de la viscosité intrinsèque quelque soit la longueur de la chaîne alkyle. Ce résultat traduit une contraction du volume hydrodynamique dû aux interactions intramoléculaires entre les groupements hydrophobes portés par la chaîne de polymère. De plus, les coefficients de Huggins et Kraemer indiqués dans l'insert de la Figure 63 augmentent tous les deux avec le greffage, ce qui indique que l'eau devient un moins bon solvant pour les xanthanes modifiés. La somme des deux coefficients, théoriquement égale à 0,5 en très bon solvant, augmente également ce qui traduit la présence

d'agrégations polymère-polymère. Cet effet est davantage accentué lorsque la longueur des greffons augmente, traduisant logiquement des interactions hydrophobes plus fortes.

La Figure 64 illustre l'effet du greffage sur les propriétés en écoulement pour différents greffons en comparaison au xanthane précurseur PX ; tous ont un comportement de fluide à caractère visqueux avec un plateau newtonien à faible cisaillement suivi d'une rhéofluidification à cisaillement modéré caractérisée par une pente similaire pour les 4 échantillons. Cependant, une augmentation de la viscosité au plateau ainsi qu'une baisse de la limite de ce plateau newtonien sont constatées et qui peuvent être reliées à la présence de propriétés associatives entre les chaînes hydrophobes des xanthanes modifiés ; ce phénomène est particulièrement marqué dans le cas des greffons les plus longs (XC16).

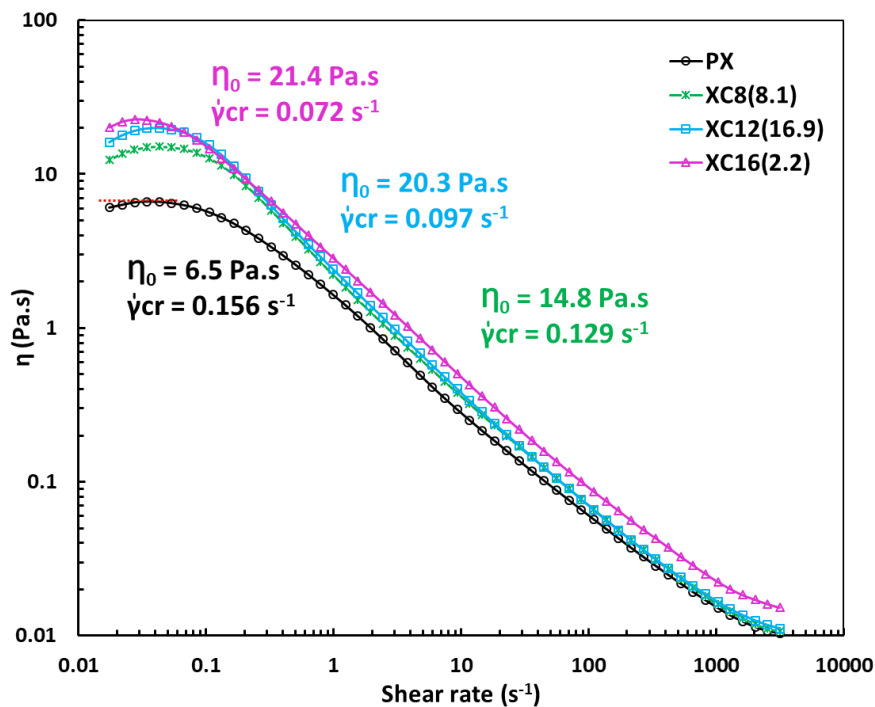


Figure 64 : Profils d'écoulement des xanthanes modifiés en comparaison à celle de PX à 0,5% m/m et 20 °C ; η_0 et $\dot{\gamma}_{cr}$ représentant la viscosité et la limite du plateau newtonien respectivement

Le comportement viscoélastique en fonction de la fréquence a ensuite été étudié pour les échantillons de xanthane modifiés hydrophobiquement. La Figure 65 montre le même comportement de fluide viscoélastique pour tous les xanthanes (modifiés ou non) caractérisé par une forte dépendance en fréquence des modules élastique G' et visqueux G'' ainsi que la présence d'un croisement de modules dans la gamme de fréquences étudiées (10^{-4} -20 Hz). Cependant une diminution de la fréquence qui correspond au croisement est mise en évidence pour des xanthanes modifiés par rapport au PX alors

que dans le même temps les valeurs des modules G' et G'' varient relativement peu avec le greffage et demeurent très dépendant de la fréquence. Ceci montre que la présence de chaînes alkyles greffées sur le squelette de xanthane ne modifie pas de manière drastique ses propriétés rhéologiques ; elle engendre néanmoins un ralentissement de la dynamique des chaînes traduit par des temps de relaxation plus longs. Ce phénomène est d'autant plus marqué pour des DS élevés et de longues chaînes alkyles en raison des interactions intermoléculaires plus nombreuses et plus fortes entre les greffons hydrophobes.

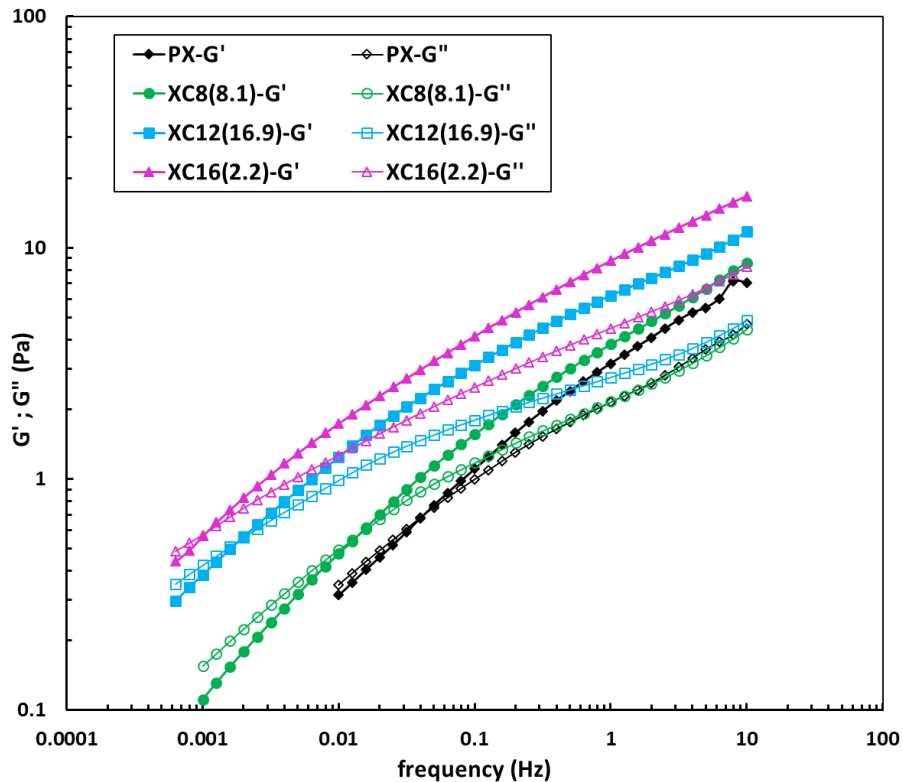


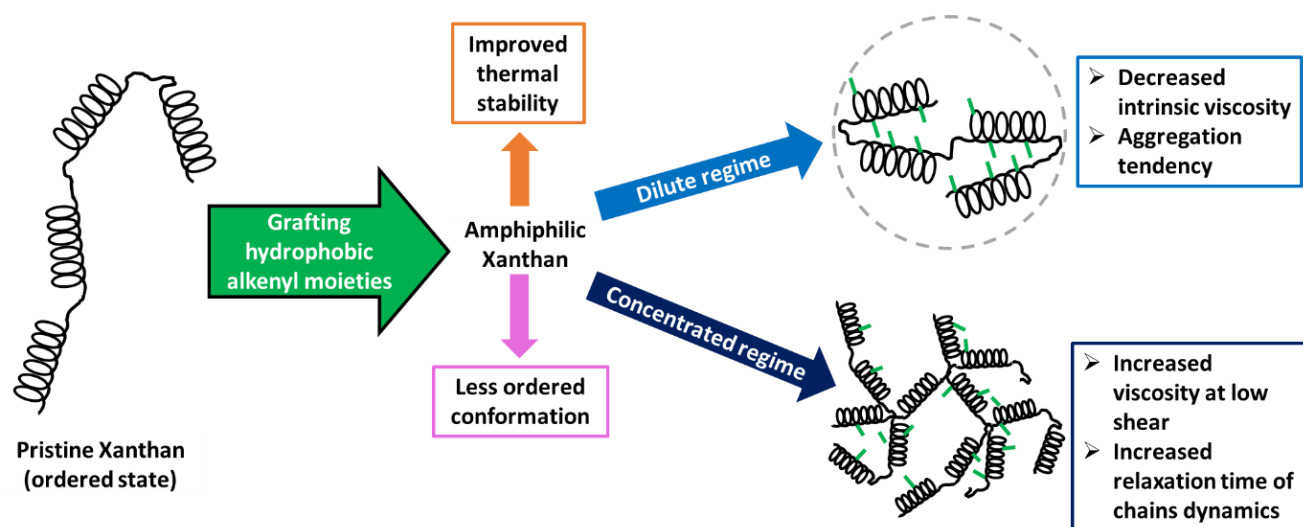
Figure 65 : Évolution de G' (symbole rempli) et G'' (symbole ouvert) en fonction de la fréquence pour différents xanthanes modifiés par rapport au PX

Les différents résultats obtenus ont fait l'objet de la publication suivante, intitulée « **Intrinsic and rheological properties of hydrophobically modified xanthan synthesized under green conditions** », qui a été soumise pour publication dans le journal Food Hydrocolloids.

Article 2: « Intrinsic and rheological properties of hydrophobically modified xanthan synthesized under green conditions »

Mira Abou Dib*, Ecaterina Gore, Michel Grisel*

Normandie Univ, UNILEHAVRE, FR 3038 CNRS, URCOM, 25 rue Philippe Lebon, BP 1123, 76063 Le Havre cedex, France



Keywords: *Hydrophobically modified xanthan, green modification, thermal analysis, intrinsic and viscometric properties, rheological behavior*

Highlights

- Hydrophobically modified xanthan was obtained under mild and green reaction conditions
- Grafting alkenyl chain on xanthan improves the thermal stability of the polymer
- Hydrophobic grafted moieties induce an associative character to xanthan derivatives
- Viscoelastic properties of xanthan are improved with grafting alkenyl chain and/or increasing the grafting density.

Abstract

The aim of this study is to investigate the intrinsic and rheological properties as well as the thermal stability of hydrophobically modified xanthan (HMX) obtained via green esterification using alkenyl succinic anhydrides (ASA) as grafting agents. A series of HMX differing in alkenyl chain length or grafting density were compared to the pristine xanthan (PX) and to each other's. According to the results of TGA, grafting alkenyl moieties present a stabilizing effect of the thermal properties of xanthan. Then, concerning the behavior in solution, results clearly indicate that grafting decreases the intrinsic viscosity of the polymer due to the tendency of HMX to self-aggregation. In addition, rheological properties are enhanced showing an increase in both the zero-rate viscosity and relaxation time, and an improvement of the viscoelastic properties of HMX. Finally, a slight destabilization of the xanthan helical structure (so-called ordered conformation) in aqueous media was observed for HMX.

1. Introduction

In the last decades, water-soluble amphiphilic polysaccharides grafted with hydrophobic moieties have intensively been studied due to their multiple applications such as emulsifying agents, thickeners, micro-encapsulating agent in different fields like food, pharmaceutical, cosmetics and oil recovery (Chang et al., 2017; Evans et al., 2016; Mendes et al., 2011; Venkateshaiah et al., 2021; Yu et al., 2020). The presence of hydrophobic moieties on the flexible chains of polysaccharides leads to amplify their capacity to self-associate in aqueous media through intra-and/or intermolecular interactions between the hydrophobic groups, thus resulting in special properties (Colinet et al., 2009; Zhang, 2001). Among them, some properties of hydrophobically modified xanthan derivatives have been investigated especially in concentrated regime (Fantou et al., 2017; Quan et al., 2020; Roy et al., 2014; Sara et al., 2020). Surprisingly, in the best of our knowledge, no studies have been conducted on xanthan properties in both dilute, semi-dilute and concentrated regime.

Indeed, xanthan is an anionic bacterial heteropolysaccharide produced by fermentation from *Xanthomonas campestris*. Its structure consists of a linear cellulosic backbone of β -D-glucose substituted on every two units with a pendant trisaccharidic side chain containing a β -D-glucuronic acid between an inner α -D-mannose and a terminal β -D-mannose (Jansson et al., 1975). These mannoses can respectively be substituted by an acetate and a pyruvate group whose proportions vary according to fermentation conditions (García-Ochoa et al., 2000; Hassler & Doherty, 1990). In aqueous solution, xanthan can adopt two different conformations: an ordered, rigid double-helix strand structure at low temperature and high ionic strength, and a disordered flexible coil state, at high

temperature and low ionic strength (Matsuda et al., 2009; Milas & Rinaudo, 1979). The transition from order to disorder conformation is reversible; it proceeds at specific temperature named conformational transition temperature (T_m) and it is marked by a variation of rheological properties (Choppe et al., 2010; Lecourtier et al., 1986) such as a decrease of the storage modulus (Capron et al., 1998).

In a previous work, a variety of amphiphilic xanthan derivatives was obtained by grafting under green conditions, alkenyl chains onto xanthan backbones (Abou Dib et al., 2022). The study allowed revealing optimized conditions to obtain high grafted xanthan with three different alkenyl chain length, namely: octenyl, dodecenyl and hexadecenyl; it also highlighted the surface activity enhancement of the xanthan when grafted with long alkenyl chain or high rate of hydrophobic moieties.

The aim of the present work is to investigate the thermal decomposition of the hydrophobically alkylated xanthan derivatives as well as their intrinsic properties and rheological behavior in an aqueous solution. That leads to investigate how the modification impact the polysaccharide properties in both diluted and concentrated solution.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Xanthan Gum (XG) was kindly offered by Cargill (France). Substitution degrees of acetate and pyruvate as determined by ^1H NMR were 0.56 and 0.59 per monomeric unit, respectively. Protein content (0.95%) was determined by the Bradford procedure. 2,2,2,3,3-d(4)-3-(trimethylsilyl) propionic acid sodium salt (TSP) was purchased from Alfa Aesar (USA), hydrochloric acid (HCl) and sodium hydroxide (NaOH) from Fisher Scientific (USA), sodium chloride (NaCl) from Carlo Erba, (2-Dodecen-1-yl) succinic anhydride (DDSA) and 2-Octen-1-ylsuccinic anhydride (OSA) from Sigma Aldrich (USA), Hexadecenyl succinic anhydride (HDSA) from TCI chemicals (Japan). Ultra-pure water (16.8 M Ω .cm resistivity) was used. All chemical reagents were analytical grades. Low viscosity ($\eta = 18.32$ mPa.s at $T = 20$ °C) silicone oil was purchase from PSL and used to prevent solvent evaporation during rheological measurements.

2.2. Synthesis of hydrophobically modified xanthan

Hydrophobically modified xanthans HMX were obtained via a succinylation reaction using OSA, DDSA or HDSA based on a procedure described elsewhere (Abou Dib et al., 2022). Briefly, the one pot reaction took place in water at 30 °C according to the following general methodology:

Grafting agent (OSA was used as is; DDSA and HDSA being solids were first dispersed in isopropyl alcohol at 1:3 ratio (w/w)) and then progressively added to a xanthan aqueous solution (0.25% w/v). The pH was maintained for the whole reaction duration between 8.5 and 9.0 with adding 2 M NaOH solution using a peristaltic pump (Preciflow; Lambda Laboratory Instruments, Czech Republic).

At the end of reaction, pH was adjusted at 6.0 with HCl solution to convert all carboxylate groups to the acidic form. Succinylated product was then precipitated in isopropanol excess (6 times the volume of the solution) and washed once with acetone and twice with isopropanol in order to remove any unreacted acid. HMX residue was dried at 40 °C for 24 h and then stored at 4 °C. Reaction optimization was performed by varying either the reaction pH range, the reaction time and the grafting reagents molar excess. Samples degree of succinylation (DS) was determined using ¹H NMR analysis. Detailed descriptions for all the experimental conditions are available elsewhere (Abou Dib et al., 2022).

Resulting HMX were noted as XC8, XC12 and XC16 for octenyl-grafted, dodecenyl-grafted and hexadecenyl-grafted xanthan, respectively, followed by their DS value. As an example, a xanthan modified by OSA with a DS of $4.1 \pm 0.9\%$ is noted as XC8(4.1). Also, the following annotation XC8(4.1-4.7) is used when the results obtained for XC8(4.1) and XC8(4.7) were averaged by the reason of the proximity of DS values. Pristine Xanthan (PX) refers to samples subjected to the same treatment apart from adding OSA, DDSA or HDSA.

All HMX used in this study (see Table 1) were selected with ensuring they remained fully water soluble thus allowing pouring back in water for further physicochemical characterizations.

2.3. Thermal gravimetric analysis (TGA)/derivative thermogravimetric analysis (DTG)

Thermal properties of xanthan (either PX or HMX) powders were measured using Setsys TGA 1200, SETARAM (Caluire-et-Cuire, France) instrument upon an average samples weight 12 mg under a dynamic nitrogen atmosphere according to two following procedures:

- For moisture content determination: Heating from 30 to 110 °C with a ramp rate of 10 °C/min followed by an isotherm at 110 °C for 45 minutes.
- For the decomposition profile: Ramp from 30 to 900 °C at a heating rate of 20 °C/min followed by an isotherm at 900 °C for 25 minutes.

Thermograms (TGA) were recorded for each studied sample thus allowing determining (1) the moisture content to be considered to prepare polymer solutions with exact polymer content for both

viscosimetric and rheological measurement and (2) to investigate the potential effect of chemical grafting on the thermal stability of xanthan molecules.

2.4. Viscosity measurements

Gum solutions at different concentrations (0.05-0.3 g.L⁻¹) were prepared in salted water (0.01 M NaCl) to allow hindering of electrostatic interactions that may disturb chain conformation. At these concentrations, PX remains in the dilute regime (Cuvelier & Launay, 1986). Viscosimetric measurements were performed using an AMVn rolling ball automated microviscometer (Anton Paar France, Courtaboeuf, France) equipped with a Peltier temperature controller.

The rolling ball viscosimeter uses Höppler principle which consists in measuring the falling speed of a solid sphere under the only force of gravity while passing through a sample-filled inclined cylindrical tube. Shear can be varied by changing the angle (α) of the tube from the horizontal.

The dynamic viscosity of sample is calculated from $K_{(\alpha)}$ the calibration constant of the measuring system at an inclination angle (α) of the capillary, $t_{(\alpha)}$ the ball rolling time and $\Delta\rho = \rho_{ball} - \rho_{sample}$ the density difference between the ball and the sample; the equation is shown as follows:

$$\eta = K_{(\alpha)} \cdot (\rho_{ball} - \rho_{sample}) \cdot t_{(\alpha)}$$

Measurements were made at a constant temperature of 20 °C at three different angles 40, 60 and 80° using a glass capillary of 1.6 mm diameter and a stainless-steel ball (DIN: 1.4125) of 1.5 mm diameter. At each angle, the measurements were carried out 8 times to ensure determining reliable results.

The intrinsic viscosity $[\eta]$ was determined using different models, all being valuable in the dilute regime for the polymer concentration:

- **Huggins** equation (1) (Huggins, 1942) by plotting the reduced viscosity (η_{sp}/C) against the polymer concentration, and subsequently extrapolating to zero polymer concentration (2)

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k_H[\eta]^2 C \quad (1)$$

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{C} = \lim_{C \rightarrow 0} \left(\frac{\eta - \eta_0}{\eta_0 C} \right) \quad (2)$$

- **Kraemer** equation (3) (Kraemer, 1938) by plotting the inherent viscosity ($\ln(\eta_{rel})/C$) against C , and subsequently extrapolating to zero polymer concentration (4)

$$\frac{\ln(\eta_{rel})}{C} = [\eta] + k_K[\eta]^2 C \quad (3)$$

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\ln(\eta_{rel})}{C} \quad (4)$$

Tanglertpaibul-Rao-method 1 equation (5) (Tanglertpaibul & Rao, 1987) for very dilute systems, where there are essentially no molecular interactions, the second term of the Huggins equation Eq (1) is negligible, and the equation is presented as follows:

$$\eta_{rel} = 1 + [\eta] C \quad (5)$$

$[\eta]$ can be determined from the slope of a plot of η_{rel} against C .

- **Tanglertpaibul-Rao-method 2** equation (6) (Tanglertpaibul & Rao, 1987) for very dilute systems, it corresponds to Eq (3) shortened by retaining only the first-order term as follow:

$$\eta_{rel} = e^{[\eta]C} \quad (6)$$

$[\eta]$ can be determined from the slope of a plot of $\ln(\eta_{rel})$ against C as shown in eq (7).

$$\ln \eta_{rel} = [\eta] C \quad (7)$$

- **Tanglertpaibul-Rao-method 3** equation (8) (Tanglertpaibul & Rao, 1987):

$$\eta_{rel} = \frac{1}{1 - [\eta]C} \quad (8)$$

$[\eta]$ can be determined from the slope of a plot of $\left(1 - \frac{1}{\eta_{rel}}\right)$ against C

Where η_{sp} is the specific viscosity ($\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1$), η_{rel} is the relative viscosity ($\eta_{rel} = \eta/\eta_0$) with η and η_0 are the viscosity of the solution and the solvent respectively; C is the polymer concentration and k_H and k_K are Huggins and Kraemer coefficients, respectively.

The method used by Tanglertpaibul-Rao was first proposed by McMillan in 1974 (McMillan, 1974) to avoid extrapolation to zero concentration. The study showed that intrinsic viscosities determined from the slopes of plot present higher correlation coefficients and lower standard errors, compared to those determined from the intercepts of plots, as it's the case in Huggins and Kraemer methods (Higiro et al., 2007).

The values of intrinsic viscosities are noted $[\eta]_H$, $[\eta]_K$, $[\eta]_{TR1}$, $[\eta]_{TR2}$ and $[\eta]_{TR3}$ according to the determination method as described above: Huggins, Kraemer, Tanglertpaibul-Rao method 1, 2 or 3, respectively. k_H and k_K represent Huggins and Kraemer coefficients, respectively.

The determination of Huggins and Kraemer coefficients is essential to provide information on the solvation state between the polymer and the solvent. In a good solvation state, k_H should theoretically lie between 0.3 and 0.8 and the sum of k_H and k_K should be equal to $0.5 \pm 10\%$. However, when k_H values are larger than unity and the sum ($k_H + k_K$) is larger than 0.5, that indicates polymer-polymer aggregation (Higiro et al., 2007).

2.5. Rheological measurements

Polymer solutions were prepared at 5 g.L^{-1} (0.5%) in ultra-pure water. Oscillatory shear studies were carried out with a stress-controlled rheometer HR2 (TA Instruments, Guyancourt, France) equipped with a Peltier temperature control plate device using a cone-plate aluminum geometry (diameter, 60 mm; cone-angle, $2^{\circ}00'43''$; gap, $59 \mu\text{m}$). Solvent evaporation was prevented by covering the geometry with a low viscosity silicon oil. The linear viscoelasticity domain was first determined by measuring both the storage (G') and loss (G'') moduli a function of the strain percentage (from 0.1 to 100%) at 20°C and 1 Hz.

Then, viscoelastic properties were measured within the linear viscoelasticity domain:

- as a function of the frequency with a decreasing ramp from 20 to 10^{-4} Hz at 20°C
- as a function of the temperature within a range from 10 up to 70°C at 1 Hz using a heating rate of $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$

Finally, solution flow properties were obtained as a function of an increasing shear rate from 0.01 to 3500 s^{-1} during 300 s at 20°C . Two consecutive flow ramps were performed on the same sample; the procedure included a conditioning step where the sample was left relaxing for 15 min between the two flow steps to ensure measurements reliability and the absence of any thixotropy.

3. Results and discussion

3.1. Xanthan derivatives moisture content

HMX samples described in this paper are listed in Table 1 with their DS values reported as means \pm standard deviation ($M \pm Sd$) as well as the percentage of moisture content.

Indeed, moisture content of all xanthan samples was determined by TGA analysis according to the moisture content determination procedure (see 2.3). Results for this water content range between 11 and 16% of weight loss, this being consistent with values currently observed for polysaccharides. However, one can notice a tendency for the moisture content to decrease for chemically grafted samples when compared to the one for PX. This is consistent with the presence of hydrophobic moieties on the polymer skeleton that reduces the affinity of the amphiphilic xanthan to water as reported by other authors (Biswas et al., 2020).

Table 1: Modified xanthan with their succinylation degree DS and moisture content

Sample*	DS** value M ± Sd (%)	Moisture content (%)
PX	0	14.75
XC8	4.1±0.9	15.95
	4.7±0.8	14.92
	6.2±1.1	13.61
	6.8±0.8	14.79
	8.1±0.8	13.70
XC12	2.2±0.2	11.60
	3.6±0.3	11.04
	3.9±0.4	13.21
	4.1±0.3	12.42
	4.3±0.2	14.14
	4.8±1.1	13.77
	6.3±1.4	13.30
	8.4±0.8	13.32
	16.9±1.9	12.23
XC16	0.4±0.1	12.51
	0.7±0.2	12.61
	2.1±0.4	11.59
	2.2±0.5	11.10

*XC8, XC12 and XC16 for respectively octenyl-grafted, dodecenyl-grafted and hexadecenyl-grafted xanthan

** DS for degree of succinylation

3.2. Effect of alkyl grafting on xanthan thermal decomposition profiles

In order to compare the decomposition profiles of HMX with PX, two XC12 samples were selected from all with a DS of 6.3% and 16.9%, respectively. Analyses were carried out in duplicate and the corresponding weight loss and DTG were plotted in Fig. 1. Thermal degradation profile of DDSA was also studied referring to the grafting agent apart (results are not shown so as not to clutter the readability of the graphics).

First, all curves show a similar behavior from ambient temperature up to 190 °C with a first rapid weight loss with a maximum DTG at 98 ± 3 °C, this corresponding to the desorption of moisture from the different samples.

Then, a second major weight loss around 50% occurs between 190 and 350 °C, for all xanthan samples, either PX and HMX. In fact, the main decomposition actually starts above 200 °C and corresponds to the depolymerization and pyrolytic decomposition of the xanthan including the decarboxylation of its COOH groups leading to the formation of CO, CO₂ and CH₄. This result is consistent with studies on native xanthan (Faria et al., 2011; Zohuriaan & Shokrolahi, 2004) demonstrating two stages of decomposition for the xanthan gum.

Despite similar weight loss, significant differences for the maximum DTG of this second degradation step are observed, resulting in a shift of the DTG maximum from 274 ± 2 °C for the PX towards higher temperature 291 ± 4 °C for modified samples; this can be interpreted as a stabilizing effect of grafted alkyl residues; such an effect has never been reported before.

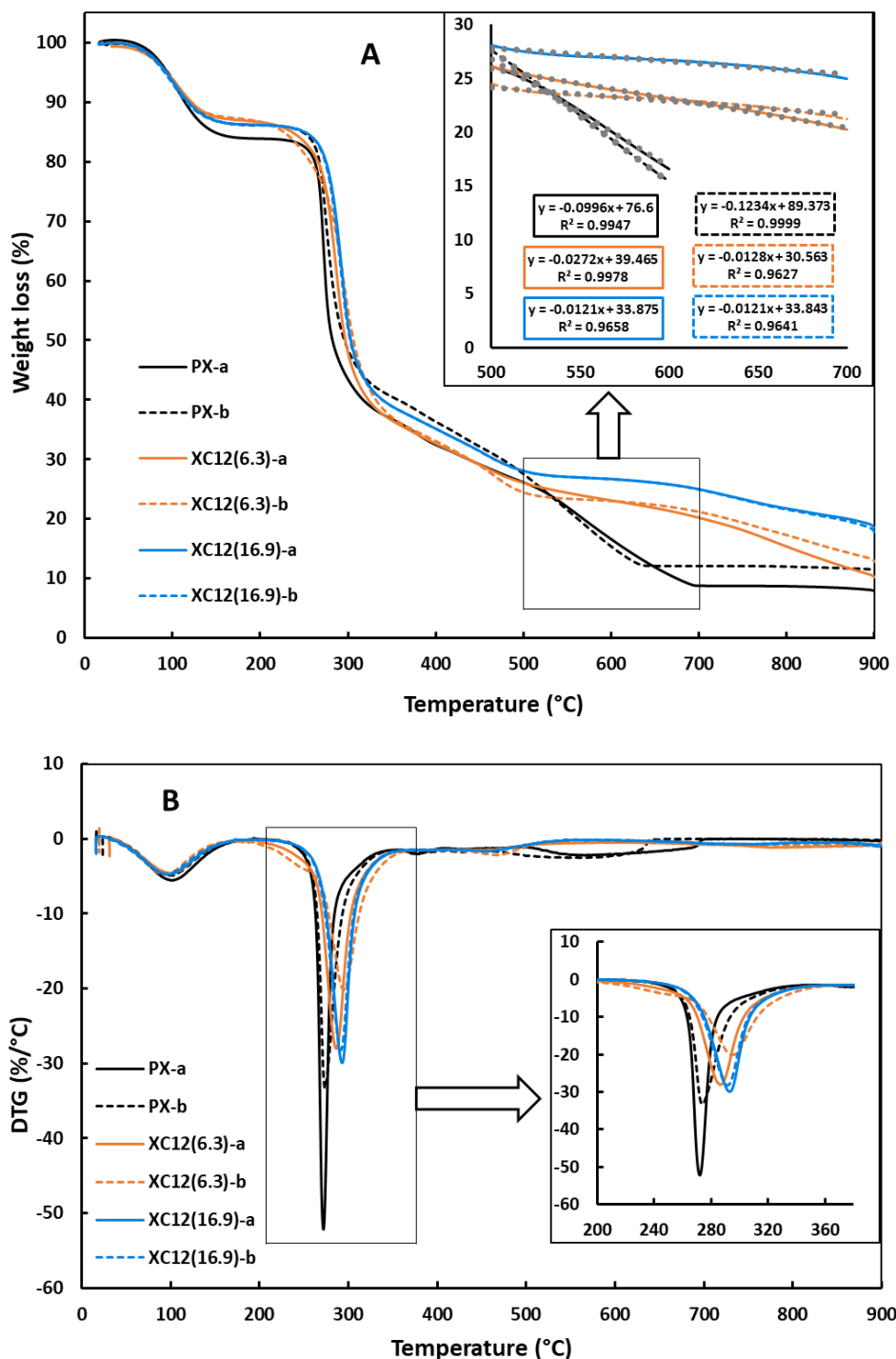


Fig. 1. Thermal degradation curves (A): TGA and (B): DTG of PX, XC12(6.3) and XC12(16.9).

If considering higher temperatures, decomposition profiles of all xanthan samples behave similarly between 350 and 500 °C with a weight loss around 10-12%. Nevertheless above 500 °C thermograms show significant differences between the studied samples as visible in Table 2, the weight loss of the PX between 500 and 700 °C appears much higher than the one for XC12(6.3) and even much faster when compared to XC12(16.9) one. Within this domain of temperature, the curve for weight loss

appears roughly linear thus allowing calculating the slope which clearly illustrates that the higher the xanthan grafting rate the slower decomposition rate.

Table 2: Weight loss and rate of degradation of xanthan (PX and modified)

Sample		Weight loss (%) between 500 and 700 °C	Absolute value for the slope of the weight loss [500-700°C] *
PX	a	17.36	0.0996
	b	15.45	0.1234
	M±Sd	16.41 ± 1.35	0.1113 ± 0.0170
XC12(6.3)	a	5.85	0.0272
	b	3.26	0.0128
	M±Sd	4.56 ± 1.83	0.0200 ± 0.0101
XC12(16.9)	a	3.08	0.0121
	b	3.09	0.0121
	M±Sd	3.08 ± 0.01	0.0121 ± 0.000

**[500-600] for the PX samples*

Such a marked difference for the polysaccharide thermal stability is not self-explainable; nevertheless, an attempt of mechanism is proposed. In fact, each XC12 contains 6.3 or 16.9 grafting chain for every 100 repeated unit; this corresponds respectively to only 1.5% and 3.9% of the percentage of molecular mass in the modified polymers, respectively. Although this only represents a small additional molar mass, this may result in a higher number of intramolecular interactions when compared with the PX, thus inducing more bond to degrade; therefore, this may rend necessary a higher energy for the xanthan decomposition. In addition, the presence of functional groups such as C=C and C=O on the grafted residue makes it necessary a higher energy to break related additional linkages compared to simple bonds present on native xanthan backbone (Blanksby & Ellison, 2003). To sum up, thermal analysis appears efficient for elucidating the effect of alkyl residues on the general properties of the xanthan molecules.

3.3. Grafting effect on the intrinsic viscometric properties of xanthan

Viscosity was measured for a series of low concentration polymer solutions to ensure keeping within the dilute concentration regime as described in the experimental section; measurements were carried out 8 times at each angle to ensure reliable results with actual low relative standard deviation (RSD) on the run time (RSD < 2%) thus allowing a reliable determination of intrinsic viscosity.

Fig. 2 **Fig. 2. Determination** Determination gives an illustration of the results obtained for HMX sample XC8(3.9), with considering the 5 theoretical mode on the basis of viscometric measurements at 60°; graphs clearly indicate that model can be fitted with straight-line relationships owning a good regression coefficient; this was observed whatever the samples tested and for each of the three angles tested (data not shown). In addition, all data obtained on each inclination angle (40, 60, 80°) show similar values thus indicating that measurements were performed within the Newtonian regime. In addition, same tendency for viscosity changing was observed when comparing the samples thus attesting the values reliability. Consequently, the choice for this paper was to present and discuss only data obtained for 60° angle to investigate the effects of both the alkyl chain length and the grafting rate on xanthan derivatives properties. Also, whatever the samples characterized results allow evidencing that intrinsic viscosity values vary sparsely within a fairly narrow range except for those of both TR1 and TR3 that give markedly different results; it was therefore decided to focus the following discussion on Huggins, Kraemer and TR2 results (Fig. 3).

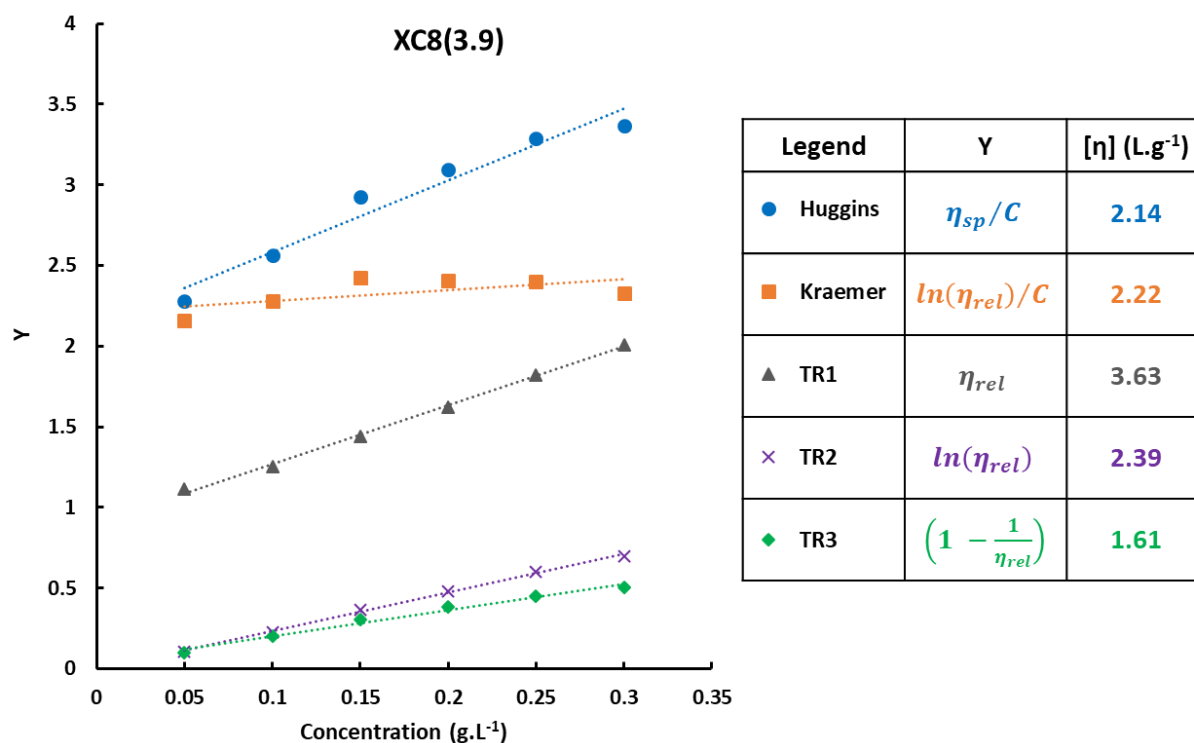


Fig. 2. Determination of the intrinsic viscosity $[\eta]$ of XC8(3.9) (20 °C, NaCl 0.01 M) using five theoretical equations: Huggins, Kraemer, TR1, TR2 and TR3. Dashed lines correspond to the linear regression.

Indeed, the determination of intrinsic viscosity is a measure of the hydrodynamic volume occupied by an isolated macromolecule, which is closely related to the size and conformation of the macromolecular chains in a specific solvent (Lapasin & Pricl, 1995; Mitchell, 1979). In addition,

information related to the solvent quality as well as the occurrence of molecular aggregation can be obtained thanks to Huggins and Kraemer coefficients, k_H and k_K , respectively (Table 3). It is important to point out that for samples owning close DS values for a given grafted alkenyl chain length, average intrinsic viscosity as well as k_H and k_K coefficients were calculated and considered.

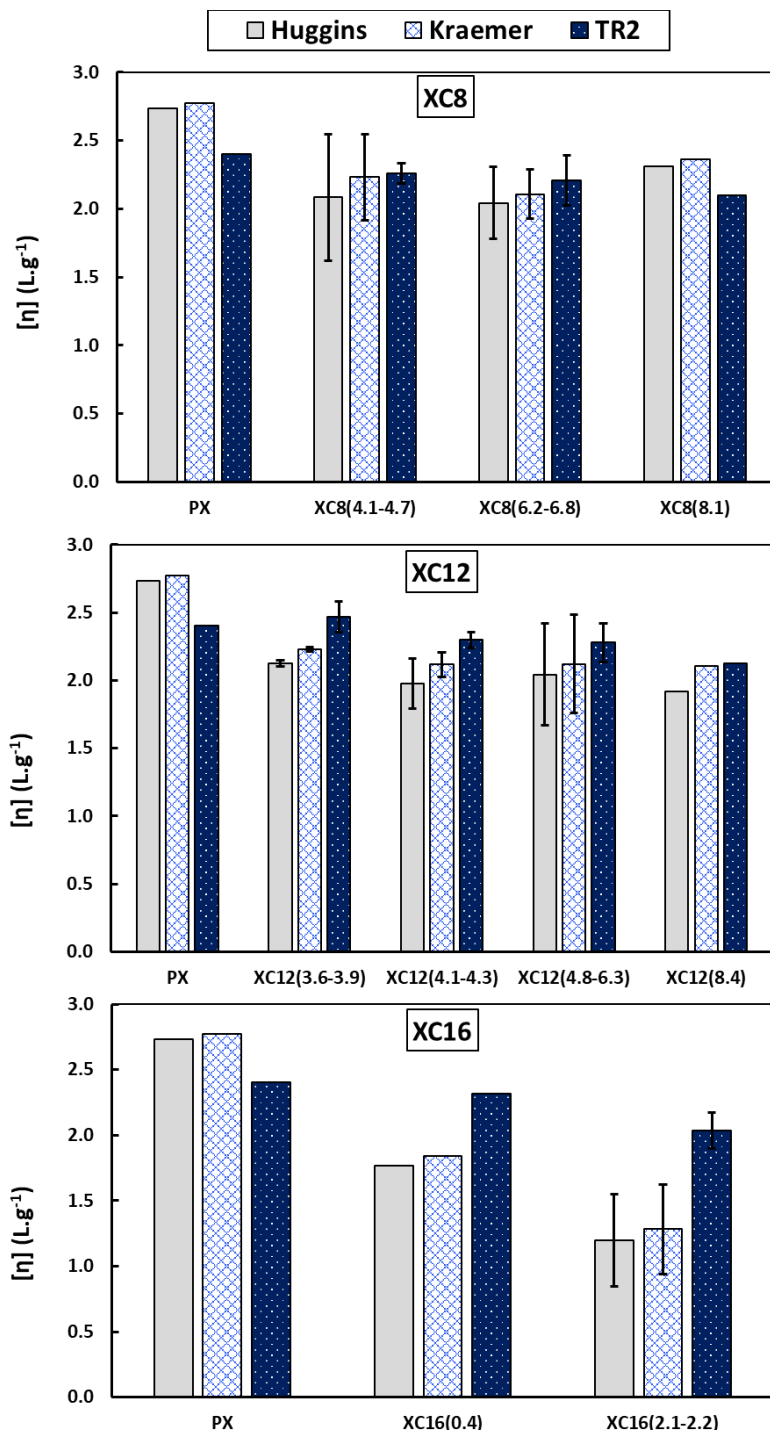


Fig. 3. $[\eta]$ of XC8, XC12, XC16 compared to PX (20 °C, NaCl 0.01 M) using Huggins, Kraemer and TR2 equations; when given standard deviation is related to the mean of results obtained for two distinct HMX samples owing similar DS.

Table 3: Evolution of Hugging coefficient k_H , Kraemer coefficient k_K and their sum as function of chain length and DS

Sample	k_H	k_K	$k_H + k_K$
PX	0.45	-0.11	0.34
XC8(4.1-4.7)	1.05	0.04	1.09
XC8(6.2-6.8)	0.70	-0.01	0.69
XC8(8.1)	0.55	-0.07	0.48
XC12(3.6-3.9)	1.08	0.16	1.24
XC12(4.1-4.3)	1.10	0.12	1.22
XC12(4.8-6.3)	0.98	0.14	1.12
XC12(8.4)	0.94	0.00	0.94
XC16(0.4)	1.65	0.39	2.04
XC16(2.1-2.2)	4.09	1.77	5.86

First, one can notice that there is a good agreement regarding intrinsic viscosity between the results obtained by the selected methods, namely Huggins, Kraemer and TR2; in spite of slight differences for the intrinsic viscosity values, the global tendency remains the same. In addition, results obtained with Huggins and Kraemer method are in good agreement with very close intrinsic viscosity values for each studied sample. As a consequence, this makes it possible the drawing of reliable interpretations about the HMX versus PX behaviors in solution.

From a general point of view, one can notice that grafting hydrophobic chains (C8, C12 or C16) to xanthan skeleton induces a significant decrease of intrinsic viscosity whatever the alkyl chain length and grafting rate. Furthermore, the higher the DS, the lower the intrinsic viscosity thus illustrating stronger intramolecular interactions. This effect is markedly more pronounced when grafting hexadecenyl residues, which seems to cause greater shrinkage of the hydrodynamic volume as a result of intramolecular interactions between hydrophobic moieties even at relatively low DS (2.2%). Nevertheless, grafting octenyl and dodecenyl, has less impact on the intrinsic viscosity, because of weaker interactions between alkenyl chains grafted on the semi-rigid xanthan backbone.

Besides, when comparing Huggins and Kraemer coefficients of HMX to PX (Table 3), one can notice that the presence of hydrophobic moieties increases both k_H and k_K indicating a decreasing of solvent quality, as well as the increase of their sum ($k_H + k_K$) confirming the presence of polymer-polymer aggregation. For XC8 and C12, the increase remains fairly limited regardless DS value while for XC16, the effect is more pronounced disclosing a higher polymer-polymer aggregation.

Consequently, on the one hand, XC8 and XC12 induce a hydrodynamic volume lowering in the polar solvent comparing to PX, pointing out some attractive intramolecular interactions between hydrophobic grafted moieties. In addition, except for C16 residue grafting all derivatives show a limited tendency to self-aggregation as a consequence of the stiffness of xanthan helical structure which probably makes it difficult for hydrophobic groups to self-associate (Roy et al., 2014).

In addition, the dramatic increase of the k_H and k_K as well as ($k_H + k_K$) coefficients clearly confirms an associative character, reflecting an increase in polymer-polymer hydrophobic interactions and a decrease in polymer solvation in aqueous solution as explained by (Simon et al., 2003) when grafting octyl alkyl chains to carboxymethylpullulan.

Literature describes similar results obtained when grafting hydrophobic moieties onto a variety of polysaccharides: phenoxy groups (Rouzes et al., 2002) or aliphatic epoxide (Rotureau et al., 2006) to dextran as a neutral bacterial polysaccharide. Authors observed both $[\eta]$ decreasing and k_H increasing thus indicating the lowering of solvent quality when DS is higher or when replacing aliphatic C6 by C10 one at a given DS. This was explained by the intra-and/or intermolecular interactions between hydrophobic moieties leading to a shrinkage of conformation in dilute solution. Intra/intermolecular ratio may be governed by the polymer skeleton rigidity.

3.4. Effect of xanthan alkyl chemical grafting on rheological properties in the concentrated regime

Only few data related to the effect of hydrophobic xanthan samples on the rheological behavior are available in the literature (Fantou et al., 2019; Roy et al., 2014; Sara et al., 2020). In particular, the combined effects of both the grafting rate and the alkyl residue length are together only very slightly documented. Thus, this part describes several aspects for some of the different HMX listed in Table 1.

3.4.1. Flow behavior

The flow behavior of PX and HMX solutions submitted to shear ramp was investigated as a function of degree of succinylation (DS) for XC8, XC12 and XC16 aqueous polymer solutions at 0.5% (w/w) in water (Fig. 4). Each sample was analyzed twice with consecutive identical shear ramp with keeping sample unchanged. Resulting flow curves were perfectly superimposable whatever the sample tested thus evidencing the absence of any thixotropic behavior for xanthan and its derivatives.

Then, it is interesting to note that all the samples, either PX or HMX, behave similarly with a Newtonian plateau at low shear followed by a shear-thinning behavior starting at moderate shear (see inset Fig.4). Thus, it is obvious that all polymer solutions behave as viscous liquids clearly indicating that the chemical modification does not change dramatically the viscous character of native xanthan. Nevertheless, one can observe a significant increase of the zero-rate viscosity η_0 (plateau with constant viscosity at low shear) when increasing either the grafting rate and the alkyl chain length (see Fig. 4A) In addition, one can notice that the limit for the Newtonian plateau is sharply affected as a decreasing of the critical shear rate is observed still according to both parameters, namely alkenyl chain length and DS value. In other words, the higher the DS or the longer the grafted chain the higher the viscosity and the lower the limit for the Newtonian plateau. Similar increase in the limit for the plateau was obtained by (Fantou et al., 2019) when grafting longer alkyl amine residues on xanthan. Finally, it is striking that grafting significantly increases the low shear viscosity of xanthan but keeps constant the shear thinning slope to a rate index value of 0.16 ± 0.08 as obtained by fitting the curve with Carreau model.

It is interesting to note that XC16(2.2) behaves a behaves little bit differently when compared to the other samples as the flow curve is shifted to significantly higher viscosity on the whole range of shear rate tested while for all the other samples viscosity perfectly superimposes with the one of PX when the shear rate attains # 1 to 10 s^{-1} . To our knowledge such a changing for the flow behavior related to both the alkyl residue length and the grafting rate was not described before; among other hypothesis of explanation, such a behavior changing could be related to the transition to associative properties. Further investigations are planned to get a better understanding for this particular behavior.

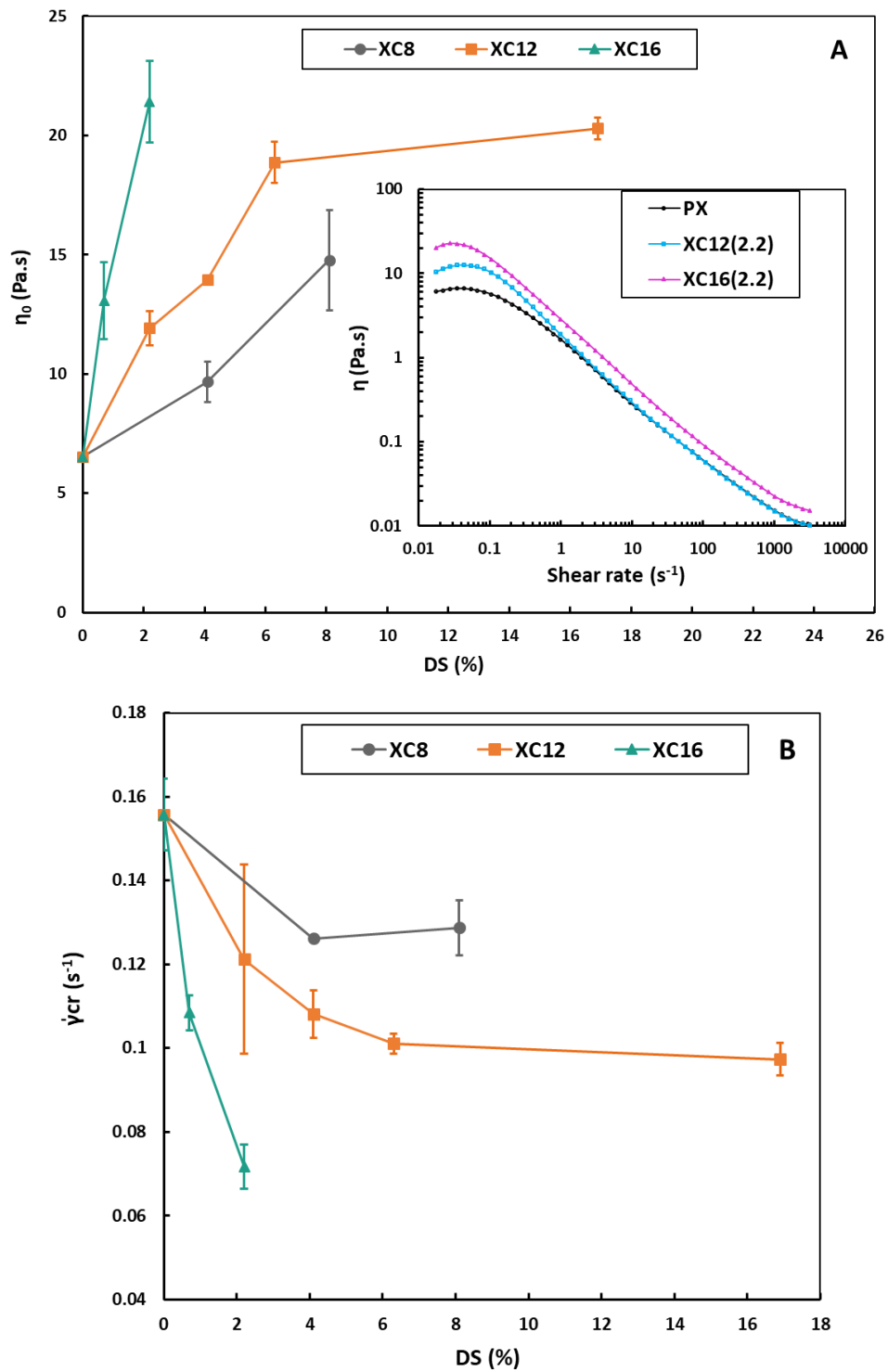


Fig. 4. Evolution of (A) zero-rate viscosity as a function of HMX DS for XC8, XC12 and XC16. Inset: Flow curve at 0.5% w/w and 20°C of HMX with DS = 2.2%. (B) Evolution of the limit for the Newtonian plateau ($\dot{\gamma}_{cr}$).

3.4.2. Effect of grafting on the viscoelastic behavior of xanthan in aqueous media

The evolution of both storage (G') and loss (G'') moduli measured within the linear viscoelastic domain (LVED). Fig. 5 represents the corresponding evolution of G' , G'' moduli and $\tan \delta$ as a function of alkyl chain length and grafting rate.

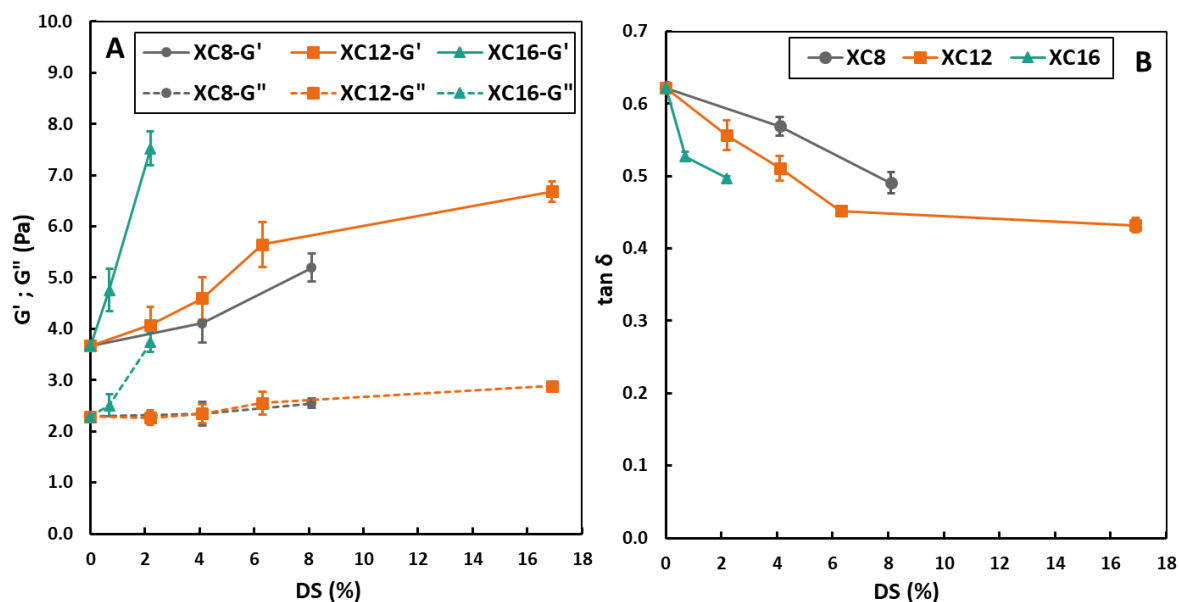


Fig. 5. Evolution of (A): G' (solid line); G'' (dash) and (B): $\tan \delta$ as a function of HMX DS for XC8, XC12 and XC16 at 0.5% w/w and 20 °C.

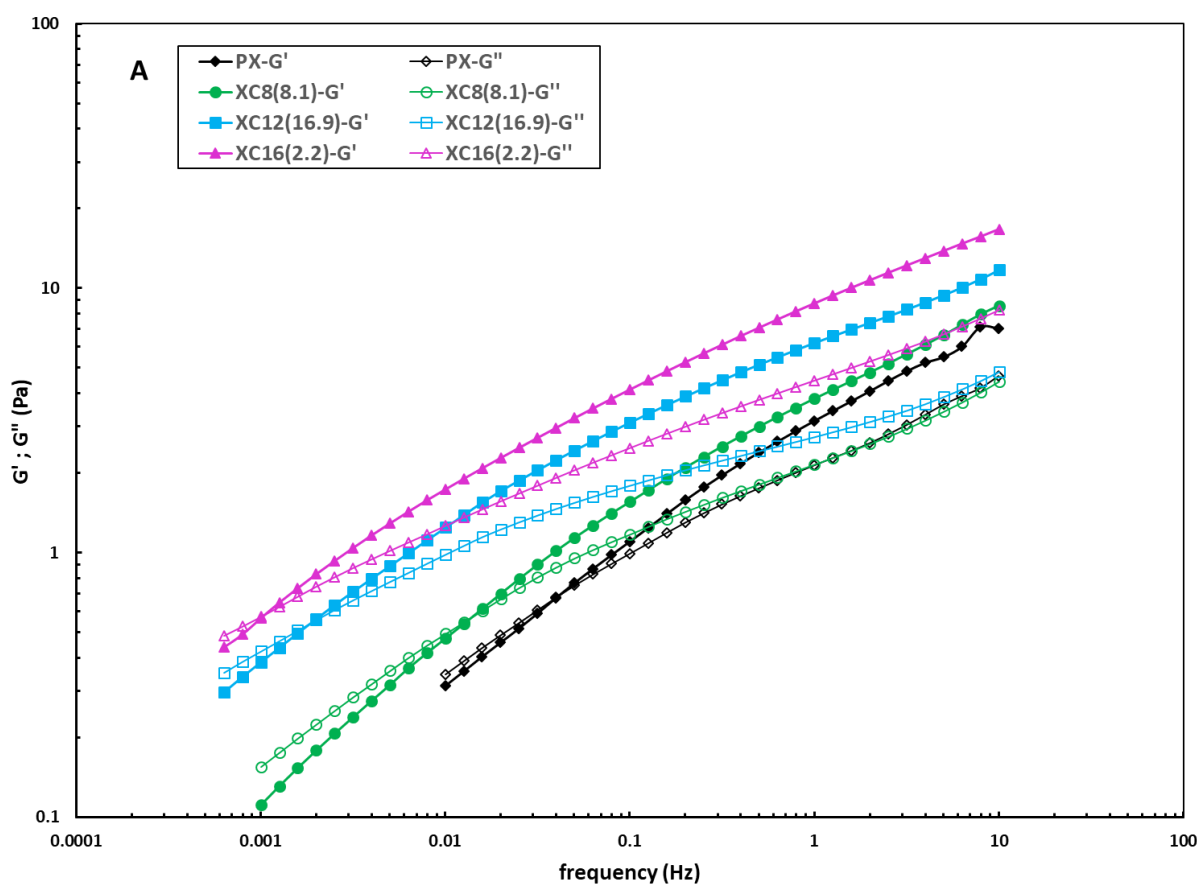
If considering the different viscoelastic parameters as plotted on Fig. 5, one can notice that grafting alkenyl chains improves viscoelastic properties which results in higher moduli and lower $\tan \delta$. Indeed, grafting alkyl moieties significantly affects the rheological behavior of the different xanthan grades in solution, with a marked evolution for both elastic modulus and $\tan \delta$ parameters. It is obvious that the higher the DS the highest become the G' and G'' and the lowest $\tan \delta$. Same effect is observed when considering the alkyl chain length.

Thus, grafting alkenyl chain improves viscoelastic properties of xanthan PX, especially while grafting long alkenyl chain (C16) and when increasing grafting density. Thus, following part of this paper aims to investigate the evolution of viscoelastic spectra for HMX in comparison with PX.

3.4.3. Effect of alkenyl grafting on frequency dependent viscoelastic behavior

Viscoelastic spectra giving the evolution of G' and G'' was measured as a function of the frequency for different HMX samples differing from both alkyl chain length and DS (Fig. 6).

First, when studying all xanthan derivatives including the highly modified ones from each series: XC8(8.1); XC12(16.9) and XC16(2.2), one can notice that all HMX derivative behave with the same viscoelastic behavior as the PX corresponding to viscoelastic fluids as evidenced by (1) sharp dependence of viscoelastic moduli and (2) access to G' - G'' cross-point within the range of classically accessible frequency studied (Fig. 6A). It is also interesting to note that G' - G'' frequency cross-point is markedly shifted to lower frequencies when compared to the PX while only a slight increase of viscoelastic moduli is observed with increasing the DS and grafted chain length. All these observations clearly evidence that alkenyl succinic moieties grafting does not drastically change the rheological properties and that xanthan derivatives keep a similar organization in solution as the PX within the frequencies range studied in the present work; this is consistent with previous observation by (Roy et al., 2014).



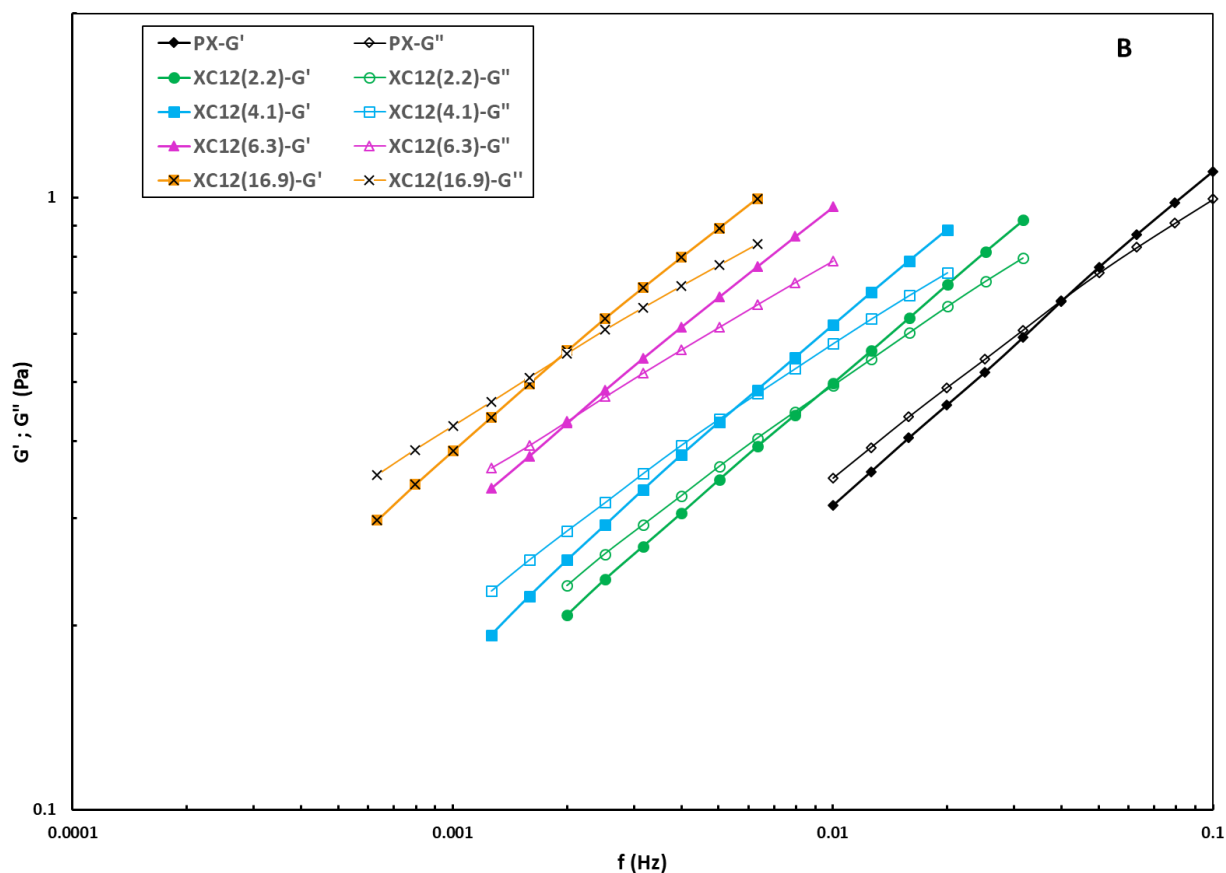


Fig. 6. Evolution of G' (filled symbols) and G'' (open symbols) as a function of the frequency for (A): highly modified (XC8, XC12 and XC16) and (B): XC12 at different DS at 0.5% w/w and 20 °C.

Fig. 6B presents the viscoelastic spectra for a series of XC12 owning DS varying from 2.2 to 16.9, in comparison with the PX. If comparing the relaxation frequency to PX, a shift of frequency cross-over (f_{CO}) to lower values is observed when DS increases. Thus, chains dynamics characterized by chains relaxation time ($t_R = 1/f_{CO}$) become slower.

The evolution of the corresponding relaxation time with the degree of succinylation for each series of HMX is presented in Fig. 7. HMX with high DS or long alkenyl chains own a pronounced slowing down of chains dynamics with a relaxation time much higher than the one for PX. This can be explained by the presence of intermolecular interactions between hydrophobic moieties leading to a different organization of chains within the semi-dilute or concentrated regimes (Fantou et al., 2017; Roy et al., 2014). Thus, getting higher DS or longer alkenyl chain, makes the relaxation slower as already mentioned by (Roy et al., 2014) when grafting octylamine on ordered xanthan chain.

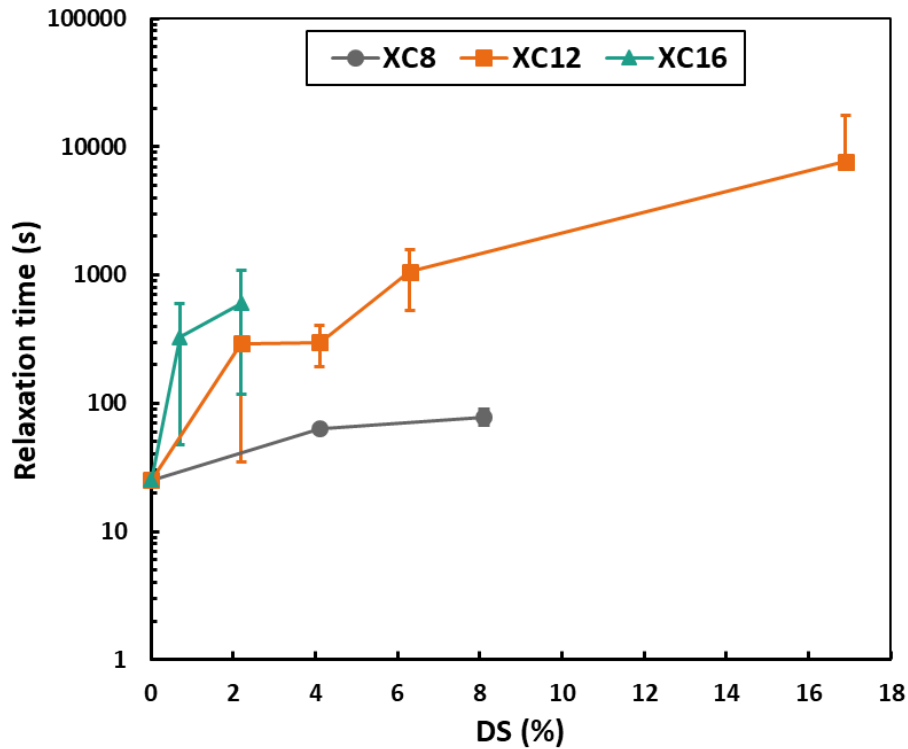


Fig. 7. Evolution of relaxation time ($t_R=1/f_{CO}$) as a function of HMX DS for XC8, XC12 and XC16.

3.4.4. Effect of alkenyl grafting on xanthan conformational transition temperature

T_m

Temperature dependence of the viscoelastic properties of xanthan is closely related to the order-to-disorder conformation transition of the polysaccharide, so-called the conformational transition temperature T_m (Capron et al., 1998). So, in order to check out the impact of the grafting on the stiffness and conformation transition of xanthan, G' and G'' were measured within the linear viscoelasticity domain as a function of the temperature, in the range below 80 °C, where no interchain dissociation appears (Milas & Rinaudo, 1986).

As illustrated by inset on Fig. 8 for a given HMX sample, one can notice first a constant storage modulus G' for lowest temperatures; then it slightly increases as a consequence of starting of the polysaccharide double helix destabilization; above a certain temperature (#35°C for this example), G' sharply decreases thus illustrating the conformation transition from semi-rigid double-helix conformation to single isolated flexible chain. Corresponding T_m was determined as corresponding to the minimum of $d\log(G')/dT$.

Fig. 8 indicates that T_m is slightly shifted to lower temperature for HMX when compared to PX, with a temperature decreasing from 52 °C (PX) to lower temperature when considering the different HMX, up to # 46°C for the highest DS.

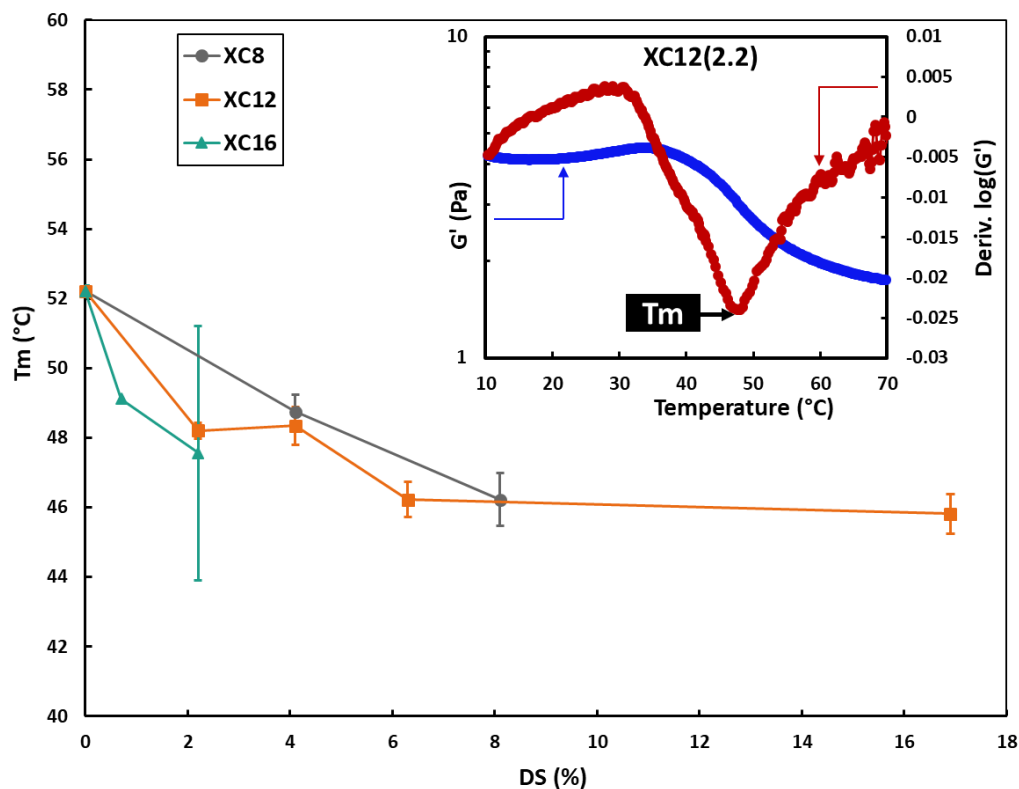


Fig. 8. Evolution of (T_m) as function of HMX DS for XC8, XC12 and XC16. Inset: Evolution of G' and derivative of $\log(G')$ as a function of the temperature for XC12(6.2) at 0.5% w/w and heating rate of 2 °C/min.

Such a decrease of T_m indicates that the conformation of modified xanthan is sparsely less ordered than PX. This can be attributed to the grafted alkenyl succinic groups onto the xanthan backbone, which weakens both the hydrogen bonds and the side chain-backbone interactions that initially stabilize the helix, thus leading to a faster dissociation of the end to end aggregates (Chen et al., 2020).

4. Conclusion

In this current work, several intrinsic properties of hydrophobically modified xanthan (HMX) in the dry powder state and in diluted and concentrated aqueous solution, have been investigated with the aim to better understand the effect of alkenyl moieties grafting onto xanthan on the polysaccharide properties. On the one hand, thermal decomposition profile of HMX compared to pristine xanthan (PX) allowed demonstrating that hydrophobic moieties lead to (1) slightly decrease the moisture content, (2) increase DTG maximum of the main decomposition peak and (3) decrease the decomposition rate at high temperature. Consequently, alkenyl moieties induce a higher thermal stability for the xanthan polymer. On the other hand, viscometric properties as measured within the dilute regime clearly evidenced (1) a decrease of the intrinsic viscosity and (2) aggregation tendency; corresponding evolution is marked as the grafting rate and the length of the carbon chain increases. Then, rheological studies in concentrated regime allowed highlighting particular behavior of HMX comparing to PX with an increase of the viscosity plateau at low shear and a decreasing of limit for the Newtonian plateau. In addition, all HMX rheological behaviors are characteristic of viscoelastic fluids with an increase of relaxation time of chains dynamics due to intermolecular interactions. The longer alkyl residue and the higher the DS the more pronounced effects. Finally, T_m determination allowed evidencing a slightly less ordered conformation for HMX backbone. From a general point of view, all the results obtained related to succinylated xanthan bring original knowledge for the effect of alkenyl grafting onto xanthan semi-rigid polysaccharide backbone; it therefore opens multiple potential applications for HMX such as emulsion stabilization which will be discussed in future paper.

Acknowledgments

Authors acknowledge the Region Normandie (Agreement 19E00776) and FEDER for grant and financial support.

Reference

- Abou Dib, M., Hucher, N., Gore, E., & Grisel, M. (2022). Original tools for xanthan hydrophobization in green media: Synthesis and characterization of surface activity. *Carbohydrate Polymers*, 291, 119548. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119548>
- Biswas, A., Cheng, H. N., Kim, S., Alves, C. R., & Furtado, R. F. (2020). Hydrophobic Modification of Cashew Gum with Alkenyl Succinic Anhydride. *Polymers*, 12(3), 514. <https://doi.org/10.3390/polym12030514>
- Blanksby, S. J., & Ellison, G. B. (2003). Bond Dissociation Energies of Organic Molecules. *Accounts of Chemical Research*, 36(4), 255–263. <https://doi.org/10.1021/ar020230d>
- Capron, I., Brigand, G., & Muller, G. (1998). Thermal denaturation and renaturation of a fermentation broth of xanthan: rheological consequences. *International Journal of Biological Macromolecules*, 23(3), 215–225. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(98\)00050-6](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00050-6)
- Chang, R., Yang, J., Ge, S., Zhao, M., Liang, C., Xiong, L., & Sun, Q. (2017). Synthesis and self-assembly of octenyl succinic anhydride modified short glucan chains based amphiphilic biopolymer: Micelles, ultrasmall micelles, vesicles, and lutein encapsulation/release. *Food Hydrocolloids*, 67, 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.12.023>
- Chen, H., Chen, F., Xiao, Q., Cai, M., Yang, Q., Weng, H., & Xiao, A. (2020). Structure and Physicochemical Properties of Amphiphilic Agar Modified with Octenyl Succinic Anhydride. *Carbohydrate Polymers*, 117031. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117031>
- Choppe, E., Paud, F., Nicolai, T., & Benyahia, L. (2010). Rheology of xanthan solutions as a function of temperature, concentration and ionic strength. *Carbohydrate Polymers*, 82(4), 1228–1235. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.056>
- Colinet, I., Dulong, V., Hamaide, T., Le Cerf, D., & Picton, L. (2009). New amphiphilic modified polysaccharides with original solution behaviour in salt media. *Carbohydrate Polymers*, 75(3), 454–462. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.08.002>
- Cuvelier, G., & Launay, B. (1986). Concentration regimes in xanthan gum solutions deduced from flow and viscoelastic properties. *Carbohydrate Polymers*, 6(5), 321–333. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(86\)90023-8](https://doi.org/10.1016/0144-8617(86)90023-8)

- Evans, M., Han, L., Ratcliffe, I., & Williams, P. A. (2016). Synthesis, Characterisation and Properties of Novel Biosurfactants Based on Hydrophobically-Modified Inulins. In *Gums and Stabilisers for the Food Industry 18* (pp. 123–134). <https://doi.org/10.1039/9781782623830-00123>
- Fantou, C., Comesse, S., Renou, F., & Grisel, M. (2019). Impact of backbone stiffness and hydrophobic chain length of modified xanthan on oil in water emulsion stabilization. *Carbohydrate Polymers*, *216*, 352–359. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.079>
- Fantou, C., Roy, A. N., Dé, E., Comesse, S., Grisel, M., & Renou, F. (2017). Chemical modification of xanthan in the ordered and disordered states: An open route for tuning the physico-chemical properties. *Carbohydrate Polymers*, *178*, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.039>
- Faria, S., de Oliveira Petkowicz, C. L., de Morais, S. A. L., Terrones, M. G. H., de Resende, M. M., de França, F. P., & Cardoso, V. L. (2011). Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth. *Carbohydrate Polymers*, *86*(2), 469–476. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.04.063>
- García-Ochoa, F., Santos, V. E., Casas, J. A., & Gómez, E. (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, *18*(7), 549–579. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(00\)00050-1](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00050-1)
- Hassler, R. A., & Doherty, D. H. (1990). Genetic Engineering of Polysaccharide Structure: Production of Variants of Xanthan Gum in *Xanthomonas campestris*. *Biotechnology Progress*, *6*(3), 182–187. <https://doi.org/10.1021/bp00003a003>
- Higiro, J., Herald, T. J., Alavi, S., & Bean, S. (2007). Rheological study of xanthan and locust bean gum interaction in dilute solution: Effect of salt. *Food Research International*, *40*(4), 435–447. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.02.002>
- Huggins, M. L. (1942). The Viscosity of Dilute Solutions of Long-Chain Molecules. IV. Dependence on Concentration. *Journal of the American Chemical Society*, *64*(11), 2716–2718. <https://doi.org/10.1021/ja01263a056>
- Jansson, P., Kenne, L., & Lindberg, B. (1975). Structure of the extracellular polysaccharide from *xanthomonas campestris*. *Carbohydrate Research*, *45*(1), 275–282. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)85885-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)85885-1)
- Kraemer, E. O. (1938). Molecular Weights of Celluloses and Cellulose Derivates. *Industrial & Engineering Chemistry*, *30*(10), 1200–1203. <https://doi.org/10.1021/ie50346a023>

- Lapasin, R., & Pricl, S. (1995). Rheology of polysaccharide systems. In R. Lapasin & S. Pricl (Eds.), *Rheology of Industrial Polysaccharides: Theory and Applications* (pp. 250–494). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2185-3_4
- Lecourtier, J., Chauveteau, G., & Muller, G. (1986). Salt-induced extension and dissociation of a native double-stranded xanthan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 8(5), 306–310. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(86\)90045-0](https://doi.org/10.1016/0141-8130(86)90045-0)
- Matsuda, Y., Biyajima, Y., & Sato, T. (2009). Thermal Denaturation, Renaturation, and Aggregation of a Double-Helical Polysaccharide Xanthan in Aqueous Solution. *Polymer Journal*, 41(7), 526–532. <https://doi.org/10.1295/polymj.PJ2008300>
- McMillan, D. E. (1974). Disturbance of Serum Viscosity in Diabetes Mellitus. *The Journal of Clinical Investigation*, 53(4), 1071–1079. <https://doi.org/10.1172/JCI107644>
- Mendes, A. C., Baran, E. T., Nunes, C., Coimbra, M. A., Azevedo, H. S., & Reis, R. L. (2011). Palmitoylation of xanthan polysaccharide for self-assembly microcapsule formation and encapsulation of cells in physiological conditions. *Soft Matter*, 7(20), 9647. <https://doi.org/10.1039/c1sm05594a>
- Milas, M., & Rinaudo, M. (1979). Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan. *Carbohydrate Research*, 76(1), 189–196. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(79\)80017-8](https://doi.org/10.1016/0008-6215(79)80017-8)
- Milas, M., & Rinaudo, M. (1986). Properties of xanthan gum in aqueous solutions: Role of the conformational transition. *Carbohydrate Research*, 158, 191–204. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(86\)84017-4](https://doi.org/10.1016/0008-6215(86)84017-4)
- Mitchell, J. R. (1979). Rheology of polysaccharide solutions and gels. *Proceedings*. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Rheology+of+polysaccharide+solutions+and+d+gels&author=Mitchell%2C+J.R.&publication_year=1979
- Quan, H., Hu, Y., Huang, Z., & Wenmeng, D. (2020). Preparation and property evaluation of a hydrophobically modified xanthan gum XG-C16. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 41(5), 656–666. <https://doi.org/10.1080/01932691.2019.1610425>
- Rotureau, E., Dellacherie, E., & Durand, A. (2006). Viscosity of aqueous solutions of polysaccharides and hydrophobically modified polysaccharides: Application of Fedors equation. *European Polymer Journal*, 42(5), 1086–1092. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2005.11.019>
- Rouzes, C., Durand, A., Leonard, M., & Dellacherie, E. (2002). Surface Activity and Emulsification Properties of Hydrophobically Modified Dextrans. *Journal of Colloid and Interface Science*, 253(1), 217–223. <https://doi.org/10.1006/jcis.2002.8357>

- Roy, A., Comesse, S., Grisel, M., Hucher, N., Souguir, Z., & Renou, F. (2014). Hydrophobically Modified Xanthan: An Amphiphilic but Not Associative Polymer. *Biomacromolecules*, *15*(4), 1160–1170. <https://doi.org/10.1021/bm4017034>
- Sara, H., Yahoum, M. M., Lefnaoui, S., Abdelkader, H., & Moulai-Mostefa, N. (2020). New alkylated xanthan gum as amphiphilic derivatives: Synthesis, physicochemical and rheological studies. *Journal of Molecular Structure*, *127768*. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127768>
- Simon, S., Dugast, J. Y., Le Cerf, D., Picton, L., & Muller, G. (2003). Amphiphilic polysaccharides. Evidence for a competition between intra and intermolecular associations in dilute system. *Polymer*, *44*(26), 7917–7924. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2003.10.054>
- Tanglertpaibul, T., & Rao, M. A. (1987). Intrinsic Viscosity of Tomato Serum as Affected by Methods of Determination and Methods of Processing Concentrates. *Journal of Food Science*, *52*(6), 1642–1645. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb05895.x>
- Venkateshaiah, A., Havlíček, K., Timmins, R. L., Röhr, M., Wacławek, S., Nguyen, N. H. A., Černík, M., Padil, V. V. T., & Agarwal, S. (2021). Alkenyl succinic anhydride modified tree-gum kondagogu: A bio-based material with potential for food packaging. *Carbohydrate Polymers*, *266*, 118126. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118126>
- Yu, J., Gou, S., Li, Q., Peng, C., Zhou, L., Liu, L., Tang, L., He, Y., & Duan, M. (2020). A graft-modification of chitosan with twin-tail hydrophobic association polymer for enhance oil recovery. *Chemical Physics Letters*, *138164*. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2020.138164>
- Zhang, L.-M. (2001). Cellulosic associative thickeners. *Carbohydrate Polymers*, *45*(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00276-9](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00276-9)
- Zohuriaan, M. J., & Shokrolahi, F. (2004). Thermal studies on natural and modified gums. *Polymer Testing*, *23*(5), 575–579. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2003.11.001>

En résumé

Dans cette partie de la thèse, les propriétés intrinsèques du xanthane hydrophobiquement modifié ont été déterminées à l'état de poudre sèche et en solution aqueuse diluée et concentrée afin d'évaluer et comprendre l'effet du greffage de groupements alkényles hydrophobes sur les propriétés du polysaccharide modifié.

Pour les xanthanes modifiés à l'état anhydre (poudre), la décomposition thermique a été déterminée par analyse thermogravimétrique et comparée par rapport celle du précurseur non modifié. Les résultats ont montré que les greffons hydrophobes engendrent une faible diminution de la teneur en humidité du polysaccharide ainsi qu'une augmentation de la température de la principale décomposition (correspondant à celle du pic de la dérivée DTG). Une baisse de la vitesse de décomposition à haute température a également été mise en évidence. Par conséquent, la stabilité thermique se trouve supérieure en présence des chaînes alkényles.

Concernant les propriétés des dérivés modifiés en solution, la caractérisation des propriétés viscosimétriques en régime dilué a mis en évidence une diminution de la viscosité intrinsèque et une tendance à l'agrégation qui sont davantage plus accentuées lorsque la densité greffage et la longueur des chaînes hydrophobes augmentent. Ensuite, des études rhéologiques en régime concentré ont montré par rapport au précurseur, un comportement particulier des dérivés se traduisant par une augmentation de la viscosité au plateau (à faible cisaillement) et une diminution de la limite de ce plateau newtonien. De plus, le greffage ne modifie pas le comportement de type fluide viscoélastique du polymère en solution, mais seule une augmentation du temps de relaxation de la dynamique des chaînes est obtenue en raison des interactions intermoléculaires surtout au niveau des dérivés à longues chaînes alkyles ou à densité de greffage élevée en chaînes modifiées.

Enfin, la détermination de température de transition conformationnelle T_m a montré une conformation légèrement moins stable du squelette semi-rigide du xanthane.

Les propriétés viscosimétriques et rhéologiques mises en évidence dans cette partie constituent avec les propriétés de surface explicitées dans le premier article, une ouverture devant l'application de dérivés amphiphiles de xanthane dans la stabilisation des interfaces.

Partie 3 : Caractérisation des propriétés émulsionnantes des xanthanes amphiphiles

Cette partie explicite le potentiel émulsifiant et stabilisant des dérivés amphiphiles de xanthane à travers une étude comparative permettant d'évaluer dans un premier temps la capacité émulsionnante en fonction des caractéristiques des xanthanes modifiés puis en fonction du temps les phénomènes de stabilisation/déstabilisation des émulsions contenant différents grades de dérivés de xanthane. Parmi les objectifs fixés, il s'agit ici nous seulement de constater le pouvoir stabilisant d'interface huile-eau du HMX, mais aussi de comprendre les mécanismes mis en jeu en fonction des caractéristiques structurales du polysaccharide amphiphile.

La comparaison entre les différentes émulsions nécessite l'utilisation d'un protocole d'émulsification efficace et reproductible. Nous nous sommes inspirés du protocole développé dans le cadre des travaux de thèse de Fantou et al. (Fantou, 2018) que nous avons optimisé pour des petites quantités de dispersion (20 g) stabilisée par le xanthane (voir chapitre 2 Partie 4).

Dans le but de valider le protocole d'émulsification par rapport aux dérivés de xanthane modifiés par voie verte ainsi que la mesure de la diffusion statique multiple de la lumière qui est une technique récemment utilisée au sein de notre laboratoire, nous avons dans un premier temps évalué la reproductibilité du process de préparation de l'émulsion pour différents grades de xanthanes modifiés. Ainsi pour chaque grade, deux voire trois dispersions de 20 g chacune ont été préparées exactement de la même manière et dans les mêmes durées, allant de la préparation des solutions aqueuses, l'homogénéisation au rotor stator, le dégazage sous vide, jusqu'à la mise en place du suivi de stabilité pendant plusieurs jours selon le même protocole d'analyse utilisant notamment le Turbiscan. À la lueur des résultats obtenus, la comparaison des profils de transmission et de rétrodiffusion entre les répétitions de chaque grade a permis de constater des évolutions très similaires. En complément de ces premiers constats, la variation de l'indice TSI® (Turbiscan® Index Stability, proposé par le concepteur de l'appareil) a été représentée en fonction de temps afin d'avoir une visibilité plus claire de la cinétique de déstabilisation des émulsions dès les premières minutes après l'émulsification. À titre d'illustration, la Figure 66 montre la cinétique de déstabilisation de trois essais d'émulsion contenant le même xanthane modifié. Des courbes parfaitement superposables peuvent être observées, comme c'est le cas aussi pour les quatre autres grades, ce qui valide la reproductibilité de tous les éléments du protocole qui seront utilisés pour l'étude comparative.

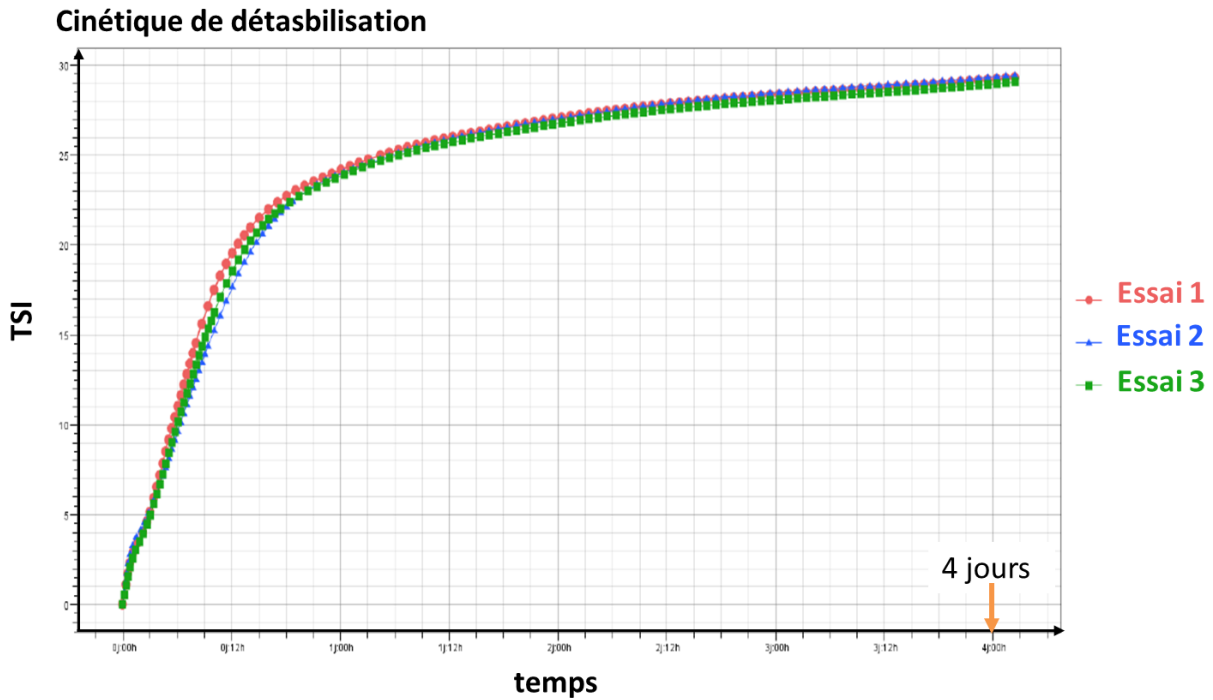


Figure 66 : Évolution de l'indice TSI en fonction du temps de trois répétitions d'émulsion contenant le même xanthane modifié.

Ensuite, l'étude de l'effet émulsionnant des dérivés amphiphiles s'articule autour de l'évaluation de l'effet des paramètres suivants :

- La longueur des chaînes alkyles (C8, C12 et C16)
- La densité de greffage (DS entre 2 et 16 %)
- La concentration en émulsion des xanthanes modifiés (0,2 et 0,5 % m/m)
- L'effet du mélange de xanthane modifié (0,2%) et xanthane natif (0,1%).

Quelques limitations expérimentales :

Concernant l'effet de la concentration, nous avons dans un premier temps envisagé de préparer des émulsions des concentrations en HMX allant jusqu'à 1% m/m pour étudier plus largement l'effet de la concentration. Cependant, les conditions strictes de contrôle des propriétés physicochimiques de la phase aqueuse que nous avons fixées, à savoir une force ionique contrôlée à 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ dans le protocole, nous ont imposé de limiter à 0,5% la concentration maximale en HMX pour la préparation d'émulsions.

Concernant l'ajout du xanthane natif, nous voulions au départ préparer une formulation de 0,2% de xanthane modifié avec 0,3 % du natif dans le but d'obtenir une concentration totale de 0,5% en polysaccharides. Les essais correspondants nous auraient permis de comparer à concentration égale une émulsion préparée qu'avec le polymère modifié à une autre combinant les deux formes.

Cependant, la solubilisation dans l'eau du mélange (0,3% natif + 0,2% modifié) s'est avérée difficile et incomplète, avec au final une texture très visqueuse demeurant hétérogène après 6h d'agitation. Confrontés à la nécessité de faire des choix du fait de la fin des travaux de thèse, nous avons choisi de baisser la concentration du xanthane natif de 0,3 à 0,1 % pour maintenir l'étude de l'effet du mélange dans le cadre de la thèse. Il va de soi que ce volet méritera incontestablement d'être approfondi.

Principaux résultats

Dans le but de poursuivre l'étude sur les propriétés fonctionnelles qu'ont pu acquérir les xanthanes hydrophobiquement modifiés (HMX), leur capacité d'émulsification a été évaluée dans des dispersions huile dans eau sans ajout de tensioactifs moléculaires conventionnels.

Dans un premier temps, une fois menées les observations et mesures physicochimiques initiales, après préparation des dispersions, des suivis macroscopiques et microscopiques au cours du temps des phénomènes de stabilisation/déstabilisation.

En premier lieu, nous avons pu établir de manière incontestable que tous les dérivés amphiphiles du xanthane étudiés possèdent des propriétés émulsifiantes permettant de stabiliser les interfaces eau-huile contrairement au xanthane natif, confirmant le caractère non-absorbant aux interfaces de ce dernier.

Les résultats à concentration de 0,2% m/m de certains grades de xanthane modifiés, notamment les XC8 et les XC12 ayant de faibles taux de greffage, ont montré une déstabilisation par crémage dans les premières heures après préparation du mélange, se traduisant par la formation de deux phases distinctes : une aqueuse inférieure et une émulsionnée supérieure, comme nous l'avons déjà expliqué dans le chapitre 2 partie 4 (voir Figure 67). Un suivi pendant plusieurs semaines confirme qu'aucune séparation totale n'est survenue avec une phase émulsionnée demeurant stable. De tels résultats prouvent le caractère stabilisant d'interface huile/eau des xanthanes amphiphiles étudiés. En complément, nous avons pu également constater dans la grande majorité des cas l'absence de relargage d'huile, confirmant la capacité émulsionnante des différents HMX dès lors que le taux de greffage s'avère suffisant.

Nous avons par la suite étudié l'impact de l'augmentation de la concentration en HMX dans le mélange d'une part, et de l'ajout de xanthane natif d'autre part, sur les caractéristiques des dispersions d'autre part. Le premier point a consisté à passer de 0,2 à 0,5% (m/m) en HMX tandis que le second volet a été envisagé en ajoutant 0,1% de xanthane natif (utilisé comme agent épaississant) lors de la préparation d'une dispersion contenant 0,2% de HMX.

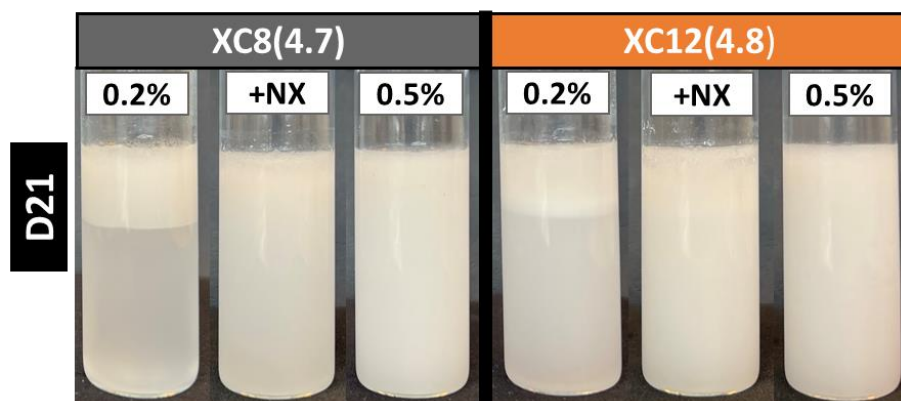


Figure 67 : Photos des émulsions contenant de XC8(4.7) ou XC12(4.8) 21 jours (D21) après préparation

Comme le montre la Figure 67, le crémage qui apparaissait pour une concentration de 0,2% n'est plus visible d'un point de vue macroscopique, pour une concentration plus élevée en HMX (C=0,5%) ou encore lorsque le natif est rajouté au HMX. En complément, une analyse au niveau microscopique de la distribution en taille a mis en évidence une bonne stabilité de la taille des gouttelettes de la phase émulsionnée (Figure 68, XC8(4.7)).

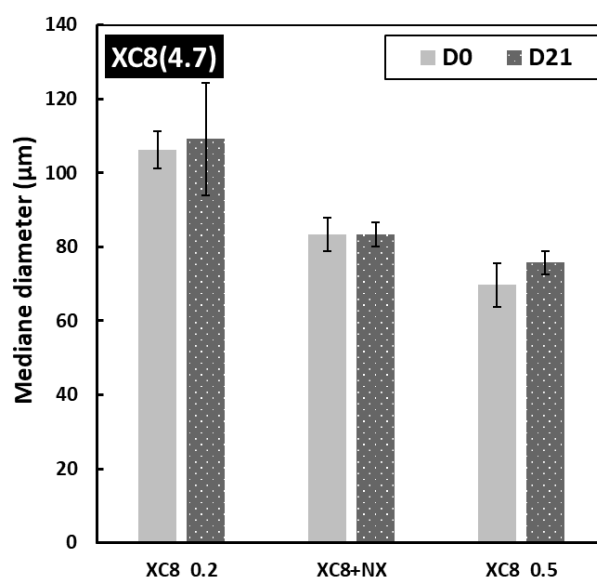


Figure 68 : Diamètre moyen à D0 et D21 de la phase émulsionnée des différents échantillons contenant du XC8(4.7)

En outre, la Figure 68 met clairement en évidence que l'utilisation d'une quantité plus importante de HMX ou l'ajout de xanthane natif à faible concentration induit la formation de gouttelettes plus fines ; ce résultat peut être interprété à la fois par la présence d'une quantité plus importante d'agent de surface et par la présence d'un épaississant de phase aqueuse qui limite les processus de déstabilisation classiquement observés tels que la floculation, la coalescence ou encore le mûrissement d'Ostwald. Enfin, il est possible de constater que le diamètre n'évolue quasiment pas après 21 jours dans les 3 cas, indiquant une bonne stabilité de la phase émulsionnée.

Bien que ces nouvelles émulsions paraissent plus stables à la lueur des constatations précédentes, nous avons souhaité approfondir ces premiers résultats par une étude du spectre de la rétrodiffusion (backscattering) en utilisant le Turbiscan™ ; cette technique, basée sur la diffusion statique multiple de la lumière SMLS (voir principe chapitre 2 partie 4), est précieuse pour suivre et élucider les différents phénomènes de déstabilisation qui peuvent avoir lieu au sein des échantillons au cours du temps.

Ainsi le profil de rétrodiffusion (R) du XC8_0.2 (Figure 69a) montre une baisse de R dans la phase aqueuse indiquant un éclaircissement de la phase alors que R augmente en phase émulsionnée devenant plus opaque par effet de migration des gouttelettes d'huile vers le haut du tube. Ces observations confirment le phénomène de crémage observé précédemment.

Le profil R de l'échantillon HMX/XN en (Figure 69b) montre les mêmes tendances que pour XC8_0.2, cependant le phénomène de crémage est ralenti sous l'effet d'une phase aqueuse plus visqueuse en présence du natif même à de faibles concentrations.

Un effet complètement différent est observé pour XC8_0.5 (Figure 69c) où les scans de rétrodiffusion sont quasi superposables révélant un milieu émulsionné et homogène sur toute la hauteur de l'échantillon. Ceci est dû à la présence d'une quantité plus élevée en chaînes amphiphiles disponibles pour stabiliser plus de gouttelettes et empêcher le crémage.

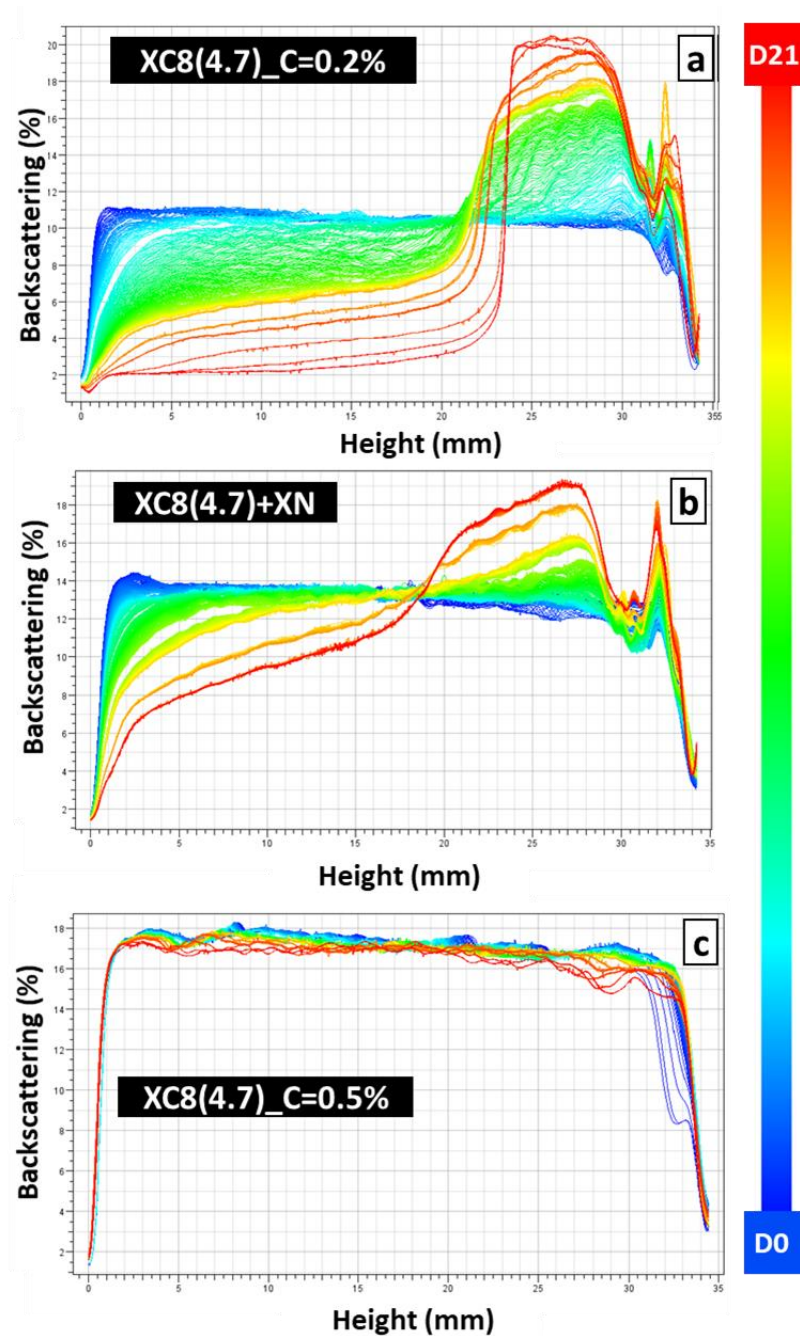


Figure 69 : Profils de rétrodiffusion sur 21 jours des émulsions contenant du C8(4.7)

Nous avons poursuivi cette étude pour d'autres grades de xanthane modifiés ayant soit des chaînes alkyles plus longues soit des densités de greffage plus élevées, en conservant la concentration du HMX à 0,2% en émulsion. La Figure 70a illustre le cas d'une émulsion ayant subi un crémage avec l'apparition d'une couche d'huile au-dessus de la phase émulsionnée. Ainsi, bien qu'il y ait des gouttelettes présentes en phase émulsionnée après 30 jours de suivi, le pouvoir émulsionnant du XC12(2.2) s'avère insuffisant pour stabiliser la totalité du mélange. En utilisant un HMX à DS plus élevé : XC12(16.9) (Figure 70b) ou encore pour une même DS un HMX de longue chaîne alkyle: XC16(2.2) (Figure 70c),

l'émulsion s'avère désormais entièrement stabilisée : apparence homogène, couleur blanche, gouttelettes plus fines, stabilité de la distribution en taille des gouttelettes pendant 1 mois d'étude, profil de rétrodiffusion constant avec des scans parfaitement superposables ainsi que des indices TSI plus bas révélant une cinétique de déstabilisation plus lente.

De tels résultats illustrent l'efficacité des différents grades de HMX à réduire la tension interfaciale Huile-Eau, à stabiliser l'interface entre les deux liquides ainsi qu'à inhiber les phénomènes de floculation sous l'effet, notamment des forces répulsives entre les gouttelettes d'huiles dues aux charges négatives accrues apportées par les groupements carboxyliques des greffons après ouverture de l'anhydride. L'étude a fait l'objet de la publication suivante, intitulée « **Promising potential of biosourced amphiphilic xanthan as an emulsifier in O/W dispersions** », qui a été soumise dans le journal *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*.

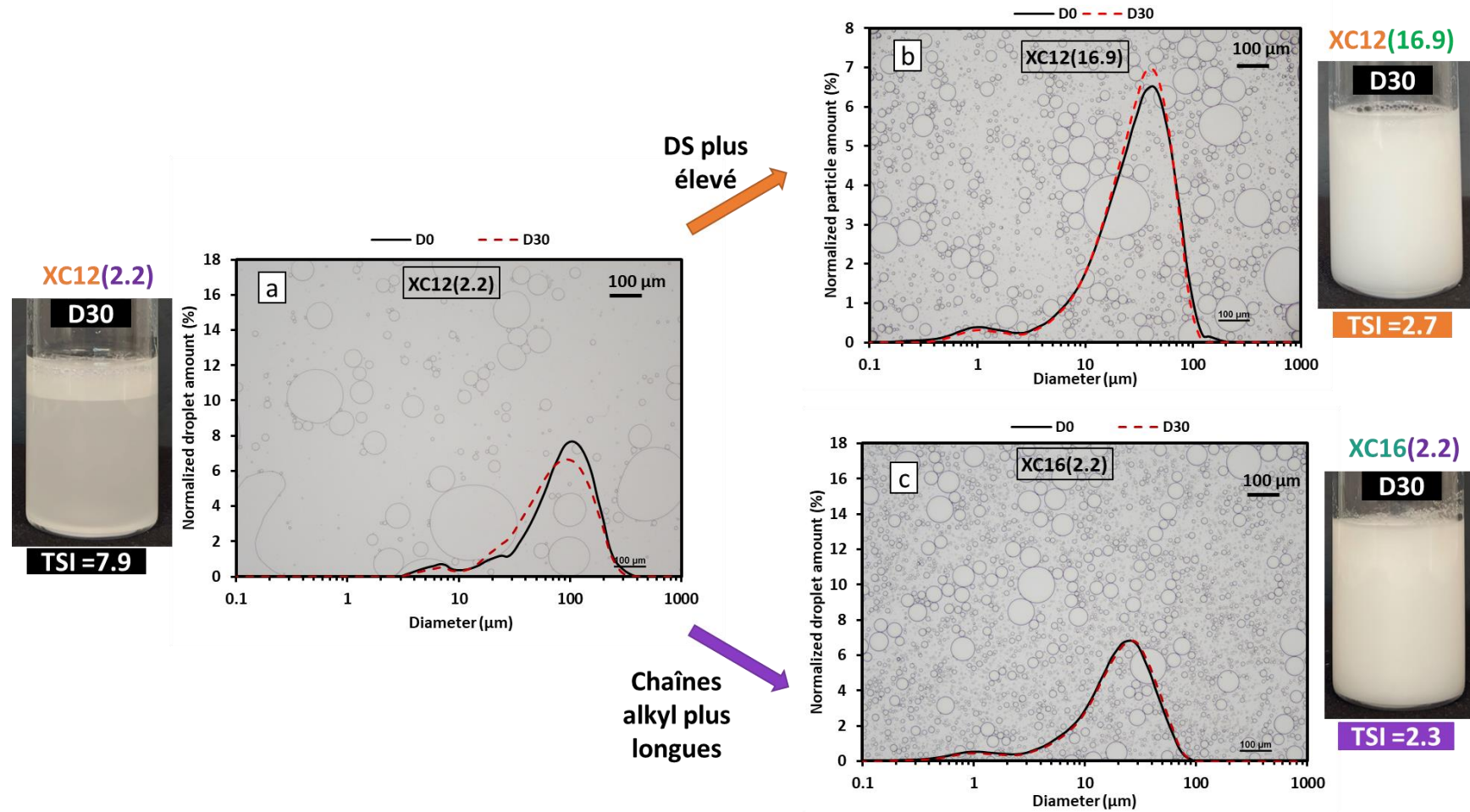
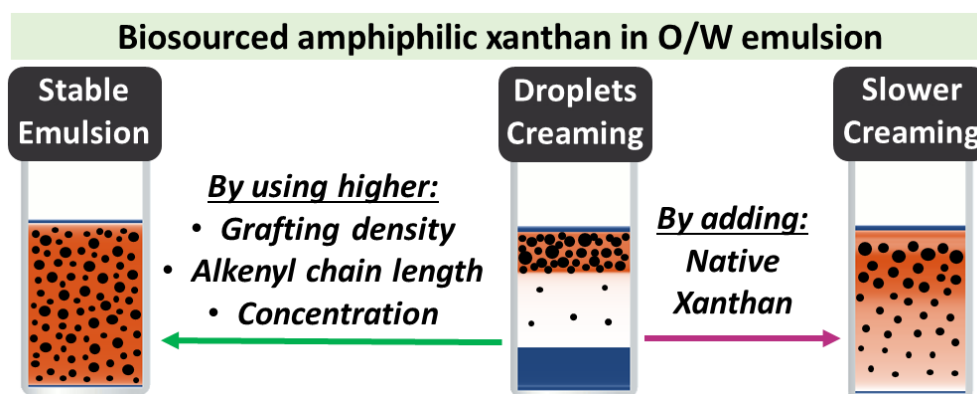


Figure 70 : Présentation des aspects macroscopiques (photos) et microscopiques (clichés de microscopie optique et distribution de la taille des gouttelettes obtenus par granulométrie) de différents HMX à 0,2% m/m en émulsion

Article 3: « Promising potential of biosourced amphiphilic xanthan as an emulsifier in O/W dispersions »

Mira Abou Dib*, Marie Lemarchand, Ecaterina Gore, Michel Grisel*

Normandie Univ, UNILEHAVRE, FR 3038 CNRS, URCOM, 25 rue Philippe Lebon, BP 1123, 76063 Le Havre cedex, France



Keywords: Amphiphilic xanthan, green modification, oil-in-water dispersion, stabilization, emulsification properties

Highlights

- Amphiphilic xanthan behaves interfacial properties while Pristine Xanthan does not
- Longer alkyl moieties provide high O/W emulsion stability
- Emulsification capacity is enhanced with increasing xanthan grafting density
- Increasing amphiphilic xanthan concentration improves the emulsions stability
- Creaming of emulsions is efficiently slowed down with combining native with amphiphilic xanthan

Abstract

The emulsification properties of hydrophobically modified xanthan (HMX) obtained through green esterification using alkenyl succinic anhydrides (ASA) as grafting agents were investigated by preparing oil-in-water emulsions without adding any surfactant, in order to better understand the stability phenomenon at the oil-water interface. This study demonstrated that new-brand biosourced HMX owns emulsifying potential compared to pristine xanthan, known for its poor interfacial properties as a non-absorbing polymer. A complete approach for studying the stability of the dispersions was carried out at different levels: a) macroscopic level: visual identification of stability, b) microscopic level: coupled optical microscopy and droplet size distribution and c) deep microstructure stability monitoring over time by Static Multiple Light Scattering. First, a series of HMX differing in alkenyl chain length and grafting density added at 0.2% w/w in emulsions were compared. Increased grafting density or hydrophobic chain length provided a highly stable and homogeneous emulsion over 30 days. In the case of less stable emulsions, two solutions are proposed: 1) increasing HMX concentration thus improving emulsifying properties, 2) adding native xanthan as a thickening agent, which slows down the creaming destabilization mechanism. This original article shows that the new-brand biosourced amphiphilic xanthan obtained under green modification synthesis behave promising and effective emulsifying capacities to stabilize oil-in-water emulsions, which offers a promising potential for industrial applications.

1. Introduction

Emulsions are widely used and developed in multiple industrial fields such as foods (Klojđová et al., 2019), cosmetics (Azeem et al., 2008), pharmaceuticals (Barkat Ali Khan, 2011) and agrochemicals (Trujillo-Cayado et al., 2017). They are thermodynamically unstable mixtures made of two or more immiscible liquids (Tadros, 2009); oil-in-water (O/W) emulsions consist of oil droplets dispersed in a continuous aqueous phase. Since the contact between oil and water is energetically unfavorable, O/W emulsions tend to undergo destabilization processes over time such as creaming, flocculation, coalescence and Ostwald ripening; thus, leading to the oiling off and the emulsion breaks up into phase separation (Robins, 2000; Sjöblom, 2006). However, it is possible to kinetically stabilize emulsions by adding additional components that can be: a) thickening agents such as polysaccharides that slow down droplets motion and breaking phenomenon thanks to their ability to increase viscosity of aqueous phase (Paraskevopoulou et al., 2005) and b) emulsifiers such as surfactants (Salager, 2002), solid particles (Chevalier & Bolzinger, 2013) or polymeric surfactants (Dickinson, 2003; Lu et al., 2017;

Rotureau et al., 2006). In fact, the emulsifier can adsorb at the oil-water interface providing a protective barrier that prevents or slows coalescence, ensuring long-term stability. Among polymeric surfactants, despite their high interest due to natural origin, there is only a limited number of polysaccharides naturally owning surface activity and emulsifying properties such as Arabic gum (Ray et al., 1995), talha gum (Underwood & Cheetham, 1994), mesquite gum (Vernon-Carter et al., 1998) and certain galactomannans such as guar, locust bean (Garti & Reichman, 1994; Wu et al., 2009), and fenugreek gum (Garti et al., 1997; Sav et al., 2013) which surface activity was attributed to the hydrophobic protein component that anchor strongly the oil-water interface, while the hydrophilic hydrocolloid chains form protective layer providing steric stabilization (Dickinson, 2003). Many other polysaccharides lack surface activity and do not exhibit adsorbent character so they cannot bring any interfaces stabilization. To deal with this poor interfacial properties of such hydrocolloid, multiple studies were developed on hydrophobically modification of polysaccharides based on the pioneering work of Landoll (Landoll, 1982) to endow them with interfacial properties. Among other polysaccharides, xanthan is well known for its outstanding viscosifying capacities that can lead to dispersions stabilization due to thickening effect of the continuous phase (Hennock et al., 1984). Nevertheless, its poor interfacial properties prevent it to long-term stabilize dispersions without adding conventional surfactants; however, these latter compounds own negative toxicological and environmental impacts (Liwarska-Bizukojc et al., 2005; Olkowska et al., 2011).

Recent literature studies have shown that ASA-modified polysaccharides have different potential applications mainly encapsulation, emulsification and stabilization (Bello-Pérez et al., 2015; Chen et al., 2015; Kokubun et al., 2018; Li & Zhu, 2021; H. Wang et al., 2014). In addition, one of them was approved as additive in food and medicine by the Food and Drug administration, it is the octenyl grafted starch (OSA-starch) (Plate et al., 2012).

In a previous work, a variety of amphiphilic xanthan derivatives were prepared via green esterification reaction between xanthan and a series of alkenyl succinic anhydride (ASA) as grafting agents (Abou Dib et al., 2022). The study allowed revealing optimized conditions to obtain high grafted xanthan with three different alkenyl chain length, namely octenyl, dodecenyl and hexadecenyl; it also highlighted the surface activity enhancement of the xanthan when grafted with long alkenyl chain or high rate of hydrophobic moieties.

The present work details the potential for amphiphilic xanthan derivatives to emulsify dispersions without adding any low molecular weight surfactant. The study first focuses on the effect of the grafting density and the grafted chain length on the potentiality to stabilize O/W emulsions. Then, the

impact of HMX concentration as well as its synergy with native xanthan is described. Properties of all emulsions was evaluated and compared over time in order to understand the phenomenon governing the emulsions stability.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Xanthan gum sample was kindly given by Cargill (France) and characterized in terms of moisture content (11.3% w/w), protein content (0.95% w/w) and substitution degrees of acetate and pyruvate per monomeric unit, 0.56 and 0.59 respectively (Abou Dib et al., 2022). Hydrochloric acid (HCl) was purchased from Fisher Scientific (USA), sodium chloride (NaCl) from Carlo Erba and sodium azide (NaN_3) used as preservative against bacteria growth was from Sigma Aldrich (USA). Ultra-pure water (16.8 M Ω .cm resistivity) was used as solvent for all preparations. For emulsion preparation, isononyl isononanoate (ININ) was used as oil phase with a density of 0.856 g/cm³, it was kindly offered by Stéarinerie Dubois (France). All chemical reagents were analytical grades.

2.2. Synthesis of hydrophobically modified xanthan

Hydrophobically modified xanthan HMX samples were obtained via a succinylation reaction of xanthan using 2-Octen-1-ylsuccinic anhydride (OSA), (2-Dodecen-1-yl) succinic anhydride (DDSA) or Hexadecenyl succinic anhydride (HDSA) based on a procedure according to (Abou Dib et al., 2022).

As fully described in a previous study, reaction optimization was performed for each HMX derivatives (C8, C12 and C16) by varying either the reaction pH range, the reaction time and the grafting reagents molar excess thus allowing accurate control of degree of succinylation (DS) up to 16%, as determined by ¹H NMR analysis (Abou Dib et al., 2022). All HMX used in this study remained fully water soluble thus allowing pouring back in water. Resulting HMX were noted as XC8, XC12 and XC16 for octenyl-grafted, dodecenyl-grafted and hexadecenyl-grafted xanthan, respectively, followed by their DS value. As an example, a xanthan modified by OSA with a DS of 4.1 % will be noted as XC8(4.1). Pristine xanthan (PX) refers to samples subjected to the same treatment apart from adding OSA, DDSA or HDSA. Native xanthan (NX) represents the xanthan commercial batch.

2.3. Protocol for O/W emulsion preparation

Emulsions preparation was adapted from the optimized protocol previously developed in our laboratory for preparing small emulsions quantities with efficient and reliable procedure (Fantou et

al., 2019). Thereby, it was possible to prepare in a controlled and perfectly reproducible manner 20 g of O/W emulsion containing of 20 % (w/w) of oil phase (w/w) dispersed in 80 % (w/w) of aqueous phase. The mass composition of the emulsions is detailed in Table 1.

For the aqueous phase, xanthan (native, pristine or modified) was first dissolved at concentration ranging from 0.25 % to 0.625 % w/w in ultrapure water under magnetic stirring at room temperature overnight. Afterwards, sodium azide NaN_3 used as preservative is added at 300 ppm in the solution to avoid any bacterial contamination. Then, the pH was adjusted to 4.3 by adding 0.1 M HCl and the ionic strength to 1 mS/cm with NaCl(s) .

Then, the fatty phase solely consisting of ININ oil was gently poured into the aqueous phase. The two immiscible phases were heated in a water bath at 30°C in order to fully control the temperature of the dispersion process. Once 30°C was reached, the mixture was homogenized for 3 minutes at 20 000 RPM using a T25 digital Ultra-Turrax (IKA, Germany) equipped with the dispersion head S25N-10G. Resulting dispersion was then immediately degassed under vacuum in order to eliminate the air incorporated during the homogenization process prior to any analysis.

Each dispersion was prepared in duplicate in order to verify the protocol control and reliability, and also to get sufficient dispersion quantity to allow performing a series of physicochemical characterizations and complementary studies.

Table 1: Composition of the formulation

Product	Content % (w/w)	Phase
Isononyl isononanoate ININ	20	Oil
Xanthan (NX, PX or HMX)	0.2 to 0.5	Aqueous
Preservative NaN_3	0.025	
Ultrapure water	QS	

2.4. Methods for the characterization of dispersions

On the one hand, a study based on visual macroscopic identification of stability/separation followed by the microstructure observation and analysis of both droplet size and distribution in every identified zone was assessed over the whole period of aging. From a general point of view, emulsions carried out with xanthan derivatives generally showed macroscopic phase separation into two phases: an aqueous lower phase and an emulsified upper phase. In some cases, mixtures showed a third upper phase consisting of non-emulsified supernatant oil.

On the other hand, an optical automated study of the entire volume of a dispersion was considered by analyzing the percentage of transmitted and backscattered light through the dispersion as obtained by Static Multiple Light Scattering measurement. Such an experimental approach allowed monitoring and then understanding the different destabilization phenomenon involved in emulsions aging, namely creaming, flocculation and coalescence, thus being complementary from visual and microscopic observations of the dispersions.

Characterizations was made directly after emulsification (D0) then over time (up to 30 days). The designation D(i) will be applied referring to (i) the day of the characterizations. Only selected days are shown in this article. Samples were stored at 20 °C for the entire duration of the study.

2.4.1. Macroscopic observations

The macroscopic aspect of the emulsions was followed by digital photographs just after formulation and over time. Thus, it is possible to evaluate the emulsifying capacity of HMX and to detect the macroscopic destabilization phenomena during aging.

2.4.2. Optical microscopy

Emulsion microstructure was observed, at room temperature with an optical microscope at a magnification ranging from x100 up to x400 (ECLIPSE Ni-U NIKON, Japan) equipped with a camera DS-Fi3 (5.9 megapixels CMOS image sensor). The NIS-Elements L imaging software was used to analyze the photomicrograph.

2.4.3. Droplets size distribution

Emulsion droplets size was measured by static light scattering using a laser diffraction particle size analyzer SALD-7500 nano (Shimadzu, Japan) equipped with a violet semi-conductor laser (405 nm) and a reverse Fourier optical system. In order to study destabilization phenomena, a volume of approximately 5 μ L taken from the center of each of zone described above (upper and lower) was diluted in ultrapure water prior to measurement in order to achieve absorption parameter within the interval between 0.16 and 0.20. Sample was homogenized in the measuring batch cell (7 mL) using mechanical stirring. Three repetitions were performed for each measurement using Fraunhofer's theory. Data were analyzed using software Wing SALD II. Characterizations of the upper part of the sample lead to a study of emulsion droplets size evolution during aging. However, characterizations of the lower part were only used to confirm that less droplets remain in this separated phase.

2.4.4. Stability of the dispersion by Static Multiple Light Scattering technique (SMLS)

The stability of O/W emulsions is also characterized by the backscattering (BS) and transmission (T) of a pulsed near infrared light (880 nm) by Turbiscan™ Tower (Formulation, France) which is a technique based on multiple light scattering. The basic principle for such an apparatus is as follows: standardized glass tube containing the sample is locally illuminated by infrared light moving on the entire sample height from the bottom to the top of the volume; two synchronous optical sensors respectively receive: on the one hand the light transmitted through the dispersion at 180° angle from the incident light (T detector), and, on the other hand, light scattered backward by the dispersion at 45° from the incident radiation (BS detector) (Fig. 1a). Both the collected T and BS data allow the detection of the migration phenomena of droplets and their size changing in dispersion revealing the presence of the different types of destabilization processes currently corresponding to droplets flocculation, coalescence, creaming and/or sedimentation which lead to a phase separation (Chauvierre et al., 2004). In general, transmission is used to analyze clear to turbid dispersions and backscattering to analyze opaque and concentrated dispersions.

The BS profile (vertical view) in Fig. 1b shows an increase of BS in the low concentrated zone of the sample while a decreasing of BS indicating clarification corresponds to the top diluted zone. Such behaviors are proper to the sedimentation of droplets. The T profile might show opposite variation in each zone of the same sample (profile not shown to ensure clarity).

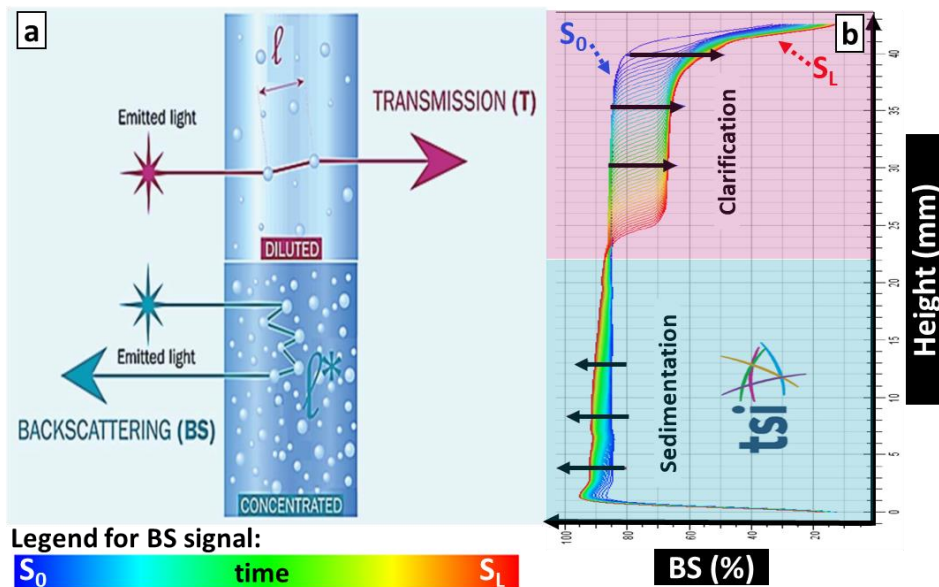


Fig. 1. a) Work principle of SMLS-TURBISCAN™ Tower: glass tube containing dispersion with b) backscattering profile (vertical view) showing sedimentation phenomena, adapted from (Formulation, 2020; Lu et al., 2017)

Both the transmitted (T) and backscattered (BS) flux are related to the photon mean path length λ and mean free path λ^* , respectively, as follows (Formulation, 2020; Mengual et al., 1999):

$$T = T_0 e^{-\frac{2r_i}{\lambda}} \quad (1)$$

$$\lambda(d, \phi) = \frac{2d}{3\phi Q_s} \quad (2)$$

$$BS = \frac{1}{\sqrt{\lambda^*}} \quad (3)$$

$$\lambda^*(d, \phi) = \frac{\lambda}{1-g} = \frac{2d}{3\phi(1-g)Q_s} \quad (4)$$

Where:

- r_i is the internal radius of the measurement cell;
- T_0 is the transmittance of the continuous phase;
- d and ϕ are the mean diameter and the volume fraction of droplets, respectively;
- g is the asymmetry factor and Q_s corresponds to the scattering efficiency factor (both are optical parameters given by the Mie theory).

Immediately after dispersion preparation, standardized measuring cylindrical glass cells was filled with 15 g samples to be analyzed at 20 °C. The entire height of the studied samples was scanned over time (D0 to D30). Results were registered by TowerSoft (version 2.0.0.9). Both the transmitted and backscattered profiles along the height of the cell were collected as raw data.

Emulsion stability can be estimated using the Turbiscan Stability Index (TSI) as proposed by the software. TSI compares each scan (i) to the previous one ($i - 1$) at a selected height (h), thus dividing the result by the total height (H) as indicated below (Formulation, 2020; Luo et al., 2017):

$$TSI = \sum_i \frac{\sum_h |Scan_i(h) - Scan_{i-1}(h)|}{H} \quad (4)$$

Thus, TSI index gives access to the kinetic of the destabilization; it was conceived to simplify the comparison between samples. Therefore, the lower the TSI value at a particular time, the more stable is the dispersion.

Among other advantages when compared to other optical methods currently used (including some used in the present paper), SMLS technique is a non-destructive method (no sampling or dilution), it detects destabilization phenomenon at a very early stage allowing to shorten aging tests and it

provides together the identification of particle migration (creaming, sedimentation) and variation size variation or aggregation (flocculation, coalescence) (Mengual et al., 1999).

3. Results and discussion

3.1. Evaluation of the emulsifying capacity

First, preliminary experiments using 0.2% of pristine xanthan in the O/W mixture demonstrated as expected that no emulsion stabilization was obtained, thus leading to a spontaneous phase separation. In fact, no droplets were detected by microscopic analysis immediately after the preparation process. This result is similar to that also obtained with native xanthan confirming that xanthan behaves as a non-absorbing polysaccharide due to poor interfacial properties (Cao et al., 1990; Gunning et al., 1988). However, when replacing PX by XC8(4.1), a low grafted xanthan modified with a short alkenyl chain, one can notice that emulsion was formed on the entire height of the mixture, showing large droplets as evidenced by optical microscopy image as illustrated by Fig. 2. Indeed, at D0 the emulsion looks white and homogeneous from a macroscopic point of view with almost all the fatty phase dispersed in the aqueous phase. However, a thin supernatant layer of oil was rapidly observed indicating insufficient emulsifying capacity of this HMX sample at the studied concentration (0.2%). The study of the system after 24 h showed obvious phase separation with mainly two distinct phases: an upper white one for roughly $\frac{1}{3}$ of the mixture height and a lower turbid one with $\frac{2}{3}$ of the height (images not shown). After one month, one can see that the two phases remained present with almost the same phases proportions as observed after 1 day, thus indicating good creaming stability during storage (Fig. 2). The microstructural monitoring of both phases from D0 to D30 showed that no droplets remain in the lower phase, corresponding to the aqueous one; on the contrary within the upper emulsified phase, oil droplets of heterogeneous size still remained dispersed.

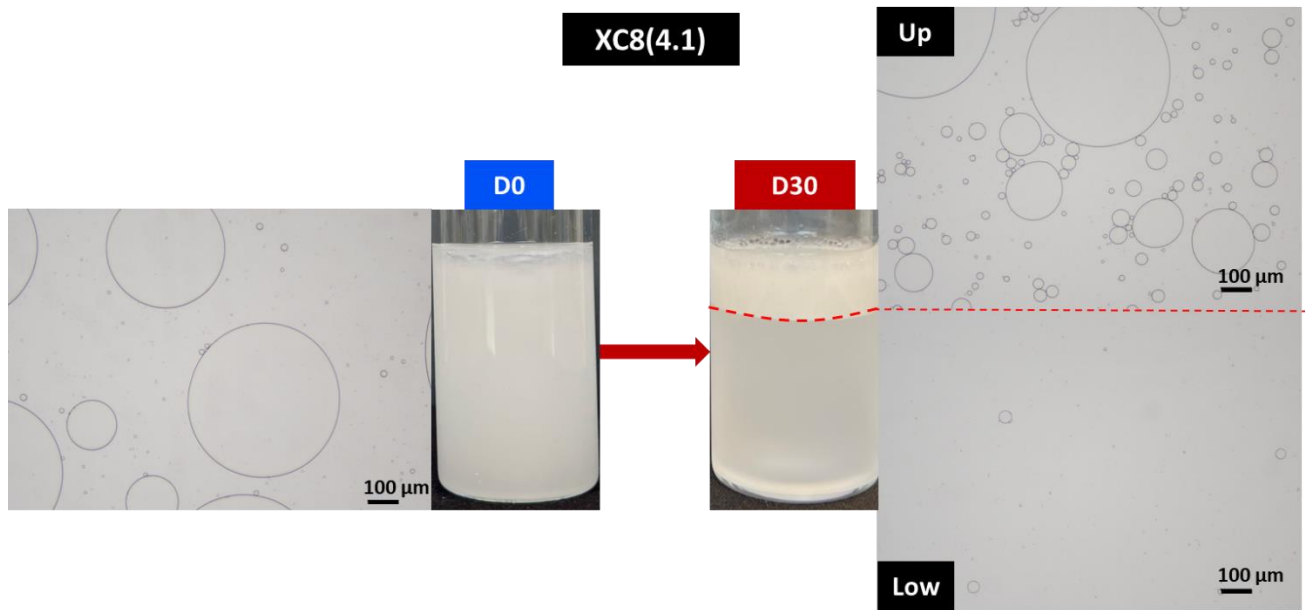


Fig. 2. Photographs and optical microscopy images of emulsion at 0.2% w/w XC8(4.1) at D0 and D30

One can also note that when compared to the microscopic image at D0, the one at D30 showed a higher number of smaller droplets which was confirmed by a decrease of the mean diameter determined by static light scattering measurements performed for the emulsified phase over time (Fig. 3a). This may simply result from the migration of droplets from the bottom to the top corresponding to the presence of creaming phenomenon.

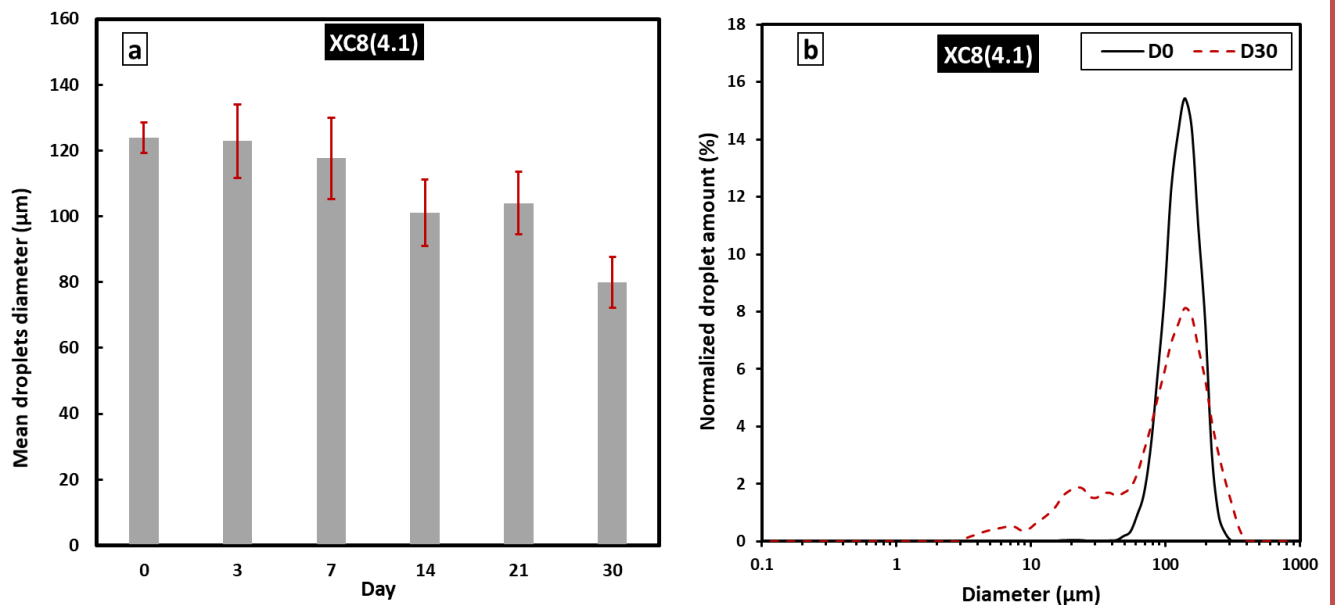


Fig. 3. Evolution of: a) mean droplets diameter of the emulsified phase at different times after preparation, b) droplets size distribution at D0 and D30; for emulsion at 0.2% w/w XC8(4.1)

In order to better understand the microstructure destabilization, it was necessary to analyze the entire graphs of droplets size distribution of the emulsified phase. As presented in Fig. 3b, the size distribution of the emulsified phase, monomodal monodisperse at D0, shows a polydisperse distribution, with smaller droplets emerging during aging. This can be explained by two simultaneous mechanisms: 1) the flocculation of the droplets as a consequence of spontaneous instability (i.e. insufficient number of HMX absorbing chains present at the oil-water interface and lack of electrostatic repulsions between the droplets) and 2) the creaming from the bottom to the top with gravitational migration of almost all droplets including the smaller ones, into a restricted volume ($\frac{1}{3}$ of the height) corresponding to the oil concentrated phase. Nevertheless, the resulting heterogeneous distribution of stabilized droplet as evidenced through granulometric measurements clearly confirms the microscopic visualization.

All these observations allow drawing hypothesis on the destabilization phenomenon that could have occurred in the system. However, the need for more precise method remains essential to check the interpretations. To this purpose, Turbiscan™ tower was used to allow a monitoring over short periods (until 1 scan every 2 minutes) of the entire XC8(4.1) dispersion height; resulting backscattering and transmission signals are presented in Fig. 4. Analyzing both BS and T profiles at D0 (first blue curve) showed constant value of BS and no transmission percentage over 30.5 mm height thus indicating mainly homogeneous distribution of the emulsion. Then for the upper 2.5 mm, a decrease of BS and an increase of T were observed, revealing a clarification due to the supernatant oil phase; these results allow confirming the interpretation described above based on visual observation. Afterwards the monitoring over 1 month allows the identification of two principle behaviors: first, a decrease of BS (up to 2%) together with an increase of T below 24.5 mm height indicating a clarification of the lower aqueous phase; simultaneously, an increase of BS with no transmission indicating an opacification of the upper emulsified phase (24.5-30.5 mm). Both simultaneous phenomena clearly allow demonstrating the progressive occurrence of creaming destabilization mechanism. Concerning, the thin upper zone [30.5-33 mm], so-called supernatant oil phase, it would be difficult to delimit it precisely because it is located between the emulsified active phase and the meniscus.

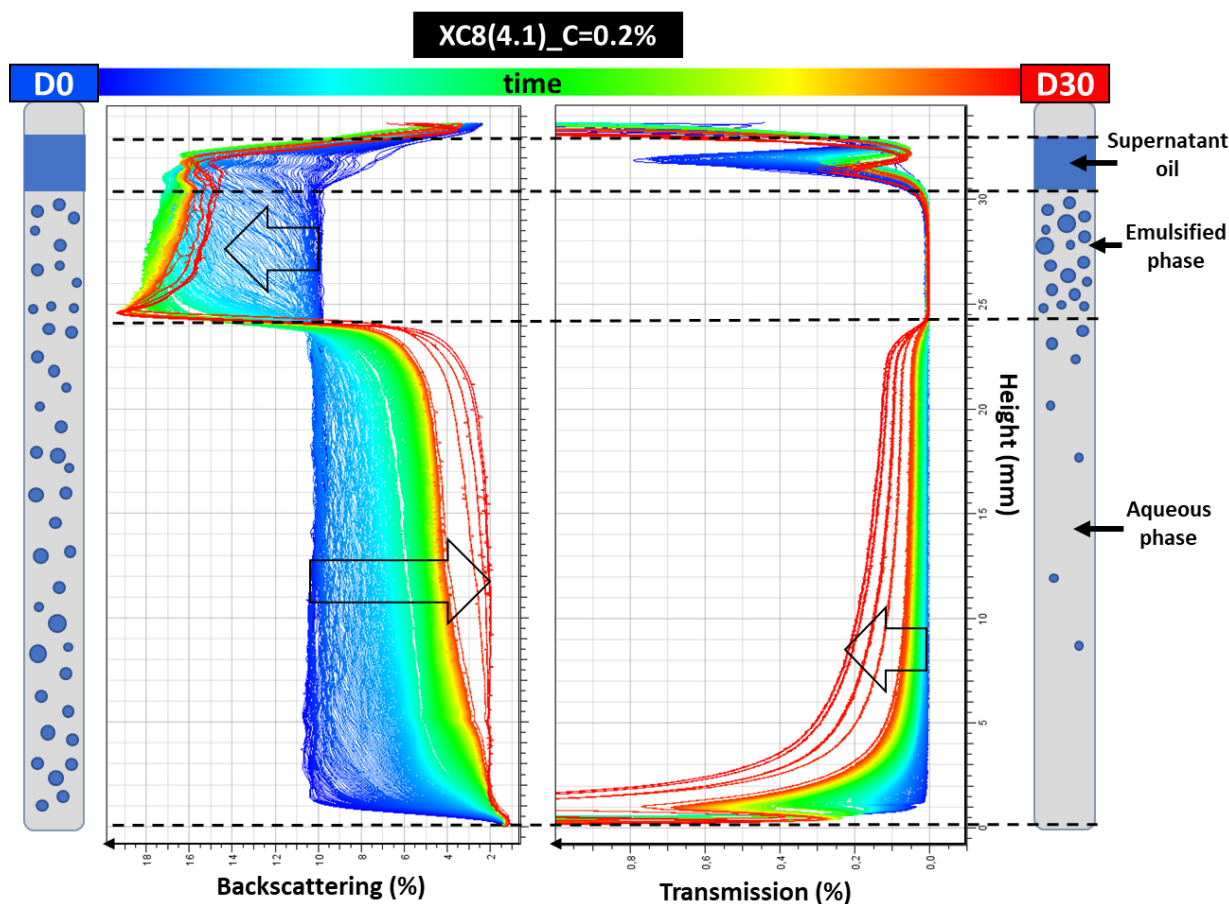


Fig. 4. Raw backscattering and transmission data obtained by following the evolution with time of the destabilization of the emulsion formed with XC8(4.1) at 0.2% w/w. The sample was scanned over 30 days with different scan periods

In this first section, the emulsifying capacity of a single HMX sample was evidenced and the destabilization phenomenon governing the evolution of the dispersion over time was analyzed and interpreted. In fact, the interface stabilizing character of this specific HMX owning low DS (4.1%) of short alkyl residues (octyl) remains insufficient in the tested conditions (polymer concentration of 0.2% w/w) to get full stabilization of the dispersion. So, next sections will aim studying the impact of each parameter, namely DS, alkyl chain length and polymer concentration, on improving the emulsifying potential.

3.2. Impact of DS and alkenyl chain length on emulsifying capacity

In this part, all emulsions were prepared using HMX at 0.2% (w/w) with varying both DS and alkenyl residue. In these conditions all emulsions appeared white and homogeneous upon preparation procedure. Both macroscopic and microstructure aspects were determined and monitored over 30

days in order to investigate the ability for HMX to get long-term stability emulsion in thus allowing comparing all systems together.

Only photographs corresponding to D30 for all mixtures were presented and compared in order to visualize the corresponding macroscopic stability over 1 month (Fig. 5). One can notice for XC8 that using HMX owning a higher DS (6.2% rather than 4.1%) do not significantly improve its emulsifying capacity. Nevertheless, using XC12 instead of XC8 with keeping constant DS (6.2-6.3%) clearly allows reaching much higher stability as the entire volume of the dispersion appears emulsified from a macroscopic point of view. Same observation was obtained with XC12(16.9) (results are not shown to keep clarity). However, it is striking that, below a certain DS, XC12 does not bring sufficient emulsifying potential to stabilize the entire system in the studied conditions ($C=0.2\%$), as illustrated for XC12(2.2) in Fig. 5. Finally, utilizing HMX grafted with long alkenyl chains (C16), although the grafting density is low ($DS = 2.2\%$), allows obtaining a macroscopically stable emulsion.

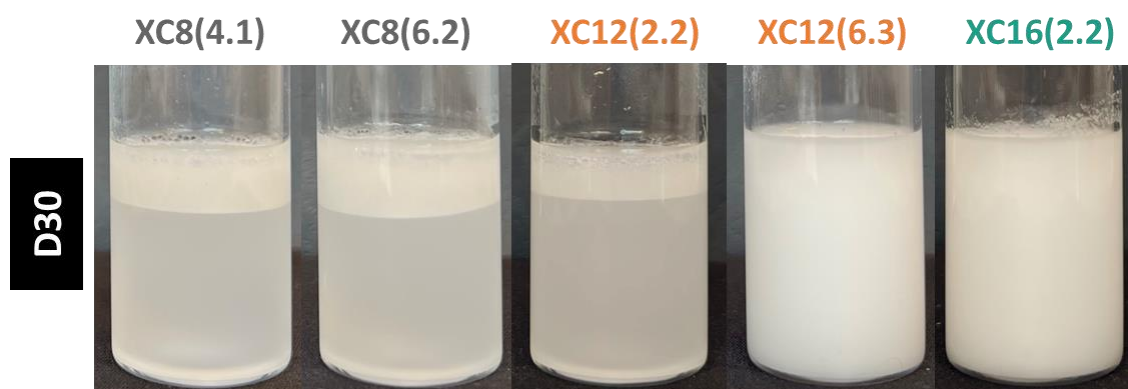


Fig. 5. Photographs of emulsions at 0.2% w/w of HMX with different alkenyl chain length and grafting densities

It is obvious that macroscopic observations cannot be sufficient for understanding and interpreting the mechanisms responsible for emulsions stability with varying HMX structure. Thus, the same methods for investigation as the one used for section 1 of this paper were envisaged in order to allow accurate interpretations on the basis of microstructure considerations. Indeed, Fig. 6 gives the optical micrographs of emulsified phase at D30 superimposed with the droplet size distribution graphs for the series of emulsions at different aging stages, D0 and D30 respectively.

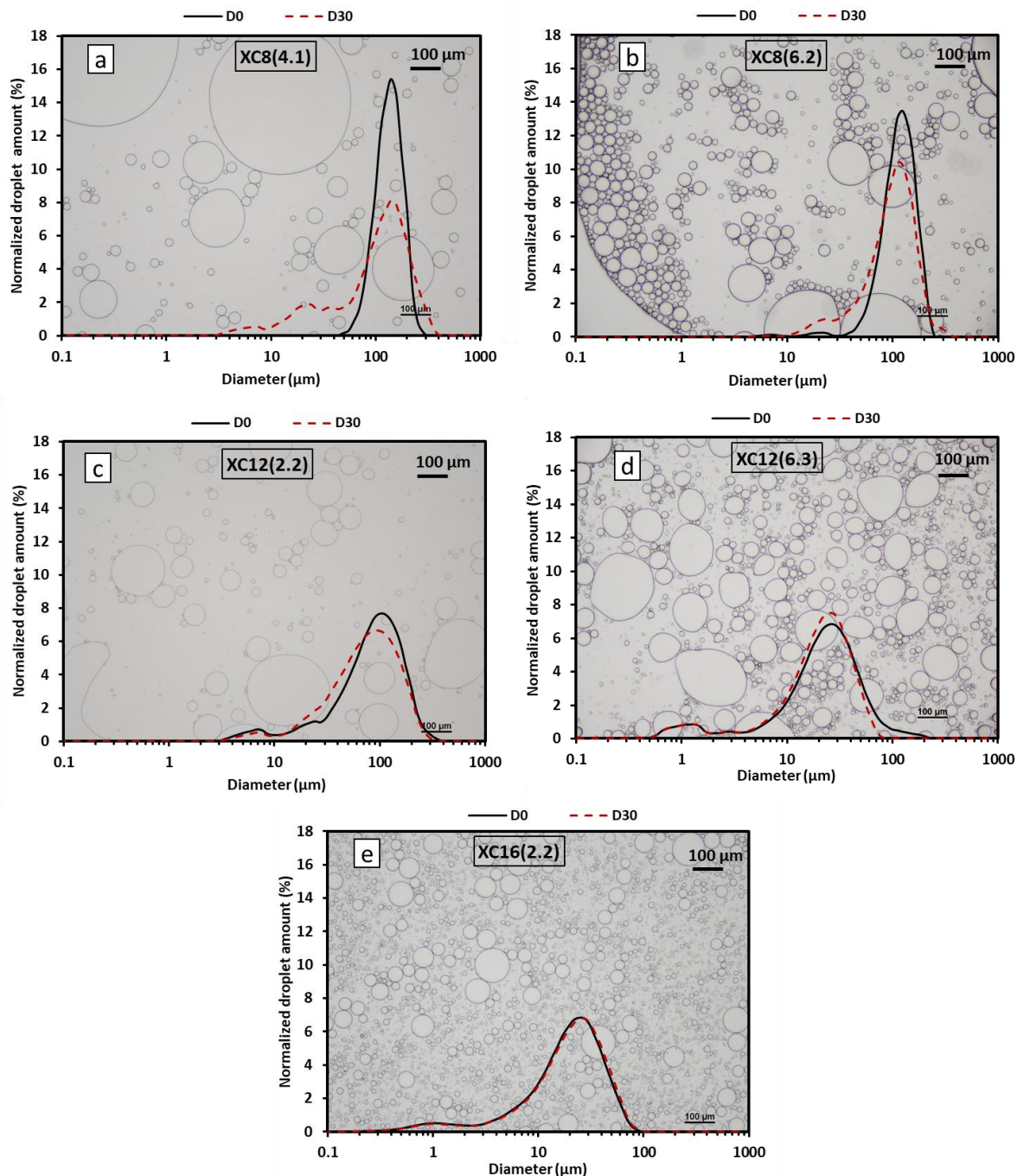


Fig. 6. Optical microscopy image at D30 and droplet size distribution at D0 and D30 of the emulsified phase of dispersion at 0.2% w/w of different HMX

Comparing microphotographs shows that all samples present droplets in the emulsified phase 30 days after the dispersion preparation, thus confirm that HMX own emulsifying properties whatever the alkenyl chain length and DS. Then, one can notice that the higher the DS (> 6%) or the longer the alkenyl chain length (C16), the higher the density of droplet and the smaller their size (Fig. 6b,d,e). This clearly indicates an improvement of the stabilizing character due to both DS and grafted chain length.

Considering the droplet size distribution, particular behaviors are obtained for both XC12(6.3) and XC16(2.2) owning the distribution at D0 and D30 perfectly superimposed with droplets mean and median diameters remaining constant around 10 to 20 μm as indicated in Table 2. Based on these results, one can conclude that HMX specimen allow preparing stable emulsions within the period of time tested as no destabilization was observed within 1 month. Nevertheless, one can notice that slight difference actually exists between microphotographs as some of the droplets of XC12(6.3) emulsion (Fig. 6d) have a less spherical shape when compared to those for XC16(2.2) emulsion (Fig. 6e). Such a qualitative observation can be explained by the occurrence of flocculation phenomenon. This hypothesis could be checked on the basis of further analysis such as backscattering data.

For the other emulsions analysis, the evolution of the droplet size distribution curves (Fig. 6a,b,c) showing a decrease of both median and mean diameter of the droplets (Table 2) reveals that destabilization mechanisms occurred between D0 and D30 mainly through creaming with absence of coalescence. These latter results and interpretations are in good accordance with the ones discussed in the first section for XC8(4.1).

Similar effect of alkenyl chain length was discussed by Kokubun et al. (Kokubun et al., 2015), where emulsion droplet size was smaller for DDSA-inulin than OSA-inulin owning equivalent DS. This indicated that longer hydrophobic moieties make it easier polymeric species adsorption onto oil droplets during the homogenization process.

If considering the impact of DS, emulsion stability improvement and smaller droplet size were attributed to a higher number of hydrophobic moieties as demonstrated by Kokubun et al. (Kokubun et al., 2015) and Wang et al. (H. Wang et al., 2014) on inulin-OSA/DDSA and Arabic gum-DDSA respectively.

Table 2: Median and mean diameter of droplets in the emulsified phase of dispersion at 0.2% w/w of different HMX between D0 and D30

		XC8(4.1)	XC8(6.2)	XC12(2.2)	XC12(6.3)	XC16(2.2)
Median diameter (μm)	D0	126 \pm 5	110 \pm 2	83 \pm 5	22 \pm 1	19 \pm 1
	D30	105 \pm 8	96 \pm 16	72 \pm 3	20 \pm 1	20 \pm 1
Mean diameter (μm)	D0	124 \pm 5	105 \pm 2	70 \pm 6	18 \pm 1	15 \pm 1
	D30	80 \pm 8	87 \pm 17	63 \pm 2	16 \pm 1	16 \pm 1

Following the same procedure as the one described in section 1, Turbiscan™ characterization of the different samples was conducted over 1 month. Since the transmission percentage is lower than 0.2%, the analysis of SMLS was focused on BS signals. Results allowed evidencing two distinct behaviors. The first one observed for both XC8(6.3) and XC12(2.2) evidenced creaming quite similarly as the profile obtained for XC8(4.1) (profile not shown - see Fig. 4 for comparison). Only slight difference could be evidenced for the height of the emulsified phase, but the variation clearly remains non-significant. The second type of profile shows constant BS value which perfectly superimposes on the entire height of the sample over the whole period of sample monitoring (Fig. 7a,b) corresponding to XC12(6.3) and XC16(2.2), respectively. Same results were observed for XC12(16.9) (data not shown). Thus, no destabilization occurs and a relatively high and constant opacity (BS = 43-45%) is observed for these last samples thus illustrating without any doubt the occurrence of highly stable emulsions.

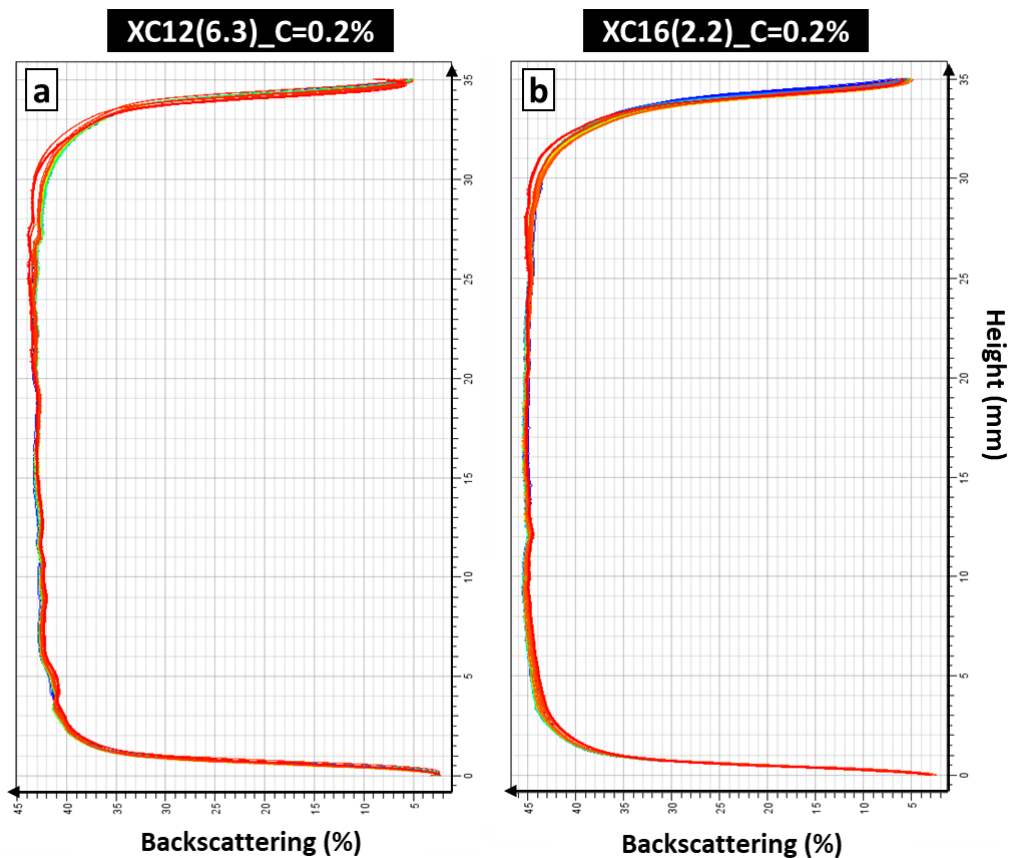


Fig. 7. Raw backscattering data obtained by following the evolution with time of the destabilization of the emulsion formed with: a) XC12(6.3) or b) XC16(2.2) at 0.2% w/w. Samples were scanned over 30 days with different scan periods

In addition to the results exposed and discussed above, further parameters could be analyzed from Turbiscan™ data, namely the destabilization kinetic of the system as evidenced through the evolution

of TSI index as a function of time. According to Fig. 8, a relatively fast destabilization occurs even from the first hours after preparation for emulsions defined as unstable after one month. Nevertheless, TSI evolution appears slower for HMX owning high DS or long alkenyl grafted moieties as in these latter cases a low index value ($TSI \leq 2$) is observed over 1 month when compared to HMX owning low DS and short alkenyl residues.

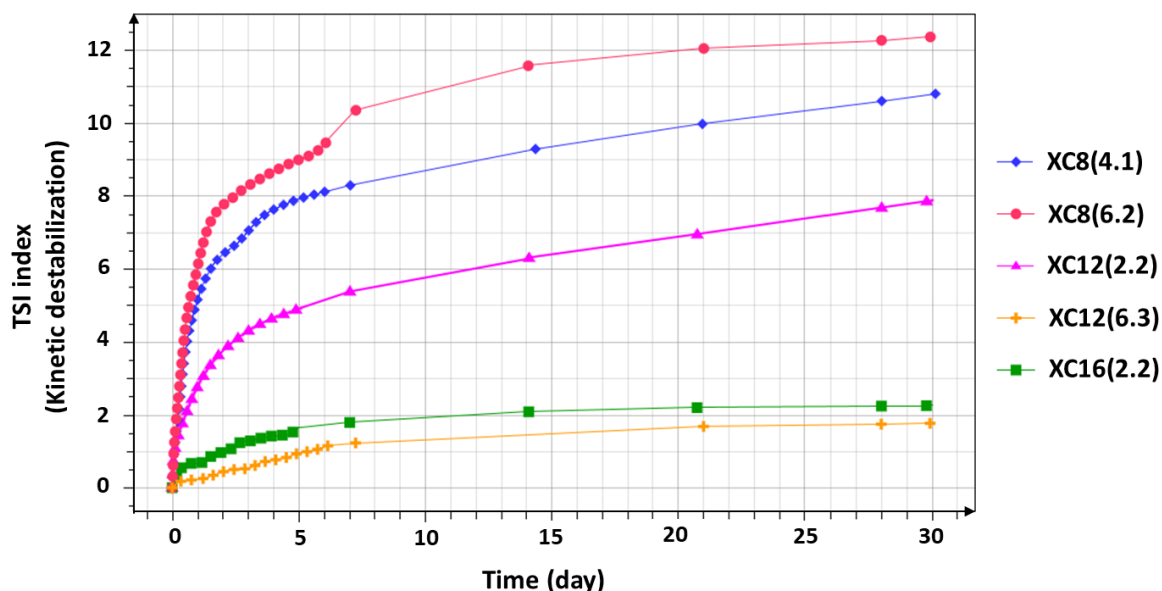


Fig. 8. Evolution of the destabilization kinetic represented by the TSI index for emulsion at 0.2% w/w of different HMX

Based on all results of this second section, both parameters: DS and alkenyl chain length appear essential as they sharply govern the emulsions kinetic stability. In fact, the goal for preparing stable emulsion can be achieved using two modified xanthan categories, the dodecanyl grafted xanthan as far as it owns a minimum DS value (over 6%) on the one hand, the hexadecanyl grafted xanthan even at low DS due to long hydrophobic moieties on the second hand. These results are directly related to the surface-active properties, as previously reported for such HMX owning sufficient DS and/or longer alkenyl chains, both demonstrated as the most effective in reducing the surface tension (Abou Dib et al., 2022). In addition, such a higher stability may also be facilitated by a negatively more charged polysaccharide due to the presence of anionic carboxylate groups in the linkage between alkenyl chains and the xanthan backbone, this providing repulsive forces between the oil droplets, preventing their aggregation (Falkeborg & Guo, 2015; Kokubun et al., 2018; McClements, 2007).

It is important to note that all attempts to get stable emulsions with using octenyl grafted xanthan failed even when using HMX owning high DS (up to 6.2%). Thus, in order to improve the emulsion

stability, attempts to investigate the effect of HMX concentration, on the one hand, and the impact of the presence of native xanthan as thickening agent, on the other hand, were investigated and exposed in the last section of the paper.

3.3. Impact of HMX concentration and effect of synergy between native and modified xanthan

In this third section, XC8(4.7) was used to investigate, on the one hand, the effect of concentration by increasing from 0.2 % to 0.5% w/w and on the other the effect of adding 0.1% w/w of native xanthan (NX) as a thickener in emulsion containing 0.2% w/w of XC8(4.7) as emulsifying agent. In this section emulsions were monitored for several weeks.

Fig. 9 presents the macroscopic aspect for the mixtures corresponding to XC8(4.7) at 0.2% w/w (Fig. 9a), XC8(4.7) at 0.5% w/w (Fig. 9b) and mixture prepared with combining XC8(4.7) at 0.2% w/w + Native Xanthan at 0.1% w/w (Fig 9c). The first one (a) shows no more than $\frac{1}{3}$ of the height for the emulsified phase as it was demonstrated in the previous sections. Then, mixtures prepared with increasing HMX concentration to 0.5% are characterized by an entire emulsification remaining stable after several weeks. Same behavior was observed for XC8(4.7) at 0.2% w/w + Native Xanthan (c) system from a macroscopic point of view. Thus, both parameters undoubtedly have marked positive impact on the stability of the dispersions.

In addition, micrographs corresponding to D21 superimposed on the granulometric distribution as represented in Fig. 9 bring additional information. Afterwards, micrographs show smaller droplets at D21 for emulsions prepared with lonely HMX additive; the higher the HMX content the smaller the droplets of the emulsified phase. Same tendency but in a lesser extent is observed with addition native xanthan. This is confirmed by a droplets size distribution owning smaller droplets and with lower median diameter for corresponding emulsions at both D0 and D21 as visible in Table 3.

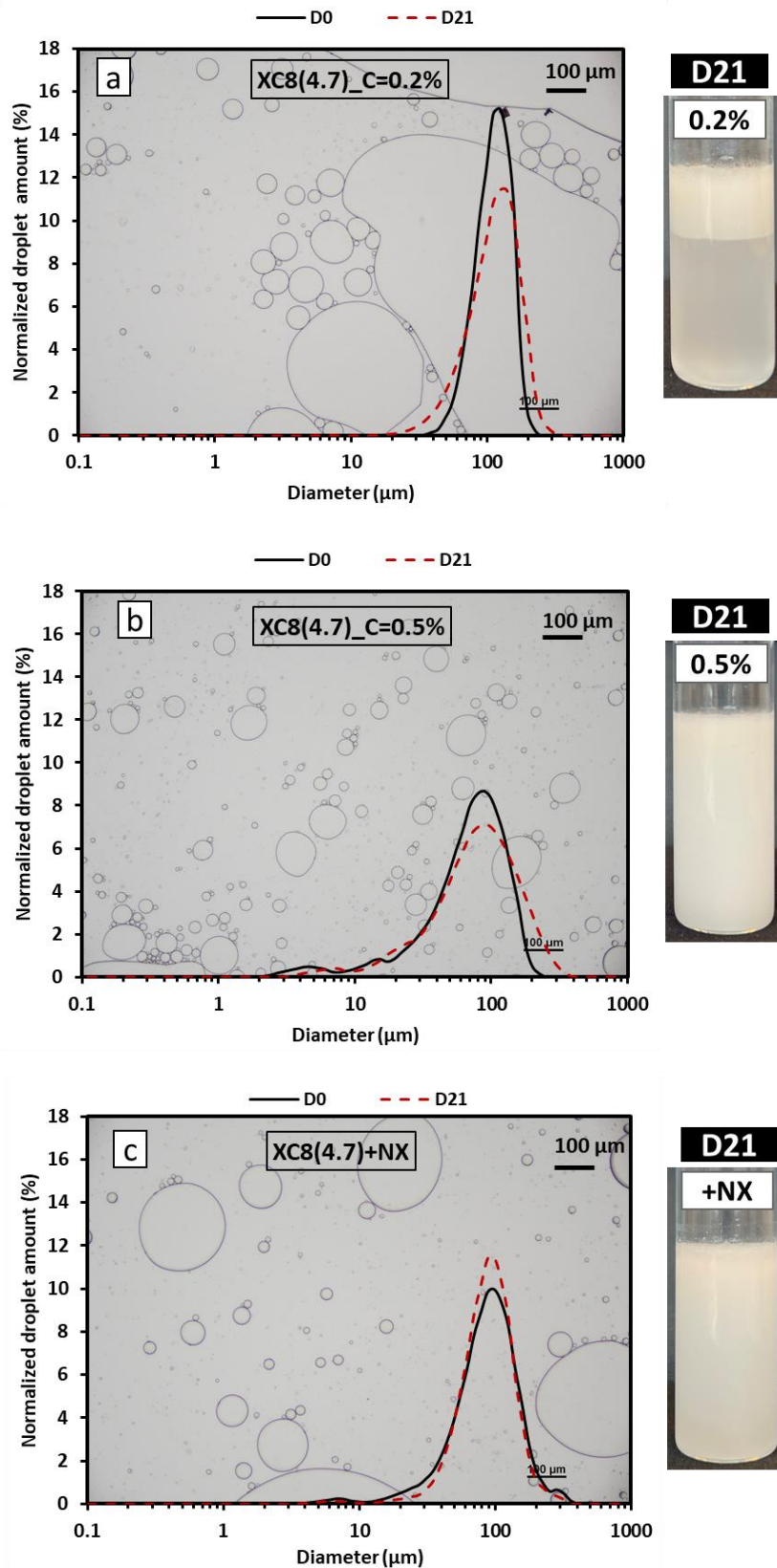


Fig. 9. Photographs at D21, optical microscopy image at D21 and droplet size distribution at D0 and D30 of the emulsified phase of dispersion at different formulation conditions containing XC8(4.7)

Table 3 also gives the evolution over time of the mean diameter for each sample. Again, it is obvious that droplets obtained directly after the preparation protocol (D0), are smaller when either adding NX or increasing the HMX concentration, thus illustrating more efficient emulsification. This is consistent with results obtained elsewhere on OSA-soy polysaccharide (Qi et al., 2020), inulin-OSA/DDSA (Kokubun et al., 2015), OSA-Arabic gum (H. Wang et al., 2014; Z. Wang et al., 2021, p. 20), and OSA-starch (Bello-Pérez et al., 2015; Z. Wang et al., 2021). Authors evidenced a droplet size decreasing when increasing the derivative polymer concentration. This was explained as the consequence of higher polymer concentration that makes more emulsifying species available to quickly adsorb on the oil droplets and cover their surface during the homogenization process, thus preventing flocculation.

Then, it was possible to demonstrate that adding NX gives the best stability of mean and median diameter showing constant values 21 days after the emulsion preparation, this is consistent with qualitative results described by Fantou et al. (Fantou et al., 2020) on the positive effect of mixing xanthan grafted by octylamine hydrophobic chains with its pristine xanthan in emulsions stabilization.

Table 3: Median and mean diameter of droplets in the emulsified phase of dispersion at different formulation conditions containing XC8(4.7) at D0 and D21

		XC8(4.7)-C=0.2%	XC8(4.7)-C=0.5%	XC8(4.7)-NX
Median diameter (μm)	D0	106 \pm 5	70 \pm 6	83 \pm 4
	D21	109 \pm 15	76 \pm 3	83 \pm 3
Mean diameter (μm)	D0	103 \pm 6	59 \pm 5	78 \pm 6
	D21	94 \pm 2	68 \pm 2	79 \pm 2

Thus, as a synergy between the emulsifying agent (HMX) and the thickener one (NX) may play a valuable role for stabilizing dispersions. Backscattering experiments and TSI data were investigated and considered to bring a better understanding of the parameters responsible for such effects. Corresponding results are reported in Fig. 10.

For XC8(4.7) at 0.2% w/w content backscattering profile is identical to the one presented in the first section (Fig. 4), with highlighting the main occurrence of both creaming and flocculation phenomenon. Then, one can notice that when increasing the HMX concentration from 0.2% to 0.5%, the BS remains globally constant for the whole height of the sample over the entire period of time (Fig. 10a). Nevertheless, the absence of perfect superposition for the BS curves may be explained by the presence of large droplets due to local flocculation/coalescence mechanisms without significant creaming migration. Such hypothesis is consistent with the slight increase of both mean and median diameter

observed over time (Table 3). From a general point of view, BS profile allows establishing stabilization effect when increasing HMX content, in good accordance with both macroscopic and microstructure aspects.

Finally, if considering the third mixture prepared with HMX/NX combination, one can notice that there is hardly no agreement depending on whether the macroscopic or microscopic aspect is considered; thereby, BS evolution clearly evidences a creaming destabilization profile (Fig. 10b). However, one can notice that the destabilization is actually sharply slowed down when compared to the referent emulsion without NX. In fact, a progressive decrease of BS signal for the lowest phase is observed at the same time as the increase of BS signal for the upper phase. Indeed, the migration of droplets from the bottom to the top is significantly slowed down when compared to the one in the absence of NX. Thus, despite a macroscopically fully emulsified appearance, BS data allowed revealing a lonely phenomenon of slow creaming rather than a long-term stabilization. Finally, TSI index was considered as a tool to better evidence the differences in the kinetic of destabilization for the three mixtures studied in this paragraph; corresponding graphs are as presented in Fig. 10c. This parameter was followed up immediately after the mixture was prepared and monitored for a period of 21 days.

One can first notice that TSI evolution corresponding to the basic emulsion ($C = 0.2\%$) shows a sharp TSI increase within the first 24 hours after the mixture preparation, after which the increase becomes less rapid but does not tend to stabilize after 21 days. It is interesting to note that TSI index for this mixture remains higher than the others on the entire period of time considered. At the same time, the addition of NX clearly slows down the destabilization of the mixture with a lower TSI over the whole duration of the study thus highlighting the main action of native xanthan which acts as a thickener delaying the destabilization. Finally, the evolution of TSI corresponding to the emulsion owing the higher HMX content presents a marked tendency to reach an almost constant value (# 2.5) reflecting a stable emulsion; this latter result undoubtedly allows demonstrating the efficacy for amphiphilic xanthan derivatives for the stabilization of O/W emulsions provided there is a sufficient quantity.

Same effects were observed with considering dodecanyl grafted xanthan owning a low grafting rate (4.8%) (results not shown in the paper). In summary, it can be concluded that increasing HMX concentration or adding NX can be considered as efficient solutions to improve O/W emulsion stability over time.

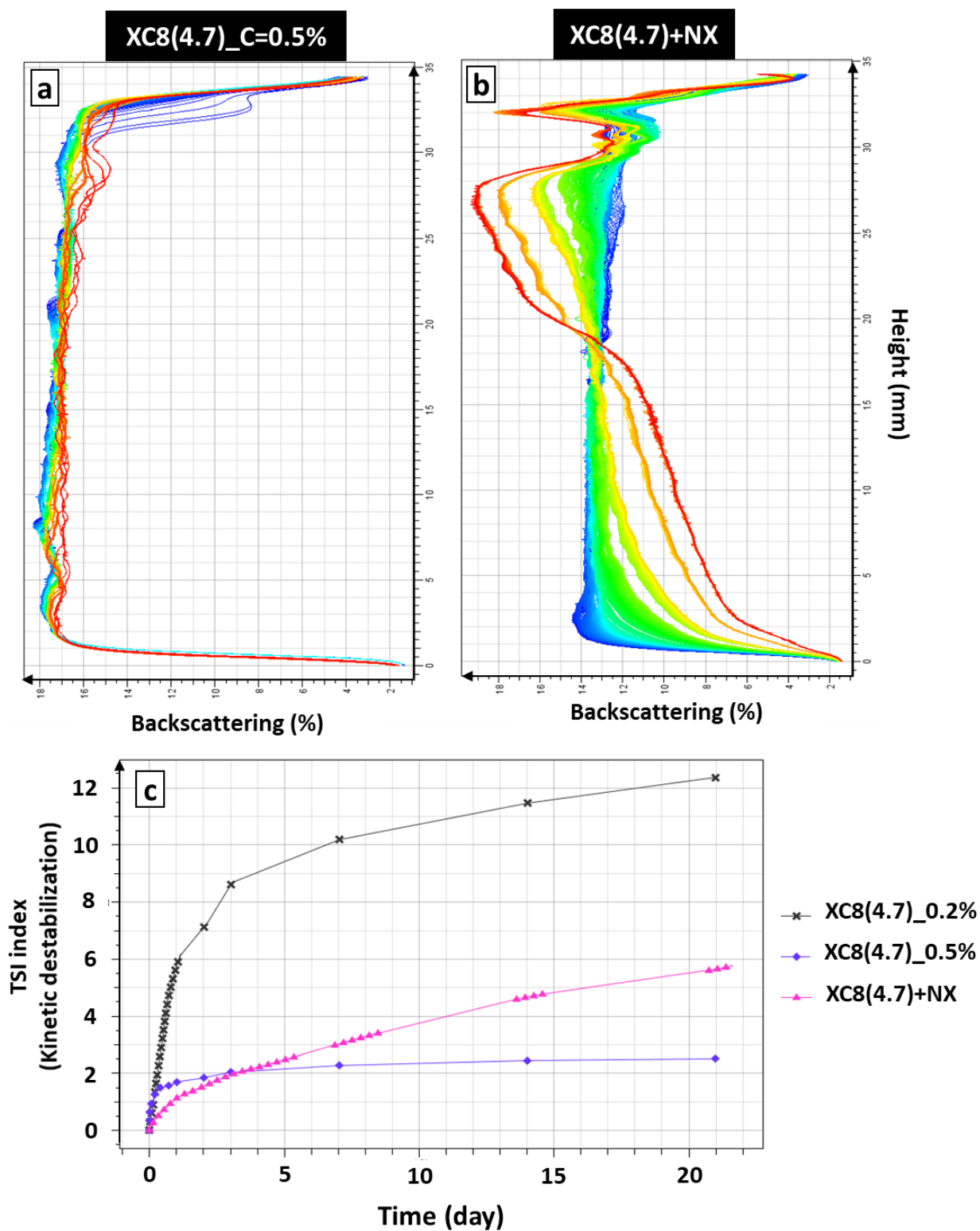


Fig. 10. Raw backscattering data (a, b) and TSI index (c) obtained by following the evolution over 21 days of three type of emulsion containing XC8(4.7); the samples were scanned with different scan periods

4. Conclusion

In the current work, emulsifying properties of a series of hydrophobically modified xanthan (HMX) have been studied in order to better understand the phenomenon governing the O/W emulsions stability. HMX was obtained via grafting onto xanthan different alkenyl chain length, namely octenyl, dodecyl and hexadecyl with grafting densities (DS) up to 16%. First, this work allowed establishing that as amphiphilic polysaccharide derivatives, HMX do own emulsifying properties to stabilize water-oil interfaces while native xanthan do not due to their poor interfacial properties as non-absorbing polymers. High stable emulsions were obtained with HMX grafted either by long alkenyl moieties (XC16) even at low grafting density or by medium chain length (XC12) as far as a minimum DS is used (>6%). These latter HMX allowed getting the best emulsion stability with white and homogeneous aspect, constant size distribution, smaller droplets and constant backscattering profile over one month. Such a promising result can be explained by (1) the effectiveness of HMXs in reducing surface tension and (2) to their increased negative charges due to carboxylate groups providing repulsive forces between droplets thus preventing their aggregation. On the contrary, emulsions prepared with using octenyl grafted xanthan showed destabilization through creaming phenomenon; in this case, it was possible to improve emulsion stability by increasing HMX content, thus providing more amphiphilic chains available to coat oil droplets and prevent creaming. Additional experiments allowed demonstrating that another option to improve the stability of O/W emulsions was mixing HMX and native xanthan together, the latter markedly acting as a thickener for the continuous aqueous phase thus slowing down the creaming of oil droplets. To summarize, the whole of this work undoubtedly brings original knowledge on the role and mechanisms of action of hydrophobically modified xanthan in the stabilization of Oil-in-Water emulsions. The promising and effective emulsifying capacities of biosourced amphiphilic xanthan obtained under green modification synthesis were demonstrated, what offers promising potential for industrial applications. Further investigations are now in progress with the particular aims (1) to elucidate the partitioning of HMX molecules between the bulk aqueous phase and O/W interface and (2) to better understanding the reason for the creaming phenomenon.

Acknowledgments

Authors acknowledge the Region Normandie (Agreement 19E00776) and FEDER for grant and financial support.

Reference

- Abou Dib, M., Hucher, N., Gore, E., & Grisel, M. (2022). Original tools for xanthan hydrophobization in green media: Synthesis and characterization of surface activity. *Carbohydrate Polymers*, 291, 119548. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119548>
- Azeem, A., Rizwan, M., Ahmad, F. J., Khan, Z. I., Khar, R. K., Aqil, M., & Talegaonkar, S. (2008). Emerging Role of Microemulsions in Cosmetics. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 2(3), 275–289.
- Barkat Ali Khan,. (2011). Basics of pharmaceutical emulsions: A review. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(25). <https://doi.org/10.5897/AJPP11.698>
- Bello-Pérez, L. A., Bello-Flores, C. A., Nuñez-Santiago, M. del C., Coronel-Aguilera, C. P., & Alvarez-Ramirez, J. (2015). Effect of the degree of substitution of octenyl succinic anhydride-banana starch on emulsion stability. *Carbohydrate Polymers*, 132, 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.042>
- Cao, Y., Dickinson, E., & Wedlock, D. J. (1990). Creaming and flocculation in emulsions containing polysaccharide. *Food Hydrocolloids*, 4(3), 185–195. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80151-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80151-3)
- Chauvierre, C., Labarre, D., Couvreur, P., & Vauthier, C. (2004). A new approach for the characterization of insoluble amphiphilic copolymers based on their emulsifying properties. *Colloid and Polymer Science*, 282(10), 1097–1104. <https://doi.org/10.1007/s00396-003-1040-9>
- Chen, H.-M., Fu, X., & Luo, Z.-G. (2015). Esterification of sugar beet pectin using octenyl succinic anhydride and its effect as an emulsion stabilizer. *Food Hydrocolloids*, 49, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.008>
- Chevalier, Y., & Bolzinger, M.-A. (2013). Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 439, 23–34. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.02.054>
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 25–39. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5)
- Falkeborg, M., & Guo, Z. (2015). Dodecyl succinylated alginate (DSA) as a novel dual-function emulsifier for improved fish oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 46, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.011>
- Fantou, C., Comesse, S., Renou, F., & Grisel, M. (2019). Hydrophobically modified xanthan: Thickening and surface active agent for highly stable oil in water emulsions. *Carbohydrate Polymers*, 205, 362–370. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.052>
- Fantou, C., Yoo, J., Comesse, S., Grisel, M., & Renou, F. (2020). Synergy between pristine and hydrophobically modified xanthans for stabilizing oil-in-water emulsions. *Colloid and*

- Interface Science Communications*, 37, 100292.
<https://doi.org/10.1016/j.colcom.2020.100292>
- Formulacion. (2020). *Turbiscan Tower User Guide 2.0*. Formulacion, France.
<https://formulacion.com/product/turbiscan-tower/>
- Garti, N., Madar, Z., Aserin, A., & Sternheim, B. (1997). Fenugreek Galactomannans as Food Emulsifiers. *LWT - Food Science and Technology*, 30(3), 305–311.
<https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0179>
- Garti, N., & Reichman, D. (1994). Surface properties and emulsification activity of galactomannans. *Food Hydrocolloids*, 8(2), 155–173. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80041-6](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80041-6)
- Gunning, P. A., Hibberd, D. J., Howe, A. M., & Robins, M. M. (1988). Gravitational destabilization of emulsions flocculated by non-adsorbed xanthan. *Food Hydrocolloids*, 2(2), 119–129. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(88\)80010-9](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(88)80010-9)
- Hennoek, M., Rahalkar, R. R., & Richmond, P. (1984). Effect of Xanthan Gum Upon the Rheology and Stability of Oil-Water Emulsions. *Journal of Food Science*, 49(5), 1271–1274. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1984.tb14968.x>
- Klojdová, I., Štětina, J., & Horáčková, Š. (2019). W/O/W Multiple Emulsions as the Functional Component of Dairy Products. *Chemical Engineering & Technology*, 42(4), 715–727. <https://doi.org/10.1002/ceat.201800586>
- Kokubun, S., Ratcliffe, I., & Williams, P. A. (2015). The emulsification properties of octenyl- and dodecyl- succinylated inulins. *Food Hydrocolloids*, 50, 145–149. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.04.021>
- Kokubun, S., Ratcliffe, I., & Williams, P. A. (2018). The interfacial, emulsification and encapsulation properties of hydrophobically modified inulin. *Carbohydrate Polymers*, 194, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.018>
- Landoll, L. M. (1982). Nonionic polymer surfactants. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*, 20(2), 443–455. <https://doi.org/10.1002/pol.1982.170200218>
- Li, G., & Zhu, F. (2021). Physicochemical, rheological, and emulsification properties of nonenyl succinic anhydride (NSA) modified quinoa starch. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.199>
- Liwerska-Bizukojc, E., Miksch, K., Malachowska-Jutz, A., & Kalka, J. (2005). Acute toxicity and genotoxicity of five selected anionic and nonionic surfactants. *Chemosphere*, 58(9), 1249–1253. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.031>
- Lu, Y., Kang, W., Jiang, J., Chen, J., Xu, D., Zhang, P., Zhang, L., Feng, H., & Wu, H. (2017). Study on the stabilization mechanism of crude oil emulsion with an amphiphilic polymer using the β -cyclodextrin inclusion method. *RSC Advances*, 7(14), 8156–8166. <https://doi.org/10.1039/C6RA28528G>
- Luo, M., Qi, X., Ren, T., Huang, Y., Keller, A. A., Wang, H., Wu, B., Jin, H., & Li, F. (2017). Heteroaggregation of CeO₂ and TiO₂ engineered nanoparticles in the aqueous phase: Application of turbiscan stability index and fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectra. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 533, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.08.014>
- Mcclements, D. J. (2007). Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(7), 611–649. <https://doi.org/10.1080/10408390701289292>

- Mengual, O., Meunier, G., Cayré, I., Puech, K., & Snabre, P. (1999). TURBISCAN MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. *Talanta*, *50*(2), 445–456. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(99\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(99)00129-0)
- Olkowska, E., Polkowska, Ż., & Namieśnik, J. (2011). Analytics of Surfactants in the Environment: Problems and Challenges. *Chemical Reviews*, *111*(9), 5667–5700. <https://doi.org/10.1021/cr100107g>
- Paraskevopoulou, A., Boskou, D., & Kiosseoglou, V. (2005). Stabilization of olive oil – lemon juice emulsion with polysaccharides. *Food Chemistry*, *90*(4), 627–634. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.023>
- Plate, S., Diekmann, S., Steinhäuser, U., & Drusch, S. (2012). Determination of the degree of substitution of hydrolysed octenylsuccinate-derivatised starch. *LWT - Food Science and Technology*, *46*(2), 580–582. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.014>
- Qi, J.-R., Zhang, D.-Y., Zhao, R.-X., Liao, J.-S., Cao, Y., & Xiao, J. (2020). Micro- and nano-emulsions based on soluble soy polysaccharide and octenyl succinic anhydride modified soluble soy polysaccharide. *International Journal of Food Science & Technology*, *n/a*(*n/a*). <https://doi.org/10.1111/ijfs.14947>
- Ray, A. K., Bird, P. B., Iacobucci, G. A., & Clark, B. C. (1995). Functionality of gum arabic. Fractionation, characterization and evaluation of gum fractions in citrus oil emulsions and model beverages. *Food Hydrocolloids*, *9*(2), 123–131. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80274-9](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80274-9)
- Robins, M. M. (2000). Emulsions — creaming phenomena. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, *5*(5), 265–272. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(00\)00065-0](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(00)00065-0)
- Rotureau, E., Leonard, M., Marie, E., Dellacherie, E., Camesano, T. A., & Durand, A. (2006). From polymeric surfactants to colloidal systems (1): Amphiphilic dextrans for emulsion preparation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *288*(1), 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.01.044>
- Salager, J.-L. (2002). *SURFACTANTS Types and Uses* (Vol. 1–2). FiRP. <http://www.nanoparticles.org/pdf/Salager-E300A.pdf>
- Sav, A. R., Meer, T. A., Fule, R. A., & Amin, P. D. (2013). Investigational Studies on Highly Purified Fenugreek Gum as Emulsifying Agent. *Journal of Dispersion Science and Technology*, *34*(5), 657–662. <https://doi.org/10.1080/01932691.2012.683983>
- Sjöblom, J. (2006). *EMULSIONS AND EMULSION STABILITY* (Vol. 2). Taylor & Francis. <http://www.scientificspectator.com/documents/surfactant%20spectator/Emulsions%20and%20Emulsion%20Stability.pdf>
- Tadros, T. F. (2009). Emulsion Science and Technology: A General Introduction. In *Emulsion Science and Technology* (pp. 1–56). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9783527626564.ch1>
- Trujillo-Cayado, L. A., García, M. C., Santos, J., Carmona, J. A., & Alfaro, M. C. (2017). Progress in the Formulation of Concentrated Ecological Emulsions for Agrochemical Application Based on Environmentally Friendly Ingredients. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, *5*(5), 4127–4132. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b00106>
- Underwood, D. R., & Cheetham, P. S. J. (1994). The isolation of active emulsifier components by the fractionation of gum talha. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *66*(2), 217–224. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740660217>

- Vernon-Carter, E. J., Pedroza-Islas, R., & Beristain, C. i. (1998). Stability of Capsicum Annuum Oleoresin-in-Water Emulsions Containing Prosopis and Acacia Gums. *Journal of Texture Studies*, 29(5), 553–567. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1998.tb00183.x>
- Wang, H., Williams, P. A., & Senan, C. (2014). Synthesis, characterization and emulsification properties of dodecanyl succinic anhydride derivatives of gum Arabic. *Food Hydrocolloids*, 37, 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.10.033>
- Wang, Z., Ma, D., Gan, L., Lu, X., & Wang, Y. (2021). Octenyl succinate esterified gum arabic stabilized emulsions: Preparation, stability and in vitro gastrointestinal digestion. *LWT*, 149, 112022. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112022>
- Wu, Y., Cui, W., Eskin, N. A. M., & Goff, H. D. (2009). An investigation of four commercial galactomannans on their emulsion and rheological properties. *Food Research International*, 42(8), 1141–1146. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.05.015>

Ouverture

Une étude préliminaire a également été menée sur l'estimation de la concentration de xanthane restante dans la phase aqueuse et qui n'intervient pas dans l'émulsification, que l'on nomme $C(\text{bulk})$. Pour ce faire, deux émulsions ayant subi le phénomène de crémage, E(a) : XC8(4.7) et E(b) : XC12(4.8) contenant 0,2% m/m de xanthane modifié, ont été sélectionnées pour l'étude. Ensuite, des courbes d'étalonnage correspondant à chacun des grades de xanthane modifié sélectionné ont été déterminées en traçant la variation de η_0 en fonction de la concentration massique en xanthane allant de 0,05 à 0,2% (Figure 71). η_0 correspond à la viscosité à cisaillement nul déterminée par une mesure d'écoulement par la loi de carreau. Deux à trois essais sont réalisés pour chaque mesure.

À l'issue de trois semaines après l'émulsification, la phase haute émulsionnée a été séparée de la phase basse. Cette phase aqueuse a été centrifugée à 10397 g pendant 10 minutes à 20 °C afin de provoquer le relargage des gouttelettes d'huile qui pouvaient y subsister. Ensuite η_0 est déterminée pour les phases basses aqueuses de E(a) et E(b) (triangles rouges des Figure 71 a et b, respectivement). La détermination graphique des $C(\text{bulk})$ montre une concentration de 0,227% pour E(a) et 0,219% pour E(b) ce qui correspond à respectivement 90,8% et 87,6% de la concentration initiale de la phase aqueuse avant émulsification ($C=0,25\%$). Ce qui nous conduit à constater que seuls 9,2% des chaînes XC8(4.7) et 12,4% des chaînes XC12(4.8) sont impliqués en tant qu'émulsifiant dans la stabilisation des interfaces eau-huile.

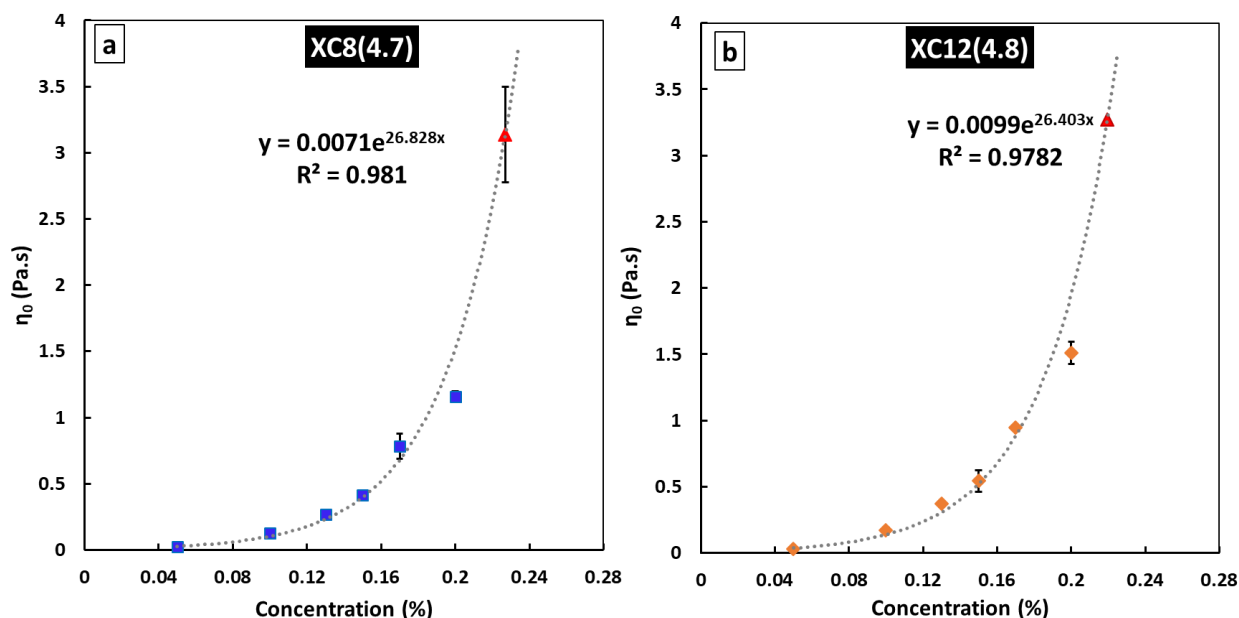


Figure 71 : Courbes d'étalonnage de l'évolution de la viscosité à cisaillement nul η_0 en fonction de la concentration en xanthane modifié : a) XC8(4.7) et b) XC12(4.8)
Les triangles rouges correspondent à une estimation graphique de $C(\text{bulk})$

Ceci peut s'expliquer par un partage du xanthane entre la phase aqueuse et émulsionnée, mis en évidence également par Fantou et al. (Fantou et al., 2019). Cette observation explique la nécessité d'augmenter le DS, la longueur de la chaîne hydrophobe ou encore la concentration pour que le xanthane se situe plus à l'interface qu'en phase aqueuse. Ces aspects pourront être approfondis par diverses approches afin de déterminer précisément l'évolution au cours du temps de la concentration $C(\text{bulk})$ (par rhéologie et ATG, cette dernière analyse ne nécessitant qu'un prélèvement de quelques dizaines milligrammes de la phase inférieure) ; ou encore en tentant de visualiser la distribution du xanthane entre l'interface et le milieu aqueux par exemple en ayant recours à la microscopie confocale (*Confocal laser scanning microscopy*).

Finalement, il est possible également de mener une étude, à différentes concentrations, des propriétés interfaciales eau-huile ININ comme celle qui a été réalisée sur les propriétés superficielles dans la première publication. Il serait possible d'utiliser soit la méthode de la goutte pendante soit l'angle de contact sur des surfaces hydrophobes dans le but de savoir si les interactions entre chaînons hydrophobes discutées dans le second article peuvent être plus fortes que leur adsorption à l'interface huileuse. Quelques tests préliminaires de tensiométrie par goutte pendante ont été effectués en formant une goutte d'une solution aqueuse contenant des xanthanes modifiés dans l'huile ININ et en mesurant la tension interfaciale au cours de temps. Peu de variations ont été obtenues entre le précurseur (PX) et le modifié. Seule une légère tendance à la diminution a été observée sur certains xanthanes modifiés. À cette étape, nulle conclusion ferme n'a pu être élaborée. Pour cela, des expériences supplémentaires doivent être menées : soit en augmentant la concentration de la phase aqueuse ; ou encore en modifiant les conditions de l'expérience en inversant l'ordre de mesure entre goutte et phase continue (dans laquelle la goutte est formée).

Conclusion générale

L'objectif de ce projet de thèse était de développer une voie verte de modification chimique d'un polysaccharide dans le but d'élargir la gamme des **polymères amphiphiles biosourcés** à caractère émulsionnant, utiles dans diverses applications. De tels polymères constituent une alternative à l'utilisation de tensioactifs conventionnels, traditionnellement utilisés pour la stabilisation des émulsions et des interfaces ; mais largement controversés pour leurs effets néfastes toxicologiques et environnementaux. Notre choix s'est porté sur le polysaccharide bactérien le plus important commercialement et qui a fait l'objet de plusieurs études au sein du laboratoire URCOM : le **xanthane**.

Le xanthane est un hétéropolysaccharide anionique, hydrophile et hydrosoluble, qui en plus d'être biodégradable, biocompatible et non toxique, possède des propriétés rhéologiques et viscosifiantes exceptionnelles qui le qualifient parmi les meilleurs agents épaississants et de texture dans les formulations alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Cependant, ce polymère ne possède aucune propriété interfaciale, ce qui le rend propre à la **modification par greffage de chaînes hydrophobes** lui conférant de potentielles propriétés interfaciales et émulsionnantes. Doté de deux groupements réactifs sur son squelette, les hydroxyles et les acides carboxyliques, le xanthane peut donc subir différents traitements de fonctionnalisation physique, enzymatique ou chimique.

Bien que les modifications par voie chimique du xanthane décrites dans la littérature soient nombreuses, efficaces et parfois même régiosélectives, la plupart d'entre elles sont effectuées dans des conditions incompatibles avec les préceptes de la chimie verte. C'est ce constat qui nous a motivés à mettre au point un **protocole de greffage de chaînes alkyles sur le xanthane par voie verte et respectueuse de l'environnement** et à évaluer par la suite les propriétés chimiques et physicochimiques des xanthanes amphiphiles qui en seront issus ainsi que leur potentiel à stabiliser les interfaces tout en établissant des relations structure-propriétés.

Au cours de cette étude, nous avons pu mettre au point un protocole de modification par estérification des groupements hydroxyles du xanthane par des **anhydrides alkényles succiniques**. La synthèse est effectuée dans l'eau dans des conditions simples et douces de greffage : réactifs et solvants non toxiques, température basse proche de l'ambiante, réaction mono-étape sans catalyseurs ni agents de couplage, temps de réaction court ; de telles conditions apportent indéniablement des réponses aux enjeux et défis d'une chimie verte et durable.

Trois grades de dérivés de xanthane hydrophobiquement modifiés (notés HMX) ont été envisagés : XC8, XC12 et XC16, selon la longueur de la chaîne alkyle de l'agent de greffage : octényles (C8),

dodécényles (C12) et hexadécényles (C16) respectivement. Le pH du milieu, le temps de réaction et le ratio molaire agent de greffage/monomère xanthane constituent trois facteurs utilisés pour moduler le taux de greffage et favoriser l'estérification par rapport la réaction inverse qui correspond à l'hydrolyse de la chaîne latérale de l'ester. Ainsi, l'optimisation des conditions du protocole permet d'obtenir une **large gamme de xanthane hydrophobiquement modifié**, répertoriée selon la longueur de chaîne alkyle et la densité de greffage (DS) pouvant être comprise entre 1 et 16 %. Il est important de noter que les conditions de modification chimique ont été optimisées en vue de l'obtention de grades hydrosolubles afin de permettre leur caractérisation physicochimique et l'établissement de **relations structure-propriétés**.

Un des enjeux majeurs de ce travail a été de déterminer précisément le taux de greffage de chacun des échantillons obtenus en fin de réaction. La méthode retenue est la RMN ^1H pour sa sensibilité et pour sa capacité tant qualitative que quantitative dans l'analyse de structures complexes. Outre les nombreuses précautions dans la préparation des échantillons préalablement aux analyses, la méthodologie analytique a fait l'objet d'un ensemble d'optimisation et d'un soin tout particulier dans sa mise en œuvre afin de déterminer précisément le taux de greffage de l'ensemble des échantillons HMX obtenus.

La caractérisation des propriétés thermiques des dérivés modifiés à l'état poudre montre que les greffons hydrophobes induisent une légère diminution de la teneur en humidité du polysaccharide et confèrent une **stabilité thermique** au xanthane, mise en évidence par l'augmentation de la température de décomposition principale d'une part et un ralentissement de la vitesse de décomposition à haute température d'autre part.

Nous avons également étudié les propriétés des dérivés modifiés en solution afin de déterminer l'effet du greffage sur le comportement des différents HMX par rapport au xanthane natif en régimes dilué, semi-dilué et concentré. En effet, la caractérisation des propriétés viscosimétriques en régime dilué montre une diminution de la viscosité intrinsèque et une tendance à l'agrégation qui sont d'autant plus accentuées lorsque la densité greffage et la longueur de la chaîne hydrophobe augmentent. En effet, les interactions intramoléculaires entre les groupements hydrophobes, en particulier les greffons hexadécényles, sont responsables de la contraction du volume hydrodynamique des chaînes par agrégation polymère-polymère (en particulier intramoléculaire) en phase aqueuse. En revanche, les interactions entre les octényles ou les dodécényles sont plus faibles du fait de la semi-rigidité du squelette du xanthane, d'où un effet moins impactant sur les propriétés viscosimétriques en régime dilué.

Concernant les propriétés rhéologiques en milieu concentré, le greffage ne modifie pas radicalement les caractéristiques connues du xanthane :

- 1) Un fluide à **caractère visqueux** avec un plateau newtonien à faible cisaillement suivi d'une forte rhéofluidification à cisaillement modéré ; on constate cependant une augmentation de la viscosité au plateau ainsi qu'une baisse de la limite de ce plateau newtonien pour les HMX comparés au xanthane précurseur, en particulier pour les dérivés de longues chaînes alkyles ou à densité de greffage élevée.
- 2) Un comportement de **fluide viscoélastique**, avec cependant une augmentation du temps de relaxation de la dynamique des chaînes est obtenue en raison des interactions intermoléculaires surtout au niveau des dérivés à longues chaînes alkyles ou lorsque la densité de greffage est élevée.
- 3) Le polymère présente toujours une **conformation semi-rigide** à basse température et une **conformation désordonnée** au-delà de la température de transition conformationnelle T_m . Nous avons toutefois pu mettre en évidence une faible diminution de la température de transition conformationnelle T_m , diminution davantage marquée pour des taux de greffage plus élevés ou des greffons plus longs. Ce phénomène illustre une conformation hélicoïdale légèrement moins stable du xanthane amphiphile comparé au précurseur.

Ainsi, les analyses rhéologiques des solutions aqueuses des différents grades de HMX ont permis d'établir que les réactions de greffage mises en œuvre dans le cadre de ce travail modifient de façon significative la conformation du polymère, en régime dilué comme en régime semi-dilué, sans pour autant modifier radicalement le comportement du polymère, qui conserve le caractère de fluide viscoélastique.

Nous avons ensuite pu mettre en évidence que le greffage ne fait qu'apporter de nouvelles fonctionnalités au xanthane. Ainsi, des mesures de la tension superficielle révèlent au niveau des xanthanes modifiés une activité de surface que ne possède pas le xanthane précurseur. De plus, la tension superficielle de la solution aqueuse est davantage abaissée lorsque le HMX possède des chaînes alkyles plus longues ou une densité de greffage plus élevée. Sur la base de ces résultats indiquant un potentiel à stabiliser les interfaces, nous avons utilisé les dérivés amphiphiles du xanthane comme agents émulsionnant dans des dispersions huile dans eau sans ajout de tensioactifs moléculaires conventionnels.

La mise en œuvre d'une formulation « **Huile dans Eau** » modèle, volontairement simple, préparée selon un protocole optimisé dans le cadre de ce travail et parfaitement maîtrisé, a été envisagée pour démontrer la capacité émulsionnante d'une série de HMX de longueurs et taux de greffons variables. Différentes méthodes d'analyses microscopique et macroscopique ont été mises en œuvre immédiatement après préparation et également lors de suivis au cours du temps afin de mettre en évidence les phénomènes de stabilisation/déstabilisation. Les résultats obtenus ont permis de montrer que tous les dérivés amphiphiles étudiés possèdent des propriétés émulsifiantes pour stabiliser les interfaces eau-huile contrairement au xanthane natif qui est un polymère non-absorbant n'ayant que de faibles propriétés interfaciales.

Une étude comparative entre les différents grades de xanthane modifié montre un excellent caractère émulsionnant traduit par des émulsions très stables pendant un mois, d'une part avec les xanthanes greffés par des longues chaînes alkényles (XC16) même à faible densité de greffage, d'autre part avec des XC12 dès lors que ces derniers possèdent un DS > 6%. Un tel résultat s'explique par l'efficacité de ces xanthanes à réduire la tension superficielle, ainsi que la capacité à limiter les phénomènes de floculation. Ceci peut notamment être expliqué par l'existence de forces répulsives entre les gouttelettes d'huiles qui sont dues : (1) au caractère anionique du xanthane et, en complément, (2) aux charges négatives accrues apportées par les groupements carboxyliques des greffons suite à l'ouverture de l'anhydride.

Concernant les émulsions préparées avec des XC8, une déstabilisation par crémage subsiste, quelle que soit la densité de greffage utilisée (jusqu'à 6%), donnant lieu à la coexistence de deux phases : une phase aqueuse inférieure et une phase émulsionnée supérieure. Bien qu'un crémage intervienne rapidement après préparation du mélange, on note que la phase émulsionnée demeure stable pendant plusieurs semaines sans évolution notable. Ce dernier résultat illustre indiscutablement le caractère stabilisant d'interface huile/eau du HMX y compris greffé en C8.

Ainsi, pour empêcher ou ralentir le crémage au sein de ce type d'émulsion, deux pistes ont pu être proposées et testées :

- 1) Augmenter faiblement la concentration du xanthane modifié (de 0,2 à 0,5%), ce qui rend le milieu plus riche en chaînes amphiphiles disponibles pour stabiliser plus de gouttelettes et empêcher la floculation et le crémage.
- 2) Rajouter du xanthane natif à faible concentration, en tant qu'agent épaississement de la phase aqueuse continue pour ralentir les phénomènes de floculation et crémage en émulsion H/E.

Ces éléments permettent une meilleure **compréhension** des effets de différents paramètres sur la stabilisation des émulsions et des interfaces par les xanthanes amphiphiles biosourcés obtenus par synthèse dans des conditions vertes de greffage.

Pour conclure, les objectifs de la thèse ont été atteints et nous avons pu valoriser les résultats sous forme de trois publications scientifiques montrant la particularité des xanthanes fonctionnalisés et leur potentiel prometteur pour des applications en émulsion.

Ce travail est actuellement complété par différentes études dans le but de **comprendre la répartition des dérivés modifiés** entre la phase aqueuse et l'interface H/E, ceci afin de mieux comprendre les mécanismes qui conduisent au crémage. Des études de tension interfaciale pourront également apporter des informations clés sur la vitesse de diffusion, le taux et le temps d'adsorption des xanthanes modifiés à l'interface eau-huile.

Des études rhéologiques et de texture, y compris sensorielle, des émulsions obtenues constituent également de prochaines pistes d'investigation.

Annexe

Principe de la RMN

Le principe de la RMN est basé sur la mesure, au niveau d'un noyau atomique soumis à un fort champ magnétique, de l'absorption d'ondes électromagnétiques émises par un rayonnement radiofréquence.

Un noyau atomique est représenté comme une particule sphérique chargée positivement qui possède un moment cinétique de spin nucléaire noté \vec{S} (Figure 72). Le noyau se trouve en mouvement rotatoire sur lui-même ce qui génère un dipôle magnétique interne, appelé moment magnétique nucléaire $\vec{\mu}$ colinéaire à \vec{S} tel que : $\vec{\mu} = \gamma \vec{S}$ (avec $\vec{S} \neq 0$ et γ le rapport gyromagnétique, dépendant du noyau étudié).

Pour qu'un noyau atomique soit observable en RMN, il doit posséder un nombre quantique de spin S non nul ($S \neq 0$).

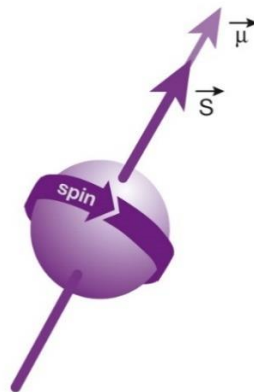


Figure 72: Représentation du moment magnétique d'un noyau (Kastler and Vetter, 2018)

En absence d'un champ magnétique externe ($\vec{B}_0 = 0$), les spins nucléaires sont aléatoirement orientés. Par contre, en présence d'un champ magnétique externe non nul ($\vec{B}_0 \neq 0$), les noyaux atomiques dont le spin nucléaire est non nul sont alignés dans la direction de manière parallèle α ou antiparallèle β à \vec{B}_0 (Figure 73).

En effet, la direction des flèches représente une direction moyenne, car les moments magnétiques nucléaires effectuent un mouvement de précession autour du champ magnétique B_0 à la vitesse angulaire de Larmor.

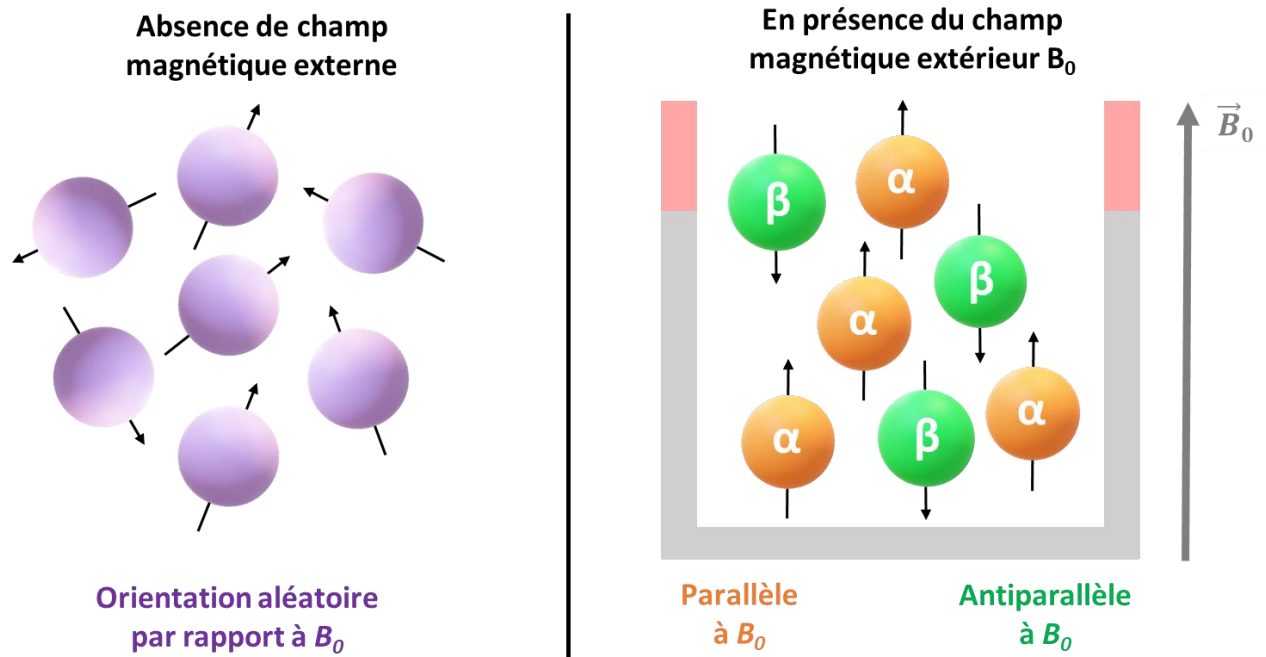


Figure 73: Orientation des moments magnétiques nucléaires ($S \neq 0$) : à gauche : en l'absence de champ externe. A droite : en présence d'un champ magnétique externe \vec{B}_0 (inspiré de (Carey, 2000))

D'après l'effet Zeeman, lorsqu'un noyau atomique de spin nucléaire S est soumis à un champ magnétique externe B_0 (Figure 74), il y a une levée de dégénérescence en $2S+1$ niveaux d'énergie proportionnelle à B_0 telle que :

$E_{m_s} = -m_s \hbar \gamma B_0 = -m_s h \nu_0$, avec :

- $-S < m_s < +S$ où m_s représente le nombre quantique magnétique correspondant à chacun des états énergétiques possibles
- $\hbar = \frac{h}{2\pi}$ où h est la constante de Planck
- $\nu_0 = \frac{\gamma B_0}{2\pi}$ où ν_0 est la fréquence de Larmor

Pour un noyau d'hydrogène ^1_1H , de spin $S = \frac{1}{2}$, deux états énergétiques sont possibles :

- α état de basse énergie avec $E_\alpha = -\frac{1}{2} \hbar \gamma B_0$ (état fondamental)
- β état de haute énergie avec $E_\beta = +\frac{1}{2} \hbar \gamma B_0$ (état excité)

La différence d'énergie entre les deux niveaux est donnée par la relation $\Delta E = | E_\beta - E_\alpha |$

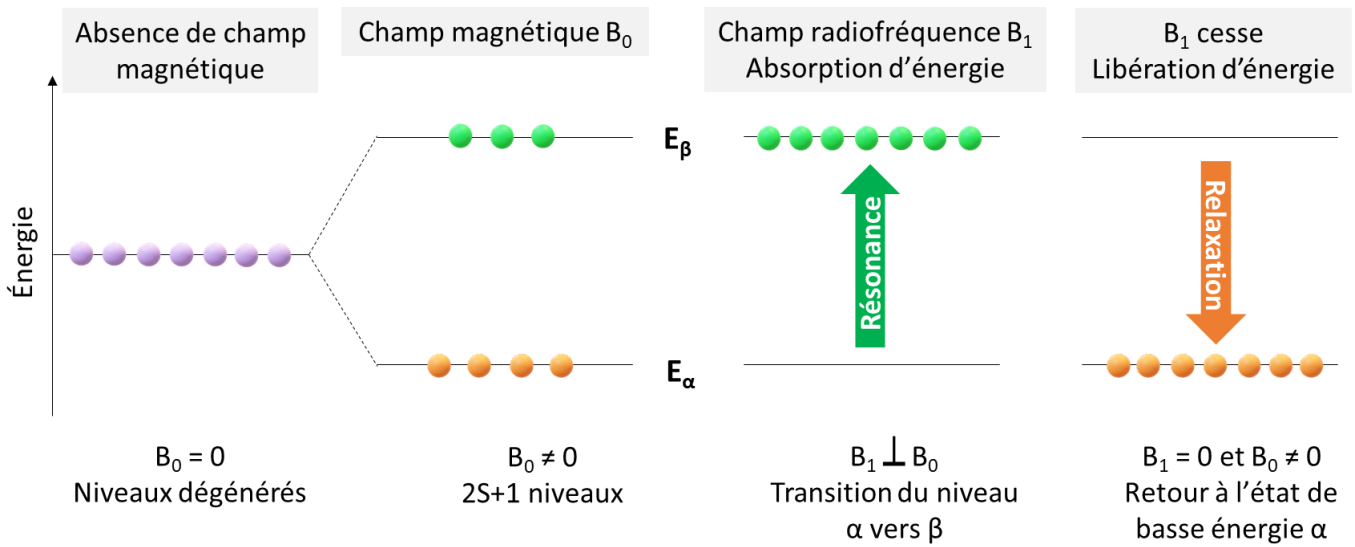


Figure 74: Levée de dégénérescence des spins de ^1H sous l'effet d'un champ magnétique et l'aspect énergétique de la résonance et de la relaxation (inspiré de (Carey, 2000))

Lorsqu'on applique un champ radiofréquence B_1 perpendiculaire à B_0 et ayant une fréquence très proche de la fréquence de Larmor, les noyaux se trouvant en α sont capables d'absorber des radiations électromagnétiques d'énergie ΔE et de passer ainsi au niveau β , c'est le phénomène de résonance. Lorsque B_1 n'est plus appliqué, le système retourne à l'équilibre : les noyaux passent à l'état le plus stable (niveau α) en émettant de l'énergie, c'est le phénomène de relaxation.

Références bibliographiques

- Abbaszadeh, A., Lad, M., Janin, M., Morris, G.A., MacNaughtan, W., Sworn, G., Foster, T.J., 2015. A novel approach to the determination of the pyruvate and acetate distribution in xanthan. *Food Hydrocolloids* 44, 162–171. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.014>
- Abou Dib, M., Hucher, N., Gore, E., Grisel, M., 2022. Original tools for xanthan hydrophobization in green media: Synthesis and characterization of surface activity. *Carbohydrate Polymers* 291, 119548. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119548>
- Abu Elella, M.H., Goda, E.S., Gab-Allah, M.A., Hong, S.E., Pandit, B., Lee, S., Gamal, H., Rehman, A. ur, Yoon, K.R., 2020. Xanthan gum-derived materials for applications in environment and eco-friendly materials: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 104702. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104702>
- Adroit Market Research, 2019. Global Xanthan Gum Market Size, Share | Price Analysis Report 2025 Global Xanthan Gum Market Size By Application (Oil & Gas, Food & Beverage, Pharmaceuticals, Cosmetics and Others); By Region and Forecast 2018 to 2025.
- Afinjuomo, F., Barclay, T.G., Song, Y., Parikh, A., Petrovsky, N., Garg, S., 2019. Synthesis and characterization of a novel inulin hydrogel crosslinked with pyromellitic dianhydride. *Reactive and Functional Polymers* 134, 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2018.10.014>
- Agama-Acevedo, E., Bello-Perez, L.A., 2017. Starch as an emulsions stability: the case of octenyl succinic anhydride (OSA) starch. *Current Opinion in Food Science, Food chemistry and biochemistry • Food bioprocessing* 13, 78–83. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.02.014>
- Agence Bio, 2020. Les chiffres clés – Rapport-Baromètre_Agence-Bio_Spirit-Insight-Edition-2020.pdf. URL <https://www.agencebio.org/vos-outils/les-chiffres-cles/> (accessed 3.18.20).
- Agoub, A.A., Smith, A.M., Giannouli, P., Richardson, R.K., Morris, E.R., 2007. “Melt-in-the-mouth” gels from mixtures of xanthan and konjac glucomannan under acidic conditions: A rheological and calorimetric study of the mechanism of synergistic gelation. *Carbohydrate Polymers* 69, 713–724. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.02.014>
- Aguni, Y., 2009. Contribution à la compréhension des mécanismes d’interaction xanthane/galactimannane (These de doctorat). Le Havre.
- Ahlgren, J.A., 1993. Characterization of Xanthan Gum Degrading Enzymes from a Heat-stable, Salt-tolerant Bacterial Consortium, in: Premuzic, E.T., Woodhead, A. (Eds.), *Developments in Petroleum Science, Microbial Enhancement of Oil Recovery—Recent Advances*. Elsevier, pp. 55–63. [https://doi.org/10.1016/S0376-7361\(09\)70049-4](https://doi.org/10.1016/S0376-7361(09)70049-4)
- Ahmed, J., Ramaswamy, H.S., 2004. Effect of high-hydrostatic pressure and concentration on rheological characteristics of xanthan gum. *Food Hydrocolloids* 18, 367–373. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(03\)00123-1](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00123-1)
- Ahuja, M., Kumar, A., Singh, K., 2012. Synthesis, characterization and in vitro release behavior of carboxymethyl xanthan. *International Journal of Biological Macromolecules* 51, 1086–1090. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.08.023>
- Al-Malah, K.I., Azzam, M.O.J., Omari, R.M., 2000. Emulsifying properties of BSA in different vegetable oil emulsions using conductivity technique. *Food Hydrocolloids* 14, 485–490. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00028-X](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00028-X)
- Amalric, R., Bristeau, S., 2006. Composés perturbateurs endocriniens et autres molécules organiques émergentes dans les eaux souterraines : état de lieux – Rapport final BRGM/RP-54484-FR – Janvier 2006 – Document public - Recherche Google [WWW Document]. URL <https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=Compos%C3%A9s+perturbateurs+endocriniens+et+autres+mol%C3%A9cules+organiques+%C3%A9mergentes+dans+les+eaux+souterraines+%3A+%C3%A9tat+de+lieux+%E2%80>

- 93+Rapport+final+BRGM%2FRP-54484-
FR+%E2%80%93+Janvier+2006+%E2%80%93+Document+public (accessed 3.16.20).
- Anjum, F., Bukhari, S.A., Siddique, M., Shahid, M., Potgieter, J.H., Jaafar, H.Z.E., Ercisli, S., Zia-Ul-Haq, M., 2015. Microwave Irradiated Copolymerization of Xanthan Gum with Acrylamide for Colonic Drug Delivery. *BioResources* 10, 1434–1451. <https://doi.org/10.15376/biores.10.1.1434-1451>
- Arashiro, E.Y., Demarquette, N.R., 1999. Use of the pendant drop method to measure interfacial tension between molten polymers. *Mat. Res.* 2, 23–32. <https://doi.org/10.1590/S1516-14391999000100005>
- Arendt, O., Kulicke, W.-M., 1998. Determination of the viscoelastic properties of a homologous series of the fermentation polymer xanthan gum. *Die Angewandte Makromolekulare Chemie* 259, 61–67. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-9505\(19981001\)259:1<61::AID-APMC61>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-9505(19981001)259:1<61::AID-APMC61>3.0.CO;2-V)
- Arimura, T., Omagari, Y., Yamamoto, K., Kadokawa, J., 2011. Chemoenzymatic synthesis and hydrogelation of amylose-grafted xanthan gums. *International Journal of Biological Macromolecules* 49, 498–503. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.06.003>
- Ashraf, S., Soudi, M.R., Ghadam, P., 2017. Production of Xanthanases by *Paenibacillus* spp.: Complete Xanthan Degradation and Possible Applications. *Iranian Journal of Biotechnology* 15, 120–127. <https://doi.org/10.15171/ijb.1477>
- Barclay, T.G., Day, C.M., Petrovsky, N., Garg, S., 2019. Review of polysaccharide particle-based functional drug delivery. *Carbohydrate Polymers* 221, 94–112. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.067>
- Barnes, H.A., Hutton, J.F., Walters, K., 1989. An introduction to rheology, Rheology series 3. Elsevier, Amsterdam Oxford (GB) New York [etc].
- Behrend, O., Schubert, H., 2001. Influence of hydrostatic pressure and gas content on continuous ultrasound emulsification. *Ultrasonics Sonochemistry* 8, 271–276. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(01\)00088-8](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(01)00088-8)
- Berth, G., Dautzenberg, H., Christensen, B.E., Harding, S.E., Rother, G., Smidsrød, O., 1996. Static Light Scattering Studies on Xanthan in Aqueous Solutions. *Macromolecules* 29, 3491–3498. <https://doi.org/10.1021/ma9515386>
- Bhat, I.M., Wani, S.M., Mir, S.A., Masoodi, F.A., 2022. Advances in xanthan gum production, modifications and its applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 102328. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102328>
- Bhosale, R., Singhal, R., 2006. Process optimization for the synthesis of octenyl succinyl derivative of waxy corn and amaranth starches. *Carbohydrate Polymers* 66, 521–527. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.04.007>
- Biswas, A., Cheng, H.N., Kim, S., Alves, C.R., Furtado, R.F., 2020. Hydrophobic Modification of Cashew Gum with Alkenyl Succinic Anhydride. *Polymers* 12, 514. <https://doi.org/10.3390/polym12030514>
- Blum, M.-M., John, H., 2012. Historical perspective and modern applications of Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR). *Drug Testing and Analysis* 4, 298–302. <https://doi.org/10.1002/dta.374>
- Bodycomb, J., 2013. How to Select the Best Refractive Index.
- Boom, R.M., 2008. Emulsions: Principles and Preparation, in: Aguilera, J.M., Lillford, P.J. (Eds.), *Food Materials Science: Principles and Practice*. Springer, New York, NY, pp. 305–339. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71947-4_15
- Bouldin, M., Kulicke, W.-M., Kehler, H., 1988. Prediction of the non-Newtonian viscosity and shear stability of polymer solutions. *Colloid & Polymer Sci* 266, 793–805. <https://doi.org/10.1007/BF01417863>
- Bouyer, E., Mekhloufi, G., Rosilio, V., Grossiord, J.-L., Agnely, F., 2012. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the

- pharmaceutical field? *International Journal of Pharmaceutics* 436, 359–378. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.052>
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Bresolin, T.M.B., Milas, M., Rinaudo, M., Ganter, J.L.M.S., 1998. Xanthan–galactomannan interactions as related to xanthan conformations. *International Journal of Biological Macromolecules* 23, 263–275. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(98\)00061-0](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00061-0)
- Bulbul, V.J., Bhushette, P.R., Zambare, R.S., Deshmukh, R.R., Annapure, U.S., 2019. Effect of cold plasma treatment on Xanthan gum properties. *Polymer Testing* 79, 106056. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.106056>
- Buwalda, P.L., Kesselmans, R.P.W., Maas, A.A.M., Simonides, H.H., 2007. Hydrophobic starch derivatives. US7157573B2.
- Cadmus, M.C., Jackson, L.K., Burton, K.A., Plattner, R.D., Slodki, M.E., 1982. Biodegradation of Xanthan Gum by *Bacillus* sp. *Applied and Environmental Microbiology* 44, 5–11. <https://doi.org/10.1128/aem.44.1.5-11.1982>
- Caldwell, C.G., Wurzburg, O.B., 1953. Polysaccharide derivatives of substituted dicarboxylic acids. US2661349A.
- Callet, F., Milas, M., Rinaudo, M., 1989. On the role of thermal treatments on the properties of xanthan solutions. *Carbohydrate Polymers* 11, 127–137. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(89\)90020-9](https://doi.org/10.1016/0144-8617(89)90020-9)
- Camesano, T.A., Wilkinson, K.J., 2001. Single Molecule Study of Xanthan Conformation Using Atomic Force Microscopy. *Biomacromolecules* 2, 1184–1191. <https://doi.org/10.1021/bm015555g>
- Capek, I., 2004. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science* 107, 125–155. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(03\)00115-5](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(03)00115-5)
- Capron, I., 1996. Traitement thermique des moûts de fermentation et organisation moléculaire du xanthane, conséquences rhéologiques (thesis). Rouen.
- Capron, I., Alexandre, S., Muller, G., 1998a. An atomic force microscopy study of the molecular organisation of xanthan. *Polymer* 39, 5725–5730. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(97\)10344-5](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(97)10344-5)
- Capron, I., Brigand, G., Muller, G., 1998b. Thermal denaturation and renaturation of a fermentation broth of xanthan: rheological consequences. *International Journal of Biological Macromolecules* 23, 215–225. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(98\)00050-6](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00050-6)
- Capron, I., Brigand, G., Muller, G., 1997. About the native and renatured conformation of xanthan exopolysaccharide. *Polymer* 38, 5289–5295. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(97\)00079-7](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(97)00079-7)
- Carey, F.A., 2000. *Organic Chemistry 4th Edition*, 4th Edition. ed. McGraw-Hill College, Boston, MA.
- Carnali, J.O., 1991. A dispersed anisotropic phase as the origin of the weak-gel properties of aqueous xanthan gum. *Journal of Applied Polymer Science* 43, 929–941. <https://doi.org/10.1002/app.1991.070430511>
- Carriere, C.J., Amis, E.J., Schrag, J.L., Ferry, J.D., 1993. Dilute-solution dynamic viscoelastic properties of xanthan polysaccharide. *Journal of Rheology* 37, 469–478. <https://doi.org/10.1122/1.550454>
- Chanamai, R., McClements, D. j., 2002. Comparison of Gum Arabic, Modified Starch, and Whey Protein Isolate as Emulsifiers: Influence of pH, CaCl₂ and Temperature. *Journal of Food Science* 67, 120–125. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11370.x>
- Chantrapornchai, W., Clydesdale, F., McClements, D.J., 1998. Influence of Droplet Size and Concentration on the Color of Oil-in-Water Emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 46, 2914–2920. <https://doi.org/10.1021/jf980278z>
- Charcosset, C., Limayem, I., Fessi, H., 2004. The membrane emulsification process—a review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 79, 209–218. <https://doi.org/10.1002/jctb.969>

- Charles, C., 2012. Création d'un site internet de conseils en dermocosmétologie du visage, chez l'adulte, destiné aux pharmaciens d'officine 217.
- Cheetham, N.W.H., Nik Norma, N.M., 1989. The effect of pyruvate on viscosity properties of xanthan. *Carbohydrate Polymers* 10, 55–60. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(89\)90031-3](https://doi.org/10.1016/0144-8617(89)90031-3)
- Chellat, F., Tabrizian, M., Dumitriu, S., Chornet, E., Magny, P., Rivard, C.-H., Yahia, L., 2000. In vitro and in vivo biocompatibility of chitosan-xanthan polyionic complex. *Journal of Biomedical Materials Research* 51, 107–116. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(200007\)51:1<107::AID-JBM14>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(200007)51:1<107::AID-JBM14>3.0.CO;2-F)
- Chen, H.-M., Fu, X., Luo, Z.-G., 2015. Esterification of sugar beet pectin using octenyl succinic anhydride and its effect as an emulsion stabilizer. *Food Hydrocolloids* 49, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.008>
- Chen, X., He, X., Huang, Q., 2014. Effects of hydrothermal pretreatment on subsequent octenylsuccinic anhydride (OSA) modification of cornstarch. *Carbohydrate Polymers* 101, 493–498. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.079>
- Choppe, E., Puaud, F., Nicolai, T., Benyahia, L., 2010. Rheology of xanthan solutions as a function of temperature, concentration and ionic strength. *Carbohydrate Polymers* 82, 1228–1235. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.056>
- Christensen, B.E., Myhr, M.H., Smidsrod, O., 1996. Degradation of double-stranded xanthan by hydrogen peroxide in the presence of ferrous ions: comparison to acid hydrolysis. *Carbohydrate Research* 280, 85–99. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(95\)00289-8](https://doi.org/10.1016/0008-6215(95)00289-8)
- Christensen, B.E., Smidsrod, O., 1996. Dependence of the content of unsubstituted (cellulosic) regions in prehydrolysed xanthans on the rate of hydrolysis by *Trichoderma reesei* endoglucanase. *International Journal of Biological Macromolecules* 18, 93–99. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(95\)01063-7](https://doi.org/10.1016/0141-8130(95)01063-7)
- Christensen, B.E., Smidsrod, O., 1991. Hydrolysis of xanthan in dilute acid: Effects on chemical composition, conformation, and intrinsic viscosity. *Carbohydrate Research* 214, 55–69. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90530-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90530-5)
- Christensen, B.E., Smidsroed, O., Elgsaeter, A., Stokke, B.T., 1993. Depolymerization of double-stranded xanthan by acid hydrolysis: characterization of partially degraded double strands and single-stranded oligomers released from the ordered structures. *Macromolecules* 26, 6111–6120. <https://doi.org/10.1021/ma00074a037>
- Colin-Henrion, M., 2008. De la pomme à la pomme transformée : impact du procédé sur deux composés d'intérêt nutritionnel.
- Cosmétovigilance : Bilan des effets indésirables déclarés à l'AFSSAPS en 2010 [WWW Document], 2010. URL https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:YwOvVpWLOJYJ:https://www.an.sm.sante.fr/content/download/34599/452493/version/1/file/Bilan_Cosmetovigilance_2010.pdf+&cd=2&hl=fr&ct=clnk&gl=fr&client=firefox-b-d (accessed 3.12.20).
- Coviello, T., Kajiwara, K., Burchard, W., Dentini, M., Crescenzi, V., 1986. Solution properties of xanthan. 1. Dynamic and static light scattering from native and modified xanthans in dilute solutions. *Macromolecules* 19, 2826–2831. <https://doi.org/10.1021/ma00165a027>
- Cserháti, T., Forgács, E., Oros, G., 2002. Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environment International* 28, 337–348. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(02\)00032-6](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(02)00032-6)
- Cui, S.W., 2001. Polysaccharide gums from agricultural products: processing, structures and functionality. *Polysaccharide gums from agricultural products: processing, structures and functionality*.
- Cuvelier, G., Launay, B., 1986. Concentration regimes in xanthan gum solutions deduced from flow and viscoelastic properties. *Carbohydrate Polymers* 6, 321–333. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(86\)90023-8](https://doi.org/10.1016/0144-8617(86)90023-8)

- de Sousa, B.F.S., Castellane, T.C.L., Campanharo, J.C., de Macedo Lemos, E.G., 2019. Rhizobium spp exopolysaccharides production and xanthan lyase use on its structural modification. *International Journal of Biological Macromolecules* 136, 424–435. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.077>
- Debele, T.A., Mekuria, S.L., Tsai, H.-C., 2016. Polysaccharide based nanogels in the drug delivery system: Application as the carrier of pharmaceutical agents. *Materials Science and Engineering: C* 68, 964–981. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.121>
- Dehghan, M.H., Girase, M., 2012. Freeze-dried Xanthan/Guar Gum Nasal Inserts for the Delivery of Metoclopramide Hydrochloride. *Iran J Pharm Res* 11, 513–521.
- Dentini, M., Crescenzi, V., Blasi, D., 1984. Conformational properties of xanthan derivatives in dilute aqueous solution. *International Journal of Biological Macromolecules* 6, 93–98. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(84\)90070-9](https://doi.org/10.1016/0141-8130(84)90070-9)
- Dickinson, E., 2019. Strategies to control and inhibit the flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids* 96, 209–223. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.021>
- Dickinson, E., 2018. Hydrocolloids acting as emulsifying agents – How do they do it? *Food Hydrocolloids, A Festschrift in honour of Professor Glyn O. Phillips at his 90th Birthday* 78, 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.025>
- Dickinson, E., 2010. Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 81, 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.06.033>
- Dickinson, E., 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids* 17, 25–39. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5)
- Dickinson, E., Golding, M., Povey, M.J.W., 1997. Creaming and Flocculation of Oil-in-Water Emulsions Containing Sodium Caseinate. *Journal of Colloid and Interface Science* 185, 515–529. <https://doi.org/10.1006/jcis.1996.4605>
- Dickinson, E., Ma, J., Povey, M.J.W., 1994. Creaming of concentrated oil-in-water emulsions containing xanthan. *Food Hydrocolloids* 8, 481–497. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80090-8](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80090-8)
- Dilbaghi, N., Ahuja, M., Bernela, M., Kumar, S., Bhardwaj, P., Kaur, H., 2020. Synthesis and characterization of novel amphiphilic tamarind seed xyloglucan-octenyl succinic anhydride conjugate. *J Polym Res* 27, 236. <https://doi.org/10.1007/s10965-020-02195-1>
- DIN 53015, 2019. Viscometry - Measurement of viscosity using the Hoesppler Falling-Ball Viscometer [WWW Document]. URL <https://www.en-standard.eu/din-53015-viscometry-measurement-of-viscosity-using-the-hoesppler-falling-ball-viscometer/> (accessed 9.28.22).
- Dintzis, F.R., Babcock, G.E., Tobin, R., 1970. Studies on dilute solutions and dispersion of the polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. *Carbohydrate Research* 13, 257–267. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)80832-0](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)80832-0)
- Dobrynin, A.V., Rubinstein, M., 2005. Theory of polyelectrolytes in solutions and at surfaces. *Progress in Polymer Science* 30, 1049–1118. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2005.07.006>
- Drakos, A., Kiosseoglou, V., 2008. Depletion flocculation effects in egg-based model salad dressing emulsions. *Food Hydrocolloids* 22, 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.11.003>
- Durand, A., Dellacherie, E., 2006. Neutral amphiphilic polysaccharides: chemical structure and emulsifying properties. *Colloid Polym Sci* 284, 536–545. <https://doi.org/10.1007/s00396-005-1430-2>
- Effet des détergents sur l'environnement [WWW Document], 2016. SPF Santé Publique. URL <https://www.health.belgium.be/fr/effet-des-detergents-sur-lenvironnement> (accessed 3.16.20).
- Ehrhardt, S., Begli, A.H., Kunz, M., Scheiwe, L., 1999. Aliphatic carboxylate esters of inulin. US5877144A.
- El-Sawy, N.M., Raafat, A.I., Badawy, N.A., Mohamed, A.M., 2020. Radiation development of pH-responsive (xanthan-acrylic acid)/MgO nanocomposite hydrogels for controlled delivery of

- methotrexate anticancer drug. *International Journal of Biological Macromolecules* 142, 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.097>
- Esquenet, C., 2003. Propriétés structurales et dynamiques des solutions de polyélectrolytes rigides et semi-rigides et de polysaccharides associatifs (thesis). Université Joseph Fourier (Grenoble).
- Esquenet, C., Buhler, E., 2002. Aggregation Behavior in Semidilute Rigid and Semirigid Polysaccharide Solutions. *Macromolecules* 35, 3708–3716. <https://doi.org/10.1021/ma012047q>
- Everett, D.H., Koopal, L.K., 2001. Definitions, Terminology and Symbols in Colloid and Surface Chemistry. IUPAC Council, Washington DC, USA.
- Fabra, M.J., Talens, P., Chiralt, A., 2008. Effect of alginate and λ -carrageenan on tensile properties and water vapour permeability of sodium caseinate–lipid based films. *Carbohydrate Polymers* 74, 419–426. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.03.010>
- Falkeborg, M., Guo, Z., 2015. Dodecyl succinylated alginate (DSA) as a novel dual-function emulsifier for improved fish oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids* 46, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.011>
- Falkeborg, M., Paitaid, P., Shu, A.N., Pérez, B., Guo, Z., 2015. Dodecyl succinylated alginate as a novel material for encapsulation and hyperactivation of lipases. *Carbohydrate Polymers* 133, 194–202. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.103>
- Fang, J.M., Fowler, P.A., Sayers, C., Williams, P.A., 2004. The chemical modification of a range of starches under aqueous reaction conditions. *Carbohydrate Polymers* 55, 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2003.10.003>
- Fantou, C., 2018. Synthèse et caractérisation de dérivés amphiphiles du xanthane : application à la stabilisation d'émulsions (thesis). Normandie.
- Fantou, C., Comesse, S., Renou, F., Grisel, M., 2019a. Impact of backbone stiffness and hydrophobic chain length of modified xanthan on oil in water emulsion stabilization. *Carbohydrate Polymers* 216, 352–359. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.079>
- Fantou, C., Comesse, S., Renou, F., Grisel, M., 2019b. Hydrophobically modified xanthan: Thickening and surface active agent for highly stable oil in water emulsions. *Carbohydrate Polymers* 205, 362–370. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.052>
- Fantou, C., Roy, A.N., Dé, E., Comesse, S., Grisel, M., Renou, F., 2017. Chemical modification of xanthan in the ordered and disordered states: An open route for tuning the physico-chemical properties. *Carbohydrate Polymers* 178, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.039>
- FDA, 1994. Code of Federal Regulations. Title 21, Chap. I, Part 172, food additives permitted in foods for human consumption, Section 172.892, food starch-modified. Washington, DC: U.S. Government Printing Office. [WWW Document]. URL <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=172.892> (accessed 10.20.22).
- Ferreira, A., Vecino, X., Ferreira, D., Cruz, J.M., Moldes, A.B., Rodrigues, L.R., 2017. Novel cosmetic formulations containing a biosurfactant from *Lactobacillus paracasei*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 155, 522–529. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.04.026>
- Fordham, S., Freeth, F.A., 1948. On the calculation of surface tension from measurements of pendant drops. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences* 194, 1–16. <https://doi.org/10.1098/rspa.1948.0063>
- Formulation, 2020. Turbiscan Tower User Guide 2.0.
- Foss, P., Stokke, B.T., Smidsrød, O., 1987. Thermal stability and chain conformational studies of xanthan at different ionic strengths. *Carbohydrate Polymers* 7, 421–433. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(87\)90010-5](https://doi.org/10.1016/0144-8617(87)90010-5)
- Frelichowska, J., 2009. Émulsions stabilisées par des particules solides: études physico-chimiques et évaluation pour l'application cutanée. (phdthesis). Université Claude Bernard - Lyon I.

- Gamini, A., de Bleijser, J., Leyte, J.C., 1991. Physico-chemical properties of aqueous solutions of xanthan: An n.m.r. study. *Carbohydrate Research* 220, 33–47. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(91\)80004-7](https://doi.org/10.1016/0008-6215(91)80004-7)
- García-Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J.A., Gómez, E., 2000. Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances* 18, 549–579. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(00\)00050-1](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00050-1)
- Garti, N., Reichman, D., 1994. Surface properties and emulsification activity of galactomannans. *Food Hydrocolloids* 8, 155–173. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80041-6](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80041-6)
- Gassin, P.-M., 2014. Mesure de la tension superficielle par la technique de la goutte pendante. *Bulletin de l'union des physiciens (BUP)* 963.
- Gennes, P.G. de, 1979. Brownian motions of flexible polymer chains. *Nature* 282, 367–370. <https://doi.org/10.1038/282367a0>
- González-Ochoa, H., Ibarra-Bracamontes, L., Arauz-Lara, J.L., 2003. Two-Stage Coalescence in Double Emulsions. *Langmuir* 19, 7837–7840. <https://doi.org/10.1021/la0349323>
- Guéguen, J., Popineau, Y., Anisimova, I.N., Fido, R.J., Shewry, P.R., Tatham, A.S., 1996. Functionality of the 2S Albumin Seed Storage Proteins from Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *J. Agric. Food Chem.* 44, 1184–1189. <https://doi.org/10.1021/jf950683f>
- Gunning, P.A., Hibberd, D.J., Howe, A.M., Robins, M.M., 1988. Gravitational destabilization of emulsions flocculated by non-adsorbed xanthan. *Food Hydrocolloids* 2, 119–129. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(88\)80010-9](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(88)80010-9)
- Guzey, D., McClements, D.J., 2006. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Adv Colloid Interface Sci* 128–130, 227–248. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.11.021>
- Hacche, L.S., Washington, G.E., Brant, D.A., 1987. Light-scattering investigation of the temperature-driven conformation change in xanthan. *Macromolecules* 20, 2179–2187. <https://doi.org/10.1021/ma00175a023>
- Hamcerencu, M., Desbrieres, J., Popa, M., Khoukh, A., Riess, G., 2007. New unsaturated derivatives of Xanthan gum: Synthesis and characterization. *Polymer* 48, 1921–1929. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2007.01.048>
- Han, L., Ratcliffe, I., Williams, P.A., 2017. Synthesis, characterisation and physicochemical properties of hydrophobically modified inulin using long-chain fatty acyl chlorides. *Carbohydrate Polymers* 178, 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.008>
- Hanno, I., Centini, M., Anselmi, C., Bibiani, C., 2015. Green Cosmetic Surfactant from Rice: Characterization and Application. *Cosmetics* 2, 322–341. <https://doi.org/10.3390/cosmetics2040322>
- Hatakenaka, K., Liu, W., Norisuye, T., 1987. Stability of xanthan in aqueous sodium chloride at elevated temperature. *International Journal of Biological Macromolecules* 9, 346–348. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(87\)90007-9](https://doi.org/10.1016/0141-8130(87)90007-9)
- Hayrabolulu, H., Demeter, M., Cutrubinis, M., Güven, O., Şen, M., 2018. Radiation induced degradation of xanthan gum in aqueous solution. *Radiation Physics and Chemistry* 144, 189–193. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2017.08.014>
- Hoffmann, W., 2016. Potential and restrictions of photocentrifugation for determining the emulsion stability of melted spreadable processed cheese. *Dairy Sci. & Technol.* 96, 251–259. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0252-3>
- Holzwarth, G., 1978. Molecular weight of xanthan polysaccharide. *Carbohydrate Research* 66, 173–186. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)83250-4](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)83250-4)
- Holzwarth, G., 1976. Conformation of the extracellular polysaccharide of *Xanthomonas campestris*. *Biochemistry* 15, 4333–4339. <https://doi.org/10.1021/bi00664a030>
- Holzwarth, G., Ogletree, J., 1979. Pyruvate-free xanthan. *Carbohydrate Research* 76, 277–280. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(79\)80030-0](https://doi.org/10.1016/0008-6215(79)80030-0)

- Hublik, G., 2012. Polymer Science: A Comprehensive Reference, in: Matyjaszewski, K., Möller, M. (Eds.), Polymer Science: A Comprehensive Reference. Elsevier, Amsterdam, pp. 221–229. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53349-4.00262-4>
- Hutin, A., 2019a. 2. Les Tensioactifs. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.34205.97763>
- Hutin, A., 2019b. 3. Mesure de la tension interfaciale à l'aide de la méthode de la goutte montante ou pendante. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25796.07046>
- Iijima, M., Shinozaki, M., Hatakeyama, T., Takahashi, M., Hatakeyama, H., 2007. AFM studies on gelation mechanism of xanthan gum hydrogels. *Carbohydrate Polymers* 68, 701–707. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.08.004>
- Iseki, T., Takahashi, M., Hattori, H., Hatakeyama, T., Hatakeyama, H., 2001. Viscoelastic properties of xanthan gum hydrogels annealed in the sol state. *Food Hydrocolloids, 5th International Hydrocolloids Conference 15*, 503–506. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00088-1](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00088-1)
- ISO 12058-1, 2018. Plastiques — Détermination de la viscosité au moyen d'un viscosimètre à chute de bille — Partie 1: Méthode du tube incliné [WWW Document]. URL <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:12058:-1:ed-2:v1:fr:fn:1> (accessed 9.28.22).
- Isusi, G.I.S., Weilandt, M., Majollari, I., P. Karbstein, H., Schaaf, U.S. van der, 2021. Emulsions stabilised with pectin-based microgels: investigations into the effect of pH and ionic strength on emulsion stability. *Food & Function* 12, 7227–7238. <https://doi.org/10.1039/D1FO00891A>
- Jampala, S.N., Manolache, S., Gunasekaran, S., Denes, F.S., 2005. Plasma-Enhanced Modification of Xanthan Gum and Its Effect on Rheological Properties. *J. Agric. Food Chem.* 53, 3618–3625. <https://doi.org/10.1021/jf0479113>
- Jeanes, A., Pittsley, J.E., Senti, F.R., 1961. Polysaccharide B-1459: A new hydrocolloid polyelectrolyte produced from glucose by bacterial fermentation. *Journal of Applied Polymer Science* 5, 519–526. <https://doi.org/10.1002/app.1961.070051704>
- Jeanes, A., Rogovin, P., Cadmus, M.C., Silman, R.W., Knutson, C.A., 1976. Polysaccharide (Xanthan) of *Xanthomonas Campetris* NRRL B-1459 Procedures Of Culture Maintenance And Polysaccharide Production, Purification, And Analysis, U.S. Department Of Agriculture. ed.
- Jeon, Y.-S., Lowell, A.V., Gross, R.A., 1999. Studies of Starch Esterification: Reactions with Alkenylsuccinates in Aqueous Slurry Systems. *Starch - Stärke* 51, 90–93. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-379X\(199903\)51:2<90::AID-STAR90>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-379X(199903)51:2<90::AID-STAR90>3.0.CO;2-M)
- Jernelv, I.L., Milenko, K., Fuglerud, S.S., Hjelle, D.R., Ellingsen, R., Aksnes, A., 2019. A review of optical methods for continuous glucose monitoring. *Applied Spectroscopy Reviews* 54, 543–572. <https://doi.org/10.1080/05704928.2018.1486324>
- Johnson, A.C., Donnachie, R.L., Sumpter, J.P., Jürgens, M.D., Moeckel, C., Pereira, M.G., 2017. An alternative approach to risk rank chemicals on the threat they pose to the aquatic environment. *Sci. Total Environ.* 599–600, 1372–1381. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.039>
- Jones, S.A., Goodall, D.M., Cutler, A.N., Norton, I.T., 1987. Application of conductivity studies and polyelectrolyte theory to the conformation and order-disorder transition of xanthan polysaccharide. *Eur Biophys J* 15, 185–191. <https://doi.org/10.1007/BF00263683>
- Juris, S., Mueller, A., Smith, B., Johnston, S., Walker, R., Kross, R., 2011. Biodegradable Polysaccharide Gels for Skin Scaffolds. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* 02, 216. <https://doi.org/10.4236/jbnb.2011.23027>
- Kabalnov, A., 2001. Ostwald Ripening and Related Phenomena. *Journal of Dispersion Science and Technology* 22, 1–12. <https://doi.org/10.1081/DIS-100102675>
- Kabalnov, A., 1998. Thermodynamic and theoretical aspects of emulsions and their stability. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 3, 270–275. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(98\)80071-X](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(98)80071-X)
- Kadokawa, J., 2012. Synthesis of Amylose-Grafted Polysaccharide Materials by Phosphorylase-Catalyzed Enzymatic Polymerization, in: *Biobased Monomers, Polymers, and Materials*, ACS

- Symposium Series. American Chemical Society, pp. 237–255. <https://doi.org/10.1021/bk-2012-1105.ch015>
- Kalliola, S., Repo, E., Srivastava, V., Zhao, F., Heiskanen, J.P., Sirviö, J.A., Liimatainen, H., Sillanpää, M., 2018. Carboxymethyl Chitosan and Its Hydrophobically Modified Derivative as pH-Switchable Emulsifiers. *Langmuir* 34, 2800–2806. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b03959>
- Kastler, B., Vetter, D., 2018. Comprendre l'IRM, Chapitre 1 : Magnétisme nucléaire, 8th ed. Elsevier Masson.
- Kawakami, K., Okabe, Y., Norisuye, T., 1990. Dissociation of dimerized xanthan in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers* 14, 189–203. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(90\)90030-V](https://doi.org/10.1016/0144-8617(90)90030-V)
- Kerbirio, L., 2018. L'avenir des cosmétiques certifiés bio en France 125.
- Khan, A.Y., Talegaonkar, S., Iqbal, Z., Ahmed, F.J., Khar, R.K., 2006. Multiple emulsions: an overview. *Curr Drug Deliv* 3, 429–443. <https://doi.org/10.2174/156720106778559056>
- Khouryieh, H.A., Herald, T.J., Aramouni, F., Alavi, S., 2007. Intrinsic viscosity and viscoelastic properties of xanthan/guar mixtures in dilute solutions: Effect of salt concentration on the polymer interactions. *Food Research International* 40, 883–893. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.03.001>
- Klojďová, I., Štětina, J., Horáčková, Š., 2019. W/O/W Multiple Emulsions as the Functional Component of Dairy Products. *Chemical Engineering & Technology* 42, 715–727. <https://doi.org/10.1002/ceat.201800586>
- Kokubun, S., Ratcliffe, I., Williams, P.A., 2018. The interfacial, emulsification and encapsulation properties of hydrophobically modified inulin. *Carbohydrate Polymers* 194, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.018>
- Kokubun, S., Ratcliffe, I., Williams, P.A., 2013. Synthesis, Characterization and Self-Assembly of Biosurfactants Based on Hydrophobically Modified Inulins. *Biomacromolecules* 14, 2830–2836. <https://doi.org/10.1021/bm4006529>
- Kool, M.M., Gruppen, H., Sworn, G., Schols, H.A., 2014a. The influence of the six constituent xanthan repeating units on the order–disorder transition of xanthan. *Carbohydrate Polymers* 104, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.073>
- Kool, M.M., Schols, H.A., Delahaije, R.J.B.M., Sworn, G., Wierenga, P.A., Gruppen, H., 2013. The influence of the primary and secondary xanthan structure on the enzymatic hydrolysis of the xanthan backbone. *Carbohydrate Polymers* 97, 368–375. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.045>
- Kool, M.M., Schols, H.A., Wagenknecht, M., Hinz, S.W.A., Moerschbacher, B.M., Gruppen, H., 2014b. Characterization of an acetyl esterase from *Myceliophthora thermophila* C1 able to deacetylate xanthan. *Carbohydrate Polymers* 111, 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.064>
- Koop, H.S., Da-lozzo, E.J., de Freitas, R.A., Franco, C.R.C., Mitchell, D.A., Silveira, J.L.M., 2012. Rheological Characterization of a Xanthan–Galactomannan Hydrogel Loaded with Lipophilic Substances. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 101, 2457–2467. <https://doi.org/10.1002/jps.23178>
- Kralova, I., Sjöblom, J., 2009. Surfactants Used in Food Industry: A Review. *Journal of Dispersion Science and Technology* 30, 1363–1383. <https://doi.org/10.1080/01932690902735561>
- Krstonošić, V., Dokić, L., Dokić, P., Dapčević, T., 2009. Effects of xanthan gum on physicochemical properties and stability of corn oil-in-water emulsions stabilized by polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate. *Food Hydrocolloids* 23, 2212–2218.
- Krstonošić, V., Milanović, M., Dokić, L., 2019. Application of different techniques in the determination of xanthan gum-SDS and xanthan gum-Tween 80 interaction. *Food Hydrocolloids* 87, 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.040>
- Kumar, A., Deepak, Sharma, S., Srivastava, A., Kumar, R., 2017. Synthesis of xanthan gum graft copolymer and its application for controlled release of highly water soluble Levofloxacin drug

- in aqueous medium. *Carbohydrate Polymers* 171, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.05.010>
- Kumar, A., Rao, K.M., Han, S.S., 2018. Application of xanthan gum as polysaccharide in tissue engineering: A review. *Carbohydrate Polymers* 180, 128–144. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.009>
- Lagoueyte, N., Paquin, P., 1998. Effects of microfluidization on the functional properties of xanthan gum. *Food Hydrocolloids* 12, 365–371. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(98\)00004-6](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(98)00004-6)
- Lan, J., Chen, Z., Lin, J., Yin, G., 2014. Catalytic aerobic oxidation of renewable furfural to maleic anhydride and furanone derivatives with their mechanistic studies. *Green Chem.* 16, 4351–4358. <https://doi.org/10.1039/C4GC00829D>
- Landoll, L.M., 1982. Nonionic polymer surfactants. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition* 20, 443–455. <https://doi.org/10.1002/pol.1982.170200218>
- Langevin, D., 2019. Coalescence in foams and emulsions: Similarities and differences. *Current Opinion in Colloid & Interface Science, Memorial Volume* 44, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.09.001>
- Larpent, C., 1995. Tensioactifs [WWW Document]. *Techniques de l'Ingénieur*. URL <http://www.techniques.ingenieur.fr/base-documentaire/sciences-fondamentales-th8/constantes-chimiques-des-solvants-et-produits-42337210/tensioactifs-k342/> (accessed 10.23.22).
- Launay, B., Cuvelier, G., Martinez-Reyes, S., 1997. Viscosity of locust bean, guar and xanthan gum solutions in the Newtonian domain: a critical examination of the $\log(\eta_{sp})_0 - \log c[\eta]_0$ master curves. *Carbohydrate Polymers* 34, 385–395. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(97\)00104-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(97)00104-5)
- Launay, B., Doublier, J.L., Cuvelier, G., 1998. Launay, B.; Doublier, J. L.; Cuvelier, G., Flow properties of aqueous solutions and dispersions of polysaccharides. In *Functional Properties of Food Macromolecules*, Hill, S. E.; Mitchell, J. R.; Ledward, D. A., 2nd ed. Springer US.
- Laurienzo, P., 2010. Marine Polysaccharides in Pharmaceutical Applications: An Overview. *Marine Drugs* 8, 2435–2465. <https://doi.org/10.3390/md8092435>
- Leal-Calderon, F., Gerhardi, B., Espert, A., Brossard, F., Alard, V., Tranchant, J.F., Stora, T., Bibette, J., 1996. Aggregation Phenomena in Water-in-Oil Emulsions. *Langmuir* 12, 872–874. <https://doi.org/10.1021/la950615n>
- Lecourtier, J., Chauveteau, G., Muller, G., 1986. Salt-induced extension and dissociation of a native double-stranded xanthan. *International Journal of Biological Macromolecules* 8, 306–310. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(86\)90045-0](https://doi.org/10.1016/0141-8130(86)90045-0)
- Lee, H.-C., Brant, D.A., 2002. Rheology of Concentrated Isotropic and Anisotropic Xanthan Solutions: 3. Temperature Dependence. *Biomacromolecules* 3, 742–753. <https://doi.org/10.1021/bm025510v>
- Legrand, J., 2013. *Émulsions alimentaires et foisonnement: théorie et applications*, Librairie Lavoisier. ed, Génie des procédés Recherche, technologie, applications. Hermes science publ., Paris.
- Li, B., Guo, J., Chen, W., Chen, X., Chen, L., Liu, Z., Li, X., 2009. Endoxanthanase, a Novel β -d-Glucanase Hydrolyzing Backbone Linkage of Intact Xanthan from Newly Isolated Microbacterium sp. XT11. *Appl Biochem Biotechnol* 159, 24–32. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8439-1>
- Li, R., Feke, D.L., 2015. Rheological and kinetic study of the ultrasonic degradation of xanthan gum in aqueous solutions. *Food Chemistry* 172, 808–813. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.133>
- Li, X., Ko, J., Zhang, Y., 2018. Highly Efficient Gas-Phase Oxidation of Renewable Furfural to Maleic Anhydride over Plate Vanadium Phosphorus Oxide Catalyst. *ChemSusChem* 11, 612–618. <https://doi.org/10.1002/cssc.201701866>
- Li, Y., Hu, M., Xiao, H., Du, Y., Decker, E.A., McClements, D.J., 2010. Controlling the functional performance of emulsion-based delivery systems using multi-component biopolymer coatings.

- European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 76, 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.05.004>
- Liu, W., Sato, T., Norisuye, T., Fujita, H., 1987. Thermally induced conformational change of xanthan in 0.01M aqueous sodium chloride. Carbohydrate Research 160, 267–281. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(87\)80317-8](https://doi.org/10.1016/0008-6215(87)80317-8)
- Liwerska-Bizukojc, E., Miksch, K., Malachowska-Jutz, A., Kalka, J., 2005. Acute toxicity and genotoxicity of five selected anionic and nonionic surfactants. Chemosphere 58, 1249–1253. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.031>
- Lu, Y., Kang, W., Jiang, J., Chen, J., Xu, D., Zhang, P., Zhang, L., Feng, H., Wu, H., 2017. Study on the stabilization mechanism of crude oil emulsion with an amphiphilic polymer using the β -cyclodextrin inclusion method. RSC Adv. 7, 8156–8166. <https://doi.org/10.1039/C6RA28528G>
- Lund, T., Lecourtier, J., Müller, G., 1990. Properties of xanthan solutions after long-term heat treatment at 90°C. Polymer Degradation and Stability 27, 211–225. [https://doi.org/10.1016/0141-3910\(90\)90110-S](https://doi.org/10.1016/0141-3910(90)90110-S)
- Luo, M., Qi, X., Ren, T., Huang, Y., Keller, A.A., Wang, H., Wu, B., Jin, H., Li, F., 2017. Heteroaggregation of CeO₂ and TiO₂ engineered nanoparticles in the aqueous phase: Application of turbiscan stability index and fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectra. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 533, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.08.014>
- Luo, Y., Kirker, K.R., Prestwich, G.D., 2000. Cross-linked hyaluronic acid hydrogel films: new biomaterials for drug delivery. Journal of Controlled Release 69, 169–184. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(00\)00300-X](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(00)00300-X)
- Lutz, R., Aserin, A., Wicker, L., Garti, N., 2009. Double emulsions stabilized by a charged complex of modified pectin and whey protein isolate. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 72, 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.03.024>
- Maffi, J.M., Meira, G.R., Estenoz, D.A., 2021. Mechanisms and conditions that affect phase inversion processes: A review. The Canadian Journal of Chemical Engineering 99, 178–208. <https://doi.org/10.1002/cjce.23853>
- Makhado, E., Pandey, S., Ramontja, J., 2019. Microwave-assisted green synthesis of xanthan gum grafted diethylamino ethyl methacrylate: An efficient adsorption of hexavalent chromium. Carbohydrate Polymers 222, 114989. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114989>
- Matsuda, Y., Biyajima, Y., Sato, T., 2009. Thermal Denaturation, Renaturation, and Aggregation of a Double-Helical Polysaccharide Xanthan in Aqueous Solution. Polym J 41, 526–532. <https://doi.org/10.1295/polymj.PJ2008300>
- Mendes, A.C., Baran, E.T., Nunes, C., Coimbra, M.A., Azevedo, H.S., Reis, R.L., 2011. Palmitoylation of xanthan polysaccharide for self-assembly microcapsule formation and encapsulation of cells in physiological conditions. Soft Matter 7, 9647. <https://doi.org/10.1039/c1sm05594a>
- Mengual, O., Meunier, G., Cayré, I., Puech, K., Snabre, P., 1999. TURBISCAN MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. Talanta 50, 445–456. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(99\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(99)00129-0)
- Meyer, E.L., Fuller, G.G., Clark, R.C., Kulicke, W.M., 1993. Investigation of xanthan gum solution behavior under shear flow using rheoptical techniques. Macromolecules 26, 504–511. <https://doi.org/10.1021/ma00055a016>
- Mezger, T., 2021. Applied Rheology – Avec Joe Flow sur le chemin de la rhéologie : Anton-Paar.com, 8th ed. Anton Paar GmbH, Graz.
- Milas, M., Reed, W.F., Printz, S., 1996. Conformations and flexibility of native and re-natured xanthan in aqueous solutions. International Journal of Biological Macromolecules 18, 211–221. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(95\)01080-7](https://doi.org/10.1016/0141-8130(95)01080-7)

- Milas, M., Rinaudo, M., 1986. Properties of xanthan gum in aqueous solutions: Role of the conformational transition. *Carbohydrate Research* 158, 191–204. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(86\)84017-4](https://doi.org/10.1016/0008-6215(86)84017-4)
- Milas, M., Rinaudo, M., 1981. Investigation on Conformational Properties of Xanthan in Aqueous Solutions, in: *Solution Properties of Polysaccharides*, ACS Symposium Series. AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, pp. 25–30. <https://doi.org/10.1021/bk-1981-0150.ch003>
- Milas, M., Rinaudo, M., 1979. Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan. *Carbohydrate Research* 76, 189–196. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(79\)80017-8](https://doi.org/10.1016/0008-6215(79)80017-8)
- Milas, M., Rinaudo, M., Duplessix, R., Borsali, R., Lindner, P., 1995. Small Angle Neutron Scattering from Polyelectrolyte Solutions: From Disordered to Ordered Xanthan Chain Conformation. *Macromolecules* 28, 3119–3124. <https://doi.org/10.1021/ma00113a014>
- Milas, M., Rinaudo, M., Knipper, M., Schuppiser, J.L., 1990. Flow and viscoelastic properties of xanthan gum solutions. *Macromolecules* 23, 2506–2511. <https://doi.org/10.1021/ma00211a018>
- Milas, M., Rinaudo, M., Tinland, B., 1985. The viscosity dependence on concentration, molecular weight and shear rate of xanthan solutions. *Polymer Bulletin* 14, 157–164. <https://doi.org/10.1007/BF00708475>
- Milas, M., Rinaudo, M., Tinland, B., de Murcia, G., 1988. Evidence for a single stranded xanthan chain by electron microscopy. *Polymer Bulletin* 19, 567–572. <https://doi.org/10.1007/BF00283103>
- Modarres-Gheisari, S.M.M., Gavagsaz-Ghoachani, R., Malaki, M., Safarpour, P., Zandi, M., 2019. Ultrasonic nano-emulsification – A review. *Ultrasonics Sonochemistry* 52, 88–105. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.11.005>
- Moffat, J., Morris, V.J., Al-Assaf, S., Gunning, A.P., 2016. Visualisation of xanthan conformation by atomic force microscopy. *Carbohydrate Polymers* 148, 380–389. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.078>
- Moorhouse, R., Walkinshaw, M.D., Arnott, S., 1977. Xanthan Gum—Molecular Conformation and Interactions, in: *Extracellular Microbial Polysaccharides*, ACS Symposium Series. American Chemical Society, pp. 90–102. <https://doi.org/10.1021/bk-1977-0045.ch007>
- Morris, E.R., 2019. Ordered conformation of xanthan in solutions and “weak gels”: Single helix, double helix – or both? *Food Hydrocolloids, Gums and Stabilisers* 86, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.036>
- Morris, E.R., Cutler, A.N., Ross-Murphy, S.B., Rees, D.A., Price, J., 1981. Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharide solutions. *Carbohydrate Polymers* 1, 5–21. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(81\)90011-4](https://doi.org/10.1016/0144-8617(81)90011-4)
- Morris, E.R., Rees, D.A., Young, G., Walkinshaw, M.D., Darke, A., 1977. Order-disorder transition for a bacterial polysaccharide in solution. A role for polysaccharide conformation in recognition between *Xanthomonas* pathogen and its plant host. *Journal of Molecular Biology* 110, 1–16. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(77\)80095-8](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(77)80095-8)
- Morris, V.J., 2006. *Bacterial Polysaccharides*. In *Food Polysaccharides and Their Applications* Stephen, A.M. Phillips, G. O., Second Edition. ed. Taylor & Francis Group. <https://doi.org/10.1201/9781420015164>
- Morros, J., Leveck, B., Infante, M.R., 2011. Hydrophobically modified inulin from alkenyl succinic anhydride in aqueous media. *Carbohydrate Polymers* 84, 1110–1116. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.077>
- Muhammad, D.R.A., Sedaghat Doost, A., Gupta, V., bin Sintang, M.D., Van de Walle, D., Van der Meeren, P., Dewettinck, K., 2020. Stability and functionality of xanthan gum–shellac nanoparticles for the encapsulation of cinnamon bark extract. *Food Hydrocolloids* 100, 105377. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105377>
- Muller, G., Aurhourache, M., Lecourtier, J., Chauveteau, G., 1986. Salt dependence of the conformation of a single-stranded xanthan. *International Journal of Biological Macromolecules* 8, 167–172. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(86\)90021-8](https://doi.org/10.1016/0141-8130(86)90021-8)

- Muller, G., Lecourtier, J., 1988. Temperature-induced extension and dissociation of native xanthan. *Carbohydrate Polymers* 9, 213–225. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(88\)90026-4](https://doi.org/10.1016/0144-8617(88)90026-4)
- Muller, G., Lecourtier, J., Chauveteau, G., Allain, C., 1984. Conformation of the xanthan molecule in an ordered structure. *Die Makromolekulare Chemie, Rapid Communications* 5, 203–208. <https://doi.org/10.1002/marc.1984.030050404>
- Netzsch, 2021. White Paper_A_Basic_Introduction_to_Rheology.pdf [WWW Document]. NETZSCH-Gerätebau GmbH. URL https://analyzing-testing.netzsch.com/_Resources/Persistent/6/b/3/4/6b34154e1f16c2b8198c1f4a6fa3ac2cd2ce0eb9/WP_A_Basic_Introduction_to_Rheology.pdf (accessed 8.29.22).
- Norton, I.T., Goodall, D.M., Frangou, S.A., Morris, E.R., Rees, D.A., 1984. Mechanism and dynamics of conformational ordering in xanthan polysaccharide. *Journal of Molecular Biology* 175, 371–394. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(84\)90354-1](https://doi.org/10.1016/0022-2836(84)90354-1)
- Okuyama, K., Arnott, S., Moorhouse, R., Walkinshaw, M.D., Atkins, E.D.T., Wolf-Ullish, CH., 1980. Fiber Diffraction Studies of Bacterial Polysaccharides, in: *Fiber Diffraction Methods*, ACS Symposium Series. American Chemical Society, pp. 411–427. <https://doi.org/10.1021/bk-1980-0141.ch026>
- Olkowska, E., Polkowska, Ż., Namieśnik, J., 2011. Analytics of Surfactants in the Environment: Problems and Challenges. *Chem. Rev.* 111, 5667–5700. <https://doi.org/10.1021/cr100107g>
- Omar-Aziz, M., Yarmand, M.S., Khodaiyan, F., Mousavi, M., Gharaghani, M., Kennedy, J.F., Hosseini, S.S., 2020. Chemical modification of pullulan exopolysaccharide by octenyl succinic anhydride: Optimization, physicochemical, structural and functional properties. *International Journal of Biological Macromolecules* 164, 3485–3495. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.158>
- Ong, E.E.S., O'Byrne, S., Liow, J.-L., 2018. Molecular dynamics study on the structural and dynamic properties of xanthan gum in a dilute solution under the effect of temperature. *AIP Conference Proceedings* 1954, 030008. <https://doi.org/10.1063/1.5033388>
- Oviatt, H.W., Brant, D.A., 1994. Viscoelastic Behavior of Thermally Treated Aqueous Xanthan Solutions in the Semidilute Concentration Regime. *Macromolecules* 27, 2402–2408. <https://doi.org/10.1021/ma00087a007>
- Padil, V.V.T., Nguyen, N.H.A., Rožek, Z., Ševců, A., Černík, M., 2015a. Synthesis, fabrication and antibacterial properties of a plasma modified electrospun membrane consisting of gum Kondagogu, dodecyl succinic anhydride and poly (vinyl alcohol). *Surface and Coatings Technology*, 2014 International Conference on Surfaces, Coatings and Nanostructured Materials (NANOSMAT) - Europe 271, 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2015.01.035>
- Padil, V.V.T., Senan, C., Černík, M., 2015b. Dodecylsuccinic Anhydride Derivatives of Gum Karaya (*Sterculia urens*): Preparation, Characterization, and Their Antibacterial Properties. *J. Agric. Food Chem.* 63, 3757–3765. <https://doi.org/10.1021/jf505783e>
- Palaniraj, A., Jayaraman, V., 2011. Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Food Engineering* 106, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.035>
- Paoletti, S., Cesàro, A., Delben, F., 1983. Thermally induced conformational transition of xanthan polyelectrolyte. *Carbohydrate Research* 123, 173–178. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(83\)88394-3](https://doi.org/10.1016/0008-6215(83)88394-3)
- Paradossi, G., Brant, D.A., 2002. Light scattering study of a series of xanthan fractions in aqueous solution [WWW Document]. <https://doi.org/10.1021/ma00231a035>
- Paradossi, G., Brant, D.A., 1982. Light scattering study of a series of xanthan fractions in aqueous solution. *Macromolecules* 15, 874–879. <https://doi.org/10.1021/ma00231a035>
- Pearce, K.N., Kinsella, J.E., 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.* 26, 716–723. <https://doi.org/10.1021/jf60217a041>

- Pelletier, E., Viebke, C., Meadows, J., Williams, P.A., 2001. A rheological study of the order–disorder conformational transition of xanthan gum. *Biopolymers* 59, 339–346. [https://doi.org/10.1002/1097-0282\(20011015\)59:5<339::AID-BIP1031>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1097-0282(20011015)59:5<339::AID-BIP1031>3.0.CO;2-A)
- Perazzo, A., Preziosi, V., Guido, S., 2015. Phase inversion emulsification: Current understanding and applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, Reinhard Miller, Honorary Issue 222, 581–599. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.01.001>
- Pereira, M.C., Wyn-Jones, E., Morris, E.R., Ross-Murphy, S.B., 1982. Characterisation of interchain association in polysaccharide solutions by ultrasonic relaxation and velocity. *Carbohydrate Polymers* 2, 103–113. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(82\)90056-X](https://doi.org/10.1016/0144-8617(82)90056-X)
- Perrin, P., Hourdet, D., 1997. Polymères en solution [WWW Document]. Ref : TIP100WEB - “Plastiques et composites.” URL <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/materiaux-th11/plastochimie-et-analyse-physico-chimique-42139210/polymeres-en-solution-a3050/> (accessed 4.20.20).
- Petri, D.F.S., 2015. Xanthan gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications. *Journal of Applied Polymer Science* 132. <https://doi.org/10.1002/app.42035>
- Pickering, S.U., 1907. CXCVI.—Emulsions. *J. Chem. Soc., Trans.* 91, 2001–2021. <https://doi.org/10.1039/CT9079102001>
- Pinto, E.P., Furlan, L., Vendruscolo, C.T., 2011. Chemical deacetylation natural xanthan (Jungbunzlauer®). *Polímeros* 21, 47–52. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282011005000005>
- Piotto, M., Saudek, V., Sklenář, V., 1992. Gradient-tailored excitation for single-quantum NMR spectroscopy of aqueous solutions. *J Biomol NMR* 2, 661–665. <https://doi.org/10.1007/BF02192855>
- Plate, S., Diekmann, S., Steinhäuser, U., Drusch, S., 2012. Determination of the degree of substitution of hydrolysed octenylsuccinate-derivatised starch. *LWT - Food Science and Technology* 46, 580–582. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.014>
- Poliakoff, M., Fitzpatrick, J.M., Farren, T.R., Anastas, P.T., 2002. Green Chemistry: Science and Politics of Change. *Science* 297, 807–810. <https://doi.org/10.1126/science.297.5582.807>
- Poux, M., Canselier, J.-P., 2004. Procédés d’émulsification [WWW Document]. *Techniques de l’Ingénieur*. URL <http://www.techniques.ingenieur.fr/base-documentaire/42489210-principes-de-formulation/download/j2153/procedes-d-emulsification.html> (accessed 10.29.22).
- Protonotariou, S., Evageliou, V., Yanniotis, S., Mandala, I., 2013. The influence of different stabilizers and salt addition on the stability of model emulsions containing olive or sesame oil. *Journal of Food Engineering* 117, 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.044>
- Quan, H., Hu, Y., Huang, Z., Wenmeng, D., 2019. Preparation and property evaluation of a hydrophobically modified xanthan gum XG-C16. *Journal of Dispersion Science and Technology* 0, 1–11. <https://doi.org/10.1080/01932691.2019.1610425>
- Queimada, A.J., Quiñones-Cisneros, S.E., Marrucho, I.M., Coutinho, J.A.P., Stenby, E.H., 2003. Viscosity and Liquid Density of Asymmetric Hydrocarbon Mixtures. *International Journal of Thermophysics* 24, 1221–1239. <https://doi.org/10.1023/A:1026142932619>
- Quesada, J., Morard, M., Vaca-García, C., Borredon, E., 2003. Preparation of alkenyl succinic anhydrides from vegetable oil FAME. *Journal of the American Oil Chemists’ Society* 80, 281–286. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0690-4>
- Ramaswamy, R., Achary, P.S., Shine, K.G., 1987. Some aspects on the synthesis and characterization of dodecyl succinic anhydride (DDSA)—a curing agent for epoxy resins. *Journal of Applied Polymer Science* 33, 49–65. <https://doi.org/10.1002/app.1987.070330105>
- Ramsden, W., Gotch, F., 1904. Separation of solids in the surface-layers of solutions and ‘suspensions’ (observations on surface-membranes, bubbles, emulsions, and mechanical coagulation).—Preliminary account. *Proceedings of the Royal Society of London* 72, 156–164. <https://doi.org/10.1098/rspl.1903.0034>

- Ray, S., Banerjee, S., Maiti, S., Laha, B., Barik, S., Sa, B., Bhattacharyya, U.K., 2010. Novel interpenetrating network microspheres of xanthan gum–poly(vinyl alcohol) for the delivery of diclofenac sodium to the intestine—in vitro and in vivo evaluation. *Drug Delivery* 17, 508–519. <https://doi.org/10.3109/10717544.2010.483256>
- Regulation (EC) No 764/2008 of the European Parliament and of the Council, 2009. , in: *Core EU Legislation*. Macmillan Education UK, London, pp. 183–186. https://doi.org/10.1007/978-1-137-54482-7_19
- Ren, L., Dong, Z., Jiang, M., Tong, J., Zhou, J., 2014. Hydrophobization of starch nanocrystals through esterification in green media. *Industrial Crops and Products* 59, 115–118. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.014>
- Renault, B., Portella, C., Marinkovic, S., Estrine, B., 2012. Synthesis and Surface Properties of Succinic Acid End-Capped Alkyl-Polyxylosides. *Journal of Surfactants and Detergents* 15, 191–198. <https://doi.org/10.1007/s11743-011-1298-8>
- Renou, F., Petibon, O., Malhiac, C., Grisel, M., 2013. Effect of xanthan structure on its interaction with locust bean gum: Toward prediction of rheological properties. *Food Hydrocolloids* 32, 331–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.012>
- Riaz, T., Iqbal, M.W., Jiang, B., Chen, J., 2021. A review of the enzymatic, physical, and chemical modification techniques of xanthan gum. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.196>
- Richardson, R.K., Ross-Murphy, S.B., 1987. Non-linear viscoelasticity of polysaccharide solutions. 2: Xanthan polysaccharide solutions. *International Journal of Biological Macromolecules* 9, 257–264. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(87\)90063-8](https://doi.org/10.1016/0141-8130(87)90063-8)
- Rinaudo, M., Milas, M., 1980. Enzymic hydrolysis of the bacterial polysaccharide xanthan by cellulase. *International Journal of Biological Macromolecules* 2, 45–48. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(80\)90009-4](https://doi.org/10.1016/0141-8130(80)90009-4)
- Rinaudo, M., Milas, M., Lambert, F., Vincendon, M., 1983. Proton and carbon-13 NMR investigation of xanthan gum. *Macromolecules* 16, 816–819. <https://doi.org/10.1021/ma00239a018>
- Robins, M.M., 2000. Emulsions — creaming phenomena. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 5, 265–272. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(00\)00065-0](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(00)00065-0)
- Robinson, G., Ross-Murphy, S.B., Morris, E.R., 1982. Viscosity-molecular weight relationships, intrinsic chain flexibility, and dynamic solution properties of guar galactomannan. *Carbohydrate Research* 107, 17–32. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)80772-7](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)80772-7)
- Rochefort, W.E., Middleman, S., 1987. Rheology of Xanthan Gum: Salt, Temperature, and Strain Effects in Oscillatory and Steady Shear Experiments. *Journal of Rheology* 31, 337–369. <https://doi.org/10.1122/1.549953>
- Rodd, A.B., Dunstan, D.E., Boger, D.V., 2000. Characterisation of xanthan gum solutions using dynamic light scattering and rheology. *Carbohydrate Polymers* 42, 159–174. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00156-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00156-3)
- Rotureau, E., Leonard, M., Marie, E., Dellacherie, E., Camesano, T.A., Durand, A., 2006. From polymeric surfactants to colloidal systems (1): Amphiphilic dextrans for emulsion preparation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, Papers from “Formula IV: Frontiers in Formulation Science”*, an International conference organised by the RSC, held in London, July 4-7th 2005 288, 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.01.044>
- Rouzes, C., Durand, A., Leonard, M., Dellacherie, E., 2002. Surface Activity and Emulsification Properties of Hydrophobically Modified Dextrans. *Journal of Colloid and Interface Science* 253, 217–223. <https://doi.org/10.1006/jcis.2002.8357>
- Roy, A., 2015. Synthèse et caractérisation de dérivés amphiphiles du xanthane (thesis). Le Havre.
- Roy, A., Comesse, S., Grisel, M., Hucher, N., Souguir, Z., Renou, F., 2014. Hydrophobically Modified Xanthan: An Amphiphilic but Not Associative Polymer. *Biomacromolecules* 15, 1160–1170. <https://doi.org/10.1021/bm4017034>

- Roy, A.N., Benyahia, L., Grisel, M., Renou, F., 2016. Shear interfacial viscoelasticity of native and hydrophobically modified xanthan at oil/water interface. *Food Hydrocolloids* 61, 887–894. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.07.016>
- Salager, J.-L., 2002. SURFACTANTS Types and Uses. FIRP, UNIVERSIDAD DE LOS ANDES-Mérida-Venezuela.
- Salager, J.-L., 1988. Phase Transformation and Emulsion Inversion on the Basis of Catastrophe Theory. *ENCYCLOPEDIA OF EMULSION TECHNOLOGY* 3, 57.
- Salager, J.-L., Anton, R., ANDÉREZ, J.M., Aubry, J.-M., 2001. Formulation des microémulsions par la méthode du HLD [WWW Document]. *Techniques de l'Ingénieur*. URL <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/principes-de-formulation-42489210/formulation-des-microemulsions-par-la-methode-du-hld-j2157/> (accessed 8.20.22).
- Salager, J.-L., Anton, R., Aubry, J.-M., 2006. Formulation des émulsions par la méthode du HLD. *Formulation*. <https://doi.org/10.51257/a-v1-j2158>
- Saleh, H.M., Annuar, M.S.M., Simarani, K., 2017. Ultrasound degradation of xanthan polymer in aqueous solution: Its scission mechanism and the effect of NaCl incorporation. *Ultrasonics Sonochemistry* 39, 250–261. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.04.038>
- Sara, H., Yahoum, M.M., Lefnaoui, S., Abdelkader, H., Moulai-Mostefa, N., 2020. New alkylated xanthan gum as amphiphilic derivatives: Synthesis, physicochemical and rheological studies. *Journal of Molecular Structure* 127768. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127768>
- Sato, T., Norisuye, T., Fujita, H., 1984. Double-stranded helix of xanthan: dimensional and hydrodynamic properties in 0.1 M aqueous sodium chloride. *Macromolecules* 17, 2696–2700. <https://doi.org/10.1021/ma00142a043>
- Schmidt, U.S., Bernewitz, R., Guthausen, G., Schuchmann, H.P., 2015. Investigation and application of measurement techniques for the determination of the encapsulation efficiency of O/W/O multiple emulsions stabilized by hydrocolloid gelation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Selected papers from the 15th Food Colloids Conference Date: 14 – 16 April 2014 Karlsruhe, Germany 475, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.12.040>
- Schubert, H., Engel, R., 2004. Product and Formulation Engineering of Emulsions. *Chemical Engineering Research and Design*, In Honour of Professor Alvin W. Nienow 82, 1137–1143. <https://doi.org/10.1205/cerd.82.9.1137.44154>
- Schultz, S., Wagner, G., Urban, K., Ulrich, J., 2004. High-Pressure Homogenization as a Process for Emulsion Formation. *Chemical Engineering & Technology* 27, 361–368. <https://doi.org/10.1002/ceat.200406111>
- Sęk, J., Józwiak, B., 2015. Application of the Continuity Theory for the Prediction of Creaming Phenomena in Emulsions. *Journal of Dispersion Science and Technology* 36, 991–999. <https://doi.org/10.1080/01932691.2014.944979>
- Şen, M., Hayrabolulu, H., Taşkın, P., Torun, M., Demeter, M., Cutrubinis, M., Güven, O., 2016. Radiation induced degradation of xanthan gum in the solid state. *Radiation Physics and Chemistry*, 13th "Tihany" Symposium on Radiation Chemistry 124, 225–229. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2015.10.005>
- Seslija, S., Spasojević, P., Panić, V., Dobrzyńska-Mizera, M., Immirzi, B., Stevanović, J., Popović, I., 2018. Physico-chemical evaluation of hydrophobically modified pectin derivatives: Step toward application. *International Journal of Biological Macromolecules* 113, 924–932. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.006>
- Shah, N.N., K.v., U., Singhal, R.S., 2019. Hydrophobically modified pea proteins: Synthesis, characterization and evaluation as emulsifiers in eggless cake. *Journal of Food Engineering* 255, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.03.005>

- Shah, N.N., Soni, N., Singhal, R.S., 2018. Modification of proteins and polysaccharides using dodecyl succinic anhydride: Synthesis, properties and applications—A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 107, 2224–2233. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.099>
- Shatwell, K.P., Sutherland, I.W., Dea, I.C.M., Ross-Murphy, S.B., 1990. The influence of acetyl and pyruvate substituents on the helix-coil transition behaviour of xanthan. *Carbohydrate Research* 206, 87–103. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(90\)84009-J](https://doi.org/10.1016/0008-6215(90)84009-J)
- Simon, J.-L., 2001. Gomme xanthane : agent viscosant et stabilisant [WWW Document]. Ref : TIP700WEB - “Agroalimentaire.” URL <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/additifs-et-adjuvants-alimentaires-42426210/gomme-xanthane-agent-viscosant-et-stabilisant-f4300/> (accessed 4.7.20).
- Sjöblom, J., 2006. EMULSIONS AND EMULSION STABILITY. Taylor & Francis.
- Smith, I.H., Symes, K.C., Lawson, C.J., Morris, E.R., 1981. Influence of the pyruvate content of xanthan on macromolecular association in solution. *International Journal of Biological Macromolecules* 3, 129–134. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(81\)90078-7](https://doi.org/10.1016/0141-8130(81)90078-7)
- Soni, N., Shah, N.N., Singhal, R.S., 2019. Dodecyl succinylated guar gum hydrolysate as a wall material for microencapsulation: Synthesis, characterization and evaluation. *Journal of Food Engineering* 242, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.08.030>
- Southwick, J.G., Jamieson, A.M., Blackwell, J., 1981. Quasielastic Light-Scattering Studies of Xanthan in Solution, in: *Solution Properties of Polysaccharides*, ACS Symposium Series. AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1021/bk-1981-0150.ch001>
- Southwick, J.G., Lee, H., Jamieson, A.M., Blackwell, J., 1980. Self-association of xanthan in aqueous solvent-systems. *Carbohydrate Research* 84, 287–295. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)85558-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)85558-5)
- Souza, W.J., Santos, K.M.C., Cruz, A.A., Franceschi, E., Dariva, C., Santos, A.F., Santana, C.C., 2015. EFFECT OF WATER CONTENT, TEMPERATURE AND AVERAGE DROPLET SIZE ON THE SETTLING VELOCITY OF WATER-IN-OIL EMULSIONS. *Braz. J. Chem. Eng.* 32, 455–464. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20150322s00003323>
- Srivastava, A., Mishra, D.K., Tripathy, J., Behari, K., 2009. One pot synthesis of xanthan gum-g-N-vinyl-2-pyrrolidone and study of their metal ion sorption behavior and water swelling property. *Journal of Applied Polymer Science* 111, 2872–2880. <https://doi.org/10.1002/app.29186>
- Stang, M., Schuchmann, H., Schubert, H., 2001. Emulsification in High-Pressure Homogenizers. *Engineering in Life Sciences* 1, 151–157. [https://doi.org/10.1002/1618-2863\(200110\)1:4<151::AID-ELSC151>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1618-2863(200110)1:4<151::AID-ELSC151>3.0.CO;2-D)
- Stauffer, C.E., 1965. The Measurement of Surface Tension by the Pendant Drop Technique. *J. Phys. Chem.* 69, 1933–1938. <https://doi.org/10.1021/j100890a024>
- Stevens, C.V., Meriggi, A., Peristeropoulou, M., Christov, P.P., Booten, K., Leveck, B., Vandamme, A., Pittevels, N., Tadros, T.F., 2001. Polymeric Surfactants Based on Inulin, a Polysaccharide Extracted from Chicory. 1. Synthesis and Interfacial Properties. *Biomacromolecules* 2, 1256–1259. <https://doi.org/10.1021/bm015570l>
- Stojanovic, Z., Jeremic, K., Jovanovic, S., Lechner, M.D., 2005. A Comparison of Some Methods for the Determination of the Degree of Substitution of Carboxymethyl Starch. *Starch/Stärke* 57, 79–83. <https://doi.org/10.1002/star.200400342>
- Stokke, B.T., Christensen, B.E., 1996. Release of disordered xanthan oligomers upon partial acid hydrolysis of double-stranded xanthan. *Food Hydrocolloids* 10, 83–89. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(96\)80058-0](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(96)80058-0)
- Stokke, B.T., Elgsaeter, A., Smidsrod, O., 1986. Electron microscopic study of single- and double-stranded xanthan. *International Journal of Biological Macromolecules* 8, 217–225. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(86\)90030-9](https://doi.org/10.1016/0141-8130(86)90030-9)

- Stuart, B., 2015. Infrared Spectroscopy, in: Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1–18. <https://doi.org/10.1002/0471238961.0914061810151405.a01.pub3>
- Su, L., Ji, W.K., Lan, W.Z., Dong, X.Q., 2003. Chemical modification of xanthan gum to increase dissolution rate. *Carbohydrate Polymers* 53, 497–499. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00287-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00287-4)
- Sutherland, I.W., 1984. Hydrolysis of unordered xanthan in solution by fungal cellulases. *Carbohydrate Research* 131, 93–104. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(84\)85407-5](https://doi.org/10.1016/0008-6215(84)85407-5)
- Suzuki, K., Shuto, I., Hagura, Y., 1996. Characteristics of the Membrane Emulsification Method Combined with Preliminary Emulsification for Preparing Corn Oil-in-Water Emulsions. *Food Science and Technology International, Tokyo* 2, 43–47. <https://doi.org/10.3136/fsti9596t9798.2.43>
- Sweedman, M.C., Hasjim, J., Tizzotti, M.J., Schäfer, C., Gilbert, R.G., 2013. Effect of octenylsuccinic anhydride modification on β -amylolysis of starch. *Carbohydrate Polymers* 97, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.041>
- Tadros, T.F., 2010. Colloid Aspects of Cosmetic Formulations with Particular Reference to Polymeric Surfactants, in: *Colloid Stability*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1–34. <https://doi.org/10.1002/9783527631193.ch40>
- Tadros, T.F., 2009. Emulsion Science and Technology: A General Introduction, in: *Emulsion Science and Technology*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1–56. <https://doi.org/10.1002/9783527626564.ch1>
- Taha, A., Ahmed, E., Ismaiel, A., Ashokkumar, M., Xu, X., Pan, S., Hu, H., 2020. Ultrasonic emulsification: An overview on the preparation of different emulsifiers-stabilized emulsions. *Trends in Food Science & Technology* 105, 363–377. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.024>
- Takada, Y., Sato, T., Teramoto, A., 1991. Dynamics of stiff-chain polymers in isotropic solution. 2. Viscosity of aqueous solutions of xanthan, a rigid double-helical polysaccharide. *Macromolecules* 24, 6215–6219. <https://doi.org/10.1021/ma00023a024>
- Tako, M., Nakamura, S., 1984. Rheological Properties of Deacetylated Xanthan in Aqueous Media. *Agricultural and Biological Chemistry* 48, 2987–2993. <https://doi.org/10.1080/00021369.1984.10866637>
- Tam, K.C., Tiu, C., 1989. Steady and Dynamic Shear Properties of Aqueous Polymer Solutions. *Journal of Rheology* 33, 257–280. <https://doi.org/10.1122/1.550015>
- Taylor, P., 1998. Ostwald ripening in emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science* 75, 107–163. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(98\)00035-9](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(98)00035-9)
- Terescenco, D., 2018. Evaluation et compréhension de la structure de l'émulsifiant et son impact sur les propriétés physiques, physico-chimiques et sensorielles d'émulsions cosmétiques (phdthesis). Normandie Université.
- Tinland, B., Maret, G., Rinaudo, M., 1990. Reptation in semidilute solutions of wormlike polymers. *Macromolecules* 23, 596–602. <https://doi.org/10.1021/ma00204a036>
- Tommeraaas, K., Eenschooten, C., 2012. Aryl/Alkyl Succinic Anhydride Hyaluronan Derivatives. *US20120283213A1*.
- Tripodo, G., Trapani, A., Torre, M.L., Giammona, G., Trapani, G., Mandracchia, D., 2015. Hyaluronic acid and its derivatives in drug delivery and imaging: Recent advances and challenges. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Polymers for Drug Delivery Systems* 97, 400–416. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.03.032>
- Urban, K., Wagner, G., Schaffner, D., Röglin, D., Ulrich, J., 2006. Rotor-Stator and Disc Systems for Emulsification Processes. *Chemical Engineering & Technology* 29, 24–31. <https://doi.org/10.1002/ceat.200500304>
- Vaidya, A.A., Gaugler, M., Smith, D.A., 2016. Green route to modification of wood waste, cellulose and hemicellulose using reactive extrusion. *Carbohydrate Polymers* 136, 1238–1250. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.033>

- Venkataraman, P., Tang, J., Frenkel, E., McPherson, G.L., He, J., Raghavan, S.R., Kolesnichenko, V., Bose, A., John, V.T., 2013. Attachment of a Hydrophobically Modified Biopolymer at the Oil–Water Interface in the Treatment of Oil Spills. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5, 3572–3580. <https://doi.org/10.1021/am303000v>
- Venkateshaiah, A., Havlíček, K., Timmins, R.L., Röhr, M., Waclawek, S., Nguyen, N.H.A., Černík, M., Padil, V.V.T., Agarwal, S., 2021. Alkenyl succinic anhydride modified tree-gum kondagogu: A bio-based material with potential for food packaging. *Carbohydrate Polymers* 266, 118126. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118126>
- Vervoort, L., Van den Mooter, G., Augustijns, P., Busson, R., Toppet, S., Kinget, R., 1997. Inulin Hydrogels as Carriers for Colonic Drug Targeting: I. Synthesis and Characterization of Methacrylated Inulin and Hydrogel Formation. *Pharm Res* 14, 1730–1737. <https://doi.org/10.1023/A:1012179813102>
- Vieira, F.F., Del Mastro, N.L., 2003. ELECTRON BEAM IRRADIATION EFFECTS ON XANTHAN GUM. RHEOLOGICAL ASPECTS. *International symposium on utilization of accelerators*.
- Walstra, P., 1993. Principles of emulsion formation. *Chemical Engineering Science* 48, 333–349. [https://doi.org/10.1016/0009-2509\(93\)80021-H](https://doi.org/10.1016/0009-2509(93)80021-H)
- Wang, B., Han, Y., Lin, Q., Liu, H., Shen, C., Nan, K., Chen, H., 2016. In vitro and in vivo evaluation of xanthan gum–succinic anhydride hydrogels for the ionic strength-sensitive release of antibacterial agents. *Journal of Materials Chemistry B* 4, 1853–1861. <https://doi.org/10.1039/C5TB02046H>
- Wang, H., Williams, P.A., Senan, C., 2014. Synthesis, characterization and emulsification properties of dodecyl succinic anhydride derivatives of gum Arabic. *Food Hydrocolloids* 37, 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.10.033>
- Wang, L., Barclay, T., Song, Y., Joyce, P., Sakala, I.G., Petrovsky, N., Garg, S., 2017. Investigation of the biodistribution, breakdown and excretion of delta inulin adjuvant. *Vaccine* 35, 4382–4388. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.06.045>
- Wang, P.-P., Luo, Z.-G., Chun-Chen, Xiong-Fu, Tamer, T.M., 2020. Effects of octenyl succinic anhydride groups distribution on the storage and shear stability of Pickering emulsions formulated by modified rice starch. *Carbohydrate Polymers* 228, 115389. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115389>
- Wang, X., Xin, H., Zhu, Y., Chen, W., Tang, E., Zhang, J., Tan, Y., 2016. Synthesis and characterization of modified xanthan gum using poly(maleic anhydride/1-octadecene). *Colloid Polym Sci* 294, 1333–1341. <https://doi.org/10.1007/s00396-016-3898-3>
- Ward, F.M., 2002. Water-soluble esterified hydrocolloids. US6455512B1.
- Weiss, J., Cancelliere, C., McClements, D.J., 2000. Mass Transport Phenomena in Oil-in-Water Emulsions Containing Surfactant Micelles: Ostwald Ripening. *Langmuir* 16, 6833–6838. <https://doi.org/10.1021/la991477v>
- Wongthongdee, N., Durand, A., Pongtharangkul, T., Sunintaboon, P., Inprakhon, P., 2017. Green Formulation Strategy for Preparing Oil-in-Water Emulsions via Lipase-Catalyzed Transesterification. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 5, 1948–1956. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b02688>
- Wu, Y., Cui, W., Eskin, N.A.M., Goff, H.D., 2009. An investigation of four commercial galactomannans on their emulsion and rheological properties. *Food Research International* 42, 1141–1146. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.05.015>
- Wu, Z., Wu, J., Zhang, R., Yuan, S., Lu, Q., Yu, Y., 2018. Colloid properties of hydrophobic modified alginate: Surface tension, ζ -potential, viscosity and emulsification. *Carbohydrate Polymers* 181, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.052>
- Wyatt, N.B., Liberatore, M.W., 2009. Rheology and viscosity scaling of the polyelectrolyte xanthan gum. *Journal of Applied Polymer Science* 114, 4076–4084. <https://doi.org/10.1002/app.31093>

- Xiao, Q., Weng, H., Chen, G., Xiao, A., 2019. Preparation and characterization of octenyl succinic anhydride modified agarose derivative. *Food Chemistry* 279, 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.133>
- Yadav, L.D.S., 2005. Infrared (IR) Spectroscopy, in: Yadav, L.D.S. (Ed.), *Organic Spectroscopy*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 52–106. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2575-4_3
- Yahoum, M.M., Moulai-Mostefa, N., Le Cerf, D., 2016. Synthesis, physicochemical, structural and rheological characterizations of carboxymethyl xanthan derivatives. *Carbohydrate Polymers* 154, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.080>
- Yang, F., Yang, L., Guo, X., Wang, X., Li, L., Liu, Z., Wang, W., Li, X., 2014. Production and Purification of a Novel Xanthan Lyase from a Xanthan-Degrading Microbacterium sp. Strain XT11. *The Scientific World Journal* 2014, e368434. <https://doi.org/10.1155/2014/368434>
- Yang, J.S., Jiang, B., He, W., Xia, Y.M., 2012. Hydrophobically modified alginate for emulsion of oil in water. *Carbohydrate Polymers* 87, 1503–1506. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.046>
- Yanjie, L., Yiming, H., Feng, W., Yongfu, L., 2010. Effect of irradiation on molecular weight and antioxidant activity of xanthan gum. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences* 24.
- Young, S.-L., Martino, M., Kienzle-Sterzer, C., Torres, J.A., 1994. Potentiometric titration studies on xanthan solutions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 64, 121–127. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740640118>
- Żbikowska, A., Szymańska, I., Kowalska, M., 2020. Impact of Inulin Addition on Properties of Natural Yogurt. *Applied Sciences* 10, 4317. <https://doi.org/10.3390/app10124317>
- Zhang, M., Shi, Y., Lu, Y., Johnson, A.C., Sarvajayakesavalu, S., Liu, Z., Su, C., Zhang, Y., Juergens, M.D., Jin, X., 2017. The relative risk and its distribution of endocrine disrupting chemicals, pharmaceuticals and personal care products to freshwater organisms in the Bohai Rim, China. *Science of The Total Environment* 590–591, 633–642. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.011>
- Zhang, N., Wardwell, P.R., Bader, R.A., 2013. Polysaccharide-Based Micelles for Drug Delivery. *Pharmaceutics* 5, 329–352. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics5020329>
- Zody, G.M., Morgan, M.E., 2001. Hydrophobically modified hydroxybutyl ethers of polygalactomannan. CA2023215C.

Synthèse et caractérisation des propriétés de dérivés amphiphiles de xanthane obtenus par voie verte de greffage

Les polysaccharides sont largement exploités dans de nombreux secteurs, notamment pharmaceutique, alimentaire et cosmétique. Cet engouement s'explique par plusieurs atouts : disponibilité, biodégradabilité, non-toxicité, faible coût, ainsi qu'une aptitude à la modification chimique qui leur permet d'acquérir de propriétés physicochimiques inédites. Le xanthane constitue l'un de ces biopolymères les plus connus en raison de son effet épaississant et viscosifiant dans les dispersions. Cependant il présente des propriétés interfaciales faibles. Ainsi, le greffage de chaînons hydrophobes sur le squelette hydrophile du xanthane lui confère des propriétés émulsionnantes et interfaciales ; il peut ainsi remplacer les tensioactifs conventionnels controversés du fait de leurs impacts toxicologique et environnemental néfastes. La plupart des réactions de greffage du xanthane sont décrites dans la littérature sont effectuées dans des conditions polluantes et peu écologiques.

Le but de ce projet de thèse est de développer et optimiser un protocole de greffage du xanthane dans des conditions respectueuses des principes de la chimie verte et durable. Les dérivés amphiphiles obtenus présentent d'une part des propriétés physicochimiques, intrinsèques et rhéologiques particulières et d'autre part des propriétés interfaciales qui leur permettent de stabiliser des émulsions E/H sans l'ajout de tensioactifs moléculaires.

Mots-clés : *Xanthane, modification chimique, conditions vertes, polysaccharide amphiphile, activité de surface, comportement rhéologique, viscosité intrinsèque, émulsion stable*

Synthesis and properties characterization of amphiphilic xanthan derivatives obtained under green grafting

Polysaccharides are widely used in many industrial areas such as pharmaceuticals, foods and cosmetics due to their availability, low cost, biodegradability, non-toxicity and functional properties. Among them, xanthan is well known for its outstanding thickening and viscosifying capacities that can lead to dispersions stabilization. However, xanthan owns poor interfacial properties that prevents it to stabilize dispersions without adding conventional surfactants, these latter being controversial because of their harmful toxicological and environmental impacts. To overcome these problems, intensive researches have been devoted to the chemical modification of polysaccharides, including xanthan, to increase their physicochemical potentialities mainly as amphiphilic biopolymers that may combine texture and interfacial properties, thus allowing formulation without classical surfactants. Most of the modification reactions described in the literature on xanthan are carried out under polluting and environmentally-unfriendly conditions.

The aim of this thesis project was to develop an optimized modification protocol of xanthan following the principles of green and sustainable chemistry. The amphiphilic derivatives behave on the one hand particular physicochemical, intrinsic and rheological properties and on the other hand unprecedented interfacial properties which allow them to stabilize O/W emulsions without the addition of low molecular weight surfactants.

Keywords: *Xanthan, chemical modification, green conditions, amphiphilic polysaccharide, surface activity, rheological behavior, intrinsic viscosity, stable emulsion*