



HAL
open science

Etude des bases moléculaires de l'agrégation des sols par des exopolysaccharides bactériens

Lina Judith Henao Valencia

► To cite this version:

Lina Judith Henao Valencia. Etude des bases moléculaires de l'agrégation des sols par des exopolysaccharides bactériens. Autre. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2008. Français. NNT: . tel-00384923

HAL Id: tel-00384923

<https://theses.hal.science/tel-00384923>

Submitted on 17 May 2009

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.

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER – GRENOBLE 1

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE JOSEPH FOURIER

(Arrêtés ministériels du 5 juillet 1984 et du 30 mars 1992)

Spécialité : **Chimie Physique Moléculaire et Structurale**

préparée au

Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV – CNRS)

dans le cadre de l'Ecole Doctorale **Chimie et Sciences du Vivant**

présentée et soutenue publiquement par

Lina Judith HENAO VALENCIA

Grenoble, le 28 octobre 2008

**ETUDE DES BASES MOLECULAIRES DE L'AGREGATION DES
SOLS PAR DES EXOPOLYSACCHARIDES BACTERIENS**

JURY

Mme Claire CHENU (Pr)	Rapporteur
M. Alain BULEON (DR)	Rapporteur
M. David BROWN (Pr)	Examineur
M. Laurent CHARLET (Pr)	Examineur
M. Karim MAZEAU (DR)	Directeur de thèse
Mme. Géraldine SARRET (CR)	Examineur
M. Fabien THOMAS (DR)	Examineur

À ma famille

À la mémoire de mon oncle, Eduardo

Remerciements

Ce travail a été réalisé au Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV) UPR 5301 CNRS. Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance aux Messieurs Serge Perez et Redouane Borsali, directeurs successifs du CERMAV, pour m'avoir accueillie dans leur laboratoire ; leur sollicitude et leur souci de me donner les conditions matériels et intellectuelles pour mener à bien mes recherches, m'ont été de grande aide. Je remercie également mon encadrant Monsieur Karim Mazeau, directeur de recherche CNRS, d'avoir accepté de diriger ce travail, et pour son orientation et sa manière de faire rigoureuse. Merci aux ingénieurs du service informatique Alain Rivet et Jean-Daniel Dubois pour leur disponibilité et leurs conseils.

Je remercie sincèrement Madame Claire Chenu, professeur à AgroParisTech, et Monsieur Alain Buléon, directeur de recherche à l'INRA, qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteurs du présent manuscrit, leurs remarques pertinentes m'ont été très précieuses. Je remercie tout particulièrement Monsieur Fabien Thomas, directeur de recherche CNRS de m'avoir fait l'honneur de présider le jury, j'ai énormément apprécié sa sympathie pendant ma soutenance de thèse. J'exprime aussi ma reconnaissance à Madame Géraldine Sarret, chargée de recherche CNRS, à Monsieur David Brown, professeur à l'Université de Savoie, et à Monsieur Laurent Charlet, professeur à l'Université Joseph Fourier, pour leur participation au jury de thèse.

Je tiens à remercier les membres du CERMAV, permanents et non permanents, qui m'ont offert une ambiance de travail agréable et amicale. Des belles pensées pour ceux qui sont déjà partis partout dans le monde et mes encouragements pour ceux qui y suivent. Merci aux collègues qui ont aussi devenu des amis.

Je remercie toutes les personnes que j'ai croisées en France, en commençant par l'accueil chaleureux de l'Alliance Française et les amis colombiens à Grenoble. Une pensée spéciale pour Huguette Gouy et sa famille, qui m'ont adoptée comme membre de leur famille.

Mes profonds remerciements à ce qu'il y a de plus cher, mes parents, ainsi qu'à toute ma famille et mes amis pour leur amour et leur soutien précieux.

Résumé

Les exopolysaccharides d'origine microbienne (EPS) jouent un rôle déterminant dans la stabilisation des agrégats du sol en s'associant avec les argiles minérales. Dans le cadre de ces travaux de recherche, nous nous sommes intéressés à l'étude des interfaces argile/EPS à l'échelle moléculaire par modélisation moléculaire. La montmorillonite sodique (Na-MMT) a été choisie comme modèle représentatif de l'argile minérale et plusieurs EPS ont été considérés : le dextrane, le MWAP71, le xanthane, le KYGT207, le rhamsane, YAS34 et le succinoglycane. Nous avons abordé deux aspects : (a) l'adsorption des unités constitutives des EPS sur la surface basale de Na-MMT, et (b) les relations établies entre les différences moléculaires dans des complexes argile/EPS/eau. Tous les EPS considérés présentent une affinité par la surface minérale, les interactions établies aux interfaces sont multiples, elles peuvent être ioniques, hydrophobes et des liaisons hydrogène. Nous avons constaté une corrélation linéaire entre l'enthalpie d'adsorption et la surface en contact. L'analyse des structures indique que le facteur déterminant pour l'adsorption est l'habilité des EPS à se déplier pour maximiser la surface en interaction. Pour les complexes argile/EPS/eau, les modèles montrent que l'interaction avec l'eau est la plus forte aux taux d'hydratation les plus faibles, montrant que le système s'oppose à la dessiccation. En revanche, l'interaction de l'EPS avec la surface de l'argile évite la dispersion des feuillets quand il y a un excès d'eau. Les résultats obtenus par modélisation présentent une bonne corrélation avec les observations expérimentales.

Mots clés : associations argile/exopolysaccharide, modélisation moléculaire, structure et agrégation des sols, composites organo-minéraux.

Abstract

The bacterial exopolysaccharides (EPS) play an important role in soil aggregate stabilisation during their association with mineral clays. This study uses molecular simulation methods to investigate the clay/EPS interfaces at the molecular level. Sodium montmorillonite (Na-MMT) was chosen as a representative model of mineral clay along with several EPS: dextran, MWAP71, xanthan, KYGT207, rhamsan, YAS34 and succinoglycan. Two aspects were explored: the adsorption of constitutive units of EPS onto basal surface of Na-MMT, and the relationships established between the different molecules onto clay/EPS/water complexes. All EPS tested exhibit a positive affinity for the mineral surface and multiple interactions are established at the interfaces, that can be ionic, hydrophobic or of hydrogen bond type. We found a linear correlation between values of adsorption enthalpy with the effective contact surface. Structural analysis indicates that the key factor determining the adsorption is the ability of the EPS to unfold in order to maximize its contact surface. The most flexible structures were the most favourable candidates for adsorption. Concerning the clay/EPS/water complexes, for the established models the interaction with water is stronger at lower hydration rates, indicating a resistance of the system to desiccation. Also, the interaction of EPS with mineral clay avoids the dispersion of the layers for water saturated systems. The results obtained by molecular modelling have good correlation with experimental observations.

Key words: clay/exopolysaccharide associations, molecular modelling, soil structure and aggregation, organo-mineral composites.

TABLE DES MATIERES

	Page
PREFACE.....	13
1. TRAVAUX ANTERIEURS.....	19
1.1. La structuration et la stabilité du sol.....	22
1.2. Les microorganismes rhizosphériques et la production d'EPS.....	23
1.3. Les approches expérimentales.....	24
2. MATERIAUX POLYMERES NANOCOMPOSITES.....	39
2.1. Les Nanocomposites lamellaires à base d'argile.....	42
2.2. Les méthodes de préparation.....	45
2.3. Les nanocomposites à base de biopolymères « bio-nanocomposites ».....	48
3. COMPOSANTS DU SYSTEME : ARGILE ET EPS.....	53
3.1. Description et propriétés des argiles.....	55
3.1.1. Structure lamellaire.....	55
3.1.2. Classification et applications.....	57
3.1.2.1. La montmorillonite.....	60
3.1.2.2. Niveaux d'organisation.....	61
3.1.2.3. Hydratation, gonflement.....	62
3.1.2.4. Comportement en milieu aqueux.....	64
3.2. Les exopolysaccharides d'origine microbienne.....	67
3.2.1. Le dextrane.....	68
3.2.2. Le xanthane.....	69
3.2.3. Le succinoglycane.....	71
3.2.4. Le rhamsane et le RMDP17.....	73
3.2.5. Le YAS34.....	74
3.2.6. Le MWAP71.....	75
3.2.7. Le KYGT207.....	76
4. METHODES.....	77
4.1. La modélisation moléculaire.....	79
4.2. Le champ de forces et la fonction d'énergie potentielle.....	82
4.3. Détails de la simulation.....	83
4.4. Génération des structures initiales.....	83
4.4.1. La surface minérale.....	84

4.4.2. Les molécules organiques.....	86
4.4.3. L'eau	88
4.5. Modélisation de l'adsorption.....	89
4.6. Propriétés évaluées	91
4.6.1. Enthalpie d'adsorption.....	91
4.6.2. Energie conformationnelle	91
4.6.3. Surface en contact.....	92
4.6.4. Surface conformationnelle.....	92
4.7. Modélisation de l'adhésion des EPS	92
4.7.1. Génération des modèles.....	92
4.7.2. Compression/équilibre/hydratation.....	93
4.7.3. Propriétés évaluées	96
4.7.3.1. Profils de densité	96
4.7.3.2. Energies	96
5. RESULTATS – MODELISATION DE L' ADSORPTION.....	99
5.1. Préambule	101
5.2. Adsorption des groupes chimiques.....	102
5.3. Adsorption des monosaccharides	104
5.4. Adsorption des unités de répétition des EPS.....	107
5.5. Contribution des groupes.....	109
5.6. Conclusion.....	111
6. RESULTATS – MODELISATION DE L' ADHESION.....	113
6.1. Préambule	115
6.2. Génération des modèles.....	116
6.3. Structure	119
6.4. Energies	121
6.4.1. Energie d'interaction EPS-Montmorillonite.....	121
6.4.2. Energie d'interaction avec l'eau	123
6.5. Conclusion.....	125
CONCLUSION GENERALE	127
ANNEXES	133
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	179

PREFACE

Cette thèse a été préparée au Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV) dans le cadre de l'Ecole Doctorale « Chimie et Sciences du Vivant » de l'Université Joseph Fourier. Elle a été financée par une Allocation de Recherche du Ministère d'Education Nationale et de la Recherche (MENRT). Elle est intitulée « Etude des bases moléculaires de l'agrégation des sols par des exopolysaccharides bactériens » et a été motivée par le besoin d'explorer les interactions à l'échelle moléculaire entre les argiles minérales et les polysaccharides d'origine microbienne (EPS). Les EPS influencent la fertilité des sols en agrégeant les particules minérales, et ils luttent contre la dessiccation du sol en retenant l'eau. Dans cette étude nous avons voulu explorer 1/ les facteurs chimiques et structuraux des polysaccharides qui modulent leur affinité pour les surfaces minérales, et 2/ les rapports qu'entretiennent ces complexes organo-minéraux avec l'eau. Avant de détailler le sujet de recherche, nous allons présenter quelques études en relation avec ces travaux.

L'impact environnemental :

Le sol est généralement défini comme la couche superficielle de la croûte terrestre. Il est constitué de particules minérales, de matière organique, d'eau, d'air et d'organismes vivants, c'est un système complexe, dynamique et vivant. Le sol assure de multiples fonctions : support pour la production de nourriture, stockage de biomasse et fournisseur de matière première. Il mérite protection en raison de son importance environnementale et socio-économique.

Actuellement, la dégradation des sols (érosion, perte de matière organique, salinisation, contamination...) représente un grave problème de développement durable. Cette dégradation influence directement la qualité de l'air, de l'eau, la biodiversité et le climat, et donc, elle peut altérer la santé humaine. La Commission Européenne a adopté une stratégie depuis septembre 2006 dont l'objectif est la protection et l'utilisation durable

de ses sols. Trois axes sont développés : la réglementation, la recherche et la communication [1].



Figure 1. Le sol, une ressource d'importance environnementale et socio-économique.

La gestion de l'eau est également un aspect important. Selon l'Agence européenne pour l'environnement (AEE), depuis 1970, la quantité d'eau disponible par être humain a diminué de 40% et deux habitants sur cinq de la planète connaissent des difficultés d'approvisionnement. L'Europe n'échappe pas à ce phénomène de pénurie qui est critique dans les pays méditerranéens. L'agriculture est la première activité consommatrice d'eau, essentiellement à des fins d'irrigation. En 2002 par exemple, les prélèvements d'eau en France métropolitaine sont estimés à 33 milliards de m³, dont 55% sont consacrés à la production d'énergie, 19% à l'eau potable, 14% à l'irrigation et 12% à l'industrie. Plus de la moitié de ces prélèvements sont destinées au refroidissement des centrales thermiques. Mais prélever ne revient pas forcément à consommer, les centrales thermiques restituent une grande majorité d'eau ; à l'inverse, l'irrigation des cultures en restitue peu. L'irrigation consomme au final la moitié des ressources en eau [2].

Dans le contexte du développement durable, la bonne gestion des ressources naturelles s'impose. Parmi les efforts effectués, la recherche fondamentale peut suggérer des solutions innovantes.

Les complexes organo-minéraux

Les associations entre matière organique et particules minérales sont importantes non seulement pour la fertilité des sols; mais elles interviennent également dans une série particulière de matériaux composites manufacturés.

a) La structuration et la stabilisation du sol

Les unités de base du sol sont dénommées des agrégats, ils sont le résultat des interactions intimes établies entre les composés organiques et les minéraux. Les agrégats sont classés en deux types selon leur taille : les macroagrégats et les microagrégats. La stabilité des agrégats est en général fortement associée à la teneur en matière organique, cette dernière assurant la continuité et la cohésion des particules minérales. Les agrégats déterminent les propriétés mécaniques et physiques du sol (mobilité de l'eau, aération, régulation de la température...) et jouent un rôle important dans la germination et la croissance racinaire.

Une zone d'intérêt est la rhizosphère, la région du sol entourant les racines des plantes. La rhizosphère est un lieu d'intense activité racinaire et microbienne où s'effectuent les échanges entre le sol et la plante (par exemple l'adsorption d'eau et de nutriments minéraux par les racines, ou l'exsudation racinaire des substances organiques). Les racines des plantes contribuent à la stabilité des agrégats, directement par les racines elles-mêmes et indirectement par la stimulation de l'activité microbienne. Les microorganismes rhizosphériques (bactéries, algues, champignons) produisent des exopolysaccharides (EPS) qui constituent l'interface entre les cellules et leur environnement immédiat. Les EPS ont une forte affinité pour les surfaces minérales, ils contribuent ainsi à la stabilité des microagrégats. Les EPS jouent également un rôle positif dans les phénomènes de régulation de la teneur en eau, notamment dans des conditions de stress hydrique.

Les matériaux nanocomposites manufacturés

Les composés organo-minéraux intéressent fortement l'industrie des matériaux. Le concept de matériau nanocomposite fait référence à la dispersion des charges minérales dans une matrice polymère, au moins une des dimensions de la charge est de l'ordre du nanomètre.

Les argiles ne sont utilisées comme charge pour les matériaux nanocomposites que depuis 20 ans mais ce domaine est en très forte expansion. Les argiles ont l'avantage de posséder une surface spécifique élevée, une petite quantité d'argile correctement dispersée présente une grande surface d'interaction avec la matrice.

Les nanocomposites présentent des propriétés renforcées par rapport à celles du polymère seul : augmentation du module, meilleure résistance thermique, augmentation des propriétés de barrière, diminution de l'inflammabilité, modification des propriétés optiques ou augmentation du potentiel de recyclage. De plus, l'insertion de la charge permet la diminution du prix du matériau. Les applications couvrent divers secteurs industriels : l'automobile (pare-chocs, réservoirs à essence, panneaux intérieurs et extérieurs); la construction (profilés, panneaux); l'électrique et l'électronique (circuits imprimés, composants électriques); l'emballage alimentaire (conteneurs, films), etc.

Finalement, un grand intérêt est porté sur les matériaux biodégradables issus des sources renouvelables. Ils offrent en effet des alternatives écologiques et économiques attrayantes : moins de dépendance des matières issues du pétrole, biodégradation, diminution des résidus polluants, etc. L'utilisation des biopolymères présentent néanmoins certains désavantages qui limitent leurs applications : faibles propriétés mécaniques, faible résistance à la température et perméabilité aux gaz. L'utilisation des argiles pour renforcer leurs propriétés est une solution envisageable dans la conception de matériaux composites biocompatibles et biodégradables.

Dans ce contexte global, la recherche fondamentale est importante pour essayer de mieux comprendre les interactions établies aux interfaces ; cette thèse présente une stratégie de modélisation moléculaire pour explorer l'interaction argile – EPS.

Ce rapport de thèse est composé par trois grandes parties :

La première partie concernera l'étude bibliographique, elle a comme objectif de situer le contexte de l'étude, elle sera composée par trois chapitres. Dans le chapitre 1 seront présentés l'importance des agrégats organo-minéraux dans le sol et les approches expérimentales utilisées auparavant pour l'étude des associations argile/exopolysaccharide ; le chapitre 2 introduira les matériaux nanocomposites lamellaires à base d'argile et à base de biopolymères ; et dans le chapitre 3 seront décrites les propriétés des argiles et des exopolysaccharides considérés dans notre étude.

La deuxième partie fera une description de la méthodologie adoptée pour les simulations, c'est-à-dire, les conditions de simulation utilisées, la procédure pour générer les structures ainsi que les propriétés évaluées. Cette partie correspond au chapitre 4.

La troisième partie sera composée des chapitres 5 et 6. Ces chapitres présenteront l'analyse des deux aspects considérés : les facteurs structuraux des EPS responsables de leur adsorption sur la surface basale de la montmorillonite et les phénomènes d'agrégation et de rétention d'eau pour les complexes argile/EPS. Ces deux chapitres feront une analyse complémentaire aux résultats présentés sur les publications, ces dernières seront données dans les annexes A et B.

Enfin, une conclusion générale ainsi que les références bibliographiques seront présentées.

1. TRAVAUX ANTERIEURS

Dans ce chapitre nous donnons une description du cadre général dans lequel se situent nos travaux de recherche. A l'échelle macroscopique, la fertilité des sols est dépendante de relations établies à l'échelle microscopique entre la matière organique et les particules minérales [3]; ces relations sont une conséquence directe des interactions établies au niveau moléculaire. Pour lier ces échelles, nous allons faire une description « *top – down* », c'est-à-dire, nous partirons de la description du *système macroscopique*, ensuite nous présenterons des travaux réalisés à l'*échelle microscopique*, pour finir avec l'approche au *niveau moléculaire*. La figure 1.1 présente schématiquement cette description.

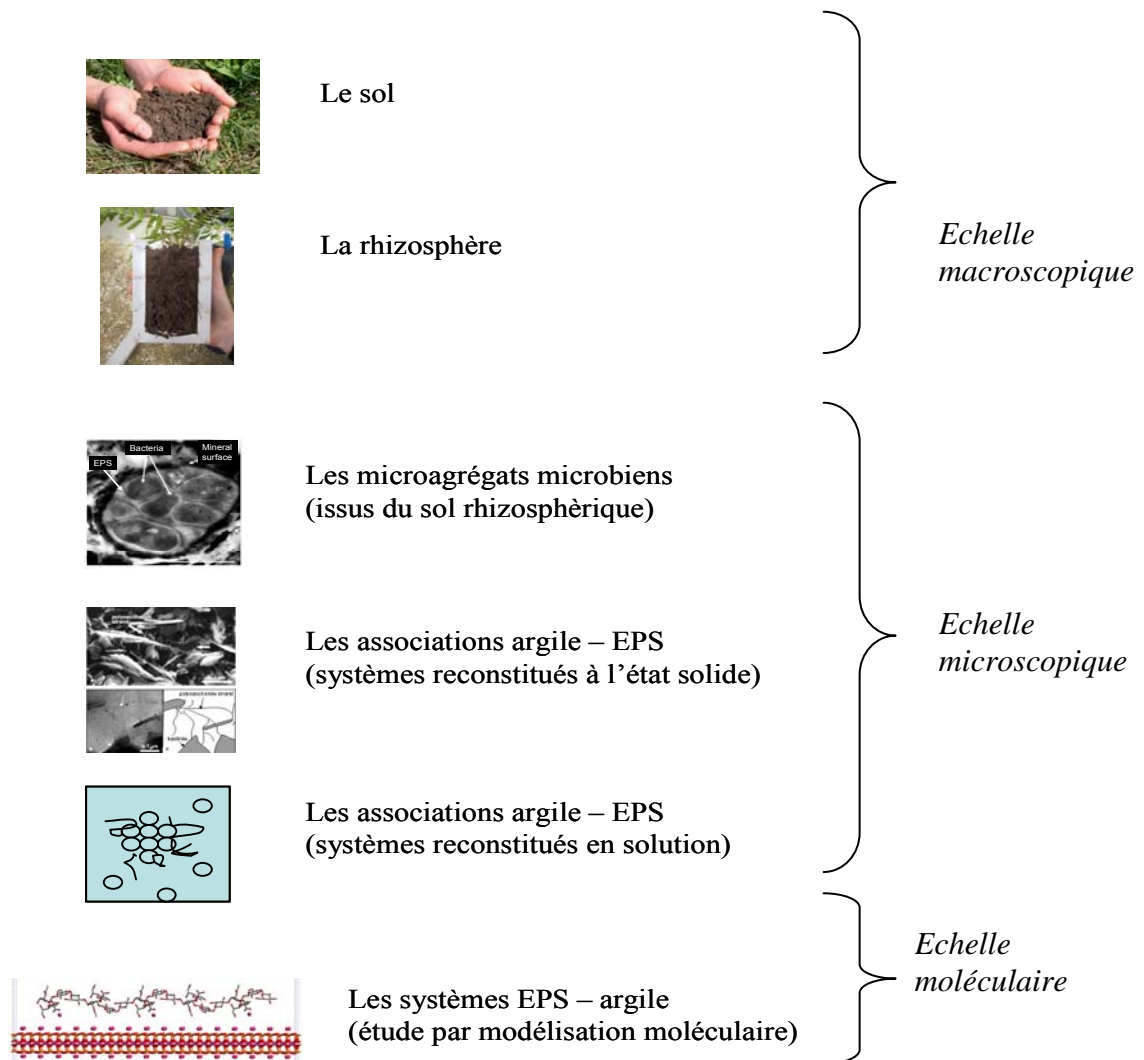


Figure 1.1. Représentation schématique de la description « *top – down* » utilisée

1.1. La structuration et la stabilité du sol



Figure 1.2. La rhizosphère

La rhizosphère est la région du sol autour des racines des plantes (Fig. 1.2). Le terme rhizosphère a été introduit en 1904 par Lorenz Hiltner, bactériologiste de sols et professeur d'agronomie, "rhizo" vient du grec "rhiza," signifiant "racine" et "sphère" est le champ d'action ou d'influence. Hiltner a décrit la rhizosphère comme étant l'étroite partie du sol, lieu d'une intense activité microbienne autour des racines des légumineuses. Par la suite, cette définition a été étendue à toutes les plantes. Enfin, elle correspond non seulement à l'étroite zone (1-2 mm) à proximité immédiate de la surface racinaire, mais aussi à la région de quelques centimètres de la racine, où ont lieu les échanges d'eau et de nutriments. La rhizosphère constitue ainsi un lieu d'échange entre le végétal et le minéral ; c'est un milieu complexe aux multiples interactions [4].

Le sol est constitué d'agrégats qui peuvent être classés selon leur taille, en macroagrégats (diamètre $> 250\mu\text{m}$) et microagrégats (diamètre $< 250\mu\text{m}$) [5]. La structuration et la stabilité de ces agrégats déterminent les propriétés mécaniques et physiques du sol, ce sont deux facteurs déterminants pour la germination des graines et la

croissance racinaire. La structure du sol est généralement décrite par un modèle discontinu de pores de diverses tailles et formes, ces pores sont plus au moins remplis d'eau et d'air [6]. Plusieurs travaux ont mis en évidence le rôle agrégeant des différents composants organiques du sol rhizosphérique [6-10]. Les résultats montrent que : (1) les racines et les filaments mycéliens participent aux macroagrégats, et (2) les résidus organiques, les bactéries, les polysaccharides participent aux microagrégats. La stabilité des agrégats est fortement corrélée à la nature et à la teneur en matière organique du sol (MOS) [5, 7, 11-13]. Il est considéré que la MOS participe à la stabilisation des agrégats selon deux mécanismes : (a) en augmentant la cohésion des agrégats en liant les particules minérales entre elles, et (b) en diminuant la mouillabilité des agrégats [14]. Les racines des plantes apportent de la MOS, soit directement par le matériel racinaire, soit indirectement par la stimulation de l'activité microbienne dans la rhizosphère.

Plusieurs niveaux d'organisation sont donc distingués : les macroagrégats, les microagrégats et les associations argile – matière organique (argile-MO) dont l'échelle caractéristique est inférieure à $2\mu\text{m}$, elles représentent les unités élémentaires de la structure du sol. Ces fractions sont obtenues expérimentalement par un fractionnement granulo-densimétrique du sol (séparation selon la taille et la densité) [15]. Ces fractions sont hétérogènes tant en composition qu'en organisation, elles peuvent être visualisées comme des agrégats d'argile entourant de très petits débris végétaux, de microorganismes ou de matières organiques amorphes [15].

1.2. Les microorganismes rhizosphériques et la production d'EPS

Les microorganismes rhizosphériques (bactéries, algues, champignons) participent à la structure du sol. La représentation schématique de leur habitat proposée par Chenu et Stotzky est reportée dans la figure 1.3 [6]. Les relations établies entre les microorganismes et les particules du sol sont multiples et synergiques : les particules minérales influencent l'activité biologique et la survie des microorganismes, en partie grâce à la géométrie des pores et, par le contrôle des conditions physicochimiques locales (particulièrement la disponibilité de l'eau et de l'oxygène). Les microorganismes, à leur tour, modifient l'arrangement des particules du sol (structure) ainsi que leur stabilité (agrégation) [6].

La principale contribution des microorganismes rhizosphériques à l'agrégation est associée à la production de sécrétions extracellulaires [6, 9]. Ces sécrétions sont un mélange complexe de biopolymères, comme les polysaccharides, les protéines, les acides nucléiques et les lipides [16]. Selon Tsuneda *et al.*, d'un point de vue physicochimique, les sécrétions extracellulaires qui recouvrent les surfaces cellulaires peuvent être perçues comme des polyélectrolytes adsorbés sur des particules colloïdales [17]. Dans le cadre de notre travail, nous porterons notre attention aux exopolysaccharides (EPS) d'origine bactérienne produits dans la rhizosphère ; nous arrivons ainsi au cœur de notre sujet d'étude : il concerne les associations entre les EPS et les argiles minérales.

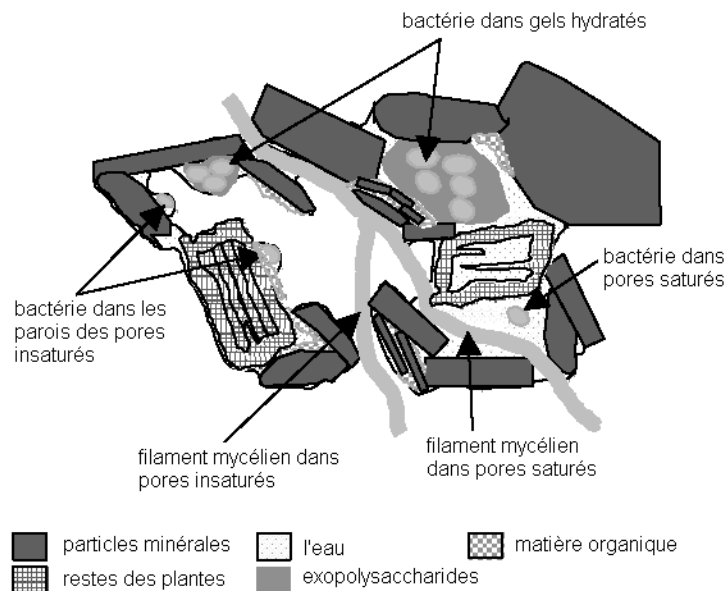


Figure 1.3. Représentation schématique de l'habitat des microorganismes dans le sol [6]

1.3. Les approches expérimentales

De point de vue expérimental, plusieurs approches ont été utilisées pour explorer le rôle des EPS dans le sol et leur association avec les surfaces minérales :

- a. l'observation des microagrégats microbiens issus du sol rhizosphérique,
- b. l'inoculation de sols rhizosphériques avec des souches bactériennes productrices d'EPS [18-25],
- c. la soumission des souches aux conditions de stress hydrique [26, 27] ;
- d. l'étude des systèmes modèles argile-EPS à l'état solide [28-33], et en milieu aqueux [34-42].

Les microagrégats bactériens issus du sol rhizosphérique ont été observés par microscopie électronique [6, 10, 20, 21, 43, 44], des exemples sont donnés dans la figure 1.4. Les EPS sont localisés autour des cellules, ils participent à la formation des agrégats bactériens et constituent l'interface entre les microorganismes et leur environnement immédiat, dont les argiles minérales [6, 44]. Les EPS se présentent sous forme de gels hydratés, mais aussi sous la forme de capsules ou de fibres entrelacées, leur quantité à proximité des microorganismes peut dépasser 1% (w/w) par rapport à la masse minérale [28].

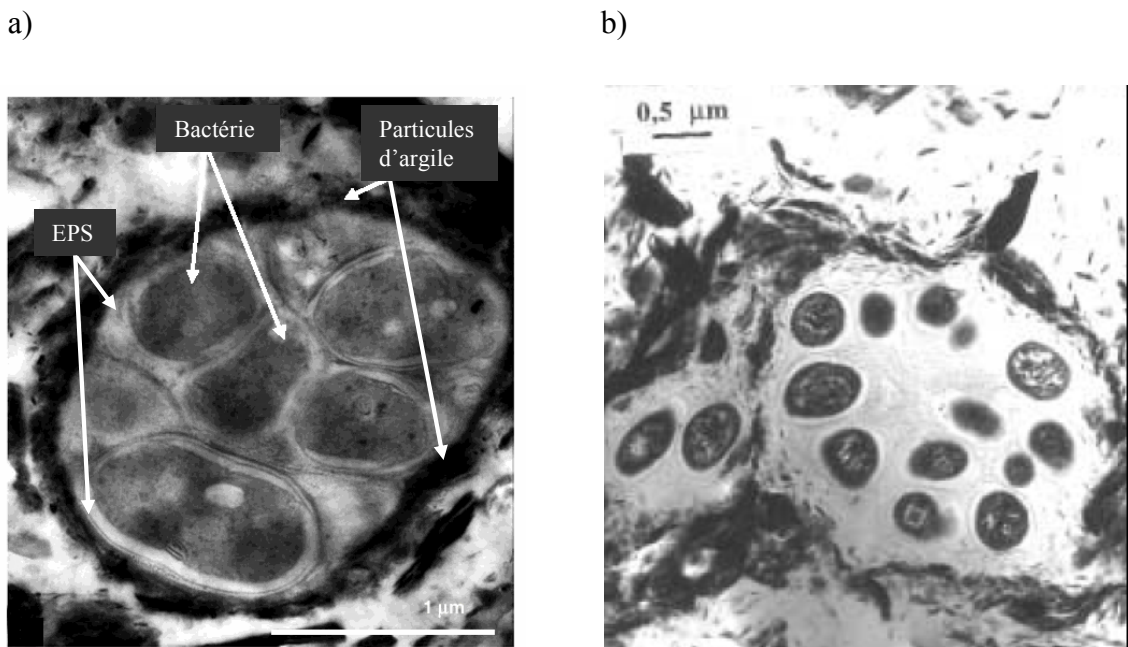


Figure 1.4. Observation des microagrégats bactériens (a) issu du sol rhizosphérique [6], (b) microagrégat concernant le MWAP71, extrait du sol de la Martinique [43].

L'inoculation d'un sol rhizosphérique avec des souches productrices d'EPS induit une modification significative des propriétés physiques du sol : une augmentation de la masse du sol adhérent aux racines par rapport à la masse du tissu racinaire (RAS/RT), une augmentation de la taille et de la stabilité des agrégats, et une modification de la porosité du sol. Ces modifications permettent une meilleure adsorption des nutriments et de l'eau par les plantes et leur croissance est supérieure. Ces effets sont également constatés pour les sols fortement salés, ce qui en général limite leur productivité dans la plupart des régions arides et semi-arides [24, 25]. Diverses souches bactériennes et plusieurs types de sol rhizosphérique ont été utilisés, on peut citer : l'inoculation des racines de tournesol par une souche de *Rhizobium sp.* (productrice de YAS34) dans un sol français [18, 19] ; l'inoculation des racines de blé par la souche *Pantoea agglomerans* (productrice de NAS206) dans un vertisol marocain [20, 21], par une souche *Paenibacillus polymyxa* (productrice de lévane) [22], par une souche *Rhizobium sp.* (productrice de KYGT207) dans un sol algérien [23], ou par des autres souches comme l'*Aeromonas hydrophila/caviae* (productrice de MAS765), *Bacillus insolitus* (productrice de MAS17), et *Bacillus sp.* (productrice de MAS617, MAS620 et MAS820) dans des sols pakistanais [24, 25]. Les tableaux 1.1 et 1.2 reportent l'effet de l'inoculation des racines de blé par la souche *Pantoea agglomerans* (NAS206) [20, 21]. La stabilité structurale est déterminée par un test de désagrégation : les racines et leur sol adhérent sont placés dans un tamis suspendu de pores de 0,2mm de diamètre et immergés dans 200ml d'eau, ils sont ensuite soumis à un mouvement rotatif pendant 1h ; le pourcentage d'agrégats stables à l'eau (taille > 0,2mm) est ensuite estimé.

Sol Rhizosphérique	RAS/RT (g/g)	Agrégats stables à l'eau (%)	MWD (mm)	Macroporosité Hg (mm ³ /g)
Control	105 ± 8	35,2 ± 4,2	1,3 ± 0,2	63 ± 1
Inoculé NAS206	155 ± 9	44,4 ± 2,5	1,6 ± 0,3	87 ± 1

Tableau 1.1. Effet de l'inoculation avec NAS206 sur les propriétés physiques du sol rhizosphérique : masse du sol adhérent aux racines par rapport au tissu racinaire (RAS/RT), proportion d'agrégats stables à l'eau, diamètre moyen des agrégats (MWD) et macroporosité (déterminée par porosimétrie au mercure, 6µm < r < 40µm). Les valeurs sont données avec les déviations standard [20].

Quand les souches bactériennes sont soumises à des conditions de stress hydrique (faible teneur en eau), leur production d'EPS augmente. Par exemple, la quantité du polysaccharide NAS206 excrétée est la plus importante pour teneurs en eau les plus faibles (tableau 1.2), quelle que soit la zone de la racine observée [21]. Le travail de Roberson et Firestone [26] porte sur la culture de *Pseudomonas sp.*, (isolé du sol rhizosphérique) dans une matrice de sable. Comme illustré dans la figure 1.5, les cultures sous stress hydrique produisent plus d'EPS et moins de protéine en comparaison à la culture de référence (haute teneur en eau). La production d'EPS semblerait compenser la pénurie en eau. Par ailleurs, l'EPS a intrinsèquement la capacité de retenir plusieurs fois son poids en eau comme illustré dans la figure 1.6 [26].

%H ₂ O (w/w), Potentiel (MPa)	Quantité moyenne de NAS206 dans la microflore totale (%)			
	Racine	Section basale	Section du milieu	Section de pointe
35, -0,05	34,4 ± 8,7	49,5 ± 11,6	8,6 ± 2,9	5,1 ± 0,6
24, -0,20	44,1 ± 6,9	63,2 ± 9,9	23,6 ± 4,7	15,7 ± 0,9
20, -0,55	71,0 ± 9,2	80,7 ± 9,9	45,2 ± 16,1	44,1 ± 6,4

Tableau 1.2. Pourcentage moyen de production de NAS206, et distribution le long de la racine de blé à différentes teneurs en eau (%) et potentiels hydriques (MPa) [21].

La reconstitution de systèmes modèles à l'état solide, argile – EPS ou sable – EPS [26-33], a révélé que la présence d'EPS entraîne : (1) une augmentation de la rétention d'eau et une diminution des vitesses de dessiccation et de réhydratation ; et (2) un renforcement des propriétés mécaniques, par rapport aux argiles ou aux sables sans EPS. Les figures 1.7 et 1.8 comparent le comportement du sable amendé par une culture de *Pseudomonas sp.*, à celui du sable seul [26]. La figure 1.7 illustre que la présence de l'EPS induit une rétention d'eau plus importante à différents valeurs de potentiel hydrique, et la figure 1.8 indique une diminution de la vitesse de dessiccation en présence de l'EPS [26].

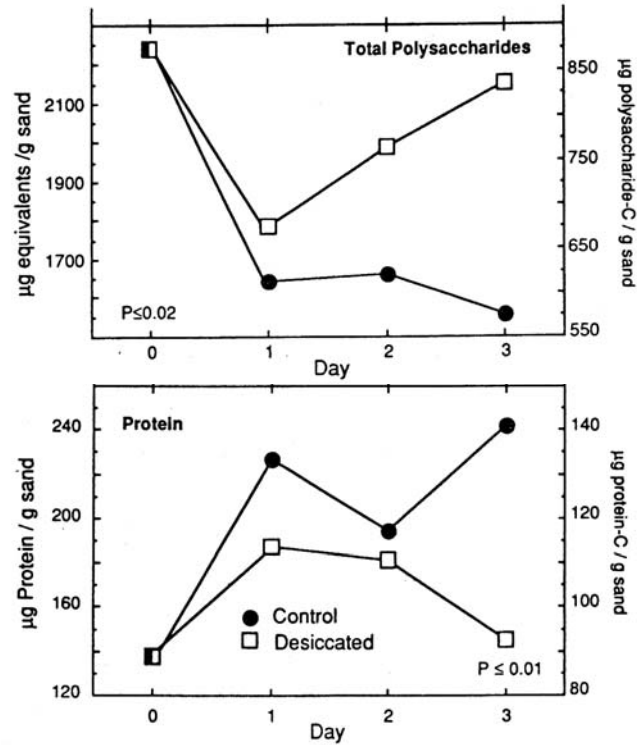


Figure 1.5. Production d'EPS et de protéine par *Pseudomonas sp.* pendant la dessiccation [26].

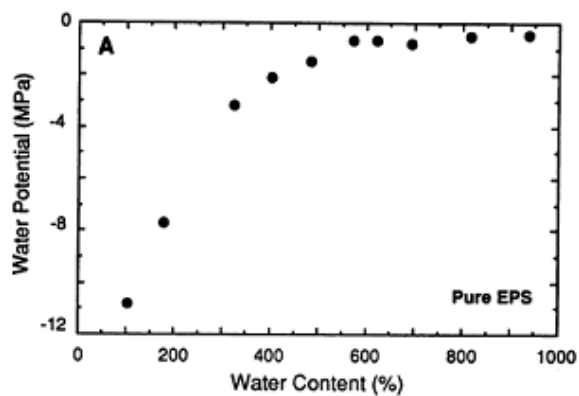


Figure 1.6. Teneur en eau de l'EPS pur (*Pseudomonas sp.*) à différents valeurs de potentiel hydrique [26].

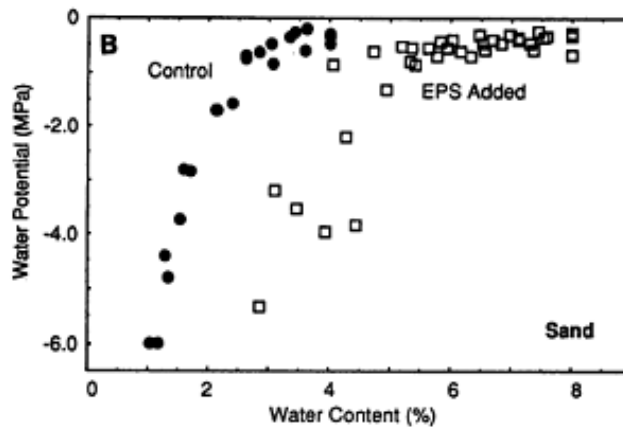


Figure 1.7. Teneur en eau à différents valeurs de potentiel hydrique : sable (ronds) et sable-EPS (carrés) [26].

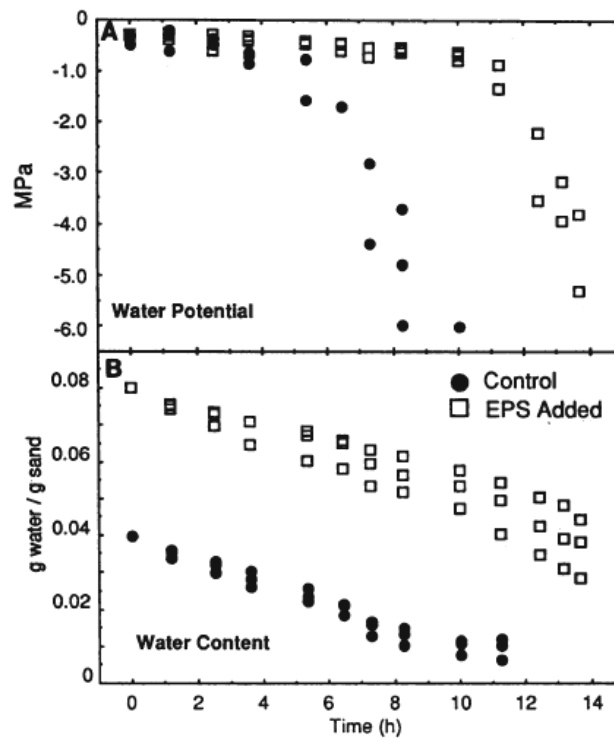


Figure 1.8. Evolution (A) du potentiel hydrique, et (B) de la teneur en eau pendant 14h de séchage d'un sable (ronds) et d'un sable-EPS (carrés).

Les travaux de Chenu et collaborateurs [27-33] portent sur des systèmes modèles élaborées avec de l'argile (kaolinite, montmorillonite) ou du sable, et différents EPS comme le xanthane, le scléroglycane et le dextrane ; ils sont élaborés à partir de suspensions argile-EPS centrifugées et séchées à l'air. L'influence positive des EPS sur la rétention d'eau est expliquée par la combinaison de deux phénomènes : (a) la propriété de rétention d'eau intrinsèque aux EPS ; et (b) la modification de la microstructure des argiles due à la présence de l'EPS, résultant en des espaces plus ouverts dans l'organisation des particules minérales [28, 31, 33]. Les observations des systèmes kaolinite-xanthane, kaolinite-scléroglycane et montmorillonite –scléroglycane sont donnés dans la figure 1.9 [28].

L'influence des EPS dans le renforcement des propriétés mécaniques des argiles est illustrée dans la figure 1.10 qui reporte le comportement des systèmes modèles kaolinite et montmorillonite avec le scléroglycane. La présence de l'EPS augmente la fraction d'agrégats stables à l'eau (de taille supérieure à 200 μm) et augmente le module de rupture par rapport à l'argile seule [32]. Le complexe est visualisé par microscopie électronique dans la figure 1.11 [6], on observe un réseau de fibres enchevêtrées liant les particules d'argile. Le renforcement des propriétés mécaniques est alors expliqué par un mécanisme de pontage, les EPS jouent un rôle agrégeant, ils s'adsorbent sur les particules minérales et les relient entre elles, formant ainsi un réseau organo-minéral [30, 32].

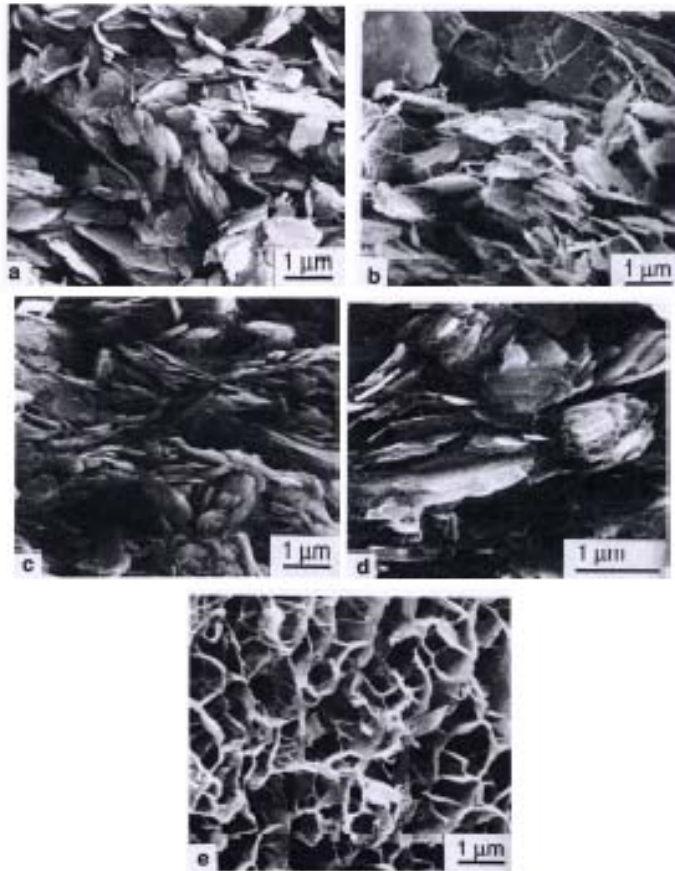


Figure 1.9. Microstructure des associations argile – EPS, observées par Cryo-MEB (microscopie électronique à balayage à basses températures) à potentiel hydrique - 0,0032 MPa [28].

- (a) kaolinite pure.
- (b) kaolinite – xanthane (teneur en EPS : 2,5% w/w argile).
- (c) kaolinite – sclérogucane (teneur en EPS : 4% w/w argile).
- (d) kaolinite – sclérogucane (teneur en EPS : 10% w/w argile).
- (e) montmorillonite calcique – sclérogucane (teneur en EPS : 14% w/w argile).

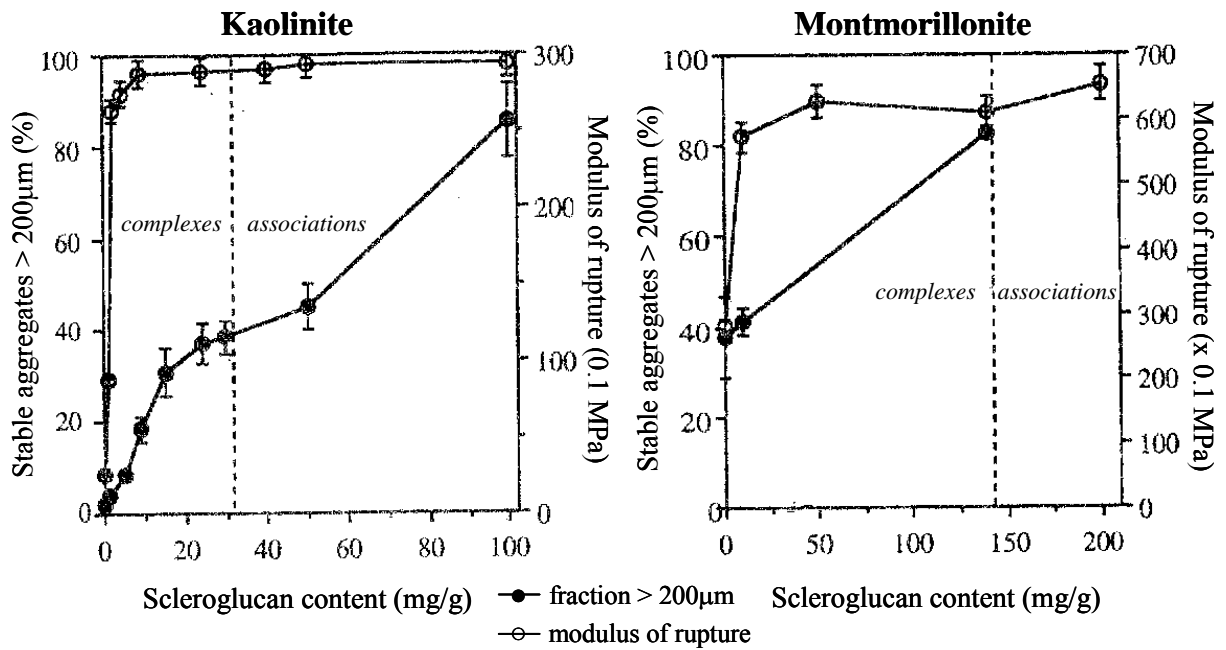


Figure 1.10. Fraction d'agrégats stables à l'eau et module de rupture en fonction de la teneur en EPS pour les systèmes modèle kaolinite-scléroglycane et montmorillonite-scléroglycane [32].

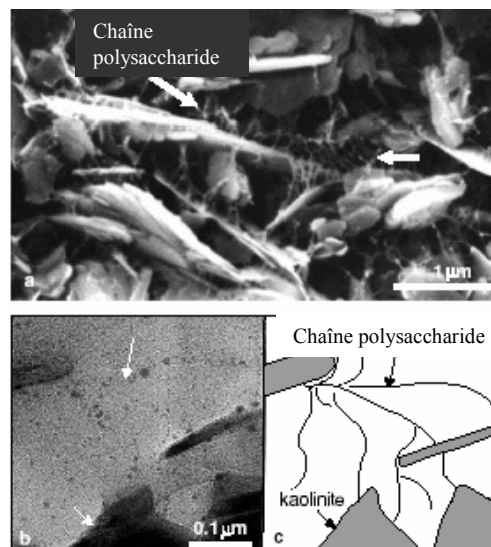


Figure 1.11. Système reconstitué kaolinite – scléroglycane : (a) Microscopie électronique à balayage à basse température (cryo-MEB); (b) microscopie électronique à transmission (MET) après traitement avec l'argent (marquage de l'EPS); et (c) représentation schématique de (b) [6].

La dernière approche reconstruit des systèmes modèles argile – EPS en milieu aqueux. Le rôle des EPS est évalué de manière indirecte par quantification de l'adsorption des EPS sur les surfaces d'argile, et de la floculation – coagulation de suspensions d'argile induites par la présence des EPS [34, 36-41]. De manière générale, l'adsorption et la floculation sont directement liées aux conditions expérimentales. Les facteurs déterminants sont le pH, la force ionique du milieu, la nature du contre-ion (mono ou divalent) et la nature de l'EPS (neutre ou chargé). L'adsorption des polymères neutres est indépendante du pH et directement liée à la masse molaire, tandis que l'adsorption des polyanions est favorable à pH acide, à haute force ionique et à la présence de cations polyvalents dans le milieu. L'influence du pH joue sur deux aspects : (a) le caractère amphotère des bords des feuillets d'argile, dû à la présence de groupements Al-OH, et (b) la dissociation des fonctions acides présentes dans l'EPS. Quelques exemples des expériences réalisées sont donnés par la suite.

Les travaux de Labille *et al.* [34-36] concernent la déstabilisation d'une suspension colloïdale de montmorillonite induite par la présence de différents EPS. La capacité des EPS à agréger les particules d'argile a été évaluée par diffractométrie laser. Les grandeurs mesurées sont la taille des agrégats (D50) et la vitesse de leur formation (r), (cf. figure 1.12). L'argile utilisée est la montmorillonite sodique (Wyoming Na-MMT) et plusieurs EPS sont considérés : le dextrane, le MWAP71, le RMDP17, le Rhamsane, le Xanthane, le YAS34 et le succinoglycane. Dans les conditions expérimentales utilisées, i.e. suspension aqueuse et avec agitation mécanique, la formation d'agrégats n'est observée que si un électrolyte (CaCl_2) est présent dans le milieu, il diminue la répulsion électrostatique entre les particules minérales et permet leur coagulation. L'EPS est ensuite ajouté et la *floculation* des particules minérales est induite [34, 36]. Ces deux phénomènes de coagulation et de floculation sont illustrés dans la figure 1.12. Par ailleurs, le point de charge nulle (PZC) des bords de montmorillonite est compris entre pH 4 et 7. Comme révélé sur la figure 1.13, la vitesse de floculation d'un EPS chargé comme le succinoglycane n'est optimale qu'à pH acide, tandis qu'à pH basique son comportement est proche de celui d'un EPS neutre (ici le dextrane). Enfin, les valeurs de D50 et de r mesurés pour les plusieurs EPS sembleraient être corrélés à la taille de la molécule, à la présence des charges et à leur localisation dans la structure de l'EPS. L'accessibilité des sites acide (et donc leur disponibilité pour interagir avec la surface minérale) est un

paramètre particulièrement important. En effet, l'interaction ionique est plus importante quand les fonctions acides sont localisées sur la chaîne latérale (succinoglycane et YAS34) plutôt que sur la chaîne principale (RMDP17 et rhamsane). En revanche, une diminution de la floculation est observée quand la charge est portée sur une chaîne latérale courte (comme c'est le cas du MWAP71), ou quand la densité de charge des chaînes latérales est trop importante, c'est le cas du xanthane où la floculation est défavorisée due aux encombrements stériques [34].

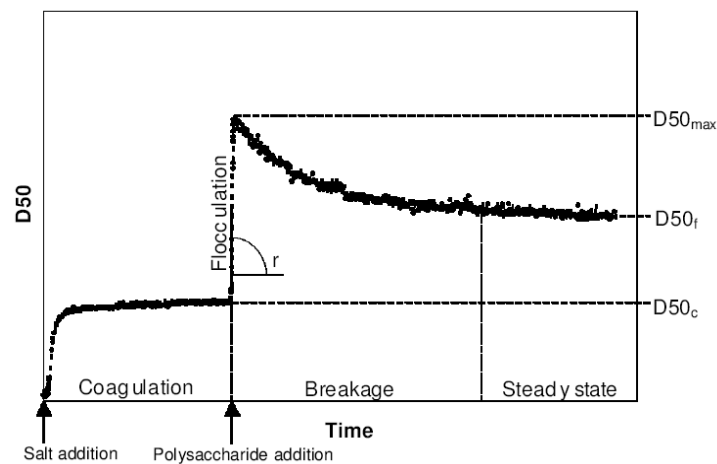


Figure 1.12. Evolution typique de la taille des agrégats en fonction du temps. $D50_c$ correspond à la coagulation (obtenue avec l'addition de CaCl_2), $D50_{\max}$ et $D50_f$ correspondent à la taille maximale et à la taille obtenue en fin de floculation respectivement (en μm), et r est la vitesse de floculation en $\mu\text{m s}^{-1}$ [36].

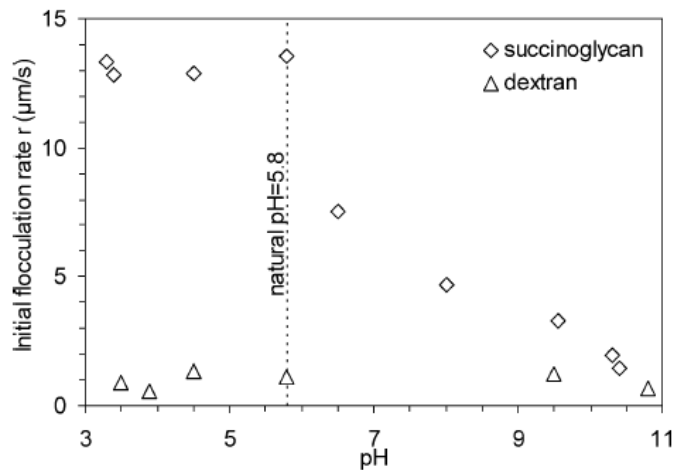


Figure 1.13. Comparaison des vitesses de floculation du succinoglycane et du dextrane, en fonction du pH [34].

Tarchitzky et Chen [40] ont proposé deux mécanismes de floculation de la montmorillonite sodique en présence de l'acide polyglucuronique : (1) réversion de charge, et (2) hétérofloculation. Le premier mécanisme considère que les polyanions sont adsorbés sur les sites positifs des bords de l'argile, en résulte une réversion de charge locale, la floculation est alors induite grâce aux interactions bord-bord et face-bord. Le second mécanisme considère une distribution aléatoire de la molécule organique autour des tactoïdes de montmorillonite, favorisant les interactions face-face [40]. Ici également, une forte dépendance du pH est constatée, en relation au PZC de l'argile et au pKa de l'acide (de l'ordre de 3,2 pour l'acide polyglucuronique).

D'autres méthodes de quantification de l'adsorption des EPS sur l'argile en milieu aqueux ont été rapportées : (a) la méthode colorimétrique à l'antrone, dans laquelle la quantité d'EPS non adsorbée est déterminée par dosage colorimétrique des sucres (densité optique) en mesurant la concentration du sucre dans la solution par rapport à des solutions standard de glucose [38]; et (b) la quantification de carbone organique total (TOC), où la quantité d'EPS adsorbée est déterminée par la différence entre le TOC initial et celui qui reste en solution [37]. La première méthode a été utilisée pour évaluer l'adsorption des EPS neutres (le dextrane et le scléroglycane) et la deuxième pour l'adsorption d'un EPS anionique (le xanthane) sur les surfaces de kaolinite et smectites sodiques et calciques. Les

résultats sont en concordance avec ceux reportés dans les exemples précédents, ils révèlent en outre une plus forte affinité des EPS pour la montmorillonite par rapport à la kaolinite, et aussi pour la montmorillonite sodique (Na-MMT) par rapport à la montmorillonite calcique (Ca-MMT), cette tendance est illustrée sur la figure 1.14 en considérant l'exemple du scléroglycane [38]. De plus, des données de diffraction des rayons X (XRD) indiquent que la distance (001) reste inchangée, que l'EPS soit présent ou non, ceci indique que l'interaction de l'EPS avec le minéral se fait seulement sur les surfaces externes de l'argile, ceci est illustré de manière schématique sur la figure 1.15 [38]. Cette dernière représentation est en accord avec le mécanisme d'hétéroflocculation proposé par Tarchitzky et Chen [40], il est valide au moins pour les EPS neutres et pour les EPS anioniques à faible pH. Etant donné que l'interaction entre l'EPS et l'argile est de basse énergie (i.e. forces de van der Waals et liaisons hydrogène), l'adsorption devient plus efficace quand de nombreuses interactions sont établies entre l'EPS et la surface minérale, d'où l'importance de la surface spécifique de l'argile [37].

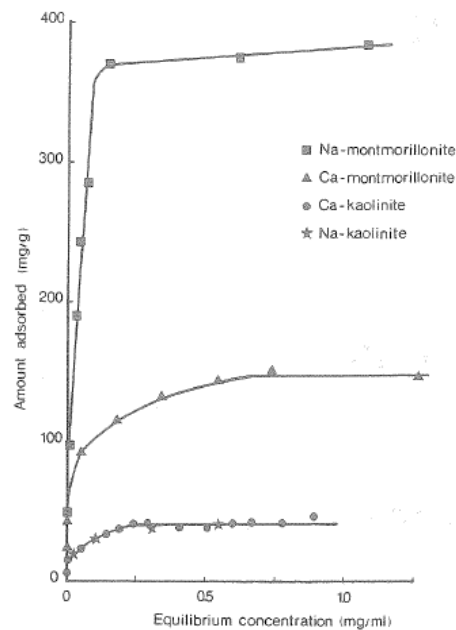


Figure 1.14. Isothermes d'adsorption du scléroglycane sur les surfaces de kaolinite et montmorillonite [38].

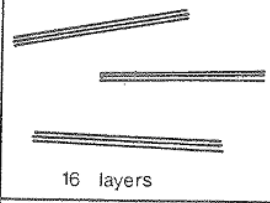
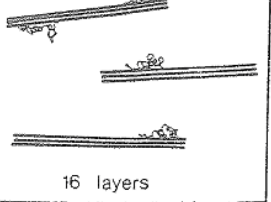
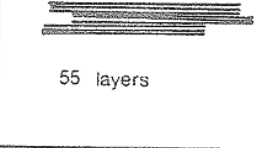
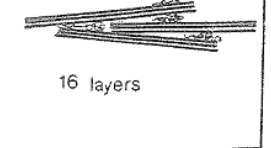
clay - water content	Ca - montmorillonite	Ca - montmorillonite + polysaccharide
0.5 %	 <p>16 layers</p>	 <p>16 layers</p>
15.4 % (32mbar)	 <p>55 layers</p>	 <p>16 layers</p>

Figure 1.15. Représentation schématique de l'effet des EPS dans l'arrangement des paquets d'argile [38].

2. MATERIAUX POLYMERES NANOCOMPOSITES

Les matériaux polymères nanocomposites sont fabriqués pour diverses applications commerciales et industrielles, telles que les marchandises sportives, les composants électriques et électroniques, l'emballage alimentaire, etc. Le terme composite fait référence au renforcement de la matrice polymère par l'insertion d'un matériau de remplissage, dénommé « charge », souvent d'origine minérale. Le terme « nano » correspond à l'utilisation de charges, pour lesquelles au moins une des dimensions est de l'ordre du nanomètre. Cependant, le produit final n'est pas forcément de taille nanométrique, il peut être de l'ordre du micro- ou du macroscopique [45]. Leur développement s'est accentué depuis une vingtaine d'années. Les avancements du domaine de la « nanotechnologie » ont été favorisés par l'accompagnement des techniques de caractérisation comme la microscopie électronique et la microscopie à effet tunnel, mises en place pendant les années 80. De même, l'évolution du calcul scientifique pendant ces années, a favorisé l'étude et la prédiction de leurs propriétés d'un point de vue théorique, ces techniques concernent par exemple la modélisation moléculaire [46, 47].

L'action de renforcement par les charges nanométriques est favorisée par leur grande surface spécifique, c'est-à-dire une large surface par unité de volume, ce qui induit une interaction avec la matrice polymère plus grande. Les composites sont classés, d'une manière générale, en trois types selon la géométrie de la charge utilisée. Ils sont : (a) particulaires, (b) fibreux ou (c) lamellaires. Ces différentes géométries sont illustrées dans la figure 2.1. Des exemples de charges sont : (a) les nanoparticules de noir de carbone et de silice, (b) les nanotubes de carbone ou les nanofibres (p. ex. fibres de cellulose), et (c) des lamelles de graphite et d'argiles [45].

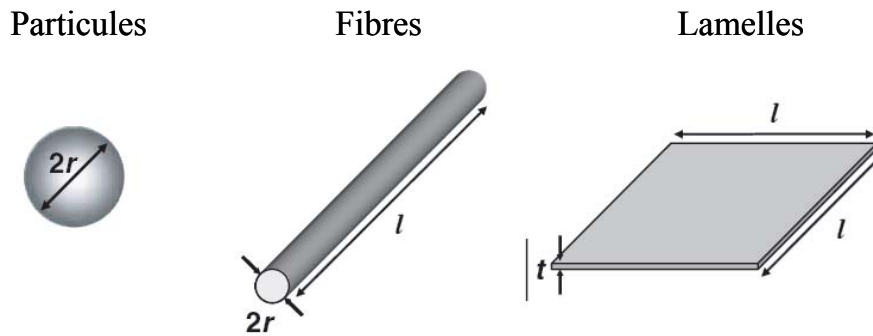


Figure 2.1. Géométries des charges utilisées pour renforcer les matériaux nanocomposites.

l est la longueur, t l'épaisseur et r le rayon.

2.1. Les Nanocomposites lamellaires à base d'argile

Le premier composite de ce type a été un hybride de Nylon-6 et de montmorillonite, il a été conçu au début des années 90 par les laboratoires de recherches de Toyota au Japon. L'introduction de la montmorillonite, même à une faible quantité, produit une amélioration importante des propriétés thermiques et mécaniques (voir le tableau 2.1 [48]). Depuis, un grand effort a été consacré en recherche et développement sur ce type de matériaux [45, 49-51]. Ici, nous ne ferons qu'une brève description de leurs principales caractéristiques.

Propriété		Nylon-6	Nylon-6/montmorillonite
Résistance à la traction (MPa)	à 23°C	68,8	97,2
	à 120°C	26,6	32,3
Module d'Young (GPa)	à 23°C	1,11	1,87
	à 120°C	0,19	0,61
Température de déflexion à la chaleur (°C) à 1,82MPa		65	152
Vitesse d'absorption d'eau (%w/w) 1 jour	à 23°C	0,87	0,51

Tableau 2.1. Comparaison des propriétés pour le Nylon-6 et du composite Nylon-6/montmorillonite, pour une teneur en argile de 5% (w/w).

L'insertion des argiles dans les matrices polymères induit [50]:

- un renforcement des propriétés mécaniques
- une meilleure résistance thermique
- une modification des propriétés optiques
- l'augmentation des propriétés de barrière
- une diminution du prix du matériau
- l'augmentation de la biodégradabilité ou du potentiel de recyclage du matériau

Les propriétés des composites dépendent non seulement des caractéristiques individuelles de leurs composants (charge et matrice polymère), mais également de leur morphologie et des interactions établies aux interfaces. Selon la procédure utilisée pour leur préparation, des différences significatives peuvent être obtenues sur les propriétés du matériau final. Par exemple, la figure 2.2 illustre, de manière schématique, trois types principaux de composites lamellaires : (1) composite de **phases séparées**, obtenu quand le polymère ne peut pas s'intercaler (ou pénétrer) entre les feuillets d'argile, ses propriétés sont celles des microcomposites ou des composites conventionnels ; (2) une structure **intercalée**, obtenue quand une chaîne polymère peut pénétrer entre les feuillets d'argile, résultant en une morphologie des couches alternées polymère/feuille ; et (3) une structure **exfoliée**, présente quand les feuillets se trouvent séparés et plus au moins uniformément dispersés dans la matrice polymère [50]. La figure 2.3 présente un exemple de nanocomposites polystyrène/montmorillonite. Ces images, obtenues par microscopie électronique à transmission, montrent différentes structures : (a) intercalée [52], et (b) exfoliée [53].

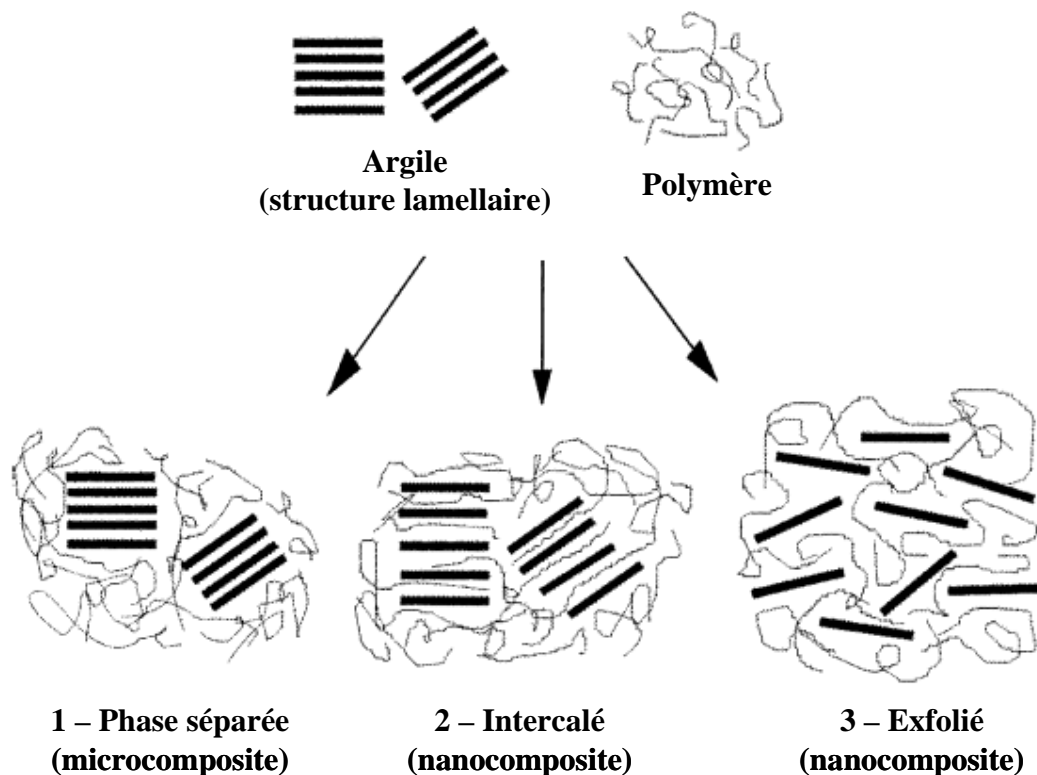


Figure 2.2. Schéma des structures obtenues par mélange des argiles et polymères.

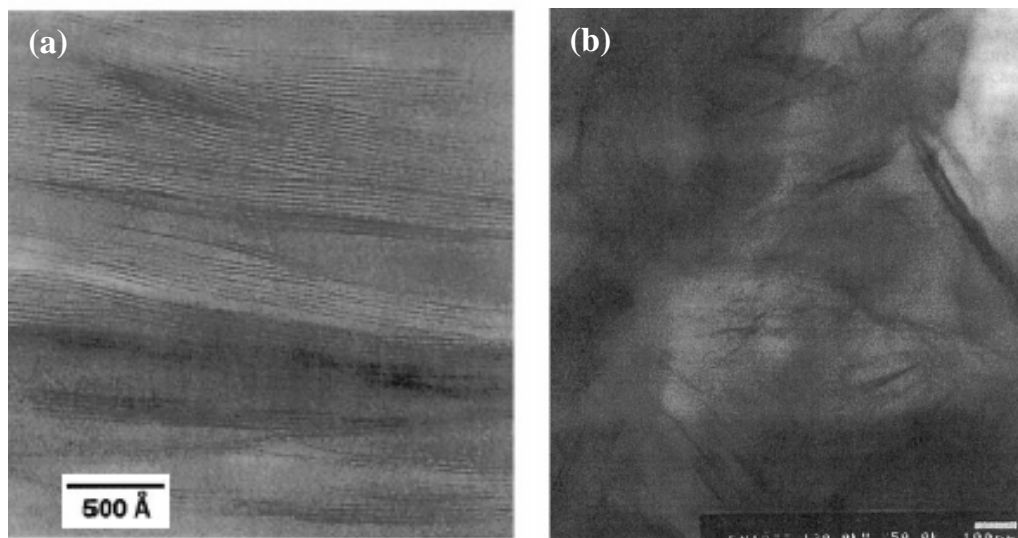


Figure 2.3. Images de MET de composites polystyrène/montmorillonite : (a) structure intercalée [52], et (b) structure exfoliée [53].

Les argiles les plus utilisées sont les smectites, dont la montmorillonite, la hectorite et la saponite font partie. Leur formule chimique est présentée dans le tableau 3.2. (section 3.1.2.1). La hectorite présente une viscosité importante et elle est transparente en solution. Néanmoins, la montmorillonite est la plus utilisée pour la fabrication de composites polymères, grâce à sa haute surface spécifique et sa réactivité [45]. La taille de l'espace basal est de l'ordre de 12 à 17 Å pour les smectites, par rapport à 10 Å pour l'illite ; de 9 à 14 Å pour la vermiculite et de 7 Å pour la kaolinite. Cette caractéristique peut favoriser l'insertion de molécules organiques entre les feuillets [45].

La dispersion des charges d'argile dans la matrice polymère pose malheureusement des difficultés expérimentales, à cause de l'incompatibilité des caractères hydrophile et hydrophobe des argiles et des polymères, respectivement.

Une stratégie pour rendre l'argile compatible avec la matrice polymère est de modifier sa surface en utilisant des agents tensioactifs. Il s'agit d'échanger les cations naturellement présents dans l'espace interfoliaire de l'argile par des cations d'alkylammonium ou d'alkylphosphonium. Ces derniers peuvent être des cations primaires, secondaires, tertiaires ou quaternaires et de préférence possédant de longues chaînes alkyls. Les argiles ainsi modifiées sont dénommées des *organoargiles* (en anglais, « organoclays » ou « organosilicates »). La présence de ces cations organiques diminue l'énergie de surface des feuillets et améliore les caractéristiques de mouillabilité par la matrice polymère ; ils conduisent également à une plus grande distance interfoliaire [49].

2.2. Les méthodes de préparation

Les trois méthodes principales d'élaboration des nanocomposites argile – polymère sont :

a) L'exfoliation – adsorption : cette méthode utilise un solvant dans lequel le polymère est soluble et l'argile est gonflable. D'abord, l'argile est dispersée dans le solvant (par exemple l'eau, l'acétone, le chloroforme ou le toluène). Le polymère est

ensuite mélangé, il s'adsorbe sur les feuillets et reste « piégé » entre les feuillets quand le solvant est évaporé.

b) La polymérisation intercalaire *in situ* : dans cette méthode, l'argile est gonflée avec le monomère en solution ; la polymérisation est donc réalisée dans l'espace interfoliaire. Cette réaction de polymérisation peut être initialisée soit par chauffage ou par un rayonnement, soit par la diffusion d'un initiateur organique ou d'un catalyseur préalablement fixé (pendant l'échange cationique et avant l'étape de gonflement) [49].

c) L'intercalation à l'état fondu : dans cette technique, l'argile est mélangée avec la matrice polymère à l'état fondu. Il s'agit d'une méthode bien adaptée pour les polymères thermoplastiques, dans laquelle les composants sont mixés par une action mécanique comme l'extrusion ou le moulage par injection à haute température [45]. Cette méthode a plusieurs avantages : l'absence d'utilisation de solvants organiques, la compatibilité avec les procédés industriels, et la possibilité de traiter des polymères inadaptés aux deux techniques précédentes [54].

Le tableau 2.2 récapitule les avantages et désavantages de chaque méthode, il donne également quelques exemples de polymères utilisés pour l'obtention de nanocomposites avec la montmorillonite. Les abréviations utilisées sont : N6 (Nylon-6); PP (polypropylène); PE (polyéthylène); PS (polystyrène); PCL (poly(ϵ -caprolactone)); PET (polyéthylène téréphtalate); BADGE (bisphénol A diglycidyl éther); PU (polyuréthane); PC (polycarbonate); PDS (poly(diméthylsiloxane)); PEHD (polyéthylène à haute densité); PPV (poly(p-phénylène vinylène)); PMMA (poly(méthyle méthacrylate)); BAN (copolymère butadiène-acrylonitrile) ; PDMS (poly(diméthylsiloxane)).

Méthode	Avantages	Désavantages	Exemples (type de polymère et référence)
Exfoliation – adsorption	De préférence pour les polymères solubles dans l'eau ou dans certains solvants organiques.	Le solvant compatible avec le polymère et avec l'argile n'est pas toujours disponible. Utilisation de grandes quantités de solvant.	<i>Thermoplastiques :</i> PS [55] PEHD [56] PPV [57] PMMA [58], PP [59] <i>Elastomère:</i> BAN [60] <i>Thermodurcissable:</i> PU [61]
Polymérisation intercalaire <i>in situ</i>	Approprié pour les polymères non solubles ou très peu solubles. Méthode bien adaptée pour les polymères thermodurcissables.	L'exfoliation de l'argile dépend du taux de gonflement et de la vitesse de diffusion des monomères dans l'espace interfoliaire. L'oligomère peut se former avant de compléter la réaction de polymérisation.	<i>Thermoplastiques :</i> N6 [62, 63] PP [64, 65] PE [66, 67] PS [52, 53] PCL [68] PET [69] <i>Thermodurcissables:</i> BADGE [70] PU [71, 72]
Intercalation à l'état fondu	Aucun dissolvant n'est exigé. Les nanocomposites peuvent être traités avec la technologie conventionnelle d'extrusion et de moulage.	Pénétration lente du polymère dans l'espace interfoliaire.	<i>Thermoplastiques :</i> N6 [62, 73] PP [64, 74] PE [75, 76] PS [77, 78] PC [79] <i>Elastomère:</i> PDMS [80] <i>Thermodurcissable:</i> PU [81]

Tableau 2.2. Méthodes de préparation des nanocomposites polymères avec la montmorillonite.

2.3. Les nanocomposites à base de biopolymères « bio-nanocomposites »

L'utilisation des matières plastiques a connu une grande expansion à la fin du 20^{ème} siècle, à l'heure actuelle, leur production correspond à plus de 200 millions de tonnes par an [82]. Les polymères de synthèse ont remplacé les métaux, les verres, les céramiques et le bois dans diverses applications. Récemment, une bonne partie de la production (40%) est utilisée pour l'emballage, presque la moitié dans le secteur alimentaire [83]. Ces matières plastiques sont principalement produites à partir des combustibles fossiles. Une fois utilisées, elles sont jetées dans l'environnement, générant une quantité importante de déchets difficilement assimilables dans la nature. De même, leur incinération génère du gaz carbonique, et dans certains cas, des gaz toxiques. Ceci pose des sérieux problèmes pour l'environnement. Les « biopolymères », qui sont des polymères d'origine naturelle, représentent donc une alternative aux polymères de synthèse. Ils présentent des propriétés intéressantes pour la conception de nouveaux matériaux : ils sont multifonctionnels, biodégradables et biocompatibles [84]. Les biopolymères sont particulièrement intéressants économiquement car ils apportent l'indépendance par rapport aux matières premières issues de combustibles fossiles, mais aussi pour l'environnement grâce à leur biodégradabilité et à la diminution des résidus polluants. Cependant, les biopolymères présentent de faibles propriétés mécaniques et thermiques, ils sont sensibles à l'eau et perméables aux gaz, ce qui limite leur utilisation dans nombreuses applications.

La recherche sur ce type de composites est relativement récente, mais elle ouvre de nouvelles applications des biopolymères. Les biomatériaux sont utilisés dans le domaine médical et pharmaceutique, grâce à leur biocompatibilité ; des polysaccharides, par exemple, sont utilisés dans la réalisation des implants et des membranes et pour l'ingénierie tissulaire [84]. Un potentiel important est aussi envisagé dans l'élaboration des emballages alimentaires, néanmoins, des bonnes propriétés mécaniques sont requises. L'ajout des nano-charges d'argile est donc un atout pour l'élargissement des applications.

Les biopolymères envisageables pour l'élaboration de nanocomposites sont principalement des polyesters et des polysaccharides, la montmorillonite est l'argile la plus

utilisée (soit sous forme de montmorillonite sodique ou d'organo-argile). Quelques exemples de biopolymères utilisés jusqu'à présent sont:

- l'acide polylactique (PLA) [85-90];
- le polyhydroxy butyrate (PHB) [91] ;
- l'amidon [82, 92-95];
- le chitosane [96-98] ;
- l'acétate de cellulose [99, 100] ;
- la gélatine [101, 102] ;
- l'huile de soja [103].

Dans tous les cas, la présence de l'argile induit l'augmentation de la stabilité thermique du biopolymère et un renforcement de ses propriétés mécaniques (augmentation de module de Young et de la dureté). De plus, une augmentation des propriétés de barrière est généralement observée (diminution de la perméabilité aux gaz et de l'adsorption d'eau). Trois exemples de bioplastiques obtenus à partir de ce type de composites sont présentés dans les figures 2.4, 2.5 et 2.6. Les nanocomposites à base de PLA, PHB, d'amidon, d'huile de soja et d'acétate de cellulose sont potentiellement utilisables dans le domaine de l'emballage [83, 92, 99, 104]. Dans le cas du chitosane et de la gélatine, les applications sont plutôt envisagés dans le domaine médical [82, 101].

Dans ce contexte des composites à base d'argile et de polysaccharides, l'étude des détails moléculaires de leur interaction est particulièrement intéressante.

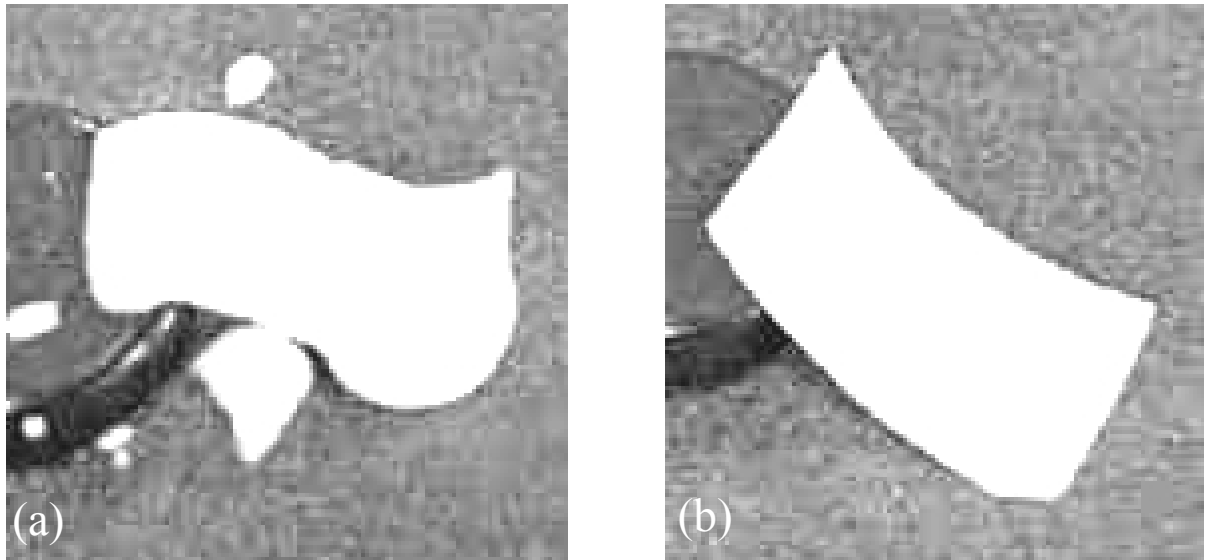


Figure 2.4. Films à base d'amidon, après 8 heures dans l'eau : (a) amidon plastifié et (b) amidon plastifié renforcé avec l'argile [82].

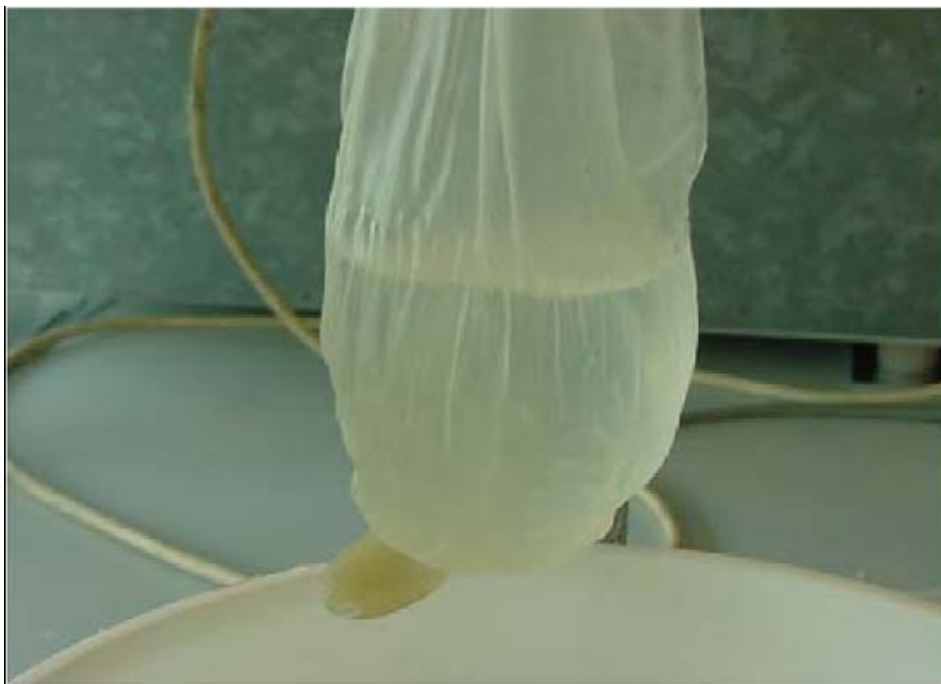


Figure 2.5. Sac d'un nanocomposite à base d'amidon et montmorillonite, rempli d'eau pendant 3 semaines [95].

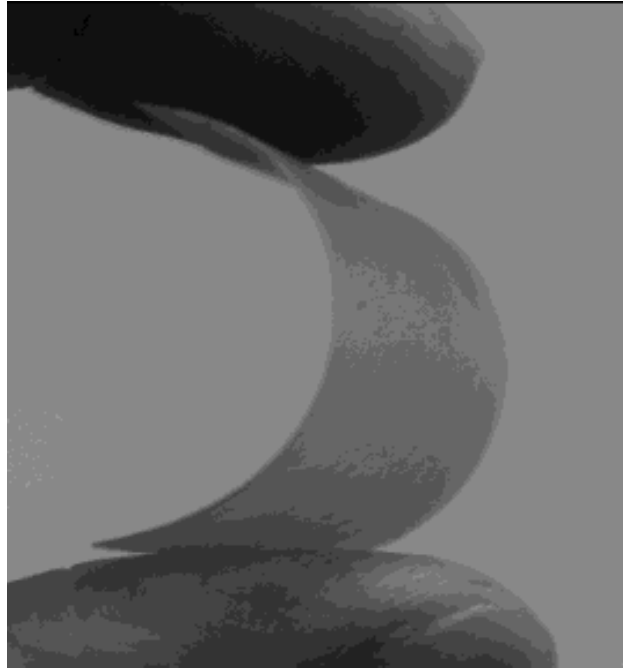


Figure 2.6. Film obtenu à partir d'huile de soja (ESO) avec une organoargile (octadodecyl montmorillonite). Ce film est flexible et possède de bonnes propriétés mécaniques, caractéristiques impossibles à obtenir sans argile [103].

3. COMPOSANTS DU SYSTEME : ARGILE ET EPS

3.1. Description et propriétés des argiles

Les minéraux représentent environ 45% de la masse du sol [105]. La dénomination « argile minérale » correspond à des silicates de taille inférieure à 2 μm , généralement produits par la désagrégation chimique de roches de silicate à la surface de la terre.

3.1.1. Structure lamellaire

Les argiles appartiennent à la famille des phyllosilicates. Ils présentent une structure lamellaire, dont l'élément de base est le feuillet. Les feuillets sont constitués de couches tétraédriques (T) et octaédriques (O). La couche T est constituée par des tétraèdres de $[\text{SiO}_4]^{4-}$ (figure 3.1(a)), dans lesquels l'atome de silicium est entouré de quatre atomes d'oxygène. Les tétraèdres se combinent en partageant trois atomes d'oxygène, dits « basaux », et forment une maille hexagonale (figure 3.1(b)). Les atomes d'oxygène non partagés, dits « apicaux », pointent tous dans la même direction [106].

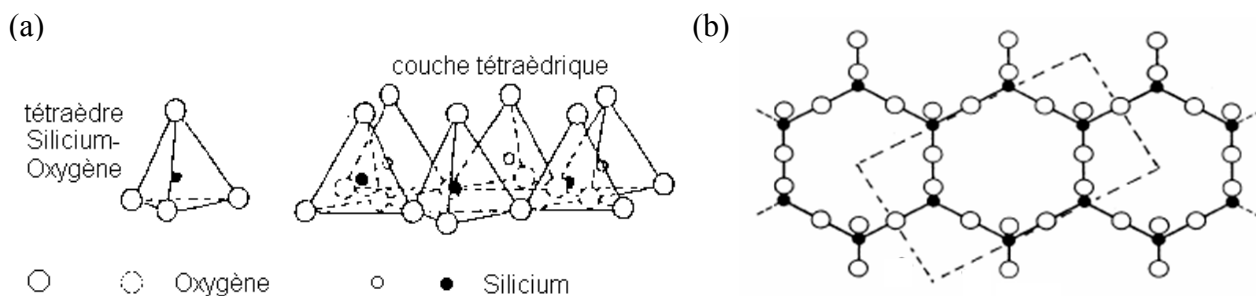


Figure 3.1. (a) Site tétraédrique isolé et assemblage de plusieurs sites tétraédriques ; (b) projection d'un assemblage de sites T mettant en évidence la maille hexagonale.

La couche O est constituée d'octaèdres $[\text{AlO}_3(\text{OH})_3]^{6-}$ (figure 3.2), dans lesquels un atome central d'aluminium est lié aux atomes d'oxygène et aux groupements hydroxyles situés aux sommets de la structure. Cette configuration permet l'insertion de gros cations comme par exemple le Mg^{2+} , ou le $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$. L'occupation des sites octaédriques est binaire, si tous les sites sont occupés, la structure sera classée dans la catégorie des argiles

trioctaédriques. Si cette condition n'est pas remplie, il y aura un site vacant pour deux occupés, dans ce cas, l'argile entre dans la catégorie des argiles dioctaédriques [106].

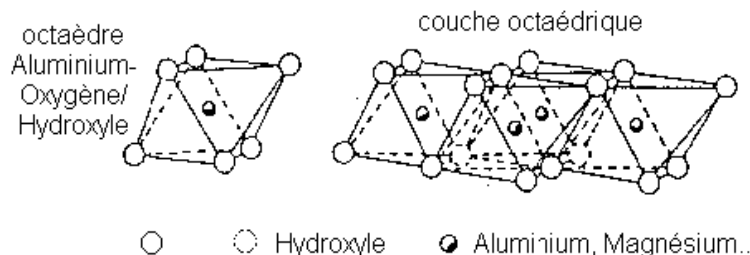


Figure 3.2. Site octaédrique isolé et assemblage de plusieurs sites octaédriques

Une couche octaédrique est constituée de deux plans d'ion OH^- (ou O^{2-}), ils s'agencent avec une couche tétraédrique et constituent des feuillets. Les assemblages les plus courants sont :

- TO ou 1:1, où un feuillet est constitué d'une couche T et d'une couche O.
- TOT ou 2:1, où un feuillet est constitué d'une couche O prise en sandwich entre deux couches T.

Ces assemblages sont représentés de manière schématique dans la figure 3.3.

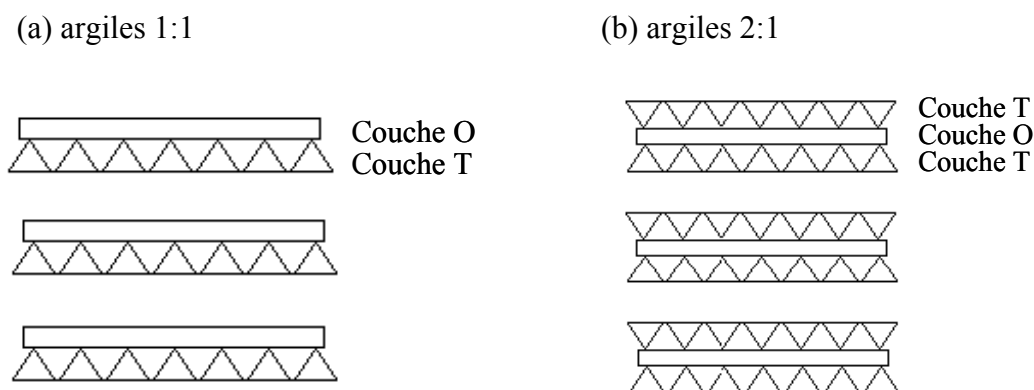


Figure 3.3. Représentation schématique de l'assemblage des phyllosilicates (a) TO ou 1:1 ; et (b) TOT ou 2:1.

Des substitutions ioniques isomorphiques ont souvent lieu. Par exemple, des cations Si^{4+} peuvent être substitués par des Al^{3+} ou Fe^{3+} dans la couche tétraédrique et les cations Al^{3+} peuvent être substitués par des cations Mg^{2+} ou Fe^{2+} dans la couche octaédrique. La charge négative n'est pas précisément localisée dans le feuillet, elle doit donc plutôt être considérée comme une moyenne répartie sur le cristal entier. Le déficit de charge positive dans les feuillets, causé par ces substitutions est compensé par des cations localisés entre les feuillets (dans l'espace interfoliaire). Les cations peuvent être des métaux alcalins ou alcalinoterreux. Ces cations sont échangeables et peuvent être hydratés, en conséquence, les argiles possèdent capacité d'échange cationique (CEC) et une facilité à gonfler en présence d'eau. La CEC est souvent exprimée en milli-équivalents par gramme d'argile (meq/g), et correspond à la quantité de cations échangeables retenue dans l'espace interfoliaire.

3.1.2. Classification et applications

Différents modes de classification des phyllosilicates existent. La stœchiométrie du feuillet, sa charge, ou encore le type de matériel dans l'espace interfoliaire sont autant de critères utilisés pour classer les argiles. Le tableau 3.1 donne la classification des phyllosilicates planaires hydratés du comité sur la nomenclature de la société des argiles minérales [107].

Les argiles exhibent des facteurs de forme très élevés, une particule seule présente typiquement des dimensions latérales comprises entre 10^3 et 10^6 Å et une épaisseur d'environ 10 Å. Leur caractère colloïdal et leur facteur de forme important leur confèrent des propriétés particulières. Les argiles sont utilisées dans plusieurs domaines industriels, par exemple le pétrolier, l'agrochimie, la cosmétique, ainsi que dans le stockage de déchets toxiques et radioactifs.

Les propriétés varient selon le type d'argile. Les kaolinites, par exemple, sont dépourvues de cations échangeables dans l'espace interfoliaire et l'eau a beaucoup de mal à s'engager entre les feuillets. En conséquence, ces argiles ne gonflent que faiblement. En revanche, la structure des smectites et vermiculites permet l'insertion des cations échangeables et de molécules d'eau, elles font partie des argiles dites « gonflantes ». Une

attention spéciale a été donnée aux smectites pour les applications industrielles. Il faut noter que, malgré leur habilité à gonfler et leur capacité d'échange cationique, les vermiculites sont souvent associées à l'amiante, ce qui limite leur utilisation : l'amiante a été, en effet, classée cancérigène pour l'homme, au cours de la conférence du Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) en décembre 1976 [108].

Type	Matériel interfoliaire	Charge	Groupe	Caractère Octaédrique	Exemples
1:1	Aucun ou H₂O seulement	~ 0	Serpentine - Kaolinite	Trioctaédrique	Lizardite, berthierine, amesite, cronstedtite, nepouite, kellyite, fraipontite, brindleyite
				Diocctaédrique Di-trioctaédrique	Kaolinite, dickite, nacrite, halloysite Oinite
2:1	Aucun	~ 0	Talc- pyrophyllite	Triocctaédrique Diocctaédrique	Talc, willemseite, kerolite, pimelite Pyrophyllite, ferripyrophyllite
	Cations échangeables hydratés	0,2 – 0,6	Smectite	Triocctaédrique Diocctaédrique	Saponite, hectorite, sauconite, stevensite, swinefordite Montmorillonite, beidellite, nontronite, volkonskoite
	Cations échangeables hydratés	0,6 – 0,9	Vermiculite	Triocctaédrique Diocctaédrique	Vermiculite trioctaédrique Vermiculite dioctaédrique
	Cations monovalents non hydratés	0,6 – 1,0	Mica vrai (flexible)	Triocctaédrique Diocctaédrique	Biotite, phlogopite, lepidolite Muscovite, illite, glauconite, celadonite, paragonite
	Cations divalents non hydratés	1,8 – 2,0	Mica fragile	Triocctaédrique Diocctaédrique	Clintonite, kinoshitalite, bityite, anandite Margarite
	Couche hydroxyde	variable	Chlorite	Triocctaédrique Diocctaédrique Di-trioctaédrique	Clinochlore, chamosite, pennantite, nimite, baileychlore Donbassite Cookeite, sudoite

Tableau 3.1. Classification des phyllosilicates planaires hydratés. La charge correspond à la charge nette du feuillet par unité [107].

3.1.2.1. La montmorillonite

La structure cristalline des smectites correspond à un empilement 2:1, comme illustré dans la figure 3.4 [50]. Typiquement, ils possèdent une charge de maille comprise entre 0,2 et 0,6 et leur distance inter-feuillet est comprise entre 12,4 et 17 Å. Les substitutions isomorphiques ont lieu principalement dans la couche octaédrique. En fonction de ces substitutions, plusieurs structures peuvent être obtenues, les plus courantes sont présentes dans le tableau 3.2 [50]. La charge négative est compensée par des cations échangeables hydratés dans l'espace interfoliaire (représentés par M).

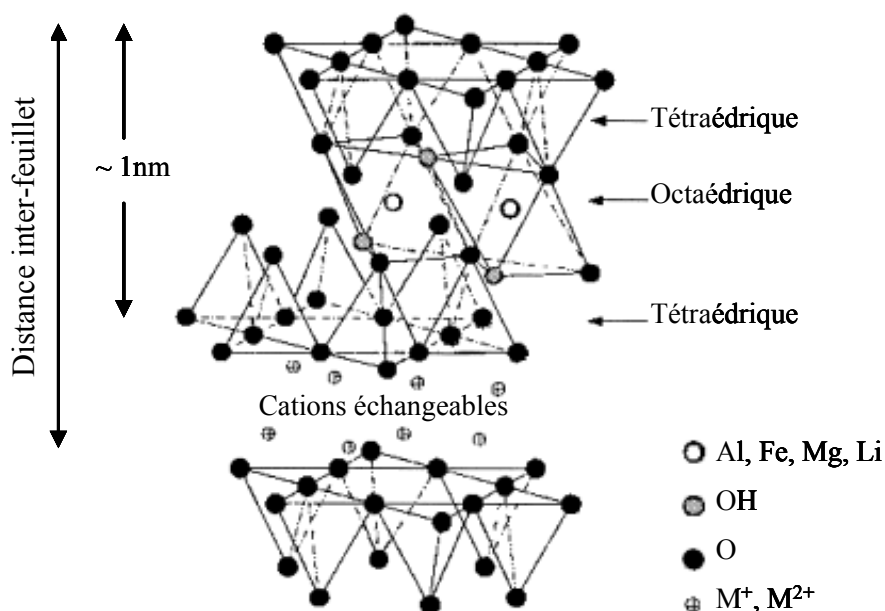


Figure 3.4. Structure cristalline d'une argile de type smectite (2:1)

Groupe	Type de formule chimique
Montmorillonite	$M_x(Al_{4-x}Mg_x)Si_8O_{20}(OH)_4$
Hectorite	$M_x(Mg_{6-x}Li_x)Si_8O_{20}(OH)_4$
Saponite	$M_xMg_6(Si_{8-x}Al_x)O_{20}(OH)_4$

Tableau 3.2. Structure chimique des smectites. M correspond au cation monovalent et x au degré de substitution.

Parmi les smectites, la montmorillonite a été choisie dans notre étude comme modèle de surface minérale. Ce choix sera justifié dans la section 4.3.1.

3.1.2.2. Niveaux d'organisation

Suite à la description de la structure de maille cristalline (figure 3.4). Une notion d'organisation multi-échelle est présentée sur la figure 3.5.

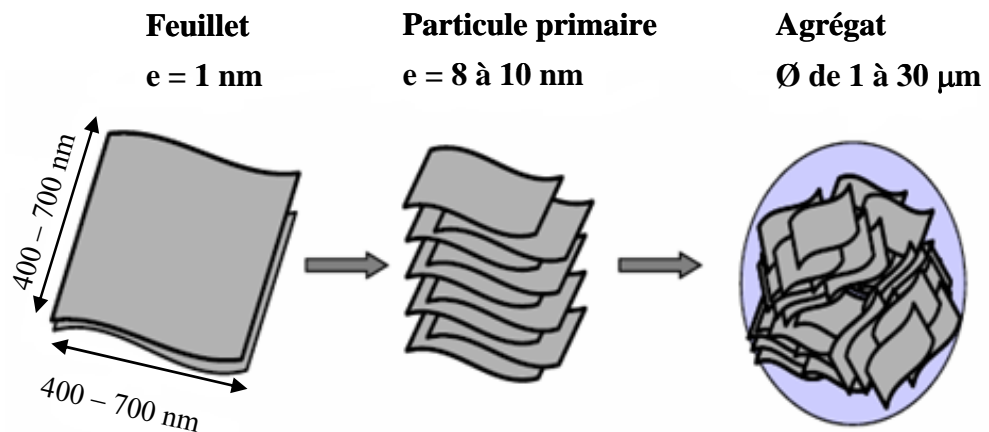


Figure 3.5. Structure multi-échelle de la montmorillonite. e représente l'épaisseur du feuillet, Φ le diamètre moyen de l'agrégat.

a) le feuillet :

Le feuillet consiste en la répétition de la maille cristalline dans les directions x et y . Sa forme est assimilable à une plaquette ou à un disque, il possède des dimensions latérales variables entre 400 et 700 nm et son épaisseur est proche du nanomètre. Ces dimensions anisotropes confèrent aux feuillets un facteur de forme de 10 – 1000 et une surface spécifique de l'ordre de 600 à 800 m^2/g . Les plaquettes sont considérées comme souples et relativement déformables.

b) La particule primaire :

La particule primaire est constituée de cinq à dix feuillets empilés, maintenus entre eux par des forces électrostatiques attractives entre les ions échangeables et les feuillets. La taille de cette particule primaire est généralement comprise entre 8 et 10 nm et reste constante quelle que soit la distance interfoliaire. Ainsi, lors du gonflement de la montmorillonite en milieu aqueux, la distance interfoliaire augmente mais la particule primaire comporte moins de feuillets [109, 110]. Dans l'espace interfoliaire, les cations échangeables sont généralement des ions Na^+ ou Ca^{2+} , d'où le qualificatif courant de montmorillonite sodique ou calcique. De plus, les substitutions isomorphiques ont lieu principalement dans la couche octaédrique. Ce type de localisation des charges empêche la superposition des cavités hexagonales de deux feuillets tétraédriques adjacents, ce qui crée un arrangement de type turbostratique « ou zigzag » des feuillets au sein de la particule primaire, c'est-à-dire les feuillets présentent un désordre dans le plan (x,y) mais sont tous perpendiculaires à la direction z [111].

c) L'agrégat :

L'ensemble de particules primaires constitue un agrégat, c'est le niveau supérieur d'organisation. La montmorillonite se présente sous la forme d'une poudre fine après séchage [110]. Le diamètre moyen de l'agrégat est de l'ordre du micromètre (de 1 à 30 μm). Dans les agrégats les particules ne sont pas orientées comme illustré la figure 3.5.

3.1.2.3. Hydratation, gonflement

La présence des cations hydratables dans l'espace interfoliaire favorise l'absorption d'eau dans la structure de la montmorillonite. La nature du cation échangeable (taille et charge) a une influence directe sur la quantité d'eau adsorbée. L'ordre d'hydratation est le suivant : $\text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+$ [112, 113]. Le potassium est un cas particulier, car sa taille coïncide avec la dimension des cavités à la surface du feuillet, il se trouve « piégé » entre les feuillets, devenant ainsi moins hydratable et moins facilement échangeable. La flexibilité des feuillets permet de créer des pores au sein des feuillets, des particules et des agrégats, elle favorise l'hydratation de la montmorillonite par capillarité.

La figure 3.6 donne une représentation schématique des différentes porosités à différentes échelles [114].

La description du gonflement des matériaux argileux est basée sur les observations expérimentales de Norrish [115]. On distingue deux étapes du gonflement : (1) le gonflement intra-cristallin initial, suivi du (2) gonflement osmotique.

Le gonflement intra-cristallin correspond à la pénétration des molécules d'eau dans l'espace interfoliaire, il est également dénommé gonflement en présence de vapeur d'eau. Ce type de gonflement se produit dans des conditions de faible teneur en eau et peut entraîner une augmentation de la distance interfoliaire, jusqu'à 20 Å. A l'état sec, la cohésion des empilements de feuillets est assurée par un équilibre entre les forces d'attraction de Van der Waals et les forces électrostatiques entre les feuillets chargés négativement et les cations. En présence d'eau, l'énergie d'hydratation des cations permet de rompre l'équilibre. En conséquence, la cohésion entre les feuillets est diminuée, de même que les forces d'attraction entre les cations et les feuillets sont affaiblies.

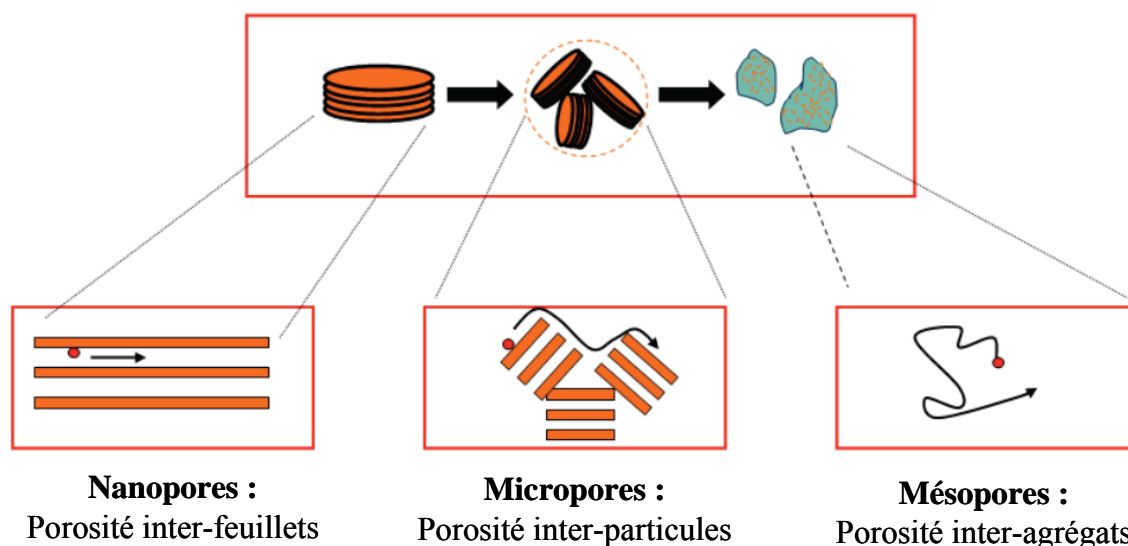


Figure 3.6. Représentation schématique de plusieurs porosités, selon le niveau d'organisation.

Le gonflement osmotique correspond à une ouverture beaucoup plus importante de l'espace interfoliaire, il est aussi appelé gonflement macroscopique ou libre. Le gonflement osmotique suit le gonflement intra-cristallin, il apparaît aux teneurs en eau plus élevées. Ce stade de gonflement correspond à une hydratation poussée des cations échangeables (3 – 5 couches d'eau), c'est-à-dire lorsque l'espace interfoliaire est assez ouvert pour laisser pénétrer les ions de la solution. Au-delà de la deuxième couche d'eau adsorbée à la surface d'un feuillet, l'eau perd ses propriétés d'eau « liée » et devient de l'eau « libre ». Les cations échangeables gagnent en mobilité et se distribuent autour de la surface chargée résultant dans ce qu'on appelle une double couche diffuse [116]. Lorsque la teneur en eau est encore plus importante, les feuillets sont complètement dispersés dans la solution, on parle alors de dispersion ou de suspension de la montmorillonite en phase aqueuse.

3.1.2.4. Comportement en milieu aqueux

Comme il a été signalé dans la section précédente, en milieu aqueux les cations échangeables se distribuent par rapport à la surface minérale. La concentration des ions est élevée à proximité de la surface et décroît avec la distance. Lorsque deux surfaces chargées se rapprochent, leurs nuages de contre-ions interfèrent et il en résulte une force répulsive de double couche. Les argiles de même charge se repoussent et adoptent un état dispersé. Lorsque la force ionique est suffisamment importante, la répulsion de double couche diminue entraînant l'agrégation des particules. Nous parlerons ici de deux concepts fondamentaux : la coagulation et la floculation.

La coagulation est un phénomène d'agrégation se produisant entre plusieurs particules de même charge lorsqu'un sel est ajouté dans la suspension. L'écrantage des répulsions électrostatiques (par augmentation de la force ionique du milieu) rends possible l'attraction entre particules. Les particules se collent entre elles, elles forment des agrégats qui décantent.

La floculation est le phénomène physico-chimique au cours duquel les argiles en suspension s'agrègent en flocons qui sédimentent, ce qui détruit la stabilité de la solution.

La montmorillonite forme des gels physiques dans l'eau à des très faibles pourcentages volumiques, du fait de son facteur de forme exceptionnel et des interactions spécifiques entre les particules en suspension. Ce qui leur confère des propriétés rhéologiques particulières. La stabilité des gels dans l'eau et leur rigidité sont affectées par la concentration, le pH, la force ionique du milieu et la température [109].

Plusieurs modèles décrivent l'agrégation des particules minérales. Le comportement de la montmorillonite est particulièrement complexe. Nous présenterons par la suite un exemple de modèle d'association proposé dans la littérature.

Pour une concentration en particules faible, c'est-à-dire en suspension diluée, la montmorillonite se présente sous forme de feuillets individuels. Cet état stable est expliqué par l'absence d'interaction entre les particules car les doubles couches des feuillets se repoussent [117]. Pour une concentration plus importante en montmorillonite, par exemple de l'ordre de 3% en masse pour une montmorillonite sodique, la floculation des feuillets et des particules primaires peut entraîner la formation d'un « gel tridimensionnel ». Trois modèles d'association de feuillets ont été proposés par Van Olphen pour expliquer la formation de ce gel [118]. Ces modèles sont représentés de manière schématique dans la figure 3.7 [110].

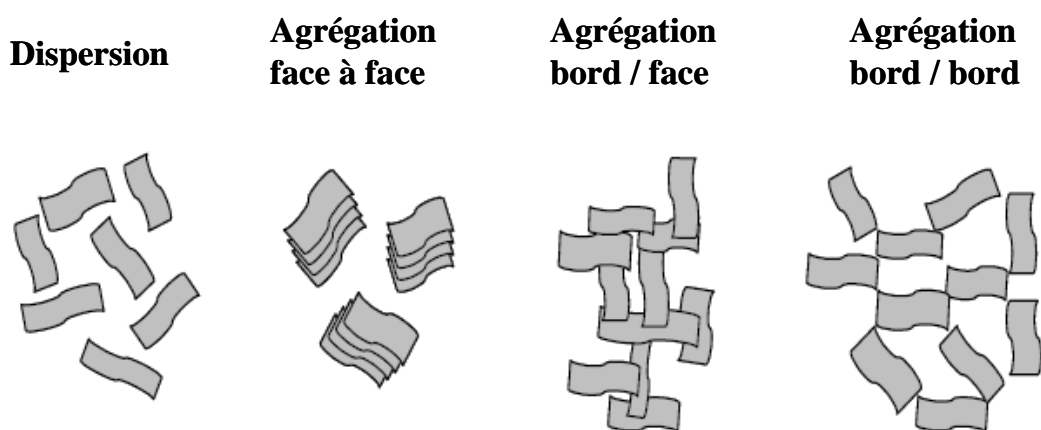


Figure 3.7. Représentation schématique des modes d'association supposés pour les feuillets de montmorillonite en suspension.

La structure et un comportement type « gel » peuvent être obtenus lorsque les associations entre les feuillets sont de type « bord/face » et « bord/bord ». Ces types d'associations sont possibles grâce au caractère amphotère des feuillets. Suivant les conditions de pH, les bords des feuillets et les faces présentent des polarités opposées ou similaires, ils développent donc des forces attractives ou répulsives.

D'autres modèles d'association sont proposés dans la littérature pour essayer d'expliquer le comportement rhéologique de la montmorillonite. Néanmoins, ils ne font pas l'unanimité. D'ailleurs, la relation entre les propriétés rhéologiques et les structures hypothétiques n'a pas été clairement établie à l'heure actuelle. Nous ne rentrerons pas dans le détail, une description de ces aspects peut être trouvée dans les rapports de thèse de Le Pluart, 2002 ; Boucard, 2004 et Labille, 2003.

3.2. Les exopolysaccharides d'origine microbienne

Dans le sol, les exopolysaccharides (EPS) sont produits par des microorganismes tels que les bactéries et les champignons. Les EPS sont localisés à l'extérieur des cellules microbiennes, ils peuvent être étroitement associés à leur surface sous forme de capsule ou bien être largués dans l'environnement local des microorganismes. Chaque espèce bactérienne peut synthétiser plusieurs EPS, un seul est en général exprimé pour une condition environnementale donnée [119].

Un intérêt scientifique et industriel est porté aux EPS d'origine microbienne, en raison des facteurs suivants: (a) ils peuvent être produits en grande quantité par fermentation industrielle sous conditions contrôlées des espèces sélectionnées ; (b) les EPS d'origine microbienne sont d'une grande richesse structurale ; (c) des molécules aussi complexes ne sont pas accessibles par voie de synthèse organique ; (d) ils sont produits à partir de ressources renouvelables ; (e) ils sont biodégradables et (f) parfois biocompatibles. Les EPS présentent de multiples propriétés fonctionnelles, liées notamment à leur comportement en solution, comme par exemple leur capacité à épaissir, émulsionner, stabiliser, flocculer et gonfler, ainsi qu'à former des gels, des films et des membranes. Ils sont utilisés pour leurs propriétés physicochimiques (agents texturants dans les industries agroalimentaire, cosmétique, l'extraction du pétrole...) mais également pour leurs propriétés biologiques (agents anticoagulants et/ou immunostimulants dans le domaine médical) [119].

Selon leur composition, les EPS peuvent être classés en homopolysaccharides (constitué d'une seule unité monosaccharidique) ou en hétéropolysaccharides (qui contiennent plusieurs types de sucres), avec une masse molaire de l'ordre de 10^6 Daltons. Le nombre de types de monosaccharides est finalement assez limité : parmi eux, on retrouve souvent des hexoses tels que le D-glucose, le D-galactose et le D-mannose, mais aussi des méthylpentoses (généralement le L-fucose ou le L-rhamnose) et des acides uroniques, les acides D-glucuronique et D-galacturonique étant les plus communs [119].

Les EPS peuvent être soit neutres, soit polyanioniques. Pour ces derniers, la charge négative est due aux acides uroniques, aux substituants inorganiques (sulfate ou phosphate), aux groupements pyruvate ou succinate. Le tableau 3.3 recense les différents substituants, souvent retrouvés dans les structures des EPS, selon leur origine [120].

Type de substituant	Origine des EPS
Acétate	Bactéries
Glycerate	Bactéries
Phosphate	bactéries gram positives
Pyruvate	bactéries et algues
Succinate	Bactéries
Sulfate	Archaea et cyanobactéries

Tableau 3.3. Origine des EPS en concordance avec leur substituant [120].

Pour notre étude, nous avons retenu huit EPS ; ils représentent la diversité des EPS d'origine bactérienne et ont tous été étudiés expérimentalement [18, 19, 23, 28, 34, 35, 37, 121, 122]. Nous avons choisi un homopolysaccharide neutre (le dextrane) et des hétéropolysaccharides polyanioniques, plus au moins ramifiés. Ces derniers renferment des acides uroniques dans la chaîne principale (RMDP17, rhamsane, YAS34, KYGT207) ou dans la chaîne latérale (xanthane), et des substituants comme des groupements *O*-acétyle (MWAP71, xanthane), 4,6-*O*-pyruvyle (xanthane, succinoglycane, YAS34) et *O*-succinyle (succinoglycane).

3.2.1. Le dextrane

Le dextrane est un homopolysaccharide constitué d'unités D-glucose, au moins 50% des liaisons sont des α -(1,6), mais elles peuvent aussi être des α -(1,3), α -(1,4) ou α -(1,2). La structure exacte du dextrane est dépendante de la souche microbienne qui le produit. Le dextrane le plus courant est produit par la bactérie *Leuconostoc mesenteroides* (souche B 512F), sa structure primaire est donnée dans la figure 3.8 [119, 120]. Son degré de

la fin des années 50 aux Etats-Unis, a été produit pour première la fois en 1964. Le xanthane est l'EPS d'origine microbienne le plus utilisé dans les applications industrielles, ce qui explique la publication de plus de 2000 brevets depuis 1990 [119].

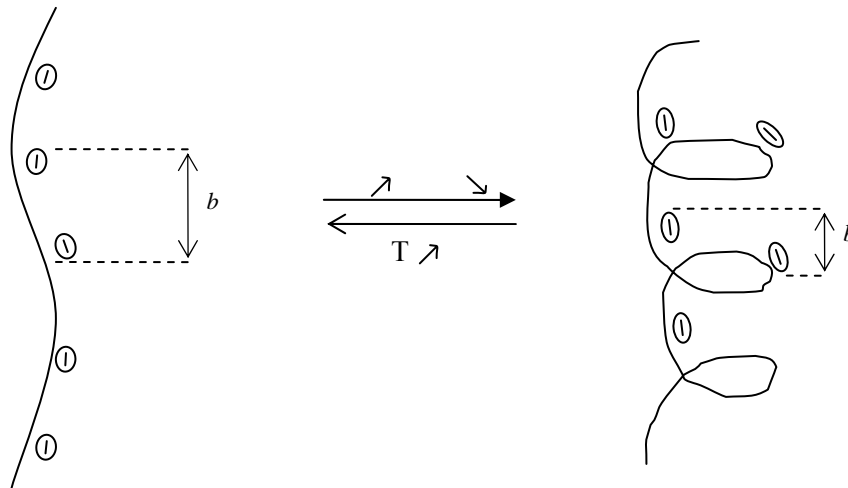


Figure 3.10. Transition conformationnelle ordonné – désordonné. La distance moyenne b entre deux groupements chargés (-) dépend de la conformation adoptée par le polyélectrolyte.

3.2.3. Le succinoglycane

Le succinoglycane est un hétéropolysaccharide polyanionique produit par différentes bactéries du sol appartenant aux genres *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas* et *Alcaligenes* [120]. Il joue un rôle important pour les relations symbiotiques entre les bactéries et les plantes. Il a été le premier EPS identifié comme inducteur de la formation des nodules de fixation d'azote dans les racines des légumineuses.

Les propriétés du YAS34 sont intéressantes pour l'industrie cosmétique, dans la formulation de crèmes hydratantes et pour des soins capillaires, mais également pour des applications en agronomie, grâce à sa grande capacité de rétention d'eau (jusqu'à 60 fois sa masse en eau). Le YAS34 a été testé sur des cultures de pomme de terre au Maroc, le moût de fermentation de YAS34 a été directement épandu à la surface des sols après germination des semences, ce qui permet (à rendement égal) d'économiser 50% de l'eau d'irrigation. L'EPS forme une croûte en surface qui laisse pénétrer l'eau d'irrigation et limite son évaporation [144]. Malgré le coût de production, cette pratique présente un intérêt pour de futures applications, notamment dans les régions arides.

3.2.6. Le MWAP71

Le MWAP71 est produit par la bactérie rhizosphérique *Burkholderia caribensis* [145]. La structure primaire est représentée sur la figure 3.14 ; la chaîne principale est composée de trois unités monomères à base de D-glucose et le 6-deoxy-L-talose (L-6dTalp), la chaîne latérale comporte une seule unité saccharidique, l'acide 3-deoxy- D-manno-oct-2-ulosonic (Kdop), lié en β -(2,3) à l'unité de L-6dTalp, cette dernière porte aussi un groupement substituant *O*-acétyle [121, 122]. L'analyse conformationnelle du MWAP71 indique que le polysaccharide est semi-rigide avec une longueur de persistance de l'ordre de 70 Å ; il peut adopter une conformation hélicoïdale qui est fortement influencée par la présence du Kdop dans la chaîne latérale [146]. Le MWAP71 n'a pas de propriété rhéologique particulière (faible caractère gélifiant ou épaississant), mais la présence du 6dTalp semble être un atout potentiel pour des applications cosmétiques [121].

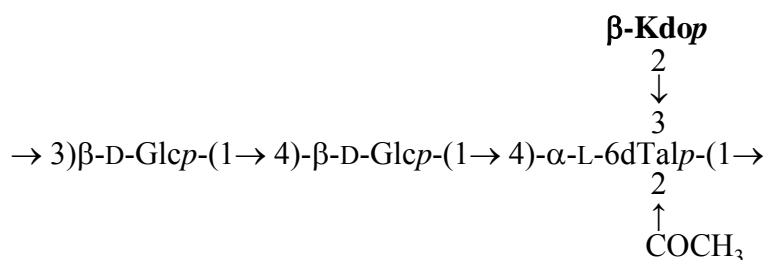


Figure 3.14. Structure chimique de l'unité de répétition du MWAP71.

3.2.7. Le KYGT207

Cet EPS est produit par la souche bactérienne rhizosphérique KYGT207 de *Triticum durum* [23]. Son motif de répétition est un tétrasaccharide, avec notamment un acide D-mannuronique sur la chaîne principale et un D-glucose en ramification, comme illustré par la figure 3.15. Le KYGT207 présente une haute viscosité en solution, ce qui entraîne propriétés rhéologiques intéressantes. Cet EPS pourrait potentiellement être utilisé pour des applications en agronomie [23].

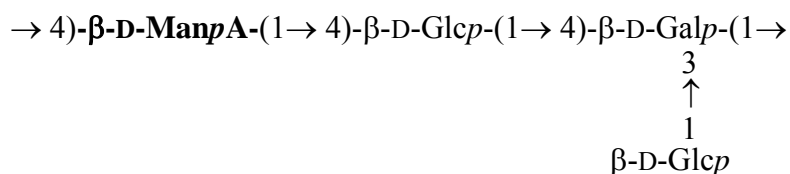


Figure 3.15. Structure chimique du KYGT207

4. METHODES

Les simulations ont été effectuées grâce aux logiciels *Cerius²* et *Materials Studio* (Accelrys Inc.) [147], sur les stations *Silicon Graphics* du CECIC (*Centre d'Expérimentation et de Calcul Intensif, Grenoble*).

4.1. La modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire fait référence à l'ensemble de méthodes théoriques et de calcul numériques pour l'étude des propriétés et du comportement des systèmes moléculaires. Elle s'applique dans différents domaines comme la chimie théorique, la biologie et les sciences de matériaux. Contrairement à la chimie quantique (où les électrons sont considérés de manière explicite), la modélisation moléculaire calcule l'énergie des atomes au moyen d'approximations semi-classiques. La simplification considérable des calculs qui en résulte permet de travailler sur des molécules de grande taille, telles que les macromolécules biologiques (protéines, acides nucléiques, polysaccharides), ou sur des systèmes comportant un grand nombre de molécules. En revanche, la modélisation moléculaire ne tient pas compte de la formation de liaisons chimiques comme c'est le cas de la chimie quantique.

La mécanique moléculaire (MM) fait partie de la modélisation moléculaire. Elle utilise les principes de la mécanique classique/Newtonienne pour construire les modèles physiques des systèmes moléculaires. Typiquement ces modèles moléculaires décrivent des atomes (noyau et électrons collectivement) comme étant des masses avec des charges ponctuelles. Les interactions entre les atomes sont décrites par des modèles *masse-ressort*, qui représentent des liaisons chimiques et des forces de Van der Waals. La fonction d'énergie potentielle est décrite par une expression mathématique qui tient en compte l'énergie interne du système, elle correspond à la somme des énergies de liaison et angulaires (extension, flexion, torsion et inversion) et les énergies de non liaison (Van der Waals et électrostatiques). L'ensemble de paramètres qui décrivent la fonction d'énergie potentielle est aussi dénommée un « champ de force ». Des différents champs de force incluent des expressions mathématiques légèrement différentes. Ces fonctions et l'ensemble de paramètres sont dérivés de calculs de mécanique quantique (de haut niveau) et de données expérimentales. Le choix du champ de force est très important, ceci dépend

de la bonne adaptabilité des paramètres du champ de force à la nature du système étudié, c'est-à-dire, une bonne représentabilité des propriétés du système moléculaire.

La minimisation d'énergie consiste à optimiser la géométrie d'une conformation, c'est-à-dire les positions atomiques, pour que la fonction d'énergie soit minimale. La recherche conformationnelle est faite de telle manière à converger vers un gradient d'énergie zéro, et donc, vers un état énergétiquement stable (ou puits de potentiel). Des minima d'énergie locale et globale sont possibles, comme illustre la figure 4.1. Il existe plusieurs méthodes de minimisation d'énergie, par exemple, la méthode de plus grande pente « steepest descent » et la méthode de gradient conjugué. Néanmoins, la convergence vers le minimum global n'est pas toujours possible car aucune méthode ne peut pas garantir, de façon absolue, l'atteignabilité du minimum global. Ceci est dû à une forte dépendance, des algorithmes de minimisation, aux conformations initiales (cf. figure 4.1.). En conséquence, dans l'objectif de chercher les conformations les plus stables (minimum global) on peut faire recours à la dynamique moléculaire [148].

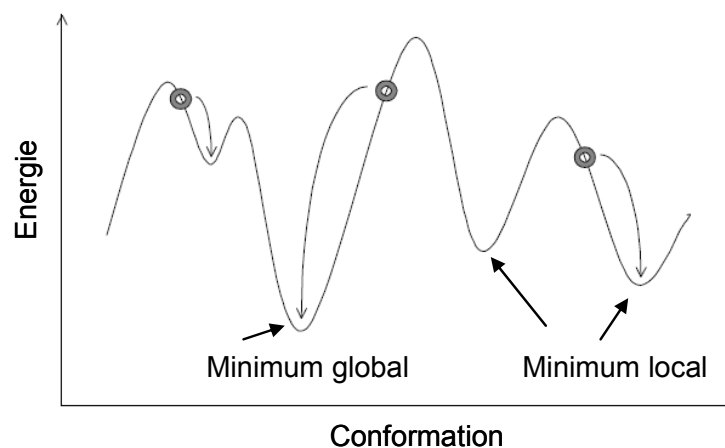


Figure 4.1. Représentation de plusieurs minima d'énergie

La dynamique moléculaire (MD) permet de simuler le comportement du système en fonction du temps. Cette technique a pour but de calculer les mouvements des molécules, à partir des énergies décrites par la mécanique moléculaire, en appliquant les lois de la mécanique classique Newtonienne. Ce qui implique de résoudre les équations de

mouvement en utilisant différents algorithmes d'intégration, et résulte en une trajectoire atomique en fonction du temps. La force sur un atome est définie comme le gradient négatif de la fonction potentielle d'énergie. Dans une simulation de dynamique moléculaire, les molécules sont mises en mouvement en leur chauffant à une température donnée. Les trajectoires possibles de tous les atomes, sous l'influence du potentiel intermoléculaire, correspondent aux conformations qui peuvent être adoptées par les molécules à la température fixée. A faible température, les molécules ne peuvent pas surpasser quelques barrières du potentiel d'énergie, et alors, le mouvement atomique est restreint, ainsi seulement quelques conformations sont possibles. Tandis qu'à hautes températures, plusieurs barrières d'énergie potentielle peuvent être surmontées et, en conséquence, plus de conformations sont atteignables. De cette façon, la dynamique moléculaire est un outil puissant pour la visualisation de la flexibilité de polymères.

Il existe un nombre important des travaux qui utilisent la modélisation moléculaire comme technique d'analyse des argiles minérales. Deux types d'études peuvent être différenciés : (1) l'étude de la structure des argiles et leur interaction avec des contreions et leur hydratation [149-157] ; et (2) l'étude des systèmes composites à base d'argile et des polymères [158-176]. Dans le premier cas, ces études explorent des stratégies de modélisation, le positionnement des atomes dans la structure cristalline, influence de la taille et la charge du contre-ion (Na^+ , K^+ , Li^+ , Cs^+ , Sr^+ ou Ca^+), la distribution des molécules d'eau autour du contre-ion, etc. Dans le deuxième cas, la modélisation est utilisée comme un outil pour étudier les matériaux composites (aussi dénommés « *organo-clays* »), l'argile la plus suivie utilisée est la montmorillonite sodique avec des polymères de synthèse comme le polypropylène [170], la poly(ϵ -caprolactone) [162-164], la ϵ -caprolactame [165], la rhodamine B [158, 175], ou le nylon [169, 171] ; dans ces structures, les cations sodium sont souvent échangés par des cations alkylammonium ou alkylphosphonium [167, 168, 174, 176], ici une attention particulière est portée sur la détermination des distances interfoliaires et la comparaison des résultats avec mesures expérimentales (obtenues par Infrarouge ou par diffraction de rayons X). D'autre part, quelques études concernent la modélisation de l'adsorption de composés organiques [177, 178], d'acides aminés [179], de protéines [180] ou des substances humiques [181] sur diverses surfaces minérales comme la beidellite, la muscovite, la hydrotalcite, la pyrophyllite ou la montmorillonite. Néanmoins, aucune étude par modélisation moléculaire

n'a été reportée précédemment pour l'étude de l'adsorption des exopolysaccharides bactériens sur la montmorillonite sodique.

Pour la réalisation de la présente étude, nous nous sommes fortement inspirés des travaux existants dans la littérature (structure moléculaire, procédures, outils d'analyse...) et du savoir faire en modélisation du laboratoire CERMAV, pour proposer une méthodologie pour la génération des systèmes modèles argile-EPS-eau, et une méthodologie pour l'étude de l'adsorption des divers EPS sur la surface de la montmorillonite sodique. Nous présenterons par la suite les détails de la procédure implémentée.

4.2. Le champ de forces et la fonction d'énergie potentielle

Le champ de forces utilisé est l'*Universal Force Field* (UFF) [182], c'est un champ de forces empirique capable de gérer tous les éléments du tableau périodique. UFF est un champ de forces diagonal et harmonique ; la fonction d'énergie potentielle associée correspond à la somme des contributions énergétiques indiquées dans l'équation 4.1.

$$E = E_R + E_\theta + E_\phi + E_\omega + E_{VdW} + E_{elect} \quad (\text{équation 4.1.})$$

Les quatre premiers termes représentent des interactions liées, ils comprennent les déformations des liaisons chimiques (E_R) et des angles de valence (E_θ), les rotations autour des liaisons simples (E_ϕ) et des inversions (E_ω). Les deux derniers termes correspondent aux interactions non liées : forces de Van der Waals (E_{VdW}) décrites par le potentiel de Lennard-Jones, et les forces électrostatiques (E_{elect}) décrites par la loi de Coulomb [182, 183].

Ce champ de forces a été choisi car il représente un bon compromis entre exactitude et disponibilité des paramètres pour les systèmes à la fois inorganiques et organiques. Par ailleurs il est utilisé dans la modélisation des nanocomposites à base de montmorillonite et de polymère [163, 164, 170, 176]. Finalement, nos tests préliminaires

indiquent qu'il reproduit correctement les spécificités conformationnelles des sucres : conformation du cycle pyranne et effet exoanomère.

4.3. Détails de la simulation

Les charges partielles portées par les atomes sont calculées par la méthode d'équilibration de charges Q_{eq} [184]. Les interactions électrostatiques à longue portée sont calculées en utilisant la méthode d'Ewald [185]. Certaines simulations ont été réalisées en utilisant une constante diélectrique $\epsilon = 1$, d'autres avec $\epsilon = 80$.

La minimisation utilise le *Smart minimizer*, avec un critère de convergence de 10^{-3} kcal mol⁻¹ Å⁻¹. Une minimisation d'énergie est systématiquement réalisée avant chaque dynamique moléculaire (MD). Des simulations MD sont effectuées dans les ensembles NVT (nombre de moles, volume et température constants) et NPT (nombre de moles, pression et température constants). L'algorithme de Verlet [186] a été utilisé pour intégrer la loi du mouvement de Newton, avec un pas de 1 fs. La température et la pression sont contrôlées, respectivement, à l'aide du thermostat et du barostat Hoover [187, 188], la constante de relaxation est de 0,1 ps. Les surfaces et les volumes moléculaires sont estimés grâce à l'algorithme de Connolly [189], en considérant une sonde sphérique de 1.4 Å.

4.4. Génération des structures initiales

Les systèmes modèles sont constitués d'une surface minérale, de modèles d'exopolysaccharides et parfois de molécules d'eau. Les sous parties qui suivent décrivent la génération des différents composants. Les modèles générés sont systématiquement minimisés.

4.4.1. La surface minérale

Le modèle minéral sélectionné pour notre étude est celui de la montmorillonite sodique (Na-MMT). Ce choix a été motivé par:

- sa présence dans les sols argileux dont la teneur en argile peut être supérieure à 30%. La montmorillonite y est dominante [190],
- ses propriétés largement étudiées, que ce soit du point de vue expérimental ou par modélisation moléculaire [115, 150, 158, 176, 191, 192],
- son utilisation comme surface modèle dans les études expérimentales avec des polysaccharides [28, 30, 34, 36],
- sa structure cristalline résolue [149, 193, 194],
- son grand intérêt pour les applications industrielles et dans la fabrication de matériaux nanocomposites [49, 50].

La surface choisie est la surface basale de la MMT car c'est la plus abondante dans la morphologie externe.

La maille cristalline unitaire a été construite en utilisant le module *Crystal Builder* de Cerius² [147] à partir des coordonnées cristallines publiées par Tsipursky et Drits [193]. La cellule est monoclinique, avec un groupe d'espace C2/m et les paramètres $a=5.20$, $b=9.20$, $c=10.13$ et angles $\alpha=90^\circ$, $\beta=99^\circ$, $\gamma=90^\circ$.

Des substitutions d'atomes ont ensuite été réalisées pour obtenir la structure de la Na-MMT, c'est-à-dire, quelques Al^{+3} ont été remplacés par des Mg^{+2} dans la couche octaédrique et des Si^{+4} ont été remplacés par des Al^{+3} dans la couche tétraédrique, le déficit de charge qui en résulte est compensé par des atomes de sodium dans l'espace interfoliaire. La composition finale correspond à la Na-MMT de type Wyoming avec pour formule $\text{Na}_{0.75}(\text{Si}_{7.75}\text{Al}_{0.25})(\text{Al}_{3.5}\text{Mg}_{0.5})\text{O}_{20}(\text{OH})_4$ dont la capacité d'échange cationique (CEC) est de 1.01 meq/g. La structure de Na-MMT est représentée dans la figure 4.2.

La structure finale est minimisée et équilibrée par dynamique moléculaire (NPT à 300K et 1 atm.) et optimisée à nouveau. Pour générer un modèle adéquat pour nos différentes simulations, la cellule est dupliquée plusieurs fois selon les directions a et b . La

surface modélisée, définie par les paramètres de la cellule, varie de 5 nm^2 pour l'étude de l'adsorption des petites molécules à 45 nm^2 pour l'adhésion des oligomères. Le paramètre c (distance basale entre deux feuillets d'argile) est également modifié selon les différents systèmes générés (voir les chapitres correspondants). Les atomes de sodium sont placés de manière aléatoire dans l'espace interfoliaire et leur position d'équilibre est recherchée par dynamique moléculaire.

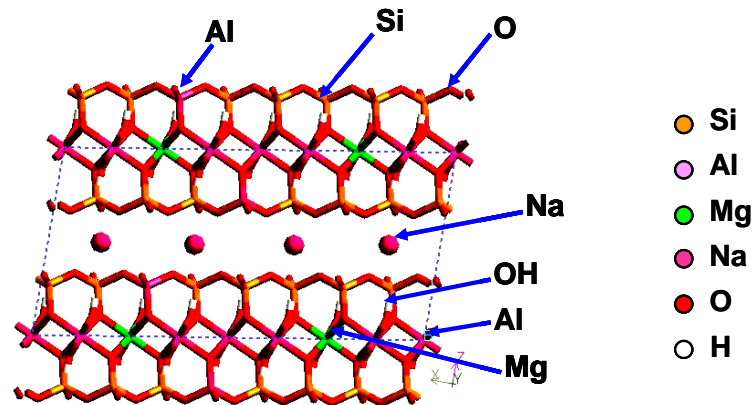


Figure 4.2. Représentation de la structure de Na-MMT, les atomes sont distingués par un code de couleurs et les substitutions sont signalées.

Des conditions périodiques (PBC) sont appliquées dans les trois dimensions [148] ; le modèle se répète donc dans toutes les directions de l'espace. La périodicité selon le plan parallèle aux surfaces décrit des surfaces minérales infinies, celle dans la direction perpendiculaire aux surfaces décrit un système multi couches alterné. Les atomes de l'argile et les paramètres de cellule (a , b , c , α , β , γ) sont ensuite fixés, ce type de restrictions est justifié par la rigidité des feuillets minéraux. Par ailleurs ces contraintes sont couramment utilisées pour diminuer le temps de calcul [154, 195]. En revanche, tous les autres atomes (de l'eau, des contre-ions et des molécules organiques) sont mobiles.

4.4.2. Les molécules organiques

Les polysaccharides sont constitués de monosaccharides qui sont eux même constitués de fonctions hydroxyle aldéhyde, cétone, acide ou alcool. Nous avons généré des modèles (1) des groupes chimiques c'est-à-dire des petites molécules qui contiennent les différentes fonctions chimiques ; (2) des monosaccharides ; (3) des unités de répétition des EPS et (4) des oligomères des EPS.

Toutes les espèces organiques sont construites à partir de géométries des distances et des angles de valence standard, en utilisant le module *Sketcher* de Cerius². La conformation initiale des cycles pyranne des monosaccharides est 1C_4 pour le Rhamnose et le Talose ; 4C_1 pour le Glucose, le Galactose et le Mannose ; et 5C_2 pour le Kdo (cf. figure 4.3).

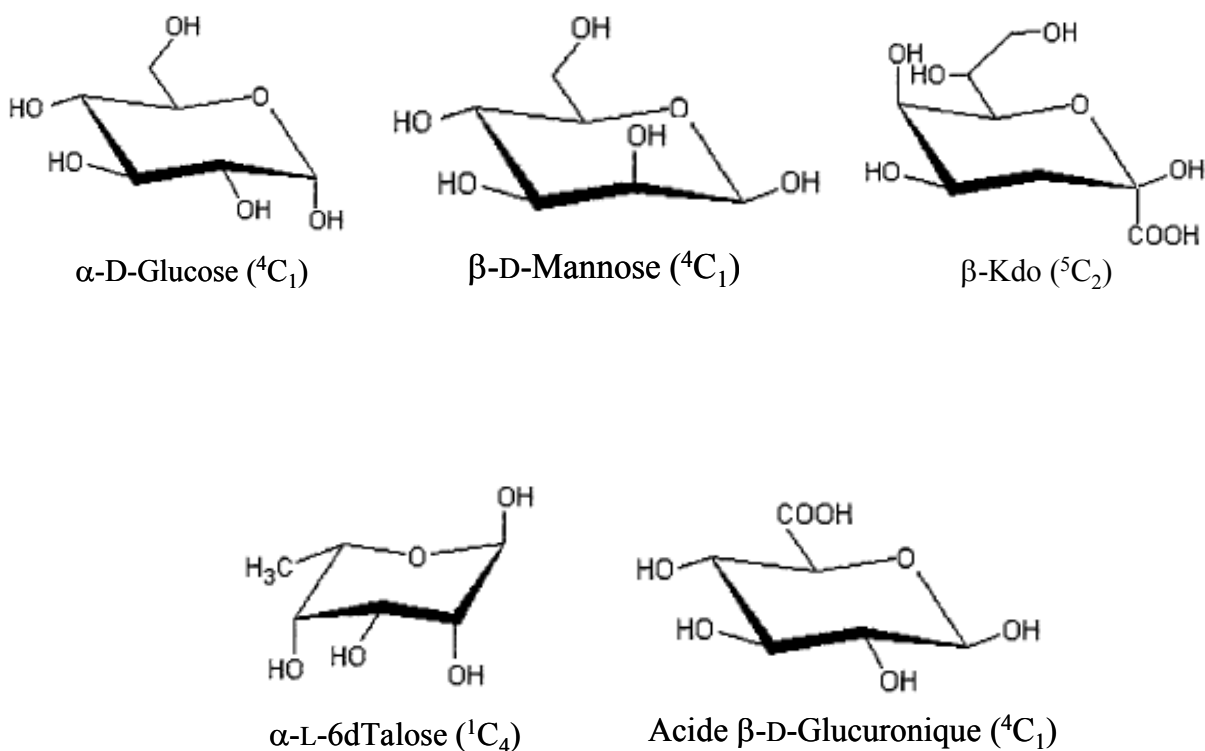


Figure 4.3. Exemples de conformations 1C_4 , 4C_1 , 5C_2 des pyranes des monosaccharidiques.

Les modèles des unités de répétition des EPS sont générés à partir des monosaccharides. Les paramètres conformationnels qui décrivent l'orientation relative de deux monosaccharides adjacents sont les angles de torsion (Φ , Ψ), les dimères liés en (1,6) ont un troisième angle (ω) (voir figure 4.4).

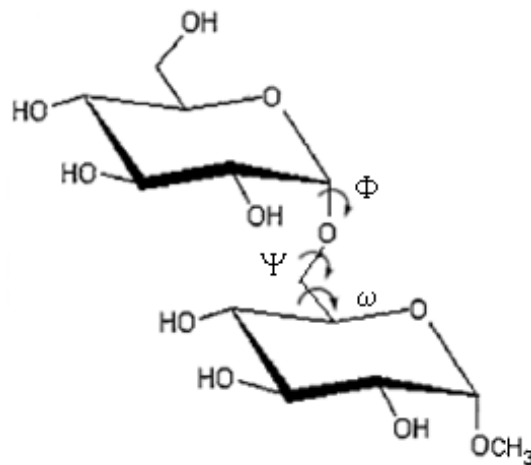


Figure 4.4. Angles de torsion (Φ , Ψ , ω) autour de la liaison glycosidique pour deux unités de D-Glucose liées en α -(1,6).

Les unités de répétition et oligosaccharides sont construites à partir de la combinaison des angles de torsion du minimum d'énergie de chaque dimère. Les valeurs utilisées sont issues des analyses conformationnelles préliminaires et/ou des valeurs reportées dans la littérature [146, 196, 197]. L'exemple du cellobiose est donné dans la figure 4.5 [146].

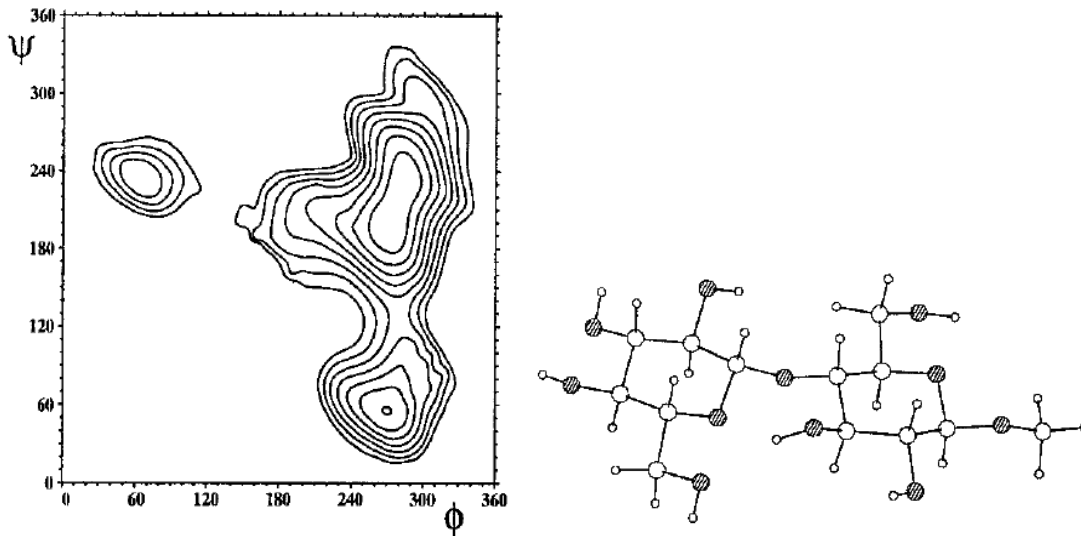


Figure 4.5. Carte d'énergie conformationnelle et représentation de la conformation de plus basse énergie de deux unités de D-Glucose liées en β -(1,4) [146].

Les chaînes oligomères des EPS. Les chaînes EPS sont construites sous forme hélicoïdale. Les hélices sont générées en utilisant le logiciel POLYS [198] et le *Polymer builder* de Cerius² en répétant les valeurs des angles de torsion (Φ , Ψ) des minima des disaccharides constitutifs de l'unité de répétition sur une chaîne oligomère. Les hélices sont caractérisées par deux paramètres hélicoïdaux n et h ; n correspond au nombre d'unités de répétition par tour de l'hélice, tandis que h représente la projection (en Å) d'une unité de répétition sur l'axe de l'hélice. Le signe assigné à n indique la chiralité de l'hélice : une valeur positive correspond à une hélice droite, tandis qu'une valeur négative correspond à une hélice gauche.

4.4.3. L'eau

Le modèle d'eau utilisé est le SPC (de l'anglais « Single Point Charge ») dans lequel les trois atomes forment un angle de $109,47^\circ$ et la distance O–H est de 1 Å. (voir figure 4.6)

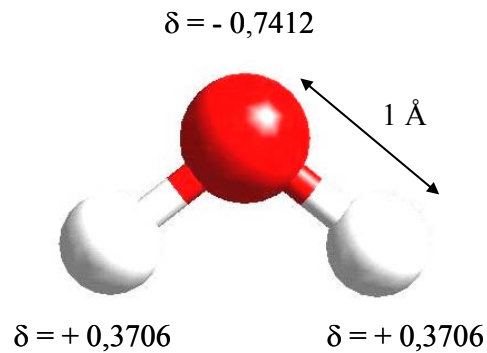


Figure 4.6. Représentation du modèle utilisé pour les molécules d'eau.

4.5. Modélisation de l'adsorption

La procédure de simulation de l'adsorption des petites molécules organiques (des fonctions chimiques aux unités de répétition des EPS) sur la surface de MMT est schématisée dans la figure 4.7. Le paramètre c du modèle de montmorillonite est augmenté et fixé à 100 \AA , un modèle d'EPS (une molécule organique) est placée grossièrement au milieu de la boîte de simulation dans une orientation aléatoire. L'espace configurationnel est exploré par dynamique moléculaire NVT à haute température, généralement entre 400 et 600 K , le temps de simulation correspond au temps nécessaire pour l'adsorption et l'équilibration du système.

Un exemple typique d'évolution du système au cours de la dynamique moléculaire est donné dans la figure 4.8 où l'énergie et la distance entre le centre de gravité de la molécule organique et la surface minérale sont représentées en fonction du temps. Au départ la molécule candidate à l'adsorption est placée à une distance de la surface de 50 \AA . Elle s'approche de la surface au début de la dynamique : la distance décroît régulièrement dans l'intervalle $0-40 \text{ ps}$ et s'équilibre ensuite. L'adsorption est révélée par la brusque variation de l'énergie, à 30 ps sur l'exemple. L'inspection des trajectoires montre que la molécule explore généralement plusieurs orientations et plusieurs sites d'interaction avant de converger vers la géométrie d'adsorption la plus favorable. Les calculs ont été répétés trois fois sur plusieurs molécules avec différentes orientations et conformations initiales. Les résultats sont cohérents et reproductibles.

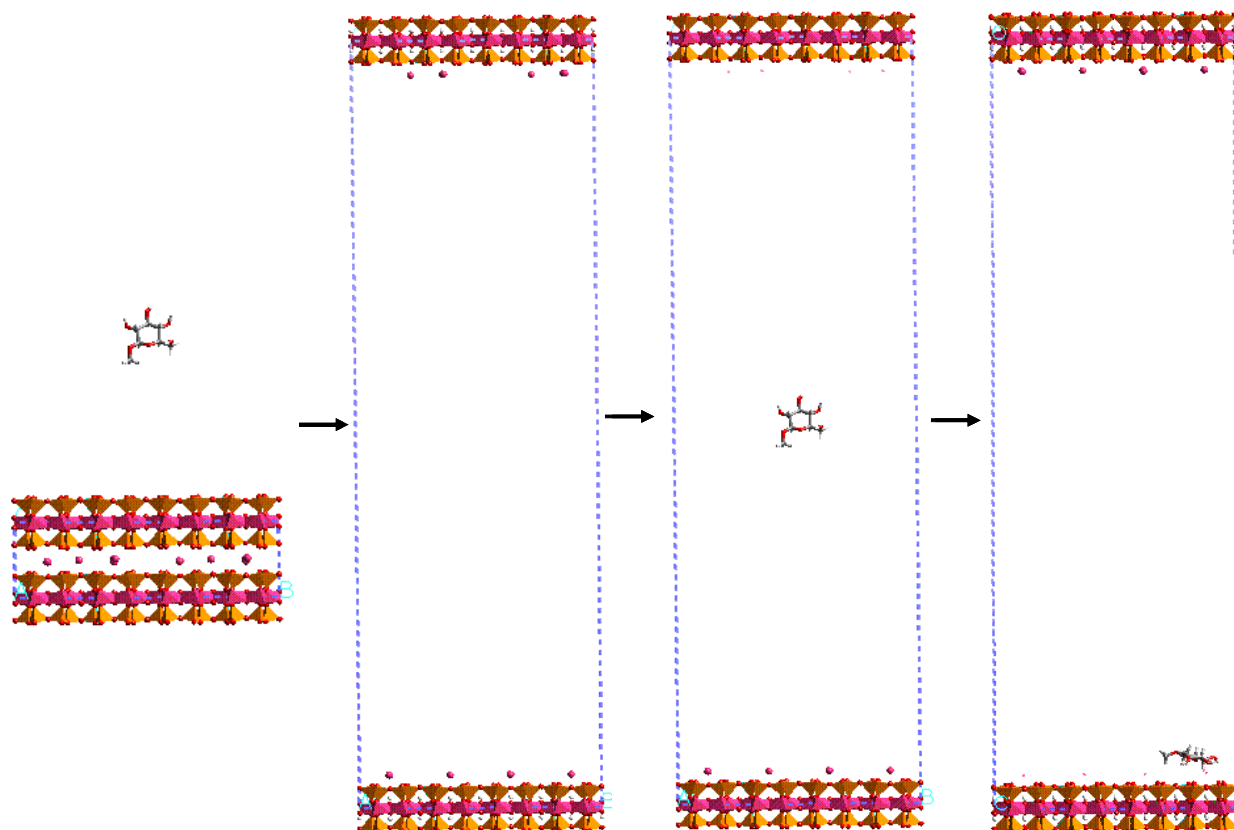


Figure 4.7. Description schématique des étapes clés de la procédure de modélisation (l'exemple donné est celui du Glucose ayant des groupes méthyles en position 1 et 6).

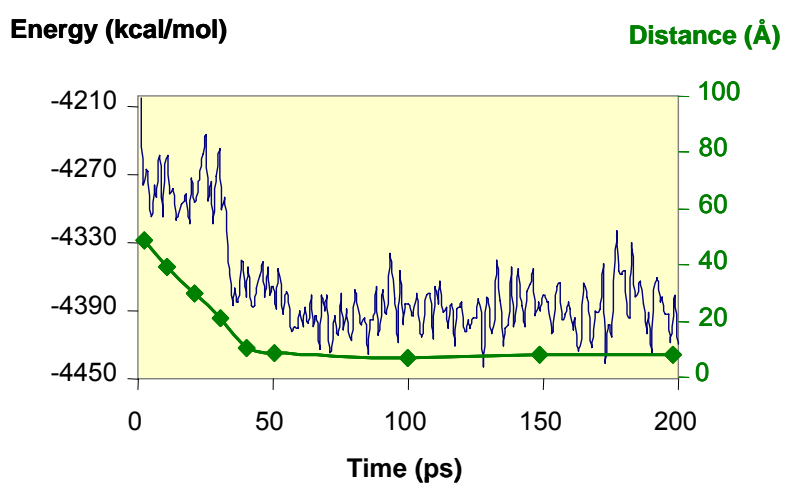


Figure 4.8. Exemple de profil typique de l'énergie totale (en bleu) et de la distance entre la molécule et la surface (en vert) en fonction du temps de simulation. Dans cet exemple, la

molécule est l'unité de répétition du MWAP71 dont la fonction acide du β -Kdo est dissociée.

4.6. Propriétés évaluées

Pour les systèmes équilibrés, 10 structures différentes sont sélectionnées aléatoirement des fins des trajectoires de dynamique moléculaire, elles sont minimisées et utilisées ensuite pour l'analyse. Les valeurs estimées correspondent à la valeur moyenne des 10 structures sélectionnées.

4.6.1. Enthalpie d'adsorption

L'énergie d'interaction est définie ainsi :

$$E_{\text{int (MMT-ligand)}} = E_{\text{totale (MMT-ligand)}} - (E_{\text{MMT}} + E_{\text{ligand}}) \quad (\text{équation 4.2})$$

Ou 'MMT' décrit la surface minérale, par convention la contribution des contre ions est incluse dans la surface minérale et 'ligand' indique une molécule organique ; $E_{\text{totale (MMT-ligand)}}$ est l'énergie du système montmorillonite ligand, E_{MMT} est l'énergie de la montmorillonite et E_{ligand} est l'énergie du ligand. L'enthalpie d'adsorption est prise comme la valeur négative de l'énergie d'interaction :

$$\Delta H_{\text{ads (MMT-ligand)}} = - E_{\text{int (MMT-ligand)}} \quad (\text{équation 4.3})$$

4.6.2. Energie conformationnelle

L'énergie conformationnelle correspond à la différence d'énergie du ligand adsorbé sur la surface de MMT (E_{ads}) et non adsorbé – ou isolé (E_{isol}). Ce paramètre est calculé ainsi :

$$\Delta E = E_{\text{ads}} - E_{\text{isol}} \quad (\text{équation 4.4})$$

L'énergie de la molécule isolée est calculée à partir d'une trajectoire de dynamique (NVT à 300K) supplémentaire en absence de la surface minérale.

4.6.3. Surface en contact

La surface effective d'adsorption est calculée à partir la surface accessible totale de la surface minérale (S_{MMT}) et de la surface accessible avec la molécule adsorbée ($S_{\text{MMT-ligand}}$).

$$S_{\text{ads}} = S_{\text{MMT}} - S_{\text{MMT-ligand}} \quad (\text{équation 4.5})$$

4.6.4. Surface conformationnelle

La variation de conformation du ligand (S_{conf}) quand il passe de l'état isolé à l'état adsorbé est révélée par :

$$S_{\text{conf}} = S_{\text{Isolée}} - S_{\text{Adsorbée}} \quad (\text{équation 4.6})$$

Ou $S_{\text{Isolée}}$ est la surface accessible au solvant du ligand dans son état libre (isolé) et $S_{\text{Adsorbée}}$ est la surface accessible au solvant du ligand dans son état adsorbé.

4.7. Modélisation de l'adhésion des EPS

4.7.1. Génération des modèles

La génération des modèles initiaux est représentée graphiquement dans la figure 4.9. Chaque unité de répétition des EPS considérée dans l'étape précédente est dupliquée, des liaisons covalentes entre deux unités sont créées afin de générer des oligomères ; les couples d'angles Φ et Ψ liant deux unités de répétition sont choisis de telle façon que : 1/ ils correspondent à une conformation du disaccharide d'énergie minimale, 2/ l'oligosaccharide ne présente aucun mauvais contact (énergie de van der Waals faible), 3/ la conformation finale de l'oligomère soit le plus étendue possible. Nous avons choisi le

degré de polymérisation par EPS pour que les chaînes oligomères aient toutes des masses molaires du même ordre de grandeur (21000 à 22000), les valeurs sont reportées dans le tableau 6.1 (section 6.1.).

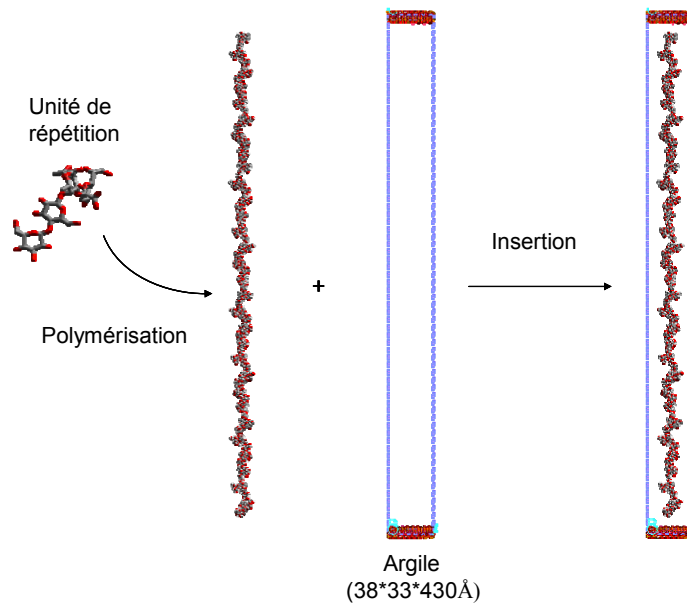


Figure 4.9. Représentation schématique décrivant la construction du système initial

La dimension c de la boîte périodique qui contient la surface minérale est ensuite considérablement augmentée jusqu'à une valeur légèrement supérieure à la longueur bout à bout de la chaîne polymère, les valeurs typiques sont dans l'ordre de 400 à 450 Å. Le modèle initial du complexe argile/EPS est enfin construit simplement en insérant la chaîne de polysaccharide dans la boîte d'argile. Trois différentes orientations initiales de la chaîne polymère, par rapport à la surface minérale, sont considérées : perpendiculaire, légèrement inclinée et très inclinée. Les trois orientations sont testées afin d'évaluer l'indépendance des résultats par rapport aux conditions initiales.

4.7.2. Compression/équilibre/hydratation

Le système moléculaire est ensuite soumis à des cycles de compression, équilibre et hydratation, comme indiqué sur la Figure 4.10. Quelques exemples de structures obtenues sont donnés dans les figures 4.11 et 4.12.

L'étape de compression correspond à une simple minimisation, pendant laquelle une pression externe est appliquée le long de l'axe z (P_{zz}). La pression est initialement nulle, car le polysaccharide a une tendance naturelle à adopter une conformation repliée, elle atteint 0,333 GPa en milieu de simulation et 1 GPa pour les derniers cycles. La compression force les deux surfaces à se rapprocher.

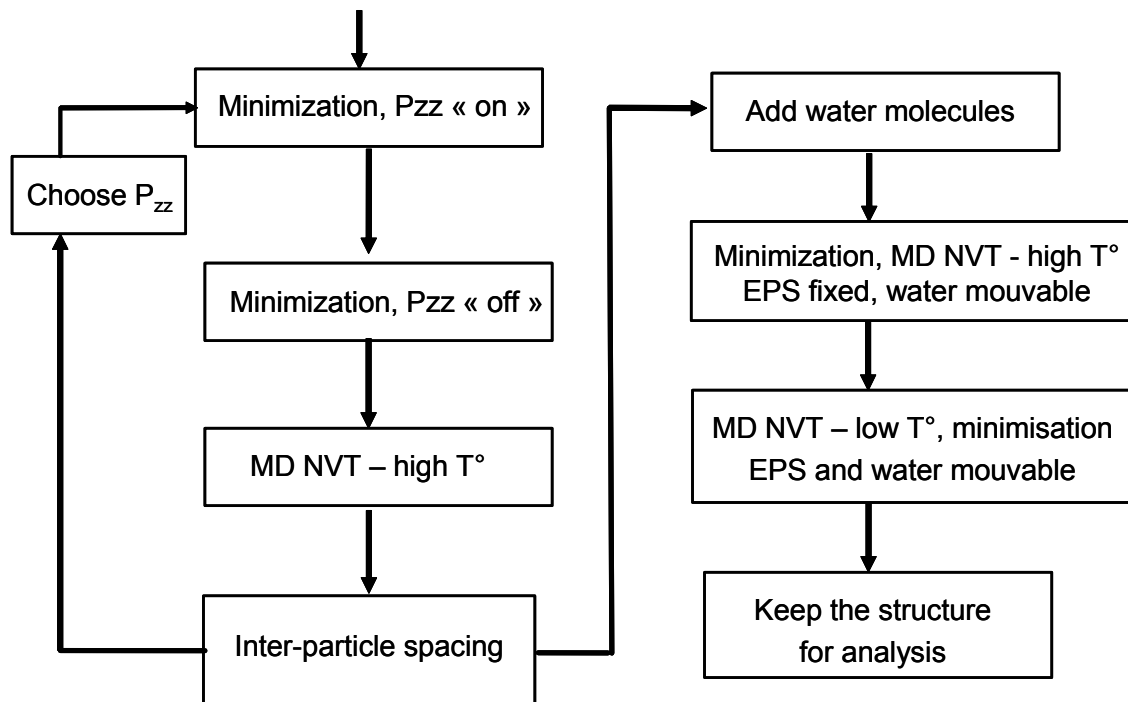


Figure 4.10. Représentation schématique de la procédure de compression, équilibrage et hydratation.

L'étape d'équilibrage correspond à une dynamique moléculaire NVT à haute température (en général de 600 à 900 K). Pendant cette étape, la pression externe est supprimée. L'équilibrage est employé afin d'homogénéiser la densité du polymère dans la cellule. Pendant les premiers cycles, des trajectoires de dynamique de 20 ps à 40 ps sont suffisantes pour relaxer efficacement le système. Cependant, pendant les derniers cycles, la durée de dynamique moléculaire est augmentée jusqu'à 80 ps.

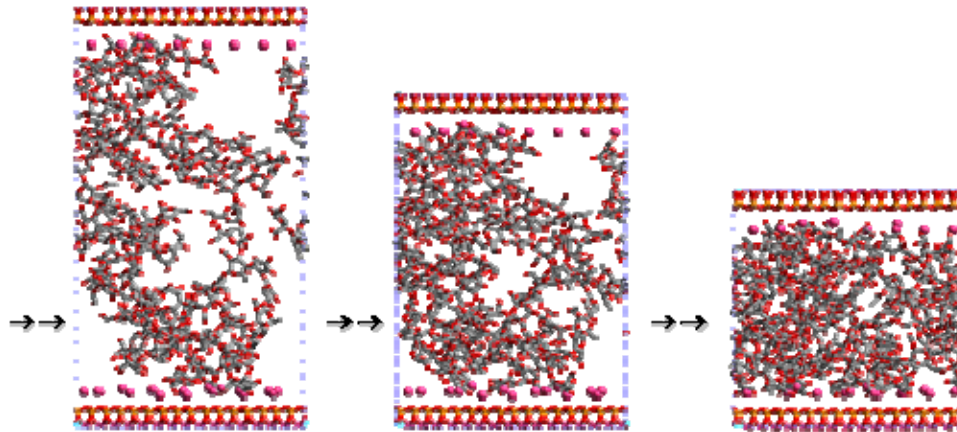


Figure 4.11. Structures intermédiaires obtenues pendant les cycles de compression/équilibre. L'EPS utilisé est le MWAP71.

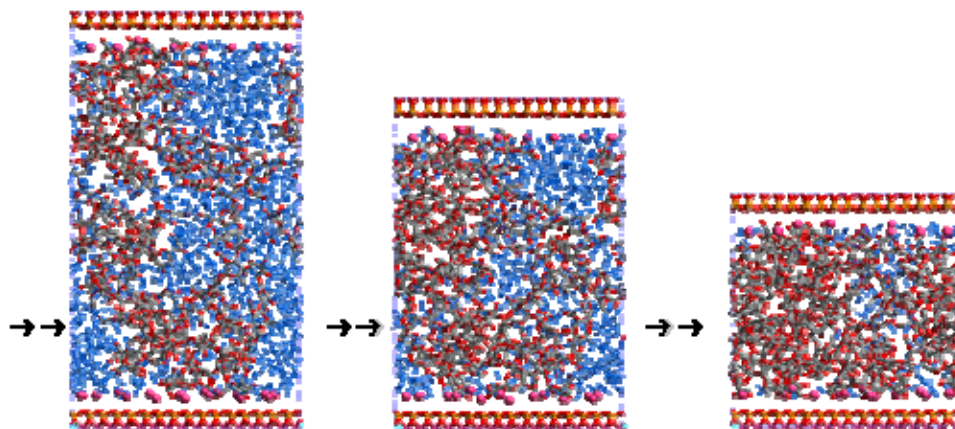


Figure 4.12. Structures hydratées (Na-MMT/MWAP71/H₂O).

Certaines structures obtenues sont ensuite hydratées pour obtenir des complexes d'argile/EPS/eau. Les volumes vacants de chaque boîte simulée sont remplis par des molécules d'eau. Une première minimisation est réalisée pendant laquelle les coordonnées des atomes d'EPS et d'argile sont fixes, elle est suivie d'une dynamique moléculaire NVT à température élevée (600K). Après, une deuxième minimisation est exécutée en laissant les atomes d'EPS et les molécules d'eau libres de bouger (seulement les atomes de l'argile sont fixes), suivie d'une dynamique moléculaire NVT à température élevée (600K). Finalement, une minimisation du système global est réalisée en permettant la mobilité de tous les

atomes. Cette procédure permet d'obtenir des structures équilibrées avec un temps de calcul raisonnable. Des systèmes hydratés résultants sont représentés sur la figure 4.12. Plusieurs cycles sont réalisés afin d'obtenir des systèmes de différentes tailles. Ainsi, une collection de modèles à différents taux d'hydratation a pu être générée.

4.7.3. Propriétés évaluées

4.7.3.1. Profils de densité

Les distributions des densités des différents composants (argile, ions, EPS et eau) dans la direction normale à la surface minérale (axe c) ont été calculées en considérant des couches de 0.5 Å en épaisseur.

4.7.3.2. Energies

L'énergie d'interaction entre l'EPS et la surface minérale, $E_{\text{inter}}(\text{clay/EPS})$, correspond à la différence entre l'énergie du système montmorillonite et EPS sans eau ($E_{(\text{clay/EPS})}$) et celle des composants séparés (E_{clay} et E_{EPS}), elle est calculée selon cette formule :

$$E_{\text{inter}}(\text{clay/EPS}) = E_{(\text{clay/EPS})} - (E_{\text{clay}} + E_{\text{EPS}}) \quad (\text{équation 4.7})$$

Pour calculer chaque terme, le système clay/EPS est créé en supprimant les molécules d'eau du modèle initial, son énergie potentielle ($E_{(\text{clay/EPS})}$) est calculée. Ensuite, la montmorillonite et les contre ions sont supprimés, laissant l'EPS seul ; son énergie donne E_{EPS} . D'une façon similaire, l'EPS est supprimé du système clay/EPS, l'énergie donne E_{clay} . L'énergie de liaison correspond au négatif de l'énergie d'interaction.

$$E_{\text{bind}}(\text{clay/EPS}) = - E_{\text{inter}}(\text{clay/EPS}) \quad (\text{équation 4.8})$$

Le travail d'adhésion de l'EPS sur la montmorillonite à l'échelle moléculaire correspond à l'énergie de liaison divisée par deux fois l'aire de la surface en interaction, considérant qu'il y a deux surfaces.

$$W_{\text{clay/EPS}} = E_{\text{bind}}(\text{clay/EPS}) / (2 \times \text{surface}) \quad (\text{équation 4.9})$$

L'énergie d'hydratation E_{H_2O} est estimée selon l'expression suivante.

$$E_{H_2O} = E_{\text{inter}}(\text{clay-EPS/water}) / V_{\text{water}} \quad (\text{équation 4.10})$$

Ou V_{water} est le volume de l'eau et $E_{\text{inter}}(\text{clay-EPS/water})$ est l'énergie d'interaction du système clay-EPS avec l'eau, il est estimé ainsi:

$$E_{\text{inter}}(\text{clay-EPS/water}) = E_{\text{clay/EPS/water}} - (E_{\text{clay-EPS}} + E_{\text{water}}) \quad (\text{équation 4.11})$$

5. RESULTATS – MODELISATION DE L'ADSORPTION

Déterminants structuraux des EPS responsables de leur adsorption sur la surface basale de la montmorillonite.

5.1. Préambule

La majorité des résultats de cette partie de l'étude est présentée dans la publication 1, dont le texte est donné dans les pages 95 à 115 de ce manuscrit. La publication est acceptée dans le journal 'Molecular Simulations'. Seuls les résultats particulièrement pertinents et certains compléments d'information sont présentés.

De nombreux EPS possèdent cette capacité à interagir avec les particules minérales ; ils montrent une diversité structurale quasi-illimitée. A l'échelle des fonctions chimiques, comme tous les polysaccharides, ces EPS sont constitués de fonctions hydroxyle aldéhyde, cétone, acide ou alcool. Ces fonctions chimiques sont neutres, seul le groupe acide carboxylique est ionisable. Les monosaccharides diffèrent les uns des autres par la conformation à l'équilibre du cycle pyranne et par l'orientation axiale ou équatoriale des groupements attachés au cycle ; la présence de groupes pendants additionnels 'atypiques' ajoute à cette diversité structurale. A l'échelle du polymère, les EPS sont linéaires ou ramifiés, la densité et la longueur des branches sont des caractéristiques structurales importantes.

L'adsorption des EPS sur des surfaces minérales a été mise en évidence de nombreuses fois expérimentalement, en revanche très peu d'études concernent l'échelle atomistique. Les questions abordées dans cette étude sont 1/ quelles sont les fonctions portées par les EPS responsables de leur interaction avec les surfaces minérales ? 2/ quels sont les détails atomistiques du complexe ? 3/ Peut-on prédire les énergies mises en jeu ?

Dans ce chapitre nous présenterons la modélisation du phénomène d'adsorption de différents modèles sur la surface basale de la montmorillonite sodique. Nous avons choisi une approche hiérarchique, elle est fragmentée de la manière suivante : (1) adsorption des « groupements chimiques », de petites molécules qui portent les différentes fonctions chimiques caractéristiques des EPS; (2) adsorption des monosaccharides ; (3) adsorption des unités de répétition des EPS.

5.2. Adsorption des groupes chimiques

Nous avons considéré tous les groupes chimiques rencontrés dans les polysaccharides dont les structures sont données dans le chapitre 3 (voir Table 1, publication 1). Certaines de ces molécules sont représentées dans la figure 5.1.

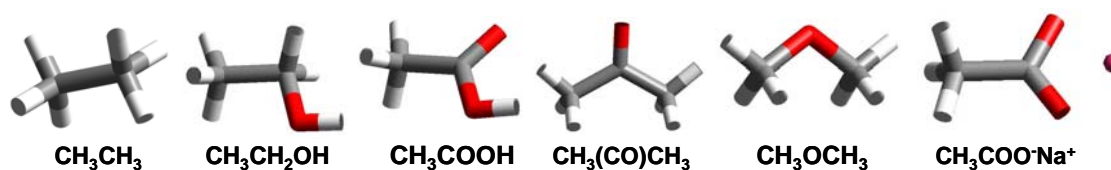


Figure 5.1. Représentation graphique de certains groupements chimiques testés.

Deux études indépendantes ont été conduites : l'une en présence et l'autre en absence des atomes de sodium. Les énergies d'interaction de ces molécules sur la surface minérale sont déterminées (voir table 1, publication 1), certaines valeurs obtenues en présence des atomes sodium sont reportées dans la figure 5.2. Les contributions électrostatiques et de Van der Waals sont également indiquées dans la figure 5.2.

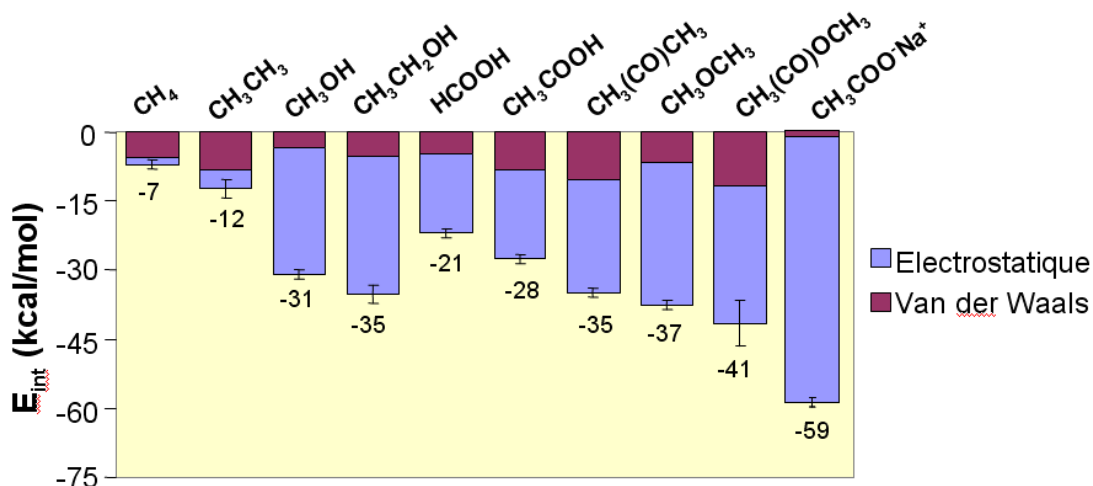


Figure 5.2. Energie d'interaction des groupements chimiques avec la surface minérale en présence de sodium.

L'étude de l'adsorption des groupes chimiques révèle les fondements et les modalités d'interaction entre EPS et montmorillonite ; les principaux résultats sont :

- L'interaction est systématiquement favorable, tous les groupes chimiques sont capables de s'adsorber.
- Le terme van der Waals est dominant pour l'interaction des groupes hydrophobes avec la surface minérale: méthyle et éthyle. C'est l'interaction estimée la plus faible, la contribution d'un méthyle est d'environ 6 kcal.mol⁻¹. La présence des contre-ions n'a pas un effet important.
- La contribution est principalement électrostatique pour les molécules possédant des atomes d'oxygène, leur interaction est comprise entre 22 et 29 kcal.mol⁻¹. Les ions sodium participent fortement à l'interaction avec les groupements polaires.
 - o Si le ligand est un donneur de liaisons H (fonctions alcool et acide carboxylique): des liaisons d'hydrogène peuvent être formées avec les oxygènes de la surface minérale. Souvent le cation participe également à l'interaction.

- S'il est simplement accepteur de liaison H : l'interaction avec la surface minérale se fait obligatoirement par l'intermédiaire du cation. (Voir figure 5.3). L'interaction est ionique.
- On observe une augmentation importante de l'interaction quand la fonction acide carboxylique est dissociée.

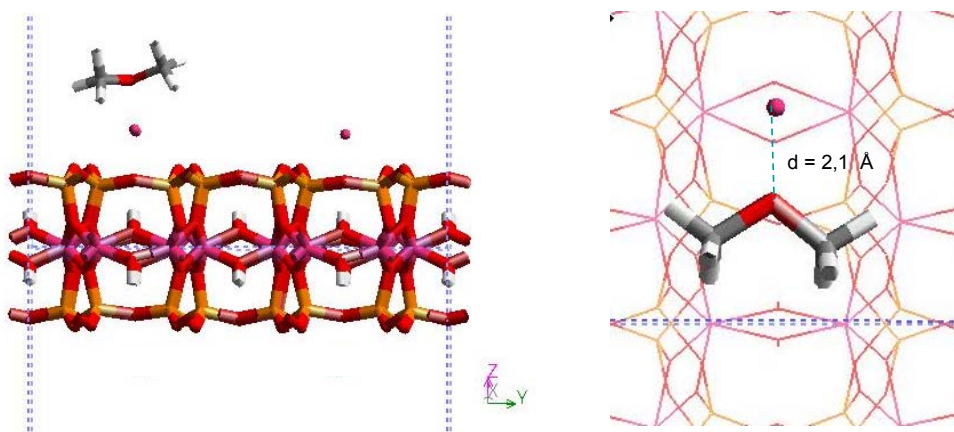


Figure 5.3. Représentation graphique du méthoxyméthane (CH_3OCH_3) adsorbé sur la surface minérale ; vue de profil (gauche) et de face (droite).

5.3. Adsorption des monosaccharides

Nous avons étudié l'adsorption des 20 monosaccharides différents qui entrent dans la constitution chimique des EPS sélectionnés (voir le tableau 2, publication 1) : 12 glucoses, 4 galactoses, 3 mannoses, 1 rhamnose, 1 talose et 1 Kdo. Nous avons considéré les différents substituants (acétate, pyruvate...). Par ailleurs chaque position impliquée dans une liaison glycosidique a été protégée par un groupement méthyle ($-\text{CH}_3$). Les substitutions sont présentées de la façon suivante, par exemple, une unité de β -D-glucose liée par les atomes 1 et 4 dans l'EPS sera indiquée ainsi : β -D-Gclp (Me1, Me4).

D'après les valeurs moyennes des énergies d'interaction avec la surface minérale (tableau 2, publication 1) :

1/ Les résultats sont consistants avec ceux obtenus sur les groupes chimiques :

- la présence des contre-ions sur la surface minérale favorise l'adsorption des monosaccharides : la valeur moyenne d'énergie d'interaction est de -30 kcal/mol en l'absence des contre-ions, or elle est de -106 kcal/mol en leur présence.
- les interactions sont multiples : ioniques, liaisons hydrogène et hydrophobes (dans ce dernier cas, on peut constater que la substitution d'une fonction OH par un OMe n'est pas pénalisante du point de vue énergétique).

2/ Certains résultats sont cependant spécifiques des monosaccharides :

- La conformation chaise dominante d'une pyranne isolée est conservée quand le monosaccharide est adsorbé, le cycle est rigide. La seule exception concerne le 2-deoxy-Glucose. En revanche, les groupements latéraux montrent de la flexibilité.
- En moyenne seulement 30% à 40% de la surface totale accessible du monosaccharide est en contact direct avec la surface minérale.
- L'énergie d'interaction avec la surface minérale et la géométrie d'adsorption dominante sont hautement spécifiques ; ils dépendent du nombre des substituants, de leur nature, de leur position et de leur orientation par rapport au cycle pyranne.

Certains points sont illustrés avec les figures 5.4., 5.5. et 5.6.

- tous les groupements latéraux du β -D-Glcp sont équatoriaux, la molécule a une tendance à s'adsorber à plat sur la surface minérale. Avec la présence d'un long groupement latéral (*O*-succinyle par exemple), la molécule s'étale également sur la surface minérale (figure 5.4.).

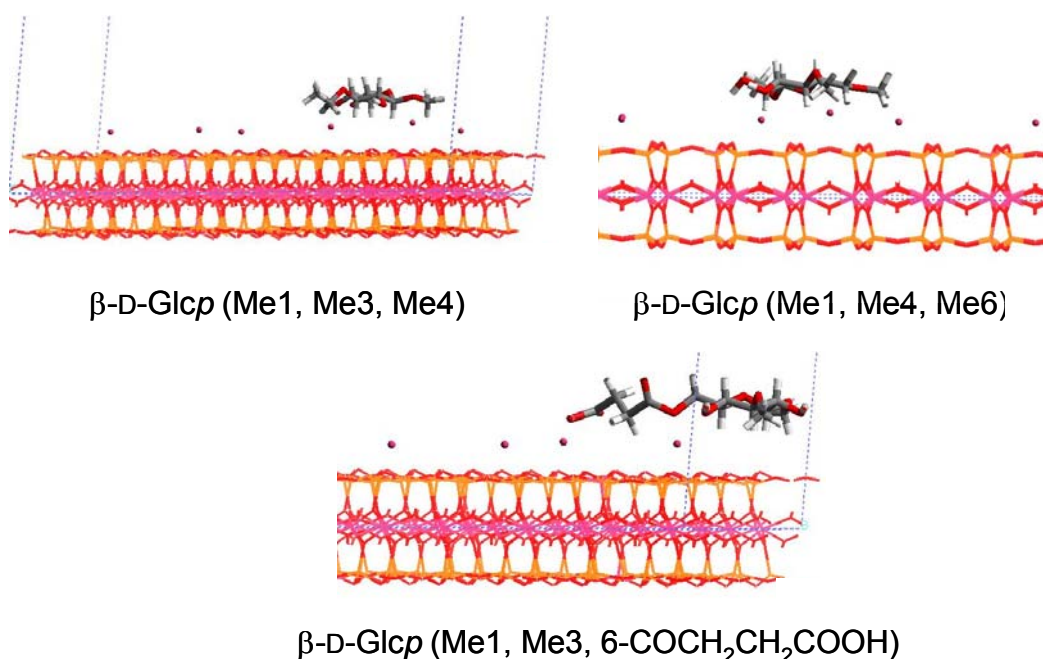


Figure 5.4. Modalités d'adsorption de β -D-Glucoses différemment substitués.

- l'inversion de la configuration d'un carbone (anomérique ou autre) perturbe fortement les modalités d'interaction avec la surface minérale. La figure 5.5 montre l'adsorption des α -D-Glcp (Me1, Me6) et β -D-Glcp (Me1, Me6) : l'oxygène O5 est orienté vers la surface pour l'isomère β , alors que l'isomère α est orienté à l'opposé. Cette observation est identique pour le β -D-Glcp (Me1, Me3) comparé au β -D-Galp (Me1, Me3).

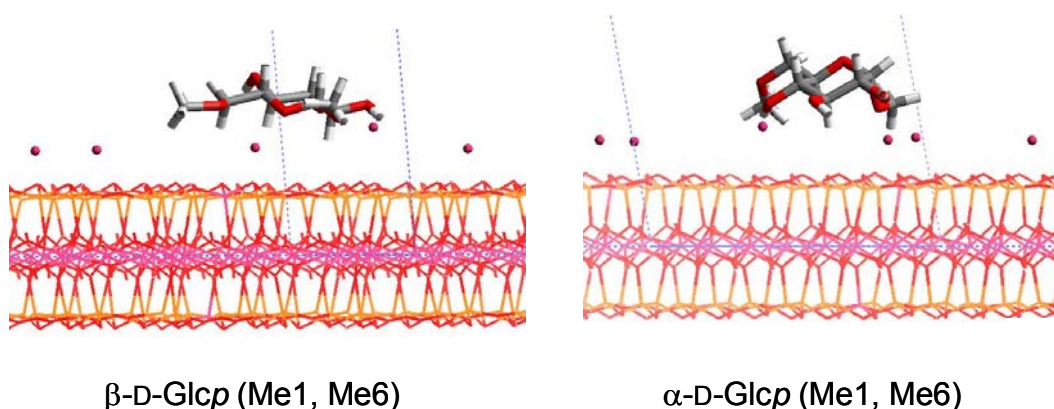


Figure 5.5. Modalités d'adsorption d' α - et de β -D-Glucoses bi-substitués.

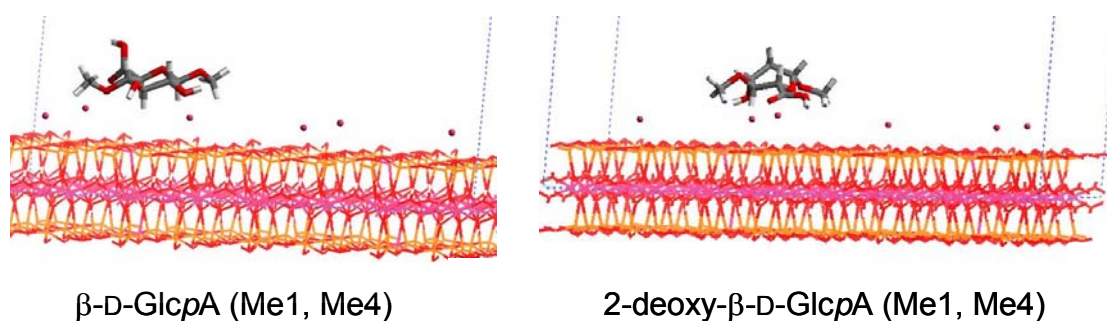


Figure 5.6. Adsorption de Glucoses Acides.

L'absence du groupement hydroxyle sur le C₂ du 2-deoxy- β -D-GlcpA (Me1, Me4) favorise la déformation du cycle pyranne (voir la figure 5.6).

5.4. Adsorption des unités de répétition des EPS

Les structures primaires des EPS étudiés sont représentées dans la section 3.2. Nous avons généré une unité de répétition pour chaque EPS (sauf pour le dextrane ou nous avons utilisé un degré de polymérisation de 6 pour que sa masse molaire soit du même ordre de grandeur que les autres EPS). Les unités EPS et leur masse molaire sont indiquées dans le tableau 5.1.

EPS	Mw (g.mol ⁻¹)
dextrane	1018
MWAP71	778
RMDP17	1000
Rhamsane	1016
Xanthane	982
YAS34	1264
KYGT207	708
Succinoglycane	1554

Tableau 5.1. Masses molaires des unités de répétition des EPS considérés.

Les résultats précédents ont révélés la forte participation des contre ions au processus d'interaction, l'adsorption des unités de répétition est réalisée uniquement en présence des contre-ions sur la surface minérale.

L'analyse est basée sur les valeurs moyennes des énergies d'interaction (tableau 3, publication 1) et sur les aspects géométriques de l'adsorption (tableau 4, publication 1).

Les résultats sont également consistants avec le début de l'étude :

- les modalités de l'interaction sont identiques à celles trouvées pour les fonctions chimiques ou les monosaccharides,
- environ 30% à 40% de la surface totale accessible de l'unité de répétition est en contact direct avec la surface minérale. Cette valeur est curieusement similaire à celle obtenus sur les monosaccharides,
- la conformation des cycles pyranes reste inchangée.

Les spécificités associées à l'adsorption des oligosaccharides sont :

- l'augmentation de la surface totale accessible de l'unité de répétition quand elle se trouve proche de la surface minérale, ce qui indique que les EPS se déplient

(s'étalent) pendant le processus d'adsorption, ils maximisent la surface en contact avec la surface minérale.

- Cette modification de conformation est due aux rotations autour des liaisons glycosidiques (modification des angles Φ , Ψ et ω), grâce à ces degrés de liberté, l'unité de répétition a la possibilité de changer de forme quand elle interagit avec la surface minérale.
- La flexibilité n'est que relative, en effet on peut constater que la géométrie d'adsorption des monosaccharides dans une structure oligomère diffère de celle la plus favorable, estimée dans le cas des monomères isolés (voir Figure 5.7).

5.5. Contribution des groupes

Les lois d'additivité sont souvent utilisées pour estimer l'énergie d'interaction théorique d'une espèce moléculaire donnée à partir de la contribution individuelle de chaque groupe. Pour tester la pertinence de cette méthode, nous avons estimé la contribution de chaque fonction à l'interaction avec la surface minérale à partir des valeurs représentées dans la figure 5.2, elles sont reportées dans la figure 5.8.

L'énergie d'interaction théorique d'un glucopyranose diméthylé est de -200 kcal/mol d'après la contribution des groupes ; les valeurs effectivement calculées sont de l'ordre de -104 kcal/mol et de -120 kcal/mol. De toute évidence, la méthode des groupes surestime les énergies d'interaction car elle assume une interaction optimale. Par ailleurs cette méthode ne tient compte ni de la connectivité entre les groupes ni des contraintes géométriques associées à la stéréochimie des sucres.

La même remarque peut être faite à l'échelle des oligomères, la méthode de contribution des groupes (des monosaccharides) surestime fortement les énergies d'interaction réelles d'un oligosaccharide. Prenons par exemple l'unité du MWAP71, la somme des énergies d'interaction de ses monosaccharides avec la surface minérale donne -421 kcal/mol, son énergie calculée pour le modèle oligosaccharide est de -151 kcal/mol (cf. figure 5.9). Cette perte d'énergie correspond à l'effet de l'oligomérisation.

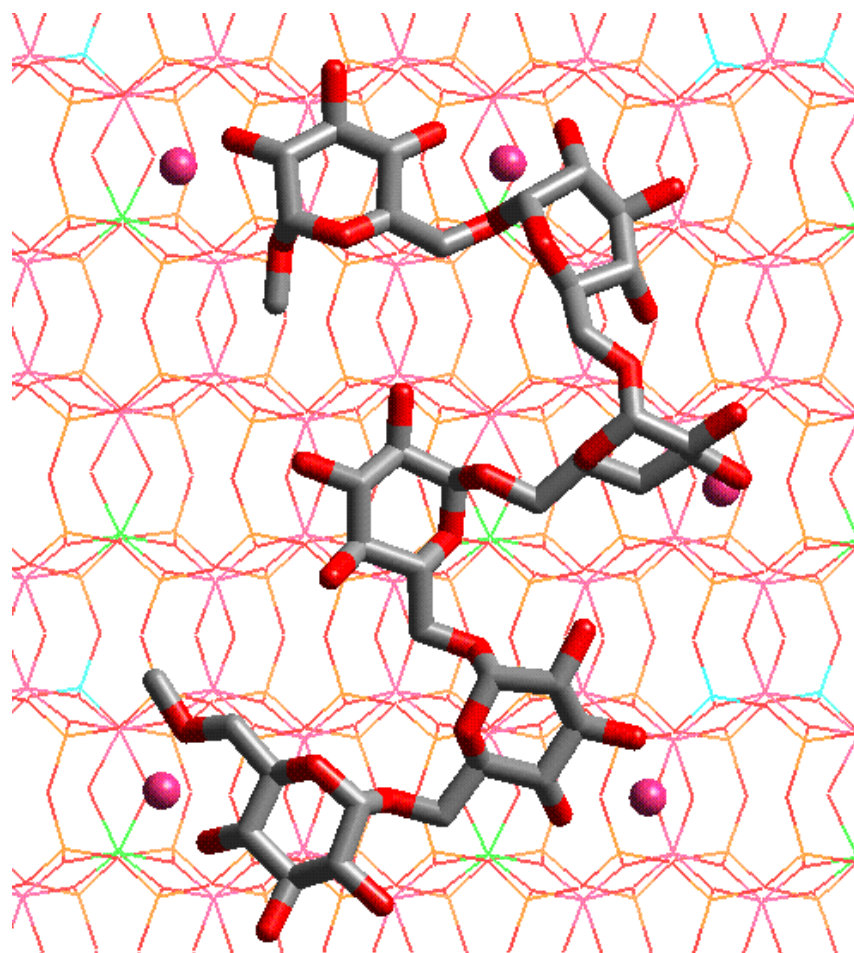
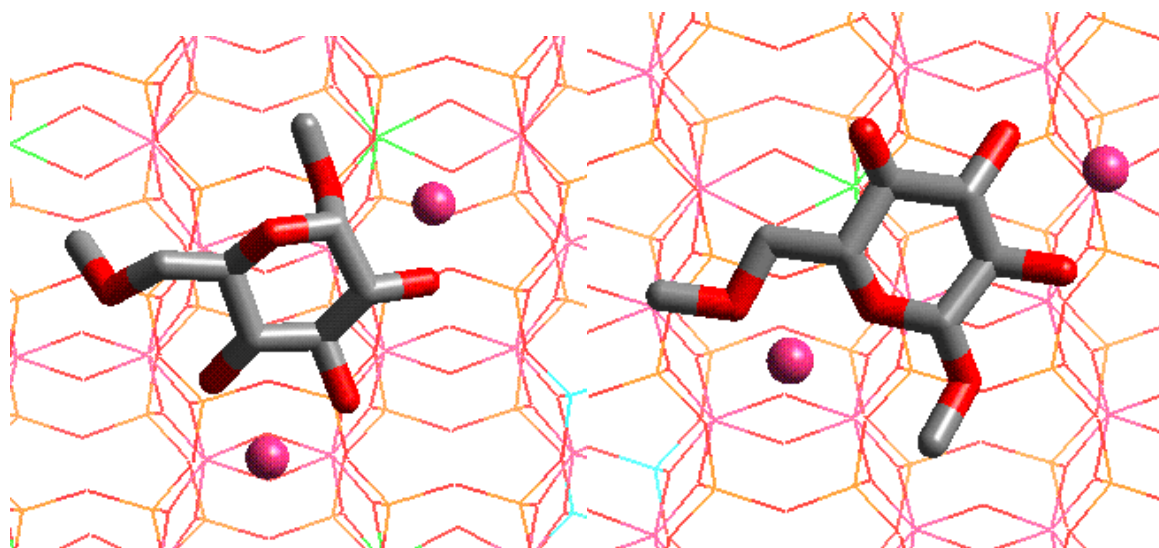


Figure 5.7. Adsorption d' α -D-Glucoses méthylés en 1 et 6 (haut) et du modèle de dextrane (bas).

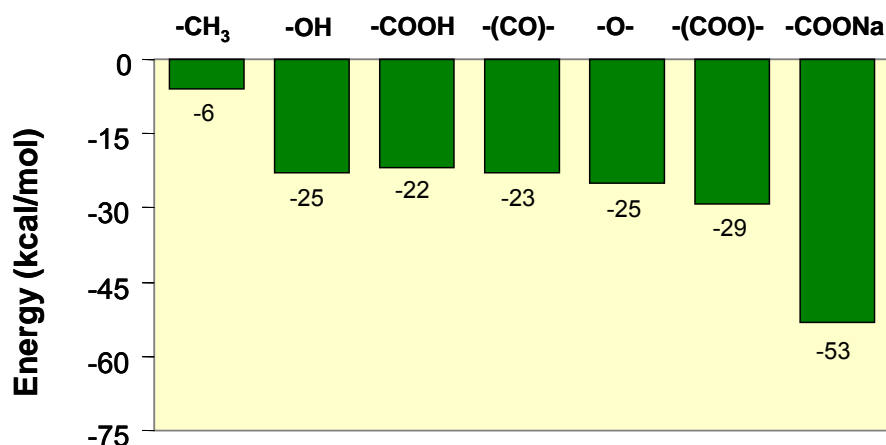


Figure 5.8. Estimation de la contribution des différentes fonctions (méthyle, hydroxyle, acide carboxylique, carbonyle, éther, ester, carboxylate de sodium) à l'énergie d'interaction avec la surface minérale.

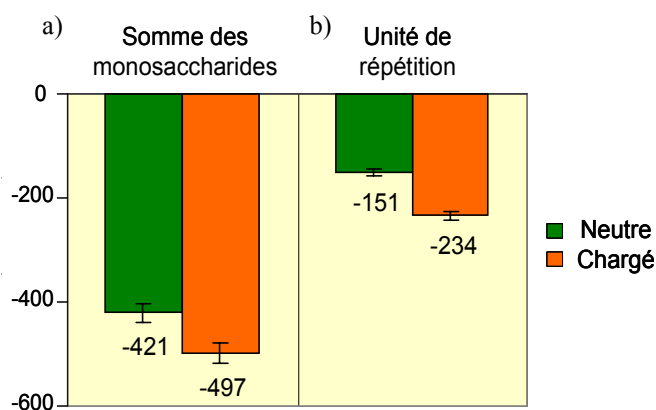


Figure 5.9. Énergie d'adsorption (kcal/mol) des éléments constitutifs du MWAP71 : (a) valeurs estimées par la méthode de contribution des groupes, et (b) valeurs mesurées pour l'unité de répétition.

5.6. Conclusion

Il est généralement considéré que l'adsorption d'un polymère sur une surface dépend de sa masse ; nos résultats montrent que la surface en interaction est le paramètre pertinent. En effet, la figure 5.10 montre que la corrélation entre l'enthalpie d'adsorption et

la surface en contact est linéaire. Cette corrélation est établie pour les fonctions chimiques, les monomères, les unités de répétition et les oligomères. Ce résultat suggère que le facteur déterminant pour l'adsorption est l'habilité de l'EPS à se déplier pour maximiser sa surface en contact avec la surface minérale. Les structures plus flexibles sont les plus favorables à l'adsorption. La contribution des groupes est inadéquate à prédire correctement les énergies d'interaction.

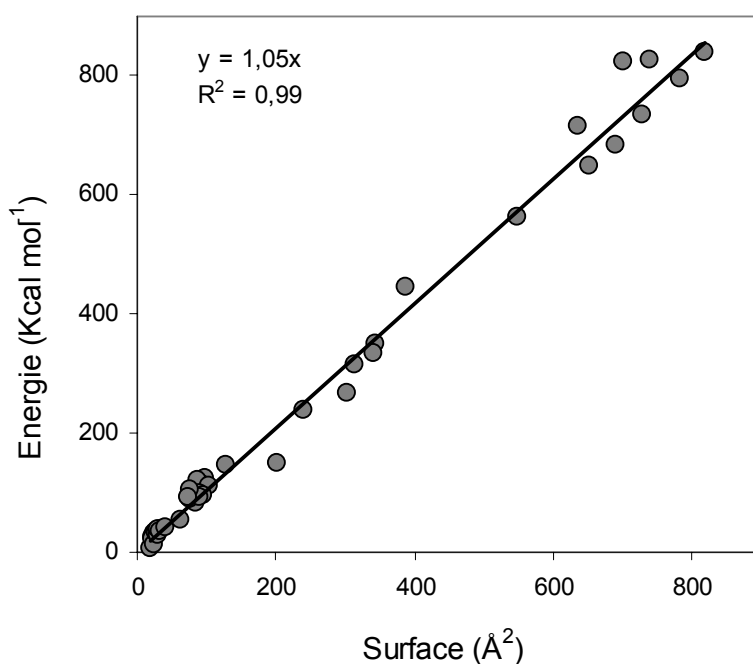


Figure 5.10. Corrélation entre l'enthalpie d'adsorption et la surface d'adsorption (inclus les monomères, les unités de répétition et les oligomères)

6. RESULTATS – MODELISATION DE L'ADHESION

Modèles de complexes EPS montmorillonite : phénomènes d'agrégation des sols et de rétention de l'eau.

6.1. Préambule

Les résultats de ce chapitre sont présentés dans la publication 2, dont le texte est donné dans les pages 131 à 148 de ce manuscrit. La publication est soumise dans le journal 'Material Science and Engineering, C'.

Les calculs réalisés sur les unités de répétition sont inadaptés à révéler les effets de structure des polymères, comme par exemple l'effet de la présence de branches, toutes les unités de répétition de ces EPS sont linéaires sauf le YAS34 qui ressemble à une étoile à 3 branches. Le premier objectif de cette partie de l'étude est d'étendre nos travaux précédents en considérant des oligomères des EPS et non plus les unités de répétition. Les modèles d'EPS présentés ici sont constitués d'au moins une centaine de monosaccharides, contre huit dans l'étude précédente (tableau 6.1 : nombre de monosaccharide = Nr x dP).

EPS	Nr	dP	Mw(u)	Mw(c)
Dextrane	1	132	180	21402
YAS34	7	18	1236	21942
Rhamsane	6	22	988	21358
RMDP17	6	22	972	21006
Succinoglycane	8	14	1526	21130
Xanthane	5	23	954	21546
MWAP71	4	30	750	21978

Tableau 6.1. Caractéristiques des EPS étudiés. Nr: nombre de monosaccharides dans l'unité de répétition; dP: degré de polymérisation; Mw(u): masse molaire de l'unité de répétition; Mw(c): masse molaire de l'oligomère.

Par ailleurs le taux de recouvrement des surfaces minérales par les unités de répétition des EPS est très faible. Le phénomène d'adsorption est certes une condition nécessaire mais non suffisante pour exprimer la propriété d'agrégation des particules minérales, le pontage de deux surfaces est également requis.

Nous proposons ici de construire des modèles plus réalistes, en ce qui concerne le taux de recouvrement des particules minérales et le pontage de différentes particules. De plus, ces modèles permettent d'étudier l'interaction du système hybride avec l'eau. On ne s'intéresse ici qu'aux formes neutres des polysaccharides : les fonctions acides sont sous la forme carboxylique.

6.2. Génération des modèles

Une méthode de génération de modèles souple et efficace est proposée. Tous les systèmes se comportent de façon identique au cours de la procédure de génération, la figure 6.1 montre l'évolution de l'énergie totale du système MWAP71 (pris comme exemple représentatif) en fonction de la distance entre deux particules minérales. Les 3 orientations initiales de l'EPS donnent des résultats reproductibles.

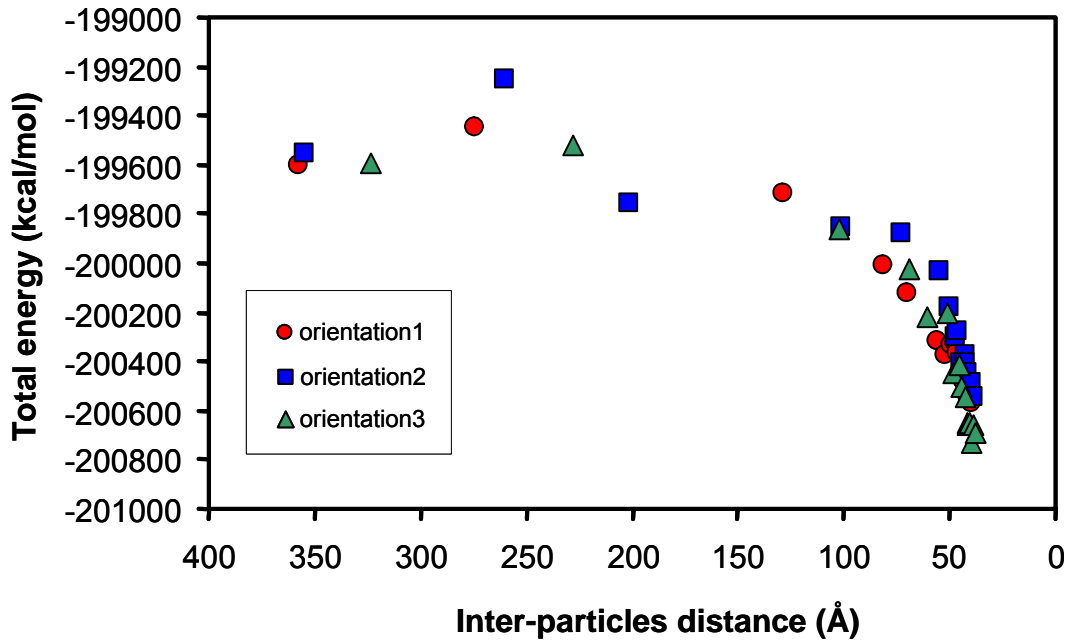


Figure 6.1. Variation typique de l'énergie totale du système MWAP71 en fonction de la distance inter particules. Les trois orientations initiales sont indiquées par différents symboles : ronds : 1ere orientation, carrés : seconde orientation et triangles : troisième orientation.

Au début de la procédure (ce qui correspond aux fortes distances inter particulières) la variation de l'énergie est très faible, suggérant qu'il n'y a que peu, ou pas, d'interaction entre l'EPS et le minéral. En revanche, en dessous d'une distance critique, l'énergie décroît très fortement quand la distance entre les deux surfaces minérales diminue. Cette diminution de l'énergie indique non seulement que l'interaction est favorable mais aussi que les structures les plus compactes sont les plus stables. Enfin, aucune augmentation de l'énergie n'est apparente aux plus faibles distances suggérant que la procédure a été stoppée avant l'apparition de recouvrements stériques non favorables.

Les modèles sont stables car ils correspondent à des minima de l'énergie potentielle, ils sont en outre dans un équilibre mécanique, les tenseurs de stress voisins de zéro indiquent que les modèles sont sans tension ni compression (voir le tableau 6.2).

Cycle	Z	δ	$\langle P_{ij} \rangle$						H ₂ O
No.			XX	YY	ZZ	YZ	XZ	XY	(%w/w)
1	419	0.1	0.000	0.000	0.012	-0.001	0.001	0.000	86
2	348	0.2	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	-0.001	0.000	83
3	222	0.3	-0.001	-0.003	-0.002	0.000	-0.001	-0.001	75
4	122	0.5	-0.011	-0.004	-0.014	-0.003	0.004	0.003	57
5	95	0.6	-0.013	-0.014	-0.010	0.009	0.001	0.005	48
6	75	0.7	-0.022	-0.011	-0.027	-0.006	0.012	0.002	38
7	67	0.8	-0.032	-0.025	-0.032	0.005	-0.007	0.011	32
8	63	0.9	-0.048	-0.039	-0.055	-0.011	-0.011	-0.007	28
9	54	1.0	-0.076	-0.026	-0.067	-0.007	0.012	-0.009	22
10	50	1.1	-0.037	-0.042	-0.022	-0.004	-0.004	-0.019	19
11	46	1.2	-0.083	-0.057	-0.042	-0.011	0.006	-0.002	16
12	45	1.2	-0.090	-0.096	-0.088	-0.016	0.008	0.036	13
13	42	1.3	-0.081	-0.094	-0.020	-0.007	0.038	0.004	11
14	40	1.3	-0.127	-0.088	-0.150	-0.007	0.017	0.002	9
15	37	1.4	-0.108	-0.090	-0.044	0.032	-0.018	0.007	7
16	34	1.5	-0.092	-0.085	-0.014	-0.046	0.014	-0.036	4
17	32	1.6	-0.208	-0.239	-0.160	0.021	0.007	-0.017	2

Tableau 6.2. Distance Inter particule Z (Å); densité δ (g cm⁻³); composants moyens du stress $\langle P_{ij} \rangle$ (GPa); teneur en eau H₂O (% w/w) des structures en fonction du cycle de modélisation (Cycle No.).

La Figure 6.2 donne l'évolution de l'aire de contact entre le MWAP71, encore pris comme exemple représentatif, et la surface de montmorillonite en fonction de la distance entre les deux particules minérales. L'aire en interaction est quasi nulle en début de simulation et elle augmente jusqu'à la valeur maximale de 2160 Å². Seuls les modèles dont l'aire en interaction est supérieure à la valeur minimale arbitrairement choisie de 475 Å² ont été retenus, dans ces modèles la distance entre les deux particules minérales est inférieure à 75 Å. Considérant que la surface accessible au solvant du modèle de

montmorillonite est d'environ 35 nm^2 , le taux de recouvrement de la surface minérale par les EPS des modèles retenus est alors compris entre 13 et 62 %.

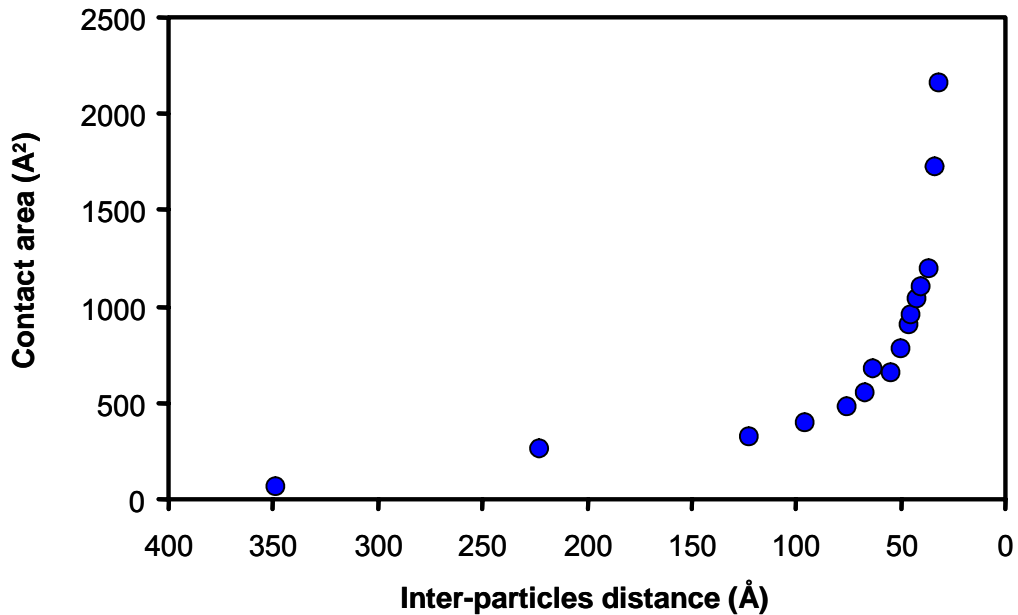


Figure 6.2. Evolution de l'aire en interaction entre l'EPS (MWAP71) et les surfaces minérales en fonction de la distance inter particules.

Quelques structures sont ensuite hydratées, entre 4 et 12 modèles par EPS ont été retenus. Les taux d'hydratation globaux sont compris entre 2 % et 38 % en masse. L'hydratation de la phase organique est comprise entre 5 % et 56 % (w/w). Pour chaque structure, la quantité d'eau, la distance inter particules, l'aire de l'EPS en interaction avec la surface minérale et l'énergie potentielle totale sont données dans la table S1 « supplementary material » de la publication 2.

6.3. Structure

La structure des modèles est caractérisée d'une part par inspection visuelle (voir figure 4.12) et d'autre part par les profils des distributions des densités de chacun des composants (montmorillonite, ions, EPS et l'eau) dans la direction normale à la surface minérale (Figure 6.3).

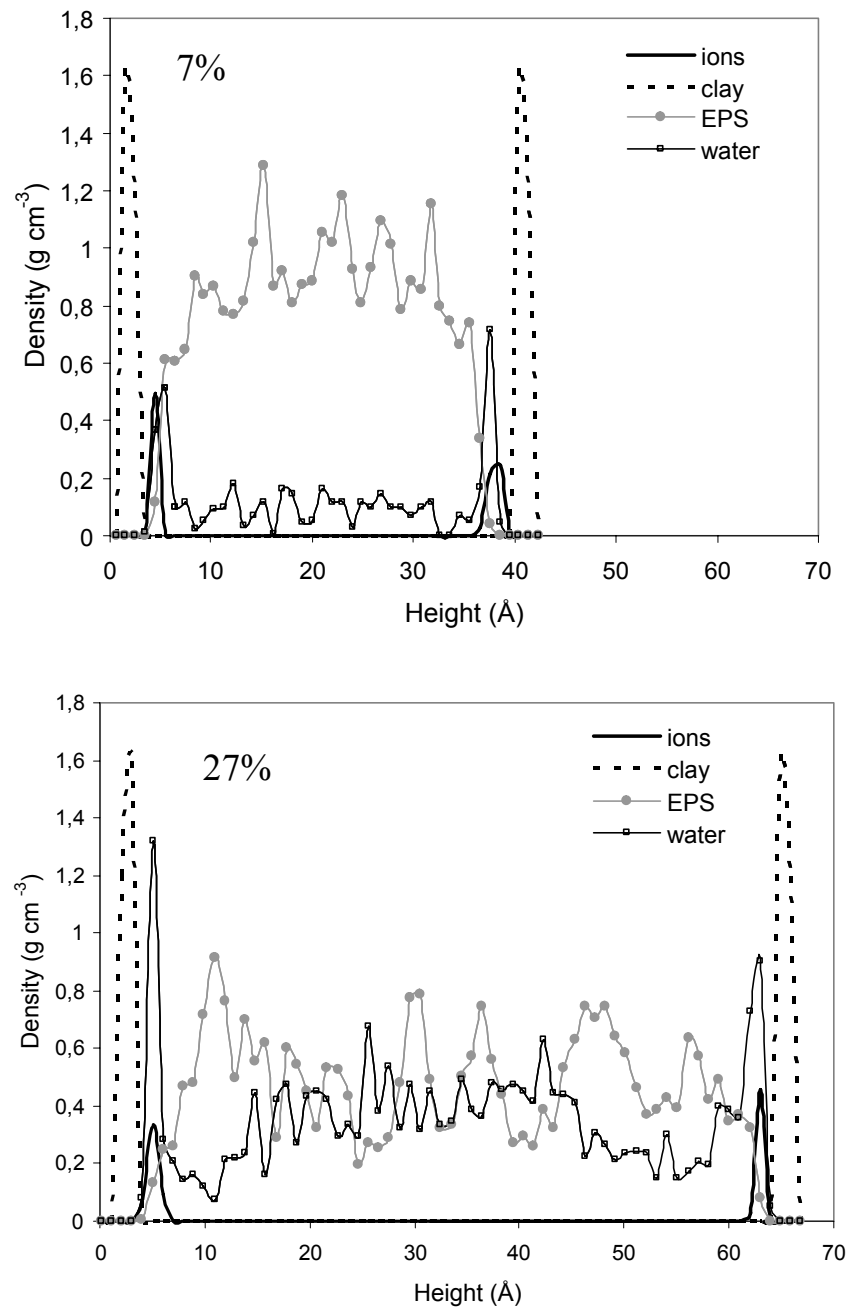


Figure 6.3. Profils de densité de la montmorillonite, des ions, de l' EPS (dextrane) et des molécules d'eau pour les modèles contenant 7% (haut) et 27% (bas) en masse d'hydratation. La densité de la montmorillonite a été divisée par 3 pour obtenir des valeurs comparables aux densités des autres espèces.

Les modèles sont identiques aux images de microscopie électronique obtenues à la fois sur des systèmes naturels et sur des systèmes mimétiques [32, 33, 199]. Par ailleurs les modèles sont conformes aux théories décrivant l'adsorption des polymères sur des surfaces [200], certains segments du polysaccharide sont directement en contact avec la surface minérale, ils forment des trains ou des points d'ancrage ; d'autres s'échappent de la surface ; soit ils reviennent sur la même surface et forment alors des boucles, soit ils rejoignent l'autre surface minérale, ils forment des ponts.

Comme déjà observé, l'interaction entre l'EPS et la surface minérale est à la fois directe, des liaisons H par exemple sont formées entre les hydroxyles de l'EPS et les oxygènes de la surface minérale, et également indirecte, par l'intermédiaire de molécules d'eau ou de cations ; les cations Na^+ restent à proximité des surfaces minérales. Les molécules d'eau sont distribuées dans tout l'espace entre les particules minérales ; leur répartition est hétérogène, elles s'accumulent aux interfaces et autour des ions. L'eau est également localisée dans la phase EPS (cf. figure 4 de la publication 2).

Les modèles miment deux situations indiscernables à l'échelle atomique : 1/ si on considère que seule la couche de surface est suffisante pour représenter correctement un minéral entier, alors les modèles représentent deux particules séparées et l'EPS s'adsorbe sur les deux particules et les pontes ; 2/ on peut également considérer que les modèles représentent les feuillettes d'une particule totalement exfoliée (feuillettes dispersés), l'EPS est alors localisé dans l'espace interfoliaire, il pontes deux feuillettes.

6.4. Energies

6.4.1. Energie d'interaction EPS-Montmorillonite

Les variations des énergies de liaison des EPS sur la surface minérale en fonction de l'aire en interaction sont données figure 6.4. Comme précédemment, les énergies de liaison sont toutes positives, elles sont du même ordre de grandeur et augmentent linéairement avec l'aire de la surface en interaction. L'interaction est estimée favorable pour tous les EPS considérés. La croissance linéaire des énergies de liaison indique que la force d'adsorption dépend directement de la quantité de trains, la présence de boucles et

d'une partie de la molécule qui ponte les deux particules minérales n'a pas d'impact important.

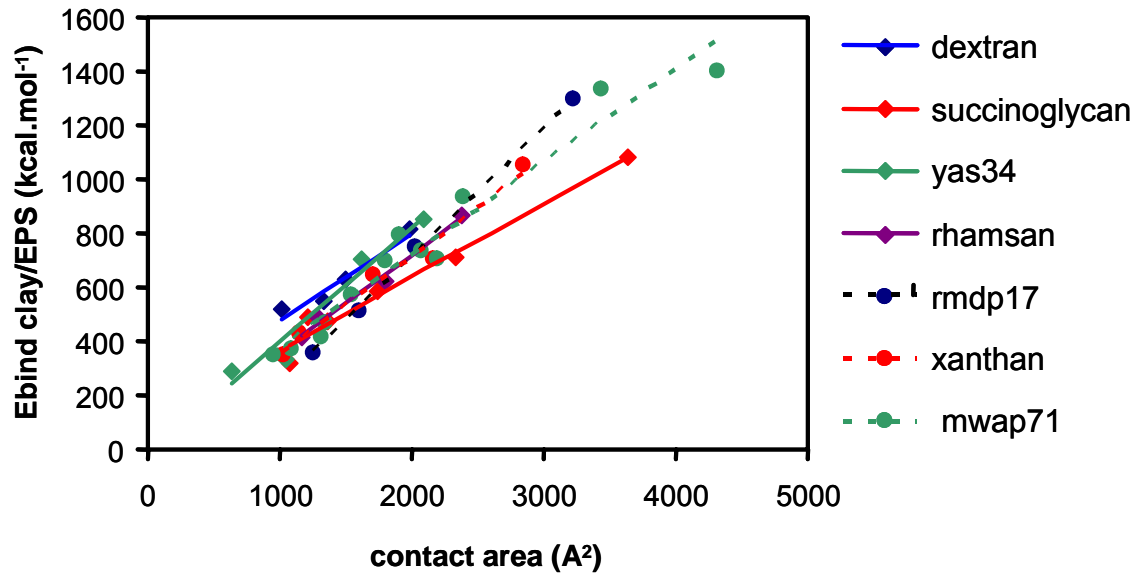


Figure 6.4. Variations de l'énergie de liaison des EPS sur la surface de la montmorillonite en fonction de l'aire en interaction ; l'aire en contact a été multipliée par un facteur 2 pour pouvoir estimer les travaux d'adhésion.

EPS	W c/eps (mJ m ⁻²)
Dextrane	222
YAS34	293
Rhamsane	248
RMDP17	331
Succinoglycane	188
Xanthane	251
MWAP71	239

Tableau 6.3. Travail d'adhésion entre les EPS et les surfaces de montmorillonite.

Cependant, les valeurs du travail d'adhésion, obtenues à partir des pentes des droites par régression linéaire, révèlent des différences significatives entre les EPS (tableau

6.3). Ce résultat prédit est en accord avec les travaux expérimentaux de Labille et Thomas qui révèlent une relation entre la structure chimique de l'EPS et sa propriété d'agrégation des particules minérales [34, 36]. Il a en effet été montré que la capacité d'un EPS à flocculer la montmorillonite (la taille des flocons et la vitesse de floculation) dépend de la position, donc de la disponibilité, des fonctions acides dans la structure de l'EPS.

Cependant il faut reconnaître que l'ordre des EPS n'est pas correctement prédit par la modélisation. En fait, nos résultats ne révèlent aucune corrélation évidente entre la force d'interaction des EPS avec la surface et leurs caractéristiques structurales : linéaire ou branchée, la nature chimique du squelette, la densité des branches, leur longueur, la position du groupement carboxylique dans la structure chimique, etc. La comparaison quantitative entre les études expérimentales et les modèles présentés ici n'est pas possible car, bien que les systèmes étudiés soient apparemment semblables ils ne sont pas rigoureusement identiques. En fait, les mécanismes d'interaction mis en jeu diffèrent ; l'observation expérimentale est probablement due à une combinaison de plusieurs mécanismes d'interaction alors que notre étude est limitée au cas des espèces EPS neutres sur la surface basale de la montmorillonite. Le mécanisme supposé dominant expérimentalement est l'interaction ionique entre les carboxylates, portant une charge négative et les bords de l'argile. En effet, les bords des feuillets de montmorillonite ont un caractère amphotère dû à la présence de groupements Al-OH.

6.4.2. Energie d'interaction avec l'eau

L'énergie d'hydratation (E_{H_2O}) représente l'énergie qu'il faut fournir pour extraire un volume d'eau au système. La figure 6.5 illustre ses variations en fonction de la teneur en eau.

Pour ce paramètre également, tous les polysaccharides testés se comportent de façon similaire. Les valeurs les plus négatives de l'énergie d'hydratation sont trouvées pour les faibles teneurs en eau et on observe que l'énergie augmente progressivement avec la teneur en eau. On peut noter également une absence d'états d'hydratation spécifiques : il n'y a pas de minima de l'énergie apparent : le système est capable d'absorber l'eau continuellement.

L'interaction est prédite particulièrement forte aux faibles taux d'hydratation, ce résultat est consistant avec le concept d'eau fortement liée (eau non congelable) observée en DSC sur de nombreux polysaccharides [201, 202] ; par ailleurs il est également impossible de déshydrater totalement un polysaccharide [203]. Le concept de potentiel d'eau est souvent utilisé pour caractériser l'eau dans les sols, il correspond à l'énergie potentielle de l'eau dans le sol par rapport à celle de l'eau pure (de potentiel zéro). L'allure des courbes estimées en modélisation (variation de l'énergie d'hydratation en fonction de la teneur en eau) et de celles obtenues expérimentalement (variation du potentiel hydrique en fonction de la teneur en eau [26]) sont identiques (voir figures 1,6 et 1,7 du chapitre 1 « travaux antérieurs »). Nos résultats sont cohérents avec les mesures expérimentales, les EPS sont capables de retenir l'eau d'un système organo minéral et ils modifient sa variation du potentiel chimique avec la dessiccation.

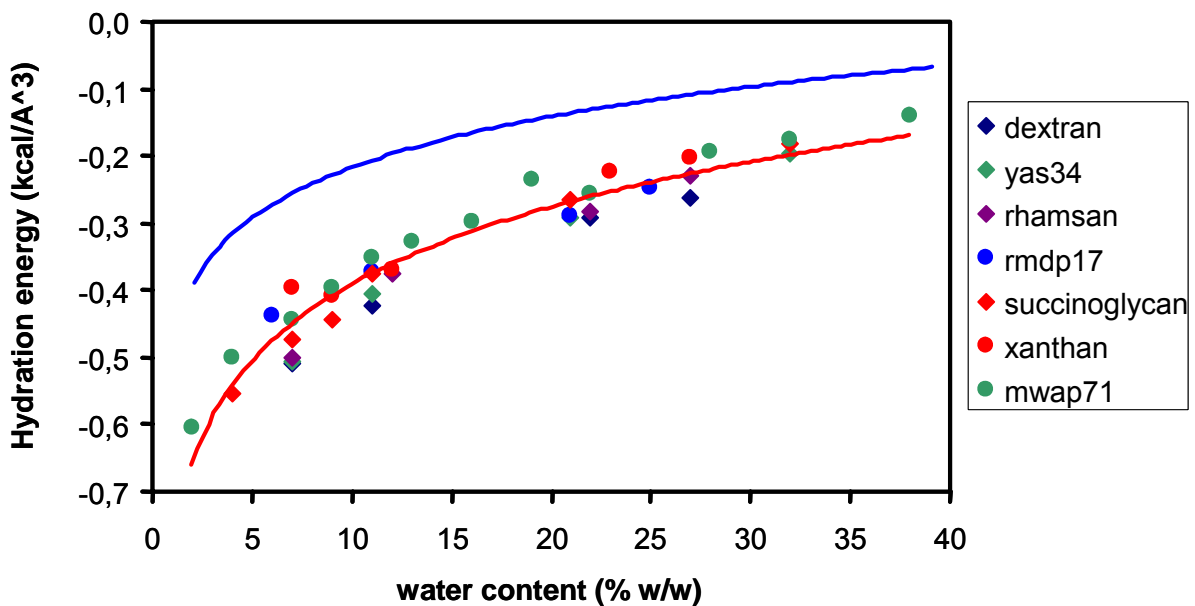


Figure 6.5. Variations de l'énergie d'hydratation du système argile/EPS en fonction du taux d'hydratation. La ligne solide rouge est un guide pour l'œil, la ligne bleue représente l'énergie d'hydratation de l'argile seule (c'est-à-dire, le système sans EPS).

6.5. Conclusion

Nous avons proposé dans cette partie du travail une vision à l'échelle atomique des associations entre EPS et montmorillonite qui se produisent dans les agrégats rhizosphériques. Les modèles générés contiennent des quantités d'eau personnalisées pour mimer différentes conditions climatiques (excès et pénurie d'eau). Ces modèles ont été utilisés afin de prédire deux propriétés clef du sol : la cohésion des agrégats apportée par les EPS et les rapports avec l'eau du système EPS montmorillonite.

L'adsorption du polysaccharide sur les surfaces minérales est un phénomène important relié à la propriété d'agrégation des particules minérales. La cohésion de l'agrégat dépend en partie de la force d'attraction entre l'EPS et la surface minérale. L'énergie d'interaction EPS-montmorillonite à l'interface dépend linéairement de l'aire de la surface en interaction. La comparaison entre les différents EPS montre des différences significatives dans les travaux d'adhésion.

Par ailleurs, l'eau est en contact avec l'EPS, les ions et la surface minérale ; nous avons également examiné comment le système organo minéral interagit avec l'eau. L'interaction avec l'eau est la plus forte aux faibles taux d'hydratation, montrant que le système s'oppose à la dessiccation ; en revanche quand il y a un excès d'eau, nos résultats suggèrent que l'interaction de l'EPS avec la surface des particules minérales évite la dispersion des feuillets.

CONCLUSION GENERALE

Dans le cadre de ces travaux de recherche nous nous sommes intéressés à l'étude des interactions établies entre des exopolysaccharides d'origine microbienne (EPS) et une argile minérale (la montmorillonite sodique). Ces associations sont importantes pour plusieurs secteurs d'application : elles sont inhérentes à la structuration et la stabilisation du sol rhizosphérique, elles sont également omniprésentes dans la constitution des matériaux nanocomposites manufacturés. Nous nous sommes inspirés des résultats de ces deux domaines pour notre étude ; l'objectif majeur étant de caractériser les interactions établies à l'interface par modélisation moléculaire. Une description schématique de la problématique scientifique est donnée dans la figure ci-dessous.

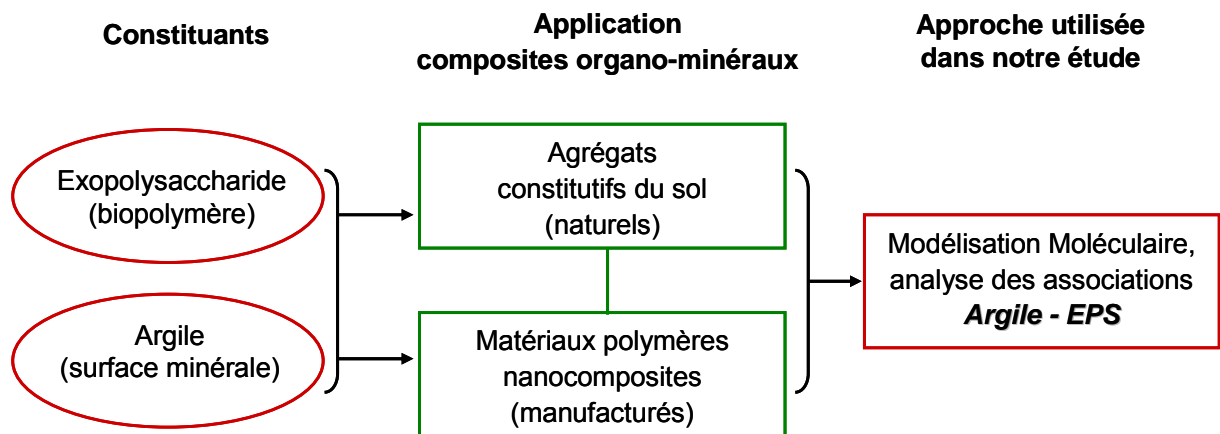


Figure 2. Représentation schématique de la problématique scientifique considérée.

Pour réaliser cette étude, nous avons construit des modèles atomistiques de la surface minérale (surface basale de la montmorillonite) et des EPS (dextrane, YAS34, rhamsane, xanthane, RMDP17, succinoglycane, MWAP71). La structure du minéral dans sa forme sodique a été générée à partir des données cristallographiques extraites de la littérature. Les EPS ont été générés en fonction de leurs structures primaires en utilisant les géométries des longueurs de liaison et des angles de valence standard. Les études conformationnelles de fragments des EPS (principalement les monosaccharides et les dimères) issues de la littérature ont également été utilisées pour attribuer des valeurs des angles de torsion afin de générer des modèles stables des EPS.

Nous avons abordé deux questions scientifiques : 1/ l'adsorption des EPS sur la surface basale de la montmorillonite sodique, et 2/ les complexes argile/EPS/eau. Une méthodologie spécifique a du être développée pour chacun de ces deux aspects.

Pour la partie « adsorption » nous avons utilisé une analyse hiérarchique, c'est-à-dire, nous avons analysé l'adsorption de chacun des constituants des EPS : les groupes chimiques, les monosaccharides et les unités de répétition, dans le but d'obtenir les détails de l'interaction sans avoir à considérer les chaînes macromoléculaires. Toutes les espèces testées présentent une affinité pour la surface ; les interactions établies à l'interface argile-EPS sont multiples : elles sont ioniques, hydrophobes et électrostatiques (liaisons hydrogène). Les interactions sont de basse énergie mais elles deviennent efficaces quand de nombreuses interactions sont établies entre l'EPS et la surface minérale, d'où l'importance de la surface en interaction et de la taille de la molécule.

L'adsorption dépend de la surface effective en interaction. Nous avons constaté que la corrélation entre l'enthalpie d'adsorption et la surface en contact est linéaire. Les structures les plus flexibles sont les plus favorables à l'adsorption, ce qui suggère que le facteur déterminant est l'habilité de l'EPS à se déplier pour maximiser la surface en interaction. L'adsorption est aussi renforcée par ces interactions établies entre les contre-ions (posés sur la surface) et les groupes hydroxyles des EPS. L'interaction obéit à un mécanisme de pontage cationique.

Pour les complexes « argile/EPS/eau » nous avons généré des modèles atomistiques hydratés dans lesquels les surfaces de deux particules d'argile sont reliées par un fragment d'EPS. Les systèmes diffèrent par leur distance interparticulaire donc par leur teneur en eau.

Les EPS ont la capacité de lier les particules minérales d'une part grâce à leur affinité pour la surface (capacité d'adsorption), et d'autre part grâce à leur caractère macromoléculaire (enchevêtrement de chaînes, interaction EPS/EPS). La grandeur estimée a été le travail d'adhésion, c'est l'énergie nécessaire pour séparer l'EPS de l'argile. En concordance avec les résultats obtenus dans la première partie, la force d'attraction à l'interface est estimée directement proportionnelle à la surface en interaction ; l'attraction

dépend donc de l'orientation et de l'arrangement des chaînes polymère (boucles, trains) au voisinage de la surface minérale. Le travail d'adhésion dépend de la structure chimique de l'EPS malheureusement nous n'avons pas réussi à corrélérer ces résultats avec les caractéristiques structurales de l'EPS.

L'autre aspect considéré dans notre étude est l'interaction avec l'eau. Les molécules d'eau sont distribuées dans tout l'espace entre les deux particules minérales, elles s'accumulent aux interfaces et autour des contre-ions, mais elles sont aussi localisées dans la phase d'EPS. L'énergie d'hydratation correspond à la force nécessaire pour extraire un volume d'eau du système. Les tendances prédites par la modélisation sont en concordance avec les résultats expérimentaux issues de la littérature, l'interaction avec l'eau est plus importante aux faibles taux d'hydratation montrant que le système s'oppose à la dessiccation.

Nous sommes conscients des limites de l'approche et de la simplicité des modèles générés, néanmoins, nous sommes satisfaits des informations qui ont peut être générées. Les simulations à l'échelle moléculaire sont des outils importants donnant des renseignements sur le comportement structural, dynamique ou thermodynamique des systèmes, qui peuvent être difficiles à obtenir par des méthodes expérimentales. Les résultats obtenus dans notre étude sont en concordance avec les propriétés observées à l'échelle macroscopique, par exemple, nous avons mis en évidence l'action agrégante des EPS sur une argile minérale et leur influence dans les propriétés de rétention d'eau. Toutefois, il est important de réaliser une validation expérimentale de manière ciblée, en utilisant des systèmes argile – EPS sous conditions expérimentales contrôlées (teneur en eau, topographie de la surface minérale, etc.). Des EPS qui pourraient être des bons candidats pour une étude approfondie pourraient être le dextrane, le MWAP71, le YAS34 et le succinoglycane ; de même il serait important d'utiliser la montmorillonite sodique et la montmorillonite calcique. Quelques techniques à utiliser pourraient être la microcalorimétrie de titration isotherme (ITC) qui permet d'évaluer les constantes d'affinité, et la Microscopie à Force Atomique (AFM), en utilisant par exemple, des pointes AFM fonctionnalisées, cette technique permet d'évaluer les forces d'attraction sur la surface d'argile minérale, ainsi que l'infrarouge et la diffraction des rayons X.

Pour ce qui concerne la modélisation moléculaire, il serait intéressant d'étudier l'adsorption des fragments hélicoïdaux des EPS, de considérer des systèmes hydratés et d'évaluer la contribution des facteurs entropiques à l'adsorption. De plus, il serait intéressant d'étudier le phénomène d'adsorption sur les bords d'argile (riches en Al-OH et Si-OH), dont l'adsorption est fortement dépendante du pH.

Le présent travail constitue une approche pour modéliser des systèmes argile – EPS. Cette démarche pourrait être utilisée ensuite pour la modélisation de composites à base de montmorillonite avec d'autres biopolymères (chitosane, cellulose, amylose, etc.), dans le but de contribuer à une meilleure compréhension de mécanismes et à la conception de nouveaux matériaux nanocomposites.

ANNEXES

ANNEXE A : PUBLICATION 1

The Molecular Basis of the Adsorption of Bacterial Exopolysaccharides on Montmorillonite Mineral Surface.

Lina Henao and Karim Mazeau

Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV–CNRS),
ICMG FR2607

Acceptée dans le journal « Molecular Simulations ».

The Molecular Basis of the Adsorption of Bacterial Exopolysaccharides on Montmorillonite Mineral Surface.

Lina Henao and Karim Mazeau

Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV–CNRS), ICMG FR2607

BP 53, 38041 – Grenoble Cedex 9 – France

Affiliated with the Joseph Fourier University.

Abstract

Rhizospheric exopolysaccharides (EPS) spontaneously aggregate mineral particles. Molecular dynamics simulations with Cerius2 and Material Studio programs have been performed to study the adsorption of chemical groups, monosaccharides and oligosaccharides, onto the basal surface of Na-montmorillonite. The estimated enthalpies of adsorption of chemical groups nicely reproduced the expected values. Mono- and oligosaccharides have a preferred geometry of adsorption. Monosaccharides maintained their shape upon adsorption whereas oligosaccharides flattened more or less on the surface, depending on their flexibility. The conformational adaptability was shown to be the leading factor that determined the interaction strength between the EPS and the mineral surface.

Introduction

Organic/inorganic hybrid composites are materials that comprise nanometer-size mineral particles dispersed in a polymer matrix. Compared to pure matrix, these materials exhibit enhanced properties : an increase of the mechanical and thermal performances, and a barrier effect to gas diffusion[1, 2]. Most of the matrices considered so far are synthetic polymers; preparing such materials is difficult because of the low compatibility between hydrophobic polymers and the hydrophilic mineral. To overcome this difficulty, the cations located in the interlayer space of the clays are exchanged by tensioactive molecules (principally alkyl ammoniums). The inter layer space thus gain a hydrophobic character and become compatible with polymers.

Such hybrid complexes do exist in nature; rhizospheric microorganisms, i.e. living in the vicinity of plant roots, produce exo-polysaccharides (EPS); these EPS possess two key properties: they aggregate mineral particles[3] and they can retain a large amount of water[4]. The benefit for bacteria is obvious as they are protected by organo-mineral aggregates against

both brutal climatic changes and hydric stress[4-10]. There is also a benefit for the soil, as the presence of aggregates is correlated with soil fertility[11]. Polysaccharides have indeed the additional properties of being biocompatible and biodegradable, two supplementary advantages exploited in an emerging class of biomaterials[12-17].

The macroscopic properties reflect the associations occurring at the molecular scale between polysaccharides, mineral particles and water. The surface of montmorillonite for example, bears negative charges; one may intuitively think that the most favorable organic molecules for adsorption onto such mineral are poly-cations. The situation is apparently more complicated as many rhizospheric EPS are shown to interact with minerals[6, 18-24]; they are either neutral or anionic (with one or two charges per repeat unit, generally carboxylic acids). The role of the fine structure of the polysaccharide on its adsorption mechanism onto mineral surfaces remains largely unclear. However, EPS offer a unique opportunity to establish structure-property relationships; their experimental responses to flocculate a colloidal suspension of clays are effectively structure dependant[25, 26] and EPS possess a wide variety of structures: they can be linear or branched. When present, the ionisable group is located either on the backbone or on the side chains (see **figure 1**). To complement the experimental efforts, our objective was thus to reveal, by molecular modeling, the structural factors (if any) of microbial polysaccharides that are responsible for their adsorption on mineral surfaces. Montmorillonite is the chosen mineral; it is widespread on earth, its crystal structure is reported[27] and it is widely studied by molecular modeling (in particular in interactions with organic species)[28-32]. Only the basal surface of montmorillonite was considered in this study as it is statistically the most abundant surface.

Material and Methods.

In this study, we have used the modeling softwares Cerius² and Material studio (accelrys inc.) running on silicon graphics workstations at the Centre d'Expérimentation et de Calcul Intensif, CECIC, Grenoble, France.

Construction of the initial structures.

Mineral surface.

Montmorillonite is a smectite type mineral clay, it is a hydrophilic mineral that consists of a nanometer-thick layers formed by sandwiching an aluminum octahedron sheet between two silicon tetrahedron sheets. The initial unit cell was built from relevant crystallographic coordinates of a pyrophyllite crystal, published by Tsipursky and Drits[27], using the Crystal

considered are indicated in **Table 2**; the two hydroxyl groups involved in glycosidic bonds have been systematically changed to OMe groups.

The oligomers considered in this part correspond to a unique repeat unit of selected EPS synthesized by rhizospheric microbes: dextran, MWAP71, RMDP17, Rhamsan, xanthan, YAS34 and succinoglycan; their primary structures are reported in **Figure 1**. A degree of polymerisation of 6 was chosen for the dextran to obtain a molar mass comparable to the other oligomers (see **Table 4**). Polysaccharides are usually highly polydispersed; dextran for example represents a family of homopolysaccharides that feature a substantial number of consecutive α -(1 \rightarrow 6) linkages in their main chain, usually more than 50% of the total linkages. Dextrans also possess variable amount of side chains constituted by mono and/or oligosaccharides linked to the main chain by (1 \rightarrow 3) and (1 \rightarrow 2) linkages. It is obviously not possible to consider all the possible chemical structures for a given polysaccharide so that each model correspond only an idealized structure; consequently, the dextran modelled in our study is only represented by its dominant structural feature (see Figure 1). In addition, some of the polysaccharides are known to form multiple helices in solution (xanthan for example); only the simple chain was considered in our study.

Chemical groups, monosaccharides and repeat units of EPS were constructed from standard geometries of bond lengths and bond angles, thanks to the sketcher module. The initial conformation of the pyran ring of monosaccharides is 4C_1 for Glc, Man, Gal and Kdo residues, or 1C_4 for Rha and Tal. In the case of oligosaccharides, values of the conformational parameters describing the relative orientation of two consecutive monomers (torsion angles Φ , Ψ and ω) were derived from the conformational analysis of model disaccharides[33 , 34]. Torsion angle values correspond to the lowest energy minimum and/or auxiliary minima of the (Φ , Ψ) potential energy surfaces. Explicit hydrogen atoms were used in all model systems. Each structure was then relaxed to minimize energy and avoid atom overlaps.

Modelling the adsorption.

An organic molecule is then inserted in the simulation box above the mineral surface in a random orientation. Configurational sampling was then performed using a combination of energy minimization and molecular dynamics at elevated temperatures, typically 400 to 600 K. A typical dynamic simulation lasts 500 ps for the shortest ones, up to 2 ns for the longest ones. Once adsorbed, a 20Å slab of amorphous water molecules was added to the system. The resulting hydrated model was first minimized, equilibrated for 10 ps and minimized again

prior to analysis. Calculations have been repeated three times on several test cases, results were consistent.

Computational details.

The Universal force field was used, UFF[35]. This choice resulted from a compromise between good accuracy and availability of the parameters for all atom types present in the molecular models. This force field was successfully used in independent studies of organo-clay species[29, 36, 37: Pospisil, 2004 #54]. Furthermore, preliminary tests reveal that this force field correctly reproduces the particular conformational properties of carbohydrates: puckering of the pyran rings and the exo-anomeric effect. The charge equilibration method was used to calculate charges for each atom[38]. Long-range interactions were treated by the Ewald summation technique[39]. The simple point charge model (SPC) was used for the water molecules.

The minimization uses the conjugate gradient procedure with the convergence criterion of the root-mean-square of the atomic derivatives of $0.05 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-1}$.

Molecular dynamic calculations were based on the canonical NVT ensemble (constant number of particles, volume, and temperature). The equations of motion were solved using the standard Verlet algorithm[40], with a time step of 1 fs. The system is coupled to a bath at the desired temperature using Nose's algorithm[41]. During the production MD simulations, the positions of the mineral surface atoms were fixed, but all remaining system components (counter ion, organic molecule, water) were allowed to move accordingly.

Properties.

Enthalpies of adsorption.

Ten structures (snapshots) were randomly selected and minimized from the molecular dynamic trajectory. The total potential energy of a microstate may be written as:

$$E_{\text{tot}} = E_{\text{clay}} + E_{\text{ligand}} + E_{\text{inter}}$$

where the first three terms represent the energy of the total system, the energy of montmorillonite alone, and the energy of the ligand molecule, and consist of both valence and nonbonded components. The last term is the interaction energies between the clay and the ligand (consisting of nonbonded terms only). The enthalpy of adsorption is taken as the negative of the interaction energies of the 10 selected structures:

$$\Delta H_{\text{ads}} = -\langle E_{\text{inter}} \rangle$$

We were interested by the energy change of the carbohydrate structure when it goes out of the solution to the adsorbed state : ΔE . Dynamic trajectories of the carbohydrate structures were thus performed, in the absence of the mineral surface.

$$\Delta E = E_{\text{ads}} - E_{\text{Free}}$$

where E_{ads} and E_{Free} are the energies of the adsorbed and isolated (in the absence of the mineral surface) conformations, respectively.

Surface area in contact.

The estimation of the molecular surface areas was performed with the Connolly dot algorithm,[42] with a probe radius of 1.4 Å.

Hydrogen bonds.

The method traditionally used to detect a hydrogen bond is geometric: two oxygen atoms are considered hydrogen bonded if the distance between the hydrogen of the donor and the oxygen acceptor is lower than 2.5 Å and if the angle between the oxygen donor, the hydrogen donor and the oxygen acceptor larger than 90°.

Results and discussion.

A hierarchical approach was chosen to reveal the adsorption behavior of polysaccharides onto the basal surface of the clay mineral. Adsorption of chemical groups was examined first, followed by adsorption of monosaccharides. Finally the adsorption of oligosaccharides was considered. Idealized chemical structures of the EPS are given in **Figure 1**; it was experimentally shown that all of them do adsorb on mineral surfaces. Predicted quantities are the energies associated with the binding and also the geometry of the complexes.

During the dynamics trajectory, the total energy decreases when the saccharide adsorbs onto the surface of the clay mineral, suggesting that the whole modeled system reaches a more stable state. Consequently, the positive values of ΔH_{ads} (or the negative values of E_{int}) indicate that the adsorption is a favorable process.

Adsorption of functional groups.

During the dynamics simulation, the chemical groups explore several adsorption sites of similar energy. **Table 1** gives their average interaction energies with the mineral surface. The counter ion has no noticeable effect on the interaction of hydrophobic groups (Methyl and Ethyl) with the clay surface. In contrast, it strongly participates to the interaction with polar groups. Alcohol and carboxyl groups form Hydrogen Bonds with the oxygen atoms of the mineral surface; electrostatic interactions (ionic like) also occur, between the oxygen atoms of the organic molecule and the counter ion.

The interaction of very small molecular fragments of saccharides with the mineral surface can be considered unperturbed by structural effects, the interaction is thus optimal and the estimated values of the enthalpies of adsorption give the orders of magnitude of the energies involved upon adsorption. The interaction of the different functions on the mineral surface is globally weak; the energy of a hydrogen bond O-H...O and a hydrophobic interaction are typically in the range 4 to 5 kcal/mol and 1 to 3 kcal/mol, respectively. Our results are in agreement with these values, suggesting that the force field correctly reproduces the basic interaction energies.

Group	Without counter-ion				With counter-ion			
	E_c	E_{vw}	E_{tot}	S_{int}	E_c	E_{vw}	E_{tot}	S_{int}
CH ₄	0	-6	-6	18	-1	-6	-7	18
CH ₃ OH	-3	-7	-10	22	-28	-3	-31	24
HCHO	-5	-6	-11	16	-21	-4	-25	23
HCOOH	-1	-7	-8	22	-17	-5	-22	23
CH ₃ CH ₃	0	-9	-9	25	-4	-8	-12	25
CH ₃ CH ₂ OH	-2	-11	-13	27	-30	-5	-35	28
CH ₃ CHO	-5	-10	-15	22	-23	-8	-31	28
CH ₃ COOH	-1	-11	-12	30	-20	-8	-28	30
CH ₃ OCH ₃	0	-11	-11	34	-31	-6	-37	32
CH ₃ CHOHCH ₃	-2	-13	-15	30	-29	-8	-37	30
CH ₃ (CO)CH ₃	-2	-13	-15	35	-25	-10	-35	34
CH ₃ (CO)OCH ₃	-2	-14	-16	36	-29	-12	-41	41

Table 1. Energies (kcal/mol) and interacting areas (\AA^2) of several chemical moieties adsorbed onto the mineral surface. E_{tot} : total energy, E_c and E_{vw} are its coulomb and Van der Waals components. Standard deviations on energies ranged between 1 to 3 kcal/mol and those on surfaces ranged between 1 to 5 \AA^2 .

Monosaccharides and oligosaccharides

Monomer	Substituents	S_{tot}	Without counter-ion			With counter-ion		
			E_{int}	S_{int}	ΔE	E_{int}	S_{int}	ΔE
β -D-Glcp	Me1	192	-31	69	4	-99	81	13
β -D-Glcp	Me1, Me3	205	-35	84	2	-107	93	12
β -D-Glcp	Me1, Me4	203	-34	83	7	-104	85	15
β -D-Glcp	Me1, Me3, Me4	222	-39	87	6	-111	102	15
β -D-Glcp	Me1, Me4, Me6	220	-43	93	8	-123	98	19
β -D-Glcp	Me1, Me6	209	-38	83	-3	-113	92	12
α -D-Glcp	Me1, Me6	209	-33	76	6	-120	87	17
β -D-Glcp	Me1, Me4, 6-COCH ₃	253	-43	94	1	-110	104	10
β -D-Glcp	Me1, Me3, 6-COCH ₂ CH ₂ COOH	307	-48	116	13	-146	129	26
β -D-GlcpA	Me1, Me4	208	-34	82	-3	-88	82	6
2deoxy- β -D-GlcpA	Me1, Me4	199	-36	83	-2	-95	93	19
β -D-Glcp	Me1, 4-6pyruvate	239	-35	86	0	-84	84	4
β -D-Galp	Me 1, Me 3	209	-35	79	3	-94	81	7
α -D-Galp	Me 1, Me 4	202	-32	68	-3	-90	77	12
β -D-Galp	Me 1, 4-6pyruvate	235	-31	81	8	-97	90	15
α -D-Manp	Me 1, Me 2, 6COCH ₃	241	-36	82	5	-95	96	17
β -D-Manp	Me 1, 4-6pyruvate	235	-31	81	-1	-92	91	2
α -L-Rhap	Me 1, Me 4	193	-25	58	1	-53	62	3
β -Kdop	Me2	225	-30	72	4	-106	77	14
α -L-6dTalp	Me1, Me3, Me4, 2COCH ₃	242	-24	58	4	-92	74	14

Note: Kdo is the 3-deoxy-D-Manno-oct-2-ulosonic acid.

Table 2. Energetic and geometric characteristics of selected monomers of carbohydrates adsorbed onto the clay mineral surface in the presence or absence of counter-ion. Energy of interaction (E_{int} in kcal/mol); difference in energy between the free state and the adsorbed state (ΔE in kcal/mol). Total solvent exposed surface (S_{tot} in \AA^2), surface in interaction (S_{int} in

Å²). Standard deviations on energies ranged between 2 to 8 kcal/mol and those on surfaces ranged between 1 to 14 Å².

Dynamical behavior of mono- and oligosaccharides differ from that of functional groups. They touched the mineral surface and explored several orientations prior to converging to their preferred adsorption geometry. This suggests that the potential energy surface has many energy minima. The energy decreases gradually with time during the course of the simulation and only the final parts of the trajectories were considered (when the total energy is stabilized to its minimal value), in order to estimate the interaction energies. On average, only 30 to 40% of the total accessible surface of monosaccharides is in direct contact with the mineral surface; this value is remarkably unchanged for the oligomeric fragments.

Monosaccharides.

All the monomers considered in this study are indicated in **Table 2** with the structural and energy details of their adsorption on the mineral surface.

The adsorption enthalpy strongly depends on several factors, including the number of pendant groups, their nature, position and orientation with respect to the pyran ring. **Figure 2** compares the preferred geometry of interaction of two glucoses 1,6 dimethylated (α and β). Inverting the configuration on the anomeric carbon atom changed the adsorption features of the monosaccharide on the mineral surface.

Here again, the counter ion favors the adsorption of the monosaccharides. The average interaction energy was -30 kcal/mol in the absence of counter ions; it reached -106 kcal/mol in their presence. Inspection of the models reveals the strong similarity of the binding of monosaccharides with that of the functional groups: hydrogen bonds and ionic interactions. Hydrophobic interactions seem to play a particular role. Methyl groups were in direct contact with the surface and the monosaccharide-surface interaction was stronger when more O-methoxy groups were present (see Table 2).

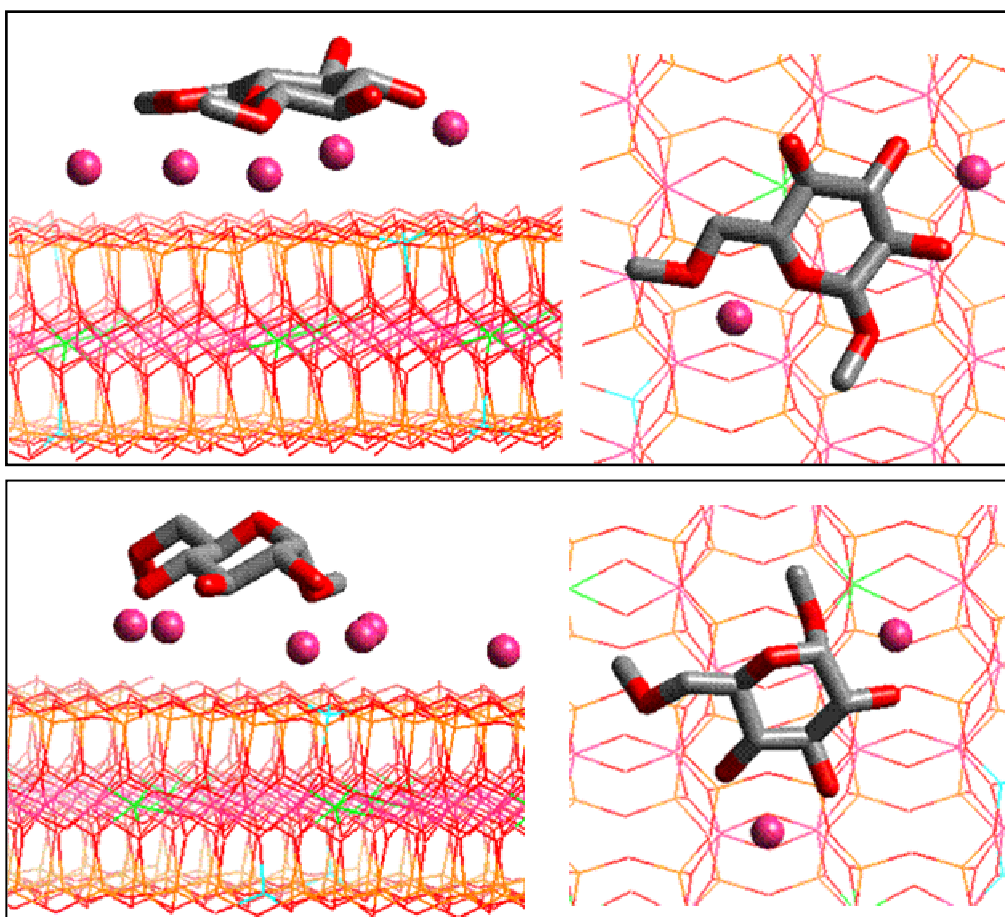


Figure 2. Equilibrium adsorbed geometry of β -glucose (top) and α -glucose (bottom) methylated at positions 1 and 6. Left side views, right front views. Hydrogen atoms are omitted for clarity.

The group contribution method clearly overestimated the interaction energies. For example, group method predicts an energy of interaction of about -200 kcal/mol for a simple di-substituted Glucose molecule. The energies really involved with the adsorption of such molecules are much lower than this expected value, they ranged between -104 kcal/mol and -120 kcal/mol. This is not surprising as the group contribution assumes an optimal interaction whereas, in reality, the adsorption is far from perfect. In addition, structural effects are neglected in the group method; it cannot discriminate between different stereo isomers.

The changes in the conformational energies (ΔE) were minimal for the monosaccharides. They are made of a pyran ring which adopts a dominant chair conformation, except for very rare cases. The chair geometry remained when the monosaccharide is adsorbed, by contrast, side chains showed flexibility.

Oligomers : repeat units of EPS.

Given the results of the previous section, simulations on the oligomeric structures of carbohydrates were systematically performed in the presence of the counter ions. Their energies of interaction with the clay surface are given in **Table 3**, the geometrical aspects of the adsorption are given in Table 4.

	ΔH_{Ads}	E_{adsorb}	E_{Free}	RMSD
dextran	351	725	646	0,0234
KYGT207	240	486	442	0,0304
MWAP71	151	421	394	0,0145
rhamsan	333	686	615	0,0362
RMDP17	316	603	509	0,0465
succinoglycan	564	950	785	0,0245
xanthan	268	592	541	0,0230
YAS34	445	958	841	0,0153

Table 3. Selected characteristics of the repeat units of EPS. ΔH_{Ads} : enthalpy of adsorption of the oligomer on the mineral surface, E_{adsorb} : average energy of the adsorbed conformation, E_{Free} : average energy of the equilibrium conformation in the absence of the surface, RMSD root mean square deviation per atom between the free and the adsorbed conformations. Energies are given in kcal/mol.

	S_{totcompl}	S_{Free}	S_{interact}	Mw
dextran	806	743	345	1018
KYGT207	550	531	239	708
MWAP71	599	595	202	778
rhamsan	796	737	340	1016
RMDP17	802	745	314	1000
succinoglycan	1244	1071	549	1554
xanthan	773	735	304	982
YAS34	942	967	386	1264

Table 4. Geometric characteristics (in \AA^2) of the adsorption of the repeat units of EPS. S_{totcompl} : solvent accessible surface of the adsorbed conformation, S_{Free} solvent accessible surface of the free conformation, S_{interact} area in interaction. Molecular masses of the different fragments of EPS are also indicated (Mw).

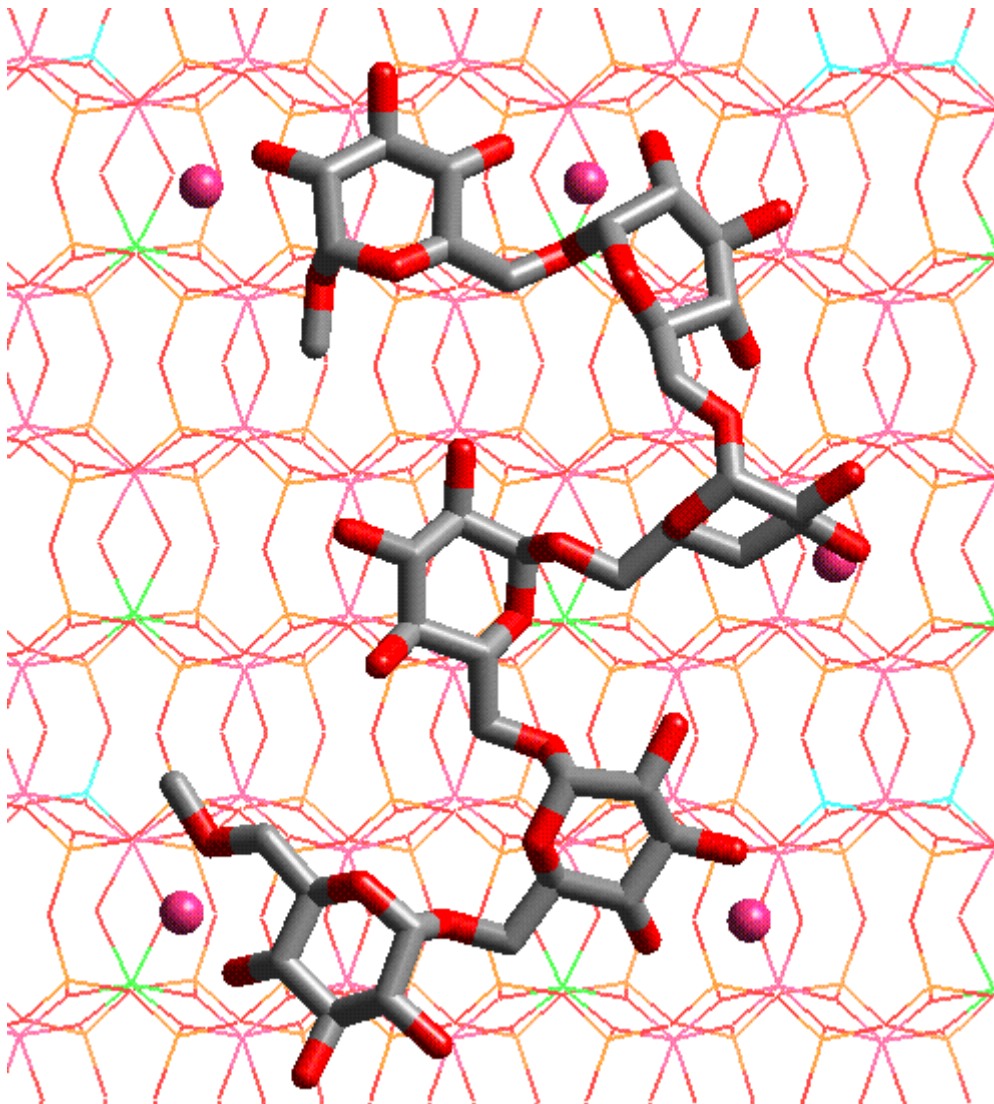


Figure 3. Equilibrium adsorbed geometry of the dextran fragment. Hydrogen atoms and water molecules are omitted for clarity.

Inspecting the molecular models shows that the monomers in the adsorbed conformational state do not systematically adopt the unperturbed orientation revealed in the preceding section. To illustrate this, **Figure 3** gives the adsorbed fragment of dextran ; among its six α -Glc residues ; four of them adsorb in an identical geometry already observed in the study of free monosaccharides ; by contrast, the remaining two α -Glc behave differently. Chemical

connectivity induces geometrical constraints that limit the number of accessible orientations of the constituent monosaccharides with respect to the mineral surface. However, the potential energy surface contains a huge amount of energy minima; monomer units that are part of a polymer simply explore secondary potential wells.

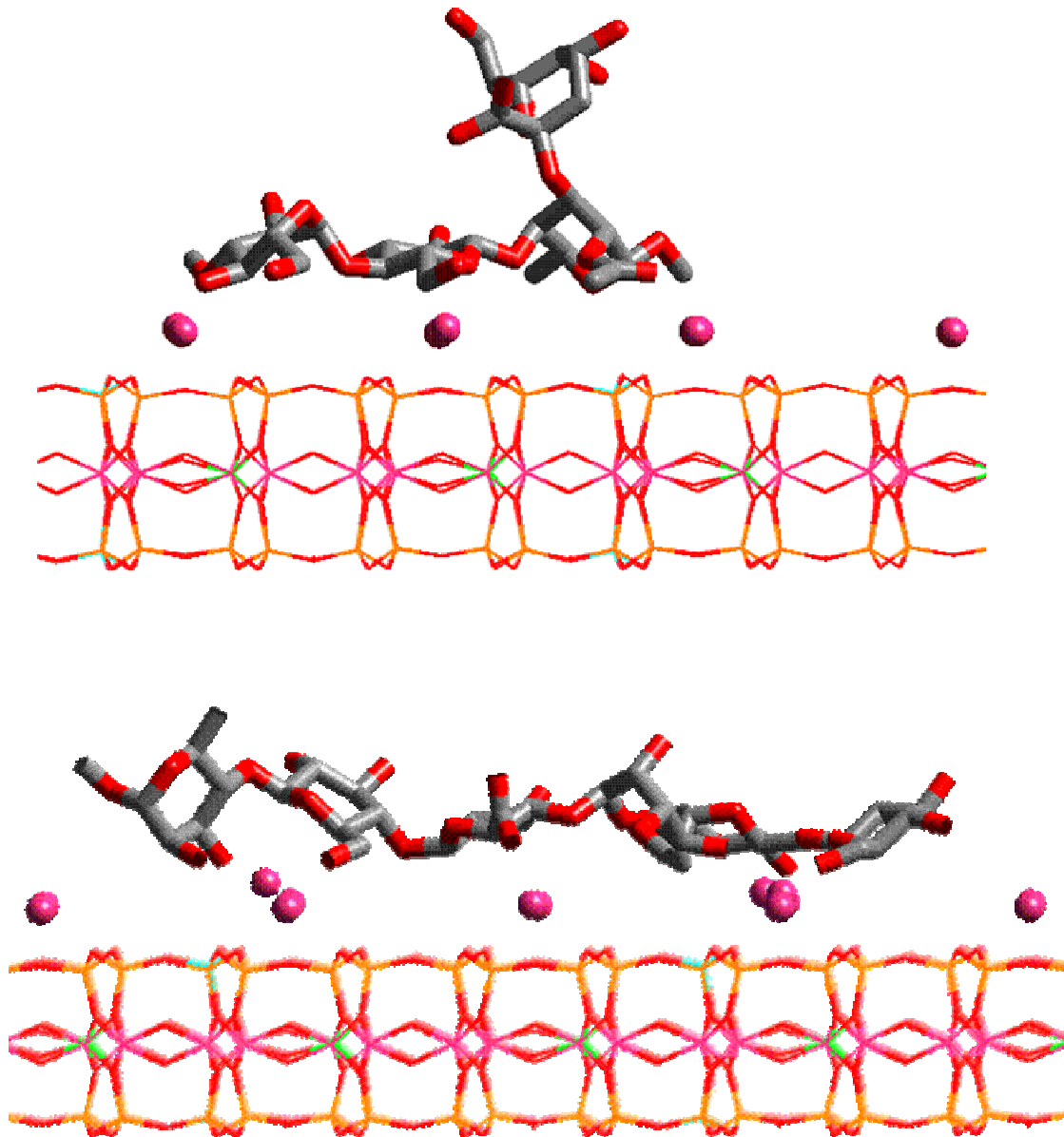


Figure 4. Equilibrium adsorbed geometry of the MWAP71 (top) and the RMDP17 (bottom).
Hydrogen atoms and water molecules are omitted for clarity.

The presence of the surface systematically induced an increase of the internal energy of the EPS fragments. The conformation was thus less stable when adsorbed than when isolated; the difference reaches 20% in the case of RMDP17 and succinoglycan. The presence of the surface also induced an increase of the total accessible surface of the organic molecule. The

oligosaccharides unfolded and thus maximized the contact area with the mineral surface. Figures 3 and 4 show the repeat units of MWAP71 and RMDP17 adsorbed on the surface. The RMDP17 oligosaccharide flattened on the surface, all the monomer units were in direct contact with the surface (**Figure 4**). On the other hand the pendent monomer Kdo (which bears the carboxylic group) of MWAP71 was not in contact with the clay. RMSD compares coordinates of the conformation when adsorbed with the free conformation; it indicates the extent of modification of the shape of the sugar with adsorption. RMSD strongly vary from one EPS to the other; it reached 17% for succinoglycan and it was minimal for the MWAP71 and YAS34.

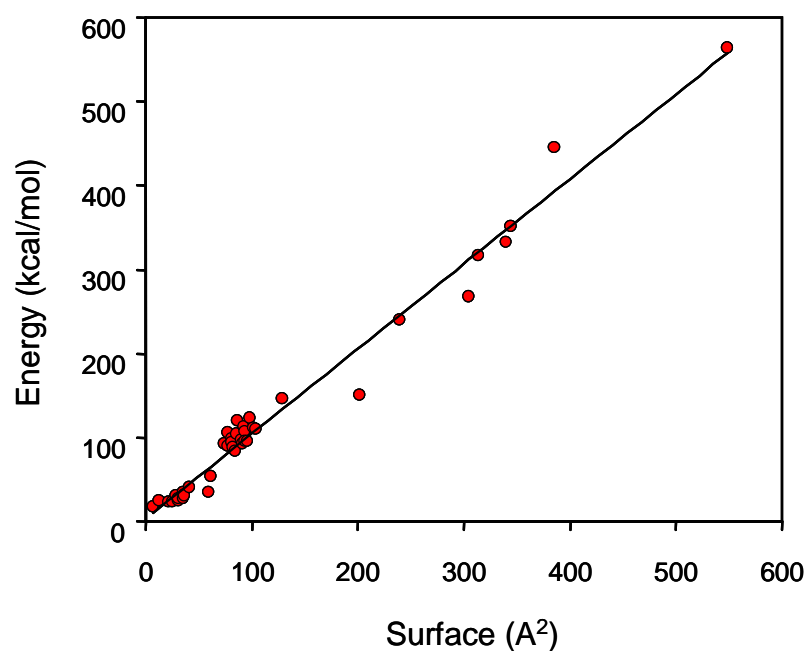


Figure 5. Energy of adsorption as a function of the interacting area.

Figure 5 gives the correlation between the estimated enthalpies of adsorption and the effective interacting area. The linear relationship suggests that the real area in interaction is the critical factor on which depends the adsorption of the tested EPS. Structural factors play a role in the deviation with respect to the master line.

All these results strongly suggest that the oligosaccharide have one (or several) unperturbed solution conformation and another conformation when it is adsorbed on a surface. In contrast with the rigid monosaccharides, the glycosidic bonds linking the monomers together provide conformational freedom in an oligomeric structure. Such flexibility allows the oligomer to

change its shape upon interaction with the mineral surface. In other words, the more flexible the structure, the stronger the interaction. It is thus obvious that the deformation ability (to optimize the interaction) of linear polymers is larger than that of branched polymers for which the side chains induce a steric hindrance that restrict the flexibility of the whole molecule. Accordingly, the fragment of MWAP71 (**Figure 4**) is rigid; its conformational adaptation is restricted to 3 glycosidic bonds and the Kdo pendant group is not in interaction with the surface. In contrast the large flexibility of RMDP17 (5 glycosidic bonds) allows all its monomer units being in contact with the surface.

Comparison with the experiments.

The accuracy of the models could be assessed by comparing the predicted data to the experimental data. Our results revealed the strong participation of the counter ion in the stability of the complex. They considerably increased the interaction energy between the EPS segment and the mineral surface. The crucial role of electrostatic (ionic) interactions through counter ions is also revealed by many experiments[22, 43-45]. Complexes were also stabilized by hydrogen bonds and hydrophobic interactions. Experimental data show that adsorption of ethyl(hydroxyethyl)cellulose on talc is destabilized by urea, which is an hydrogen bond breaker[12]. Finally, the importance of the hydrophobic interactions is counter intuitive; it is however consistent with NMR results which indicate that aliphatic chains are in direct contact with montmorillonite[46]. Our models also showed that the oligosaccharides undergo conformational changes between the solution states and the adsorbed state. Quartz crystal microbalance with dissipation monitoring (QCM-D) experiments reveal that the adsorbed conformation of dextran on alumina differs from that in solution[47].

Experiments are also performed to establish the structure-property relationships. The ability of several EPS to flocculate a colloidal suspension of clay particles is compared[26]. Experiments measure the average size of the flocs which indirectly reflects the efficiency of the EPS to bridge different mineral particles. Such measurements thus give an indication of the affinity of the EPS with the mineral surface. An interaction efficiency coefficient (IEC) was defined in order to allow the comparison between the experimental and modeling approaches. The IEC corresponded to the enthalpy of adsorption, normalized by the effective interaction area. Experimental floc size in the presence of succinoglycan (335 μm) is much larger than that of xanthan (158 μm); even though the molar mass of the xanthan sample is twice the mass of succinoglycan. In qualitative agreement with the experiments, IEC of succinoglycan (1027 $\text{cal/mol}\text{\AA}^2$) was estimated larger than that of xanthan (882 $\text{cal/mol}\text{\AA}^2$).

The molecular masses of dextran and YAS34 are identical ($2 \cdot 10^6 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), their floc sizes are 140 and 213 μm , respectively. YAS34 is thus much more efficient than dextran with respect to flocculation ability. Estimated IEC reproduced the experimental tendency: they were estimated at 1017 and 1152 $\text{cal}/\text{mol}\text{\AA}^2$ for dextran and YAS34, respectively.

Quantitative comparison between experimental data and the present modeling results is not possible because of both experimental difficulties and assumptions in modeling. Molar masses of the different polysaccharides studied experimentally differ by almost a factor of 20; it is well recognized that such characteristics strongly impact on polymer adsorption on surfaces. In addition, modeling is performed on idealized chemical structures of the EPS and the analysis of the results was based only on the enthalpies of adsorption. The free energy of adsorption would be the choice parameter but the entropic contribution is hardly accessible. The entropy depends on two major contributions: de-solvation of the surfaces, which is a favorable process, and the conformational restrictions of the polymer upon adsorption; which gives non-favorable entropy.

Conclusion.

Atomic level molecular simulations were applied to investigate the interaction features of model molecules mimicking bacterial exopolysaccharides (in their neutral forms) with the basal surface of Na-montmorillonite surface. The study has been performed using Cerius2 and material studio modeling programs.

It was found that hydrogen bonds, electrostatic and hydrophobic interactions are present in the model systems and provide a significant effect on the adsorption strength of EPS fragments on the mineral surface. The adsorption of monosaccharides was dependant on the nature of the monomer and its side chains. The six-membered ring stayed in its preferred geometry when adsorbed. In contrast, oligosaccharides changed their shape upon adsorption. It was found that the enthalpies of adsorption linearly increase with increasing the interacting surface area, suggesting that the key factor determining the adsorption is the ability of the EPS to unfold in order to maximize its surface in contact. The most flexible structures were the most favorable candidates for adsorption. The present modelling was able to predict a complex physical adsorption phenomenon in agreement with the experimental results.

References

[1] S. S. Ray, M. Okamoto. Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. *Progress in Polymer Science*. **28**,1539 (2003).

- [2] M. Alexandre, P. Dubois. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. *Materials Science & Engineering, R: Reports*. **R28**,1 (2000).
- [3] J. M. Dorioz, M. Robert, C. Chenu. The role of roots, fungi and bacteria on clay particle organization. An experimental approach. *Geoderma*. **56**,179 (1993).
- [4] C. Chenu. Clay- or sand-polysaccharide associations as models for the interface between microorganisms and soil: water related properties and microstructure. *Geoderma*. **56**,143 (1993).
- [5] E. B. Roberson, M. K. Firestone. Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in a soil *Pseudomonas* sp. *Applied and Environmental Microbiology*. **58**,1284 (1992).
- [6] Y. Alami, W. Achouak, C. Marol, T. Heulin. Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp. strain isolated from sunflower roots. *Applied and Environmental Microbiology*. **66**,3393 (2000).
- [7] M. Ashraf, S. Hasnain, O. Berge, T. Mahmood. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*. **40**,157 (2004).
- [8] P. G. Hartel, M. Alexander. Role of extracellular polysaccharide production and clays in the desiccation tolerance of cowpea bradyrhizobia. *Soil Science Society of America Journal*. **50**,1193 (1986).
- [9] C. Chenu, Y. Le Bissonnais, D. Arrouays. Organic matter influence on clay wettability and soil aggregate stability. *Soil Science Society of America Journal*. **64**,1479 (2000).
- [10] D. Cosentino, C. Chenu, Y. Le Bissonnais. Aggregate stability and microbial community dynamics under drying-wetting cycles in a silt loam soil. *Soil Biology & Biochemistry*. **38**,2053 (2006).
- [11] C. Chenu, J. Guerif, A. M. Jaunet. Polymer bridging: A mechanism of clay and soil structure stabilization by polysaccharides. *Transactions, World Congress of Soil Science, 15th, Acapulco, Mexico, July 10-16, 1994*. **3a**,403 (1994).
- [12] S. Simon, D. Le Cerf, L. Picton, G. Muller. Adsorption of cellulose derivatives onto montmorillonite: a SEC-MALLS study of molar masses influence. *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **203**,77 (2002).
- [13] H.-M. Park, M. Misra, L. T. Drzal, A. K. Mohanty. "Green" Nanocomposites from Cellulose Acetate Bioplastic and Clay: Effect of Eco-Friendly Triethyl Citrate Plasticizer. *Biomacromolecules*. **5**,2281 (2004).

- [14] H.-M. Park, A. K. Mohanty, L. T. Drzal, E. Lee, D. F. Mielewski, M. Misra. Effect of Sequential Mixing and Compounding Conditions on Cellulose Acetate/Layered Silicate Nanocomposites. *Journal of Polymers and the Environment*. **14**,27 (2006).
- [15] S. F. Wang, L. Shen, Y. J. Tong, L. Chen, I. Y. Phang, P. Q. Lim, T. X. Liu. Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites: Preparation and characterization. *Polymer Degradation and Stability*. **90**,123 (2005).
- [16] M. Darder, M. Colilla, E. Ruiz-Hitzky. Biopolymer-Clay Nanocomposites Based on Chitosan Intercalated in Montmorillonite. *Chemistry of Materials*. **15**,3774 (2003).
- [17] M. Darder, M. Colilla, E. Ruiz-Hitzky. Chitosan-clay nanocomposites: application as electrochemical sensors. *Applied Clay Science*. **28**,199 (2005).
- [18] J. Labille, F. Thomas, I. Bihannic, C. Santaella. Destabilization of montmorillonite suspensions by Ca²⁺ and succinoglycan. *Clay Minerals*. **38**,173 (2003).
- [19] N. Amellal, G. Burtin, F. Bartoli, T. Heulin. Colonization of wheat roots by an exopolysaccharide-producing *Pantoea* agglomerans strain and its effect on rhizosphere soil aggregation. *Applied and Environmental Microbiology*. **64**,3740 (1998).
- [20] C. Chenu, J. Guerif. Mechanical strength of clay minerals as influenced by an adsorbed polysaccharide. *Soil Science Society of America Journal*. **55**,1076 (1991).
- [21] C. Chenu. Influence of a fungal polysaccharide, scleroglucan, on clay microstructures. *Soil Biology & Biochemistry*. **21**,299 (1989).
- [22] K. M. Dontsova, J. M. Bigham. Anionic polysaccharide sorption by clay minerals. *Soil Science Society of America Journal*. **69**,1026 (2005).
- [23] M. He, Y. Horikawa. Partial deflocculation of mutual flocs of allophane and halloysite by xanthan and chitosan and relevance to particle arrangement in the flocs. *Soil Science and Plant Nutrition (Tokyo)*. **46**,81 (2000).
- [24] S. M. Rao, A. Sridharan, M. R. Shenoy. Influence of starch polysaccharide on the remolded properties of two Indian clay samples. *Canadian Geotechnical Journal*. **30**,550 (1993).
- [25] A. Olness, C. E. Clapp. Occurrence of collapsed and expanded crystals in montmorillonite-dextran complexes. *Clays and Clay Minerals, Proceedings of the Conference*. **21**,289 (1973).
- [26] J. Labille, F. Thomas, M. Milas, C. Vanhaverbeke. Flocculation of colloidal clay by bacterial polysaccharides: effect of macromolecule charge and structure. *Journal of Colloid and Interface Science*. **284**,149 (2005).

- [27] S. I. Tsipursky, V. A. Drits. The distribution of octahedral cations in the 2:1 layers of dioctahedral smectites studied by oblique-texture electron diffraction. *Clay Minerals*. **19**,177 (1984).
- [28] P. Capkova, M. Pospisil, M. Valaskova, D. Merinska, M. Trchova, Z. Sedlakova, Z. Weiss, J. Simonik. Structure of montmorillonite cointercalated with stearic acid and octadecylamine: Modeling, diffraction, IR spectroscopy. *Journal of Colloid and Interface Science*. **300**,264 (2006).
- [29] A. Gaudel-Siri, P. Brocorens, D. Siri, F. Gardebien, J.-L. Bredas, R. Lazzaroni. Molecular Dynamics Study of ϵ -Caprolactone Intercalated in Wyoming Sodium Montmorillonite. *Langmuir*. **19**,8287 (2003).
- [30] P. Capkova, P. Maly, M. Pospisil, Z. Klika, H. Weissmannova, Z. Weiss. Effect of surface and interlayer structure on the fluorescence of rhodamine B-montmorillonite: modeling and experiment. *Journal of Colloid and Interface Science*. **277**,128 (2004).
- [31] M. Fermeglia, M. Ferrone, S. Pricl. Computer simulation of nylon-6/organoclay nanocomposites: prediction of the binding energy. *Fluid Phase Equilibria*. **212**,315 (2003).
- [32] P. Capkova, J. V. Burda, Z. Weiss, H. Schenk. Modeling of aniline-vermiculite and tetramethylammonium-vermiculite; test of force fields. *Journal of Molecular Modeling*. **5**,8 (1999).
- [33] S. Perez, M. Kouwijzer, K. Mazeau, S. B. Engelsen. Modeling polysaccharides: present status and challenges. *Journal of Molecular Graphics*. **14**,307 (1996).
- [34] C. Vanhaverbeke, A. Heyraud, K. Mazeau. Conformational analysis of the exopolysaccharide from *Burkholderia caribensis* strain MWAP71: Impact on the interaction with soils. *Biopolymers*. **69**,480 (2003).
- [35] A. K. Rappe, C. J. Casewit, K. S. Colwell, W. A. Goddard, III, W. M. Skiff. UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. *Journal of the American Chemical Society*. **114**,10024 (1992).
- [36] R. Toth, A. Coslanich, M. Ferrone, M. Fermeglia, S. Pricl, S. Miertus, E. Chiellini. Computer simulation of polypropylene/organoclay nanocomposites: characterization of atomic scale structure and prediction of binding energy. *Polymer*. **45**,8075 (2004).
- [37] F. Gardebien, J.-L. Bredas, R. Lazzaroni. Molecular dynamics simulations of nanocomposites based on poly(ϵ -caprolactone) grafted on montmorillonite clay. *Journal of Physical Chemistry B*. **109**,12287 (2005).
- [38] A. K. Rappe, W. A. Goddard, III. Charge equilibration for molecular dynamics simulations. *Journal of Physical Chemistry*. **95**,3358 (1991).

- [39] H. Q. Ding, N. Karasawa, W. A. Goddard, III. Atomic level simulations on a million particles: the cell-multipole method for Coulomb and London nonbond interactions. *Journal of Chemical Physics*. **97**,4309 (1992).
- [40] L. Verlet. Computer "experiments" on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules. *Physical Review*. **159**,98 (1967).
- [41] D. J. Evans, B. L. Holian. The Nose-Hoover thermostat. *Journal of Chemical Physics*. **83**,4069 (1985).
- [42] M. L. Connolly. Computation of molecular volume. *Journal of the American Chemical Society*. **107**,1118 (1985).
- [43] L. G. Fuller, T. B. Goh, D. W. Oscarson, C. G. Biliaderis. Flocculation and coagulation of Ca- and Mg-saturated montmorillonite in the presence of a neutral polysaccharide. *Clays and Clay Minerals*. **43**,533 (1995).
- [44] Y. M. Kanaani, A. Adin, C. Rav-Acha. Biofilm interactions in water reuse systems: adsorption of polysaccharide to kaolin. *Water Science and Technology*. **26**,673 (1992).
- [45] B. Gu, H. E. Doner. The interaction of polysaccharides with Silver Hill illite. *Clays and Clay Minerals*. **40**,151 (1992).
- [46] A. J. Simpson, M. J. Simpson, W. L. Kingery, B. A. Lefebvre, A. Moser, A. J. Williams, M. Kvasha, B. P. Kelleher. The application of ¹H high-resolution magic-angle spinning NMR for the study of clay-organic associations in natural and synthetic complexes. *Langmuir*. **22**,4498 (2006).
- [47] K. D. Kwon, H. Green, P. Bjoernoern, J. D. Kubicki. Model Bacterial Extracellular Polysaccharide Adsorption onto Silica and Alumina: Quartz Crystal Microbalance with Dissipation Monitoring of Dextran Adsorption. *Environmental Science & Technology*. **40**,7739 (2006).

ANNEXE B : PUBLICATION 2

**Molecular modelling studies of clay-exopolysaccharide complexes:
soil aggregation and water retention phenomena.**

Lina J. Henao, Karim Mazeau

Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV-CNRS),
BP53, 38041

Soumise dans le journal « Material Science and Engineering, C ».

Molecular modelling studies of clay-exopolysaccharide complexes: soil aggregation and water retention phenomena.

Lina J. Henao, Karim Mazeau*

Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV-CNRS), BP53, 38041 Grenoble cedex 9, France. Affiliated with Université Joseph Fourier, and member of the Institut de Chimie Moléculaire de Grenoble

* corresponding author, email : karim.mazeau@cermav.cnrs.fr

Abstract.

In soils, the bacterial exo-polysaccharides aggregate mineral particles, enhancing their cohesion and their ability to retain water. Those phenomena have been studied at the atomic scale by molecular modelling: we have considered seven models of rhizospheric polysaccharides interacting with the basal surfaces of montmorillonite. Models accounted for the aggregation phenomena induced by EPS: some segments of the polysaccharide were adsorbed on the mineral surfaces while the others formed loops and bridges linking two surfaces. Adsorption energies were favourable and depended mostly on the interacting area. Cohesion of aggregates was estimated by the adhesion work, predicted values differed from one EPS to the other, suggesting that the chemical structure does influence the interaction strength with the mineral surface. Mechanisms of water uptake and release have also been investigated. Hydration energies revealed that EPS strongly retain water at low water content.

Introduction.

Exo-polysaccharides synthesized and expelled by rhizospheric microorganisms forms spontaneously hybrid materials with mineral particles, such hybrids provide a major environmental benefit¹. The EPS modify the physical properties of soil ; they contribute to improve the fertility of soil, by promoting the formation of aggregates of mineral particles² ; they also limit the erosion of soil, by enhancing the cohesion of the aggregates³⁻⁶, polysaccharides indeed thwart the physical disruption of the soil particles due to fast wetting or by the impact of raindrops. Besides, water is an important constituent of soil, its availability whatever the climatic conditions directly impact on plant development. EPS are hydrocolloids, their capacity to retain water decreases the irrigation needs of soil⁷.

These hybrids have been studied under different forms, in the solid state and in water solution. Natural (rhizospheric soils) or mimetic (based on polysaccharides) complexes are directly visualised with electron microscopy⁸⁻¹³. The aggregation mechanism of mineral particles is explained by the adsorption of EPS onto the mineral surfaces, creating attachment points, and by the formation of bridges connecting different mineral particles altogether⁵. The association mechanism is studied thanks to the tools and concepts of physical chemistry. Polysaccharides have the ability to flocculate clays in water solution, the size of the flocs (and the flocculation rate) has been shown to be sensitive to many factors, including the mass and concentration in polysaccharide, the pH, the ionic strength, the counter ion¹⁴⁻¹⁵⁻¹⁷ and finally the chemical structure of the polysaccharide^{18, 19}. In the context of structure property relationship, the flocculation property of anionic branched polysaccharides is enhanced on the one hand if the polysaccharide is moderately branched, steric hindrance combined with possible electrostatic repulsion impact on the flexibility of the polysaccharide and, thus, on its conformational adaptability, and on the other hand if the ionic groups are located at the end of the branches, in that case, they are supposed to be exposed to the surrounding medium and thus they are available to interact with the surface of montmorillonite. Such experiences, combined with measurements from NMR²⁰, FTIR²¹⁻²³, Quartz microbalance²⁴ and AFM^{21, 22} allows the understanding of the general mechanisms that governs the interaction of organic moieties with mineral particles. Adsorption of EPS onto montmorillonite involve hydrophobic and electrostatic interactions, the latter by forming hydrogen bonds, either direct with the oxygen atoms of the mineral surfaces, either indirect through water molecules. Hydroxyls of EPS also interact with cations located close to the surfaces, which contributes to the adsorption. Besides, EPS induce both a global increase of water retention and a decrease of the desiccation and re-hydration rates³⁻⁶. These properties with respect to water are explained by the combination of two phenomena: (a) intrinsic water holding properties of the constituents: EPS on the one hand as they can hold water several times their mass³ and the mineral surfaces on the other hand, they also retain water and (b) the modification of the organisation of the mineral particles due to EPS⁶.

In spite of this accumulation of knowledge on these complexes, the understanding at the atomic scale of the interactions occurring in these hybrid materials is still fragmentary and incomplete. Among the alternative investigation techniques, molecular modelling holds a great potential in studying the assembly of the different components of soil aggregates as it can provide valuable information that are difficult or impossible to obtain with other methods. Curiously, to date, very few computational studies have concerned polysaccharides interacting with mineral surfaces^{21, 22, 25, 26, 24}. In our previous study²⁶, we have examined the adsorption process onto soda montmorillonite of the chemical functions characteristics of

EPS, of monosaccharides and of the repeat units of the EPS studied experimentally by Labille and thomas¹⁹. These model systems allow to lay the foundations of the geometric and energetic characteristics of the associative interactions between EPS and the basal surface of montmorillonite. However, the size (a single repeat unit) of the organic molecules considered is too short to correctly account for the key structural details of the EPS. Actually, all the repeat units of EPS are linear but YAS35, which is a 3 branches star like. Considering the structural complexity of the polysaccharides and that of the hybrid systems, complementary computations are required. The objective of the present study was to extend our previous work by considering solid systems based on oligomers of polysaccharides. Models of EPS presented here were constituted by at least hundred of monosaccharide, against height in the previous study (see table 1). The proposed models were more realistic with respect to the mineral surface covered by polysaccharide and the bridging of different particles. The models allowed studying structural effects of EPS: the nature of the backbone, the density of the branches, their lengths etc... Besides, the proposed models were suitable to study the interaction of the hybrid system with water. This study was restricted to the neutral form of polysaccharides: when present the acid functions were thus protonated. The only mineral considered here was montmorillonite, it is by far the most abundant mineral on earth and is technologically particularly important. Moreover, only the basal surface was modelled as it is the dominating surface.

2. Materials and Methods

All the calculations were performed using the *Cerius²* and Material Studio molecular modeling packages²⁷, running on Silicon Graphics workstations at the CECIC (Centre d'Expérimentation et de Calcul Intensif), Grenoble, France.

2.1. The constituents

Clay.

Montmorillonite is a smectite clay, it is a hydrophilic mineral that consists of a nanometer-thick layers formed by sandwiching and aluminum octahedron sheet between two silicon tetrahedron sheets. A model of the crystal structure of pyrophyllite was built from coordinates published by Tsipursky and Drits²⁸. The experimental lattice is monoclinic, its space group is C2/m, and the cell parameters $a=5.28 \text{ \AA}$, $b=9.14 \text{ \AA}$, $c=6.00 \text{ \AA}$, and $\alpha=90^\circ$, $\beta=99^\circ$, $\gamma=90^\circ$. The unit cell is duplicated along the a and b axes ($8a \times 4b \times 1c$) and a P1 super cell is redefined. Cell parameters of the resulting model were 41.6 \AA and 36.8 \AA . Substitution of some Al^{3+} by

Mg^{2+} in the octahedral layer and substitution of some Si^{4+} atoms by Al^{3+} in the tetrahedral layer were performed in order to obtain the desired chemical composition of the Wyoming Na-montmorillonite : $Na_{0.75}(Si_{7.75}Al_{0.25})(Al_{3.5}Mg_{0.5})O_{20}(OH)_4$. This structure has a cation exchange capacity (CEC) of 1.01meq/g; the CEC is defined as the amount of the exchangeable cations retained by the clay to neutralize the negative charge (milliequivalent of positive charge per gram of clay). Periodic boundary conditions are applied in all the three dimensions. The clay mineral was minimized, equilibrated by molecular dynamics (NPT at 300 K and 1 atm.) and optimized again.

EPS	Nr	dP	Mw(u)	Mw(c)
Dextran	1	132	180	21402
YAS34	7	18	1236	21942
Rhamsan	6	22	988	21358
RMDP17	6	22	972	21006
Succinoglycan	8	14	1526	21130
Xanthan	5	23	954	21546
MWAP71	4	30	750	21978

Table 1. Characteristics of the EPS studied. Nr: number of monosaccharides in the repeating unit, dP: degree of polymerisation; Mw(u): molecular weight of the repeating unit; Mw(c): molecular weight of the oligomer.

Exopolysaccharides.

Seven EPS were considered for this study: RMDP17, MWAP71, rhamsan, dextran, xanthan, succinoglycan and YAS34. Their chemical structures can be found in the Figure 1 of²⁶. Models of the repeating units were built in our previous publication²⁶; they were linked together in extended stereoregular helical conformations. The degrees of polymerisation of the different EPS were chosen in order to obtain models having approximately identical molar masses (see Table 1), to facilitate the comparison between the EPS.

Water.

We used the explicit 3 point charges water model.

2.2. Generation of the Clay-EPS models at different hydration contents.

The c parameter of the periodic cell (perpendicular to the clay surface) was manually adjusted according to the length of the polymer chain (in order to avoid atom overlaps). Typical values are in the order of 400 Å. Then the polysaccharide was inserted into the model of clay. Three different initial orientations of the EPS chain with respect to the clay surface were considered: perpendicular, slightly inclined and tilted. The three orientations were used in order to evaluate the reproducibility of the results. The Clay-EPS complexes were then subjected to several consecutive cycles of ‘compression’ and ‘equilibration’ as described in Figure 1.

A compression step consisted of a simple minimization during which it was applied an external pressure along the z axis (Pzz). The pressure was used in order to gently decrease the inter-particle distance (the c parameter of the clay model). An equilibration step consisted of NVT molecular dynamics at elevated temperature (typically between 600 to 900 K) without external pressure applied, followed by a minimization. The cell parameters were kept constant in this step. The equilibration was used in order to relax the EPS into the clay model.

During the first cycles, very small pressures were used in the compression step (null at the very beginning (because the extended EPS spontaneously got coiled during MD and minimization), then in the order of 0.333 GPa. The duration of dynamics from 20 ps to 40 ps was efficient to relax the system. However, during the last cycles, both the Pzz and the duration of the molecular dynamics were increased, until 1 GPa and 80 ps, respectively.

Some structures were selected and hydrated in order to obtain clay-EPS-water complexes. The empty space of each simulated cell was fulfilled by explicit water molecules, each in a random orientation. A first minimization in which the coordinates of the EPS and clay atoms were fixed was performed, followed by a short NVT molecular dynamics at high temperature (600 K). Then, another minimization and molecular dynamics at 300 K were performed, allowing EPS and water molecules to move. A final minimization was performed to obtain the final models used for analysis.

2.2. Computational details

The Universal force field (UFF) was used throughout this study²⁹. This choice resulted from a compromise between good accuracy and availability of the parameters for all atom types present in the molecular models. Furthermore, this force field was successfully used in independent studies of organo-clay species³⁰⁻³³ and our preliminary tests revealed that it correctly reproduced the particular conformational properties of carbohydrates: the puckering of the pyran rings and the exo-anomeric effect²⁶.

The partial charges on the atoms were estimated using the charge equilibration method³⁴. The long-range interactions were treated by the Ewald summation method³⁵. The minimization

uses the conjugate gradient procedure with the convergence criterion of the root-mean-square of the atomic derivatives of $0.05 \text{ kcal.mol}^{-1}.\text{\AA}^{-1}$.

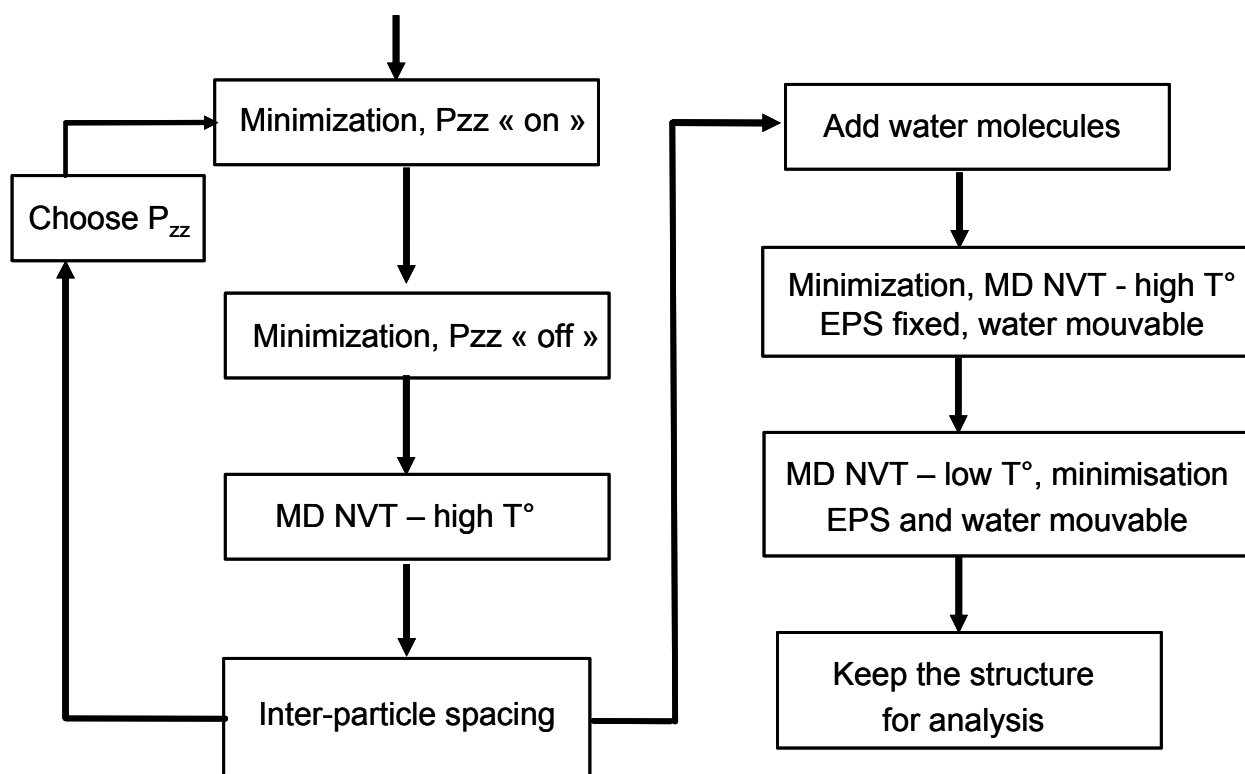


Figure 1. Description of the procedure of modelling.

Molecular dynamic calculations were based on the canonical NVT ensemble (constant number of particles, volume, and temperature). The equations of motion were solved using the standard Verlet algorithm³⁶, with a time step of 1 fs. The system is coupled to a bath at the desired temperature using Nose's algorithm³⁷. During MD simulations, the positions of the mineral surface atoms were kept fixed, but all remaining system components (counter ion, polysaccharide, water) were allowed to move. These restraints on the clay atomic positions are commonly used to achieve reasonable computational efforts^{38, 39}. Such restrictions are pertinent since the mineral sheets are expected to be fully rigid.

2.4. Properties.

Density profiles.

The distributions of the densities of the different components (clay, ions, EPS and water molecules) in the direction normal to the mineral surfaces (c axis) have been calculated by considering layers of 0.5 \AA thick.

Energetics.

The interaction energy between the EPS and the mineral surface, $E_{\text{inter}}(\text{clay/EPS})$, corresponds to the difference between the energy of the clay-EPS system free of water ($E_{(\text{clay/EPS})}$) and that of the separated components : (E_{clay} and E_{EPS}), it is estimated according to :

$$E_{\text{inter}}(\text{clay/EPS}) = E_{\text{clay}} + E_{\text{EPS}} - E_{(\text{clay/EPS})}$$

To calculate each term, the clay/EPS system was first created by suppressing the water molecules from the original model, and its potential energy calculated. Next, the montmorillonite platelet and Na cations were deleted, leaving the EPS alone ; its energy gave E_{EPS} . Similarly, the EPS molecule was deleted from the clay/EPS system and gave E_{clay} . The binding energy was taken as the negative of the interaction energy.

$$E_{\text{bind}}(\text{clay/EPS}) = - E_{\text{inter}}(\text{clay/EPS})$$

The adhesion work of the EPS on montmorillonite corresponds to the binding energy divided by two times the total interacting surface, considering that there are two interfaces.

$$W_{\text{clay/EPS}} = E_{\text{bind}}(\text{clay/EPS}) / (2 \times \text{surface})$$

The estimation of molecular surface areas and volume was performed by using Connolly algorithm⁴⁰, with a spherical probe of 1.4 Å.

The hydration energy E_{H2O} is estimated according to :

$$E_{H2O} = E_{\text{inter}}(\text{clay-EPS/water}) / V_{\text{water}}$$

Where V_{water} is the volume of water and $E_{\text{inter}}(\text{clay-EPS/water})$ is the interaction energy of the clay-EPS system with water, it is computed as follows:

$$E_{\text{inter}}(\text{clay-EPS/water}) = E_{\text{clay-EPS}} + E_{\text{water}} - E_{\text{clay/EPS/water}}$$

3. Results and discussion.

An original procedure was developed to generate a collection of models of hybrid materials made of EPS and soda montmorillonite. All the systems behaved identically during the

procedure; Figure 2 gives the evolution of the total energy of the MWAP71 system, taken as a representative example, as a function of the distance between the two particles. The three initial orientations of the EPS gave reproducing results; no distinction will thus be made between the three orientations in the remaining part of the study. At the beginning of the procedure, which corresponds to the largest inter particles distances, the energy was nearly constant, suggesting that the EPS and the mineral did not interact each other (or interacted only weakly). However, below a critical distance, the energy strongly decreased with the decrease of the distance between the two mineral surfaces. This indicated that the interaction was favourable and that the most compact structures were the most stable ones. Finally, any increase of the energy appeared at small distances suggesting that the procedure was stopped before unfavourable steric conflicts appeared.

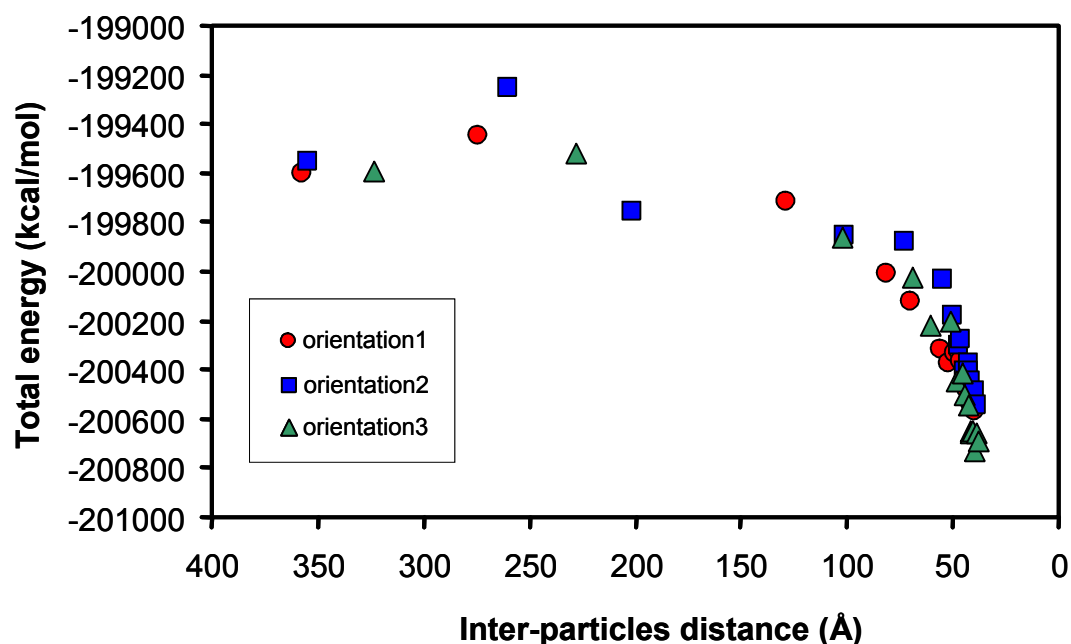


Figure 2. Typical variation of the total energy as a function of the distance between the two mineral particles. System with MWAP71 is taken as a representative example. Red circles, blue squares and green triangles indicate the perpendicular, the slightly inclined and the tilted initial orientations, respectively.

Figure 3 gives the evolution of the contact area between MWAP71 and the montmorillonite surface as a function of the distance between the two mineral particles. The interaction area was null or quasi null at the beginning of the simulation, it increased until the maximal value of 2160 \AA^2 at the end of the simulation. Only those models having an interacting area larger than the arbitrarily chosen value of 475 \AA^2 were considered in the remaining part of the study, such models corresponded to distances between the two mineral particles lower than 75 \AA .

Considering that the solvent accessible area of the montmorillonite model is about 35 nm^2 ; the EPS covered between 13 and 62 % of the mineral surface.

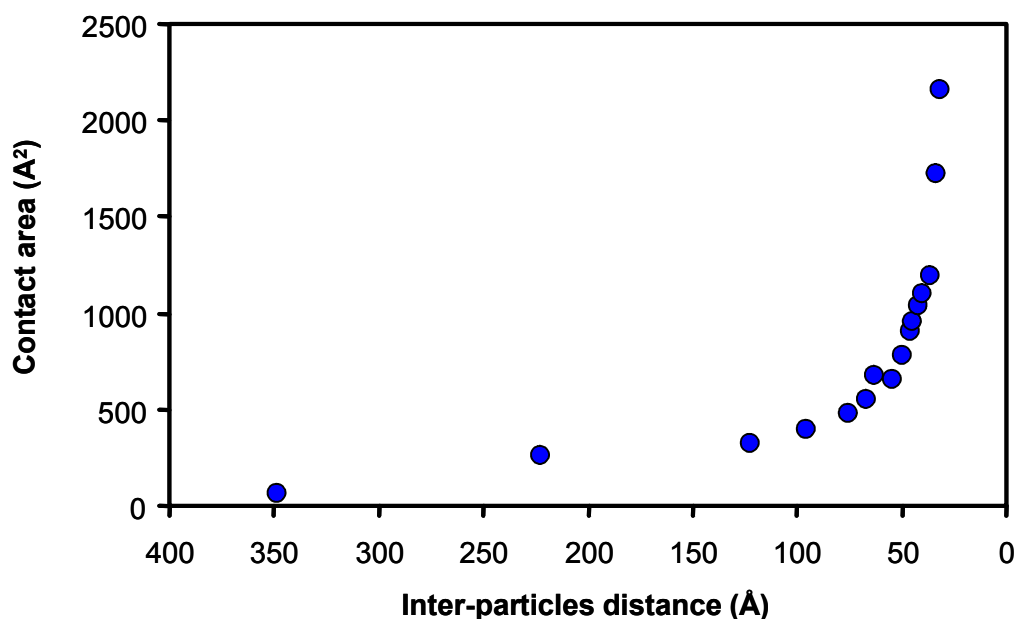


Figure 3. Evolution of the interacting area between the EPS (MWAP71 still taken as a representative example) and the mineral surfaces as a function of the inter-particles distance.

Some structures were then hydrated, hydration amounts ranged between 2 % and 38 % by weight. These hydration amounts are only apparent as they cannot be measured considering that only the surface layer of the mineral particles was effectively taken into account in the models. Hydration of the organic phase was between 5 % and 56 % (w/w). Besides, between 4 and 12 structures for each EPS were kept for analysis : the ‘dry state’ had typically less than 10 % (w/w) of water and the ‘wet states’ corresponded to the medium to large hydration contents. Table S1 of the supplementary material gives, for each structure, its hydration content, the area of the EPS interacting with the mineral surface and the total potential energy.

Figure 4 shows two typical models. On each model, the mineral surfaces are visible on top and bottom of the models. Only one surface was really modelled, the surface at the top of Figure 4 is the periodic image of the one at the bottom of the figure. The modelled particle was constituted by a single mineral platelet in order to restrict the total number of atoms that needed to be considered. The two mineral surfaces surround a volume that contains an aqueous phase of EPS. The models were subjected to periodic boundary conditions. Periodicity in the plane parallel to the surfaces described infinite mineral surfaces, while the one in the perpendicular direction described an alternated multi-layered system (mineral

organic). The models represented small volume elements of an aggregate which possess all the key elements: the mineral particles and an aqueous phase of EPS.

Models mimicked two indistinguishable situations at the atomic scale: 1/ if one consider that the surface platelet is sufficient to correctly model the whole mineral particle, then the models represented two separated particles and the EPS adsorb onto the two particles and bridge them; 2/ one can also consider that the models represented two platelet of a fully exfoliated mineral particle (the platelets are dispersed), the EPS is thus located in the interlayer gallery, it bridge two platelets.

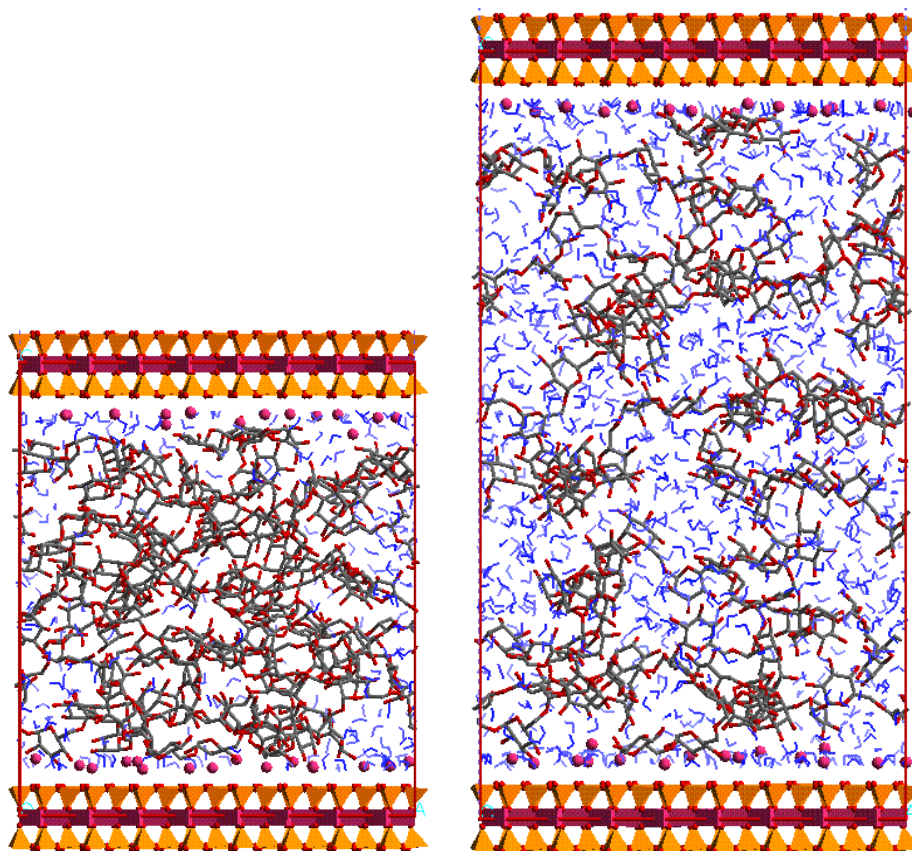


Figure 4. Typical molecular models : dextran at 7 (left) and 27 % (right) of water. Hydrogen atoms of EPS are not shown for clarity. Water molecules are coloured in blue, the sodium atoms are displayed by rose balls. The periodic box is indicated in red.

3.1 Structure.

In order to characterize the structure of the models of the composite, we have calculated the distribution of the densities of the different components (clay, ions, EPS and water molecules) in the direction normal to the surface of the montmorillonite. Figure 5 gives two typical profiles for dextran, having 7% and 27 % (w/w) of water, respectively.

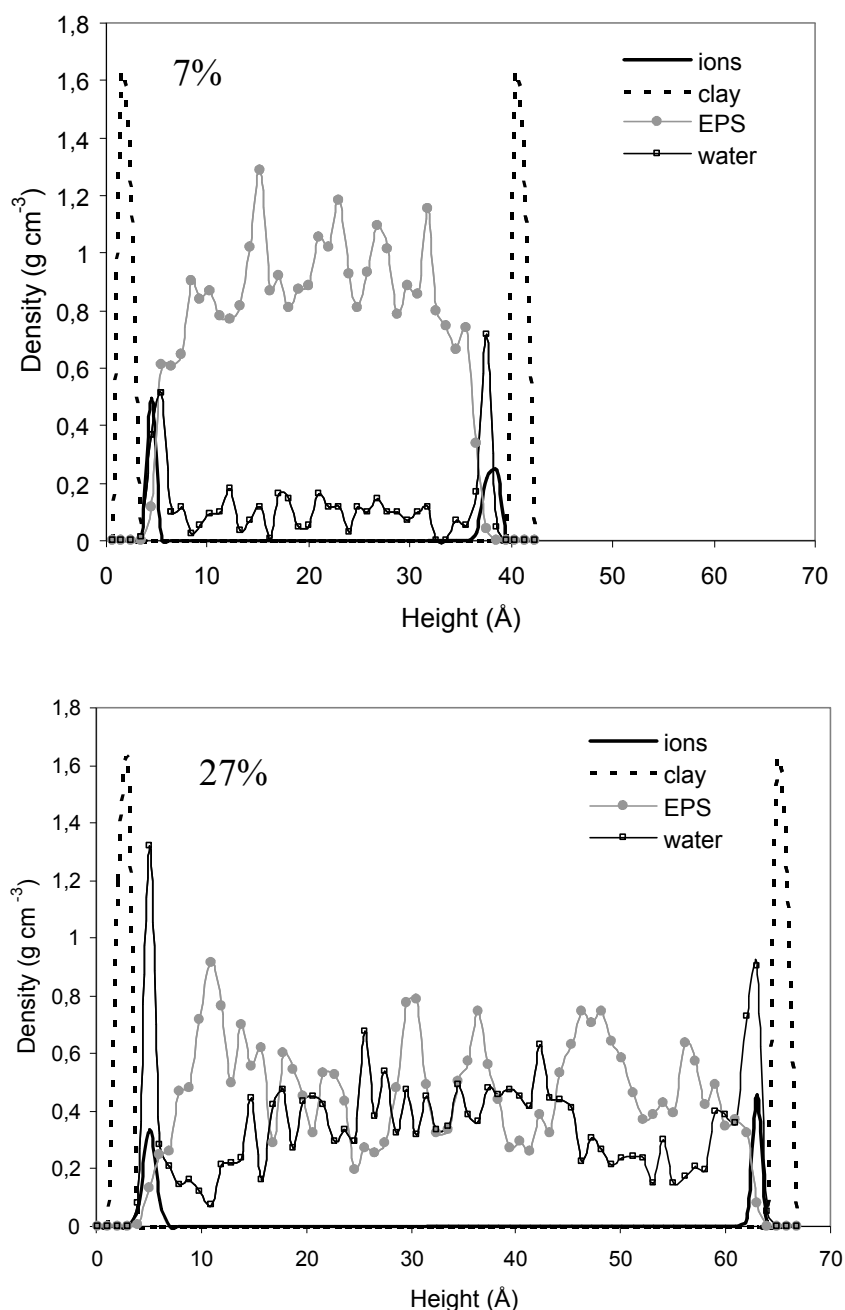


Figure 5. Density profiles of clay, ions, EPS (dextran) and water for the models having 7% (top) and 27% (bottom) by weight of hydration. The density of the clay was divided by a factor of 3 because its original density was too high compared to the ones of the other components.

Density profiles revealed that the Na^+ cations remain very close to the clay surfaces. Water molecules were distributed everywhere in between the two mineral surfaces, their distribution was however heterogeneous, they accumulated at the interfaces and around the counter ions (maximums of densities); water was also located in the EPS phase. The interaction between EPS and the mineral surface was evidenced by the shoulder and the first density peak at the interfaces. The shoulder revealed a direct interaction between the EPS and the mineral surface

whereas the first peak revealed an indirect interaction, through water molecules and/or counter ions.

Far from the mineral surfaces (in the inner part of the systems) the average densities of EPS were around 0.95 g.cm^{-3} and 0.5 g.cm^{-3} for the systems at 7 % and 27 % of water, respectively. The continuous distribution of the EPS in between the two mineral surfaces together with the large amplitude fluctuations of its density suggested that the EPS bridge the two surfaces and that its conformation is disordered. Visual inspection of the models corroborated these observations. Models were obviously identical to the images obtained using electron microscopy^{5, 6, 8}, they agreed also with the theories describing the adsorption of polymers on surfaces¹.

3.2 Energetics.

Interaction energy between EPS and Clay.

Adsorption of the polysaccharide on the mineral surfaces is a requisite condition to express the aggregation property. The cohesion of the aggregate depends partly on the attraction strength between the EPS and the mineral surface. Figure 6 gives the variations of the binding energies of the EPS as a function of the interacting area. All the binding energies were positive, in the same range and increased linearly with the surface in interaction. The interaction was estimated favourable for all the considered EPS, this is consistent with the experimental data which shows that soil cohesion is a characteristics shared by numerous polysaccharides. The linear increase of the binding energies indicated that the adsorption strength depends directly on the amount of trains, the occurrence of loops and of a segment of the molecule that bridge two mineral particles has no noticeable impact. Our previous results obtained on chemical functions, monosaccharides and repeating units of EPS are still pertinent with oligomers of EPS.²⁶

However, adhesion work, obtained from the slopes of the straight lines, revealed significant differences between the EPS (table 2). This is also in agreement with the experimental results of Labille and Thomas^{18, 19} which shows that the size of the flocs and the flocculation rate strongly depends on the EPS. Although we have to recognise that the order was not correctly predicted. Actually, any obvious correlation could be evidenced between the estimated interaction strength between the EPS and the surface and the structural characteristics of the EPS : linear or branched, the density of the branches, their length, the location of the carboxylic group in the chemical structure of the EPS, the nature of the backbone....

Quantitative comparison between the experiments of Labille and Thomas and the models presented in this study is not possible; while the studied systems are apparently alike they are not rigorously identical. Actually, the interaction mechanisms differ; the experimental

observations involve probably a combination of several mechanisms of interaction whereas our study was limited to the case of neutral EPS interacting with the basal surface of montmorillonite. The expected dominant experimental mechanism is ionic interaction between carboxylate groups (negatively charged) and the edges of the clay platelets. As a matter of fact, the edges of the montmorillonite platelets have an amphoteric character because of the Al-OH groups.

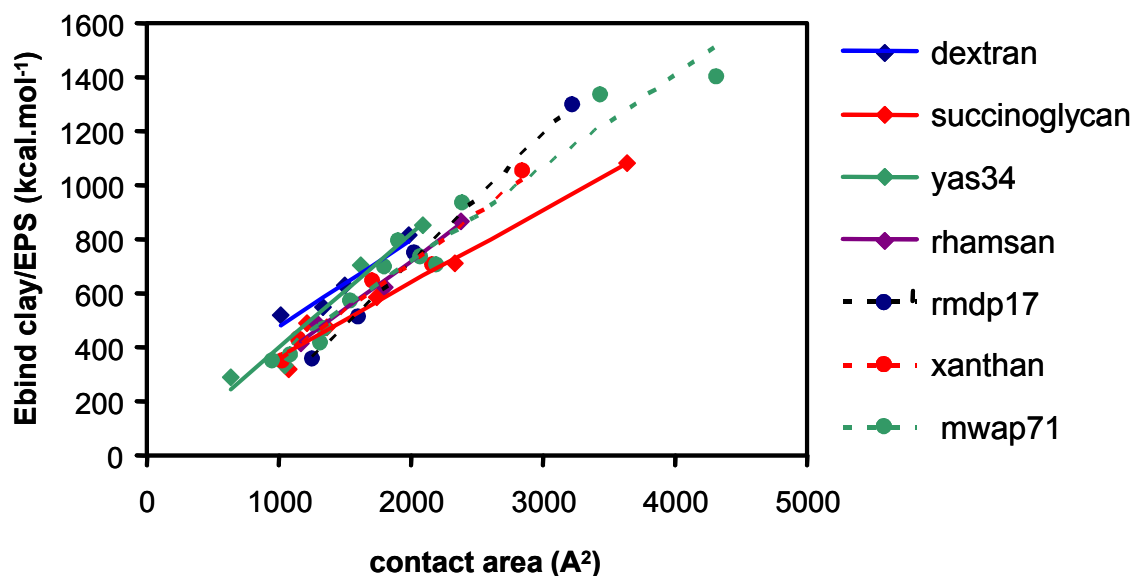


Figure 6. Variation of the binding energy of the EPS on the montmorillonite surface as a function of the interacting area; contact area was multiplied by a factor of two in order to estimate the adhesion works.

EPS	$W_{c/eps}$ (mJ m^{-2})
Dextran	222
YAS34	293
Rhamsan	248
RMDP17	331
Succinoglycan	188
Xanthan	251
MWAP71	239

Table 2. Works of adhesion between the EPS and the montmorillonite surface.

Interaction with water.

Water is in contact with EPS, ions and mineral surfaces; in this section, we have examined how the organo-mineral system reacted with water. The variation of the hydration energy

(E_{H_2O}), which represents the energy needed to extract a given volume of water, as a function of water content is given in Figure 7.

All the calculated points were in the same range, it is obvious that all the tested polysaccharides behaved similarly. The most negative values of the hydration energy appeared at the lowest water contents and the energy progressively increases with the hydration content. The absence of energy minima suggests that there were no specific hydration states; the system was able to continuously adsorb water.

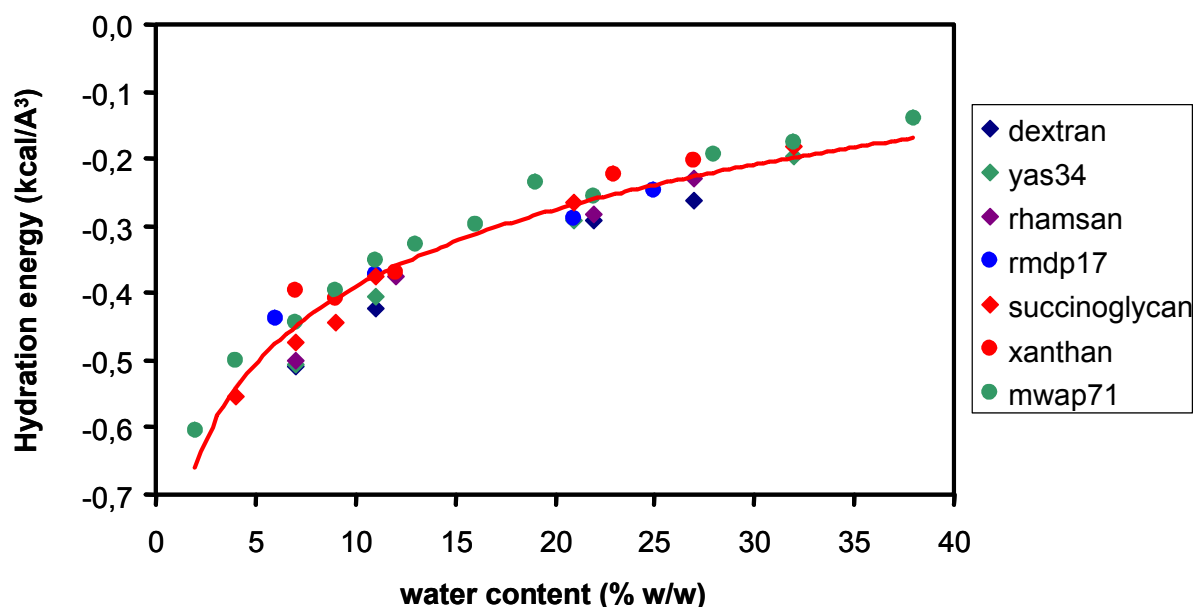


Figure 7. Variation of the hydration energy of the clay EPS systems as a function of the hydration content. The solid red line is a guide for the eyes.

The particularly strong interaction at low water content is consistent with the concept of strongly bound water (also called non freezing water) observed in DSC experiments on many polysaccharides^{41, 42}; besides, it is well known that polysaccharides held water irreversibly⁴³. Water in soils is generally characterized by the concept of water potential; it corresponds to the potential energy of water in soil with respect to pure water (of zero potential). Experimentally, the water potential, given in pressure units, can be negative or null. The hydration energy estimated by modelling and the water potential measured experimentally are strongly related. The estimated energy of hydration varies identically than the water potential measured on hybrid systems⁴⁴. Our results are thus in qualitative coherence with the experiments: the EPS are able to retain water and they modify the chemical potential upon desiccation.

4. Conclusion.

We have created atomic scale molecular models of hybrid systems (organic inorganic) made of bacterial polysaccharides and montmorillonite ; these models mimicked rhizospheric complexes. Besides, these models contained personalized amount of water to model different climatic conditions: water excess or shortage. These models were used in order to predict two key properties of soil: cohesion of aggregates provided by EPS and the relationship with water of the EPS clay system. The EPS-clay interaction energy at the interface varied linearly with the interacting area. Besides, comparison of the different EPS showed significant differences in the adhesion works. The interaction with water was the strongest at low water content, showing that the systems oppose against desiccation; on the other hand in water excess, our results showed that the interaction of EPS with the surface of clays comes into play to avoid dispersion of the mineral platelets. Our results qualitatively agreed with the experimental data.

References

- (1) Theng, B. K. G.; Yuan, G.; Hashizume, H. *Clay Science* **2005**, *12*, 69-73.
- (2) Koegel-Knabner, I.; Guggenberger, G.; Kleber, M.; Kandeler, E.; Kalbitz, K.; Scheu, S.; Eusterhues, K.; Leinweber, P. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **2008**, *171*, 61-82.
- (3) Chenu, C. *Geoderma* **1993**, *56*, 143-156.
- (4) Chenu, C.; Guerif, J. *Soil Science Society of America Journal* **1991**, *55*, 1076-1080.
- (5) Chenu, C.; Guerif, J.; Jaunet, A. M. *Transactions, World Congress of Soil Science, 15th, Acapulco, Mexico, July 10-16, 1994* **1994**, *3a*, 403-410.
- (6) Tessier, D.; Chenu, C. *Geologica Carpathica--Clays* **1997**, *6*, 35-45.
- (7) Rinaudo, M. *Polymer International* **2008**, *57*, 397-430.
- (8) Elsass, F.; Chenu, C.; Tessier, D. *Soil Science Society of America Book Series* **2008**, *5*, 235-268.
- (9) Dorioz, J. M.; Robert, M.; Chenu, C. *Geoderma* **1993**, *56*, 179-194.
- (10) Chenu, C. *Environ. Impact Soil Compon. Interact.* **1995**, *1*, 217-233.
- (11) Amellal, N.; Burtin, G.; Bartoli, F.; Heulin, T. *Applied and Environmental Microbiology* **1998**, *64*, 3740-3747.
- (12) Kaci, Y.; Heyraud, A.; Barakat, M.; Heulin, T. *Research in Microbiology* **2005**, *156*, 522-531.
- (13) Curry, K. J.; Bennett, R. H.; Mayer, L. M.; Curry, A.; Abril, M.; Biesiot, P. M.; Hulbert, M. H. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **2007**, *71*, 1709-1720.

- (14) Abiven, S.; Menasseri, S.; Angers, D. A.; Leterme, P. *European Journal of Soil Science* **2007**, *58*, 239-247.
- (15) Tarchitzky, J.; Chen, Y. *Soil Science* **2002**, *167*, 791-801.
- (16) Bhosle, N.; Suci, P. A.; Baty, A. M.; Weiner, R. M.; Geesey, G. G. *Journal of Colloid and Interface Science* **1998**, *205*, 89-96.
- (17) Dontsova, K. M.; Bigham, J. M. *Soil Science Society of America Journal* **2005**, *69*, 1026-1035.
- (18) Labille, J.; Thomas, F.; Bihannic, I.; Santaella, C. *Clay Minerals* **2003**, *38*, 173-185.
- (19) Labille, J.; Thomas, F.; Milas, M.; Vanhaverbeke, C. *Journal of Colloid and Interface Science* **2005**, *284*, 149-156.
- (20) Simpson, A. J.; Simpson, M. J.; Kingery, W. L.; Lefebvre, B. A.; Moser, A.; Williams, A. J.; Kvasha, M.; Kelleher, B. P. *Langmuir* **2006**, *22*, 4498-4503.
- (21) Wang, J.; Somasundaran, P. *Journal of Colloid and Interface Science* **2006**, *293*, 322-332.
- (22) Wang, J.; Somasundaran, P. *Journal of Colloid and Interface Science* **2007**, *309*, 373-383.
- (23) Jucker, B. A.; Harms, H.; Hug, S. J.; Zehnder, A. J. B. *Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces* **1997**, *9*, 331-343.
- (24) Kwon, K. D.; Green, H.; Bjoerno, P.; Kubicki, J. D. *Environmental Science & Technology* **2006**, *40*, 7739-7744.
- (25) Leal Filho, L. S.; Seidl, P. R.; Correia, J. C. G.; Cerqueira, L. C. K. *Minerals Engineering* **2000**, *13*, 1495-1503.
- (26) Henao, L.; Mazeau, K. *Molecular Simulations sous presse*. **2008**
- (27) Cerius²; version 4.6 ed.; Accelrys: San Diego, CA, 2001.
- (28) Tsipursky, S. I.; Drits, V. A. *Clay Minerals* **1984**, *19*, 177-193.
- (29) Rappe, A. K.; Casewit, C. J.; Colwell, K. S.; Goddard, W. A., III; Skiff, W. M. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, *114*, 10024-10035.
- (30) Gaudel-Siri, A.; Brocorens, P.; Siri, D.; Gardebien, F.; Bredas, J.-L.; Lazzaroni, R. *Langmuir* **2003**, *19*, 8287-8291.
- (31) Toth, R.; Coslanich, A.; Ferrone, M.; Fermiglia, M.; Pricl, S.; Miertus, S.; Chiellini, E. *Polymer* **2004**, *45*, 8075-8083.
- (32) Gardebien, F.; Bredas, J.-L.; Lazzaroni, R. *Journal of Physical Chemistry B* **2005**, *109*, 12287-12296.
- (33) Pospisil, M.; Kalendova, A.; Capkova, P.; Simonik, J.; Valaskova, M. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, *277*, 154-161.
- (34) Rappe, A. K.; Goddard, W. A., III *Journal of Physical Chemistry* **1991**, *95*, 3358-3363.

-
- (35) Ding, H. Q.; Karasawa, N.; Goddard, W. A., III *Journal of Chemical Physics* **1992**, *97*, 4309-4315.
- (36) Verlet, L. *Physical Review* **1967**, *159*, 98-103.
- (37) Evans, D. J.; Holian, B. L. *Journal of Chemical Physics* **1985**, *83*, 4069-4074.
- (38) Greathouse, J. A.; Refson, K.; Sposito, G. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 11459-11464.
- (39) Chang, F.-R. C.; Skipper, N. T.; Sposito, G. *Langmuir* **1998**, *14*, 1201-1207.
- (40) Connolly, M. L. *Journal of the American Chemical Society* **1985**, *107*, 1118-1124.
- (41) Raschip, I. E.; Yakimets, I.; Martin, C. P.; Paes, S. S.; Vasile, C.; Mitchell, J. R. *Powder Technology* **2008**, *182*, 436-443.
- (42) Cojazzi, G.; Pizzoli, M. *Macromolecular Chemistry and Physics* **1999**, *200*, 2356-2364.
- (43) Park, S.; Venditti, R. A.; Jameel, H.; Pawlak, J. J. *Tappi Journal* **2007**, *6*, 10-16.
- (44) Roberson, E. B.; Firestone, M. K. *Applied and Environmental Microbiology* **1992**, *58*, 1284-1291.

EPS	H ₂ O #	H ₂ O%	Z	Sclay/eps	Et
Dextran	188	7	37	993	-199622
	324	11	43	754	-201608
	710	22	55	664	-206698
	921	27	62	509	-209454
YAS34	185	7	37	1049	-199263
	327	11	42	808	-201204
	662	21	53	523	-205578
	1175	32	66	319	-212271
Rhamsan	182	7	35	1193	-200645
	341	12	41	902	-202657
	712	22	53	644	-207780
	946	27	60	586	-210823
RMDP17	166	6	35	1616	-202281
	319	11	40	1016	-204452
	657	21	52	799	-208896
	841	25	57	632	-211331
Succinoglycan	93	4	33	1816	-200689
	183	7	37	1169	-201841
	244	9	40	680	-202556
	320	11	43	869	-203695
	651	21	54	607	-207887
	1168	32	67	538	-214596
Xanthan	192	7	35	1423	-201634
	253	9	38	1082	-202623
	333	12	41	855	-203739
	773	23	53	580	-209431
	910	27	57	512	-211414
MWAP71	58	2	32	2159	-201850
	104	4	34	1718	-202437
	196	7	37	1196	-203844
	254	9	40	1101	-204650
	321	11	42	1039	-205498
	386	13	44	956	-206357
	469	16	46	898	-207564
	602	19	50	776	-209276
	718	22	54	657	-210778
	1023	28	63	677	-214714
	1233	32	67	545	-217590
	1532	38	75	475	-221486

Table S1. Description of the selected models: exopolysaccharide: EPS, total number of water molecules: H₂O#, water content H₂O% (w/w); interlayer distance: Z (Å); contact area between the clay and the EPS: Sclay/eps (Å²); and total energy: Et (kcal/mol).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Commission E: **Commission européenne pour les sols.** <http://eceuropa.eu/environment/soil/index.htm> 2006.
2. IFEN: **Institut Français de l'environnement.** <http://www.wifen.fr/uploads/media/de104.pdf> 2005.
3. Theng BKG: **Clay-polymer interactions: summary and perspectives.** *Clays and Clay Minerals* 1982, **30**(1):1-10.
4. Lynch JM: **The rhizosphere.** New York: John Wiley & Sons; 1990.
5. Oades JM: **Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management.** *Plant and Soil* 1984, **76**(1-3):319-337.
6. Chenu C, Stotzky G: **Interactions between microorganisms and soil particles: an overview,** vol. 8; 2002.
7. Tisdall JM, Oades JM: **Organic matter and water-stable aggregates in soils.** *Journal of Soil Science* 1982, **33**(2):141-163.
8. Lynch JM, Bragg E: **Microorganisms and soil aggregate stability,** vol. 2. New York; 1985.
9. Tisdall JM: **Possible role of soil in microorganisms in aggregation in soils.** *Plant and Soil* 1994, **159**:115-121.
10. Dorioz JM, Robert M, Chenu C: **The role of roots, fungi and bacteria on clay particle organization. An experimental approach.** *Geoderma* 1993, **56**(1-4):179-194.
11. Chaney K, Swift RS: **The influence of organic matter on aggregate stability in some British soils.** *Journal of Soil Science* 1984, **35**(2):223-230.
12. Haynes RJ, Swift RS: **Stability of soil aggregates in relation to organic constituents and soil water content.** *Journal of Soil Science* 1990, **41**(1):73-83.
13. Cheshire MW, Dumat C, Fraser AR, Hillier S, Staunton S: **The interaction between soil organic matter and soil clay minerals by selective removal and controlled addition of organic matter.** *European Journal of Soil Science* 2000, **51**:497-509.
14. Chenu C, Le Bissonnais Y, Arrouays D: **Organic matter influence on clay wettability and soil aggregate stability.** *Soil Science Society of America Journal* 2000, **64**(4):1479-1486.
15. Chenu C: **Le complexe argilo-humique des sols : Etat des connaissances actuelles (The clay-humus complex of soils: Present knowledge).** *CR Acad Agric Fr* 2001, **87**(3):3-12.

16. Wingender J, Neu TR, Flemming H-C: **What are bacterial extracellular polymeric substances?** *Microbial Extracellular Polymeric Substances* 1999:1-19.
17. Tsuneda S, Aikawa H, Hayashi H, Yuasa A, Hirata A: **Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto solid surface.** *FEMS Microbiology Letters* 2003, **223**(2):287-292.
18. Alami Y, Champolivier L, Merrien A, Heulin T: **The role of *Rhizobium* sp., a rhizobacterium that produces exopolysaccharide in the aggregation of the rhizospheric soil of the sunflower: Effects on plant growth and resistance to hydric constraints.** *Oleagineux, Corps Gras, Lipides* 1999, **6**(6):524-528.
19. Alami Y, Achouak W, Marol C, Heulin T: **Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp. strain isolated from sunflower roots.** *Applied and Environmental Microbiology* 2000, **66**(8):3393-3398.
20. Amellal N, Bartoli F, Villemin G, Talouizte A, Heulin T: **Effects of inoculation of EPS-producing *Pantoea agglomerans* on wheat rhizosphere aggregation.** *Plant and Soil* 1999, **211**(1):93-101.
21. Amellal N, Burtin G, Bartoli F, Heulin T: **Colonization of wheat roots by an exopolysaccharide-producing *Pantoea agglomerans* strain and its effect on rhizosphere soil aggregation.** *Applied and Environmental Microbiology* 1998, **64**(10):3740-3747.
22. Bezzate S, Aymerich S, Chambert R, Czarnes S, Berge O, Heulin T: **Disruption of the *Paenibacillus polymyxa* levansucrase gene impairs its ability to aggregate soil in the wheat rhizosphere.** *Environmental Microbiology* 2000, **2**(3):333-342.
23. Kaci Y, Heyraud A, Barakat M, Heulin T: **Isolation and identification of an EPS-producing *Rhizobium* strain from arid soil (Algeria): characterization of its EPS and the effect of inoculation on wheat rhizosphere soil structure.** *Research in Microbiology* 2005, **156**(4):522-531.
24. Ashraf M, Hasnain S, Berge O: **Effect of exo-polysaccharides producing bacterial inoculation on growth of roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants grown in a salt-affected soil.** *International Journal of Environmental Science and Technology* 2006, **3**(1):43-51.
25. Ashraf M, Hasnain S, Berge O, Mahmood T: **Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress.** *Biology and Fertility of Soils* 2004, **40**(3):157-162.
26. Roberson EB, Firestone MK: **Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in a soil *Pseudomonas* sp.** *Applied and Environmental Microbiology* 1992, **58**(4):1284-1291.

27. Roberson EB, Chenu C, Firestone MK: **Microstructural changes in bacterial exopolysaccharides during desiccation.** *Soil Biology and Biochemistry* 1993, **25**(9):1299-1301.
28. Chenu C: **Clay- or sand-polysaccharide associations as models for the interface between microorganisms and soil: water related properties and microstructure.** *Geoderma* 1993, **56**(1-4):143-156.
29. Chenu C: **Etude expérimentale des interactions argiles-polysaccharides neutres.** *Thèse de doctorat.* Université de Paris 7; 1985.
30. Chenu C, Guerif J: **Mechanical strength of clay minerals as influenced by an adsorbed polysaccharide.** *Soil Science Society of America Journal* 1991, **55**(4):1076-1080.
31. Chenu C, Jaunet M: **Cryoscanning electron microscopy of microbial extracellular polysaccharides and their association with minerals.** *Scanning* 1992, **14**(6):360-364.
32. Chenu C, Guerif J, Jaunet AM: **Polymer bridging: A mechanism of clay and soil structure stabilization by polysaccharides.** *Transactions, World Congress of Soil Science, 15th, Acapulco, Mexico, July 10-16* 1994, **3a**:403-410.
33. Tessier D, Chenu C: **Importance of clay fabrics in soils, an approach by electron microscopy.** *Geologica Carpathica--Clays* 1997, **6**(1):35-45.
34. Labille J, Thomas F, Milas M, Vanhaverbeke C: **Flocculation of colloidal clay by bacterial polysaccharides: effect of macromolecule charge and structure.** *Journal of Colloid and Interface Science* 2005, **284**(1):149-156.
35. Labille J: **Déstabilisation d'une suspension colloïdale de montmorillonite par coagulation-floculation, en présence de polysaccharides.** *Thèse de doctorat.* Institut National Polytechnique de Lorraine; 2003.
36. Labille J, Thomas F, Bihannic I, Santaella C: **Destabilization of montmorillonite suspensions by Ca²⁺ and succinoglycan.** *Clay Minerals* 2003, **38**(2):173-185.
37. Dontsova KM, Bigham JM: **Anionic polysaccharide sorption by clay minerals.** *Soil Science Society of America Journal* 2005, **69**(4):1026-1035.
38. Chenu C, Pons CH, Robert M: **Interaction of kaolinite and montmorillonite with neutral polysaccharides.** *In: Proceedings of the international clay conference* 1987:375-381.
39. Fuller LG, Goh TB, Oscarson DW, Biliaderis CG: **Flocculation and coagulation of Ca- and Mg-saturated montmorillonite in the presence of a neutral polysaccharide.** *Clays and Clay Minerals* 1995, **43**(5):533-539.

40. Tarchitzky J, Chen Y: **Polysaccharides and pH effects on sodium-montmorillonite: flocculation, dispersion, and rheological properties.** *Soil Science* 2002, **167**(12):791-801.
41. Bratskaya S, Schwarz S, Laube J, Liebert T, Heinze T, Krentz O, Lohmann C, Kulicke W-M: **Effect of polyelectrolyte structural features on flocculation behavior: Cationic polysaccharides vs. Synthetic polycations.** *Macromolecular Materials and Engineering* 2005, **290**(8):778-785.
42. Yong RN, Mourato D: **Influence of polysaccharides on kaolinite structure and properties in a kaolinite-water system.** *Canadian Geotechnical Journal* 1990, **27**(6):774-788.
43. Blanchart E, Achouak W, Albrecht A, Barakat M, Bellier G, Cabidoche YM, Hartmann C, Heulin T, Larré-Larrouy C, Laurent J-Y *et al*: **Déterminants biologiques de l'agrégation dans les Vertisols des Petites Antilles : conséquences sur l'érodibilité.** *Etude et Gestion des Sols* 2000, **7**(4):309-328.
44. Chenu C: **Extracellular polysaccharides: An interface between microorganisms and soil constituents.** *Environ Impact Soil Compon Interact* 1995, **1**:217-233.
45. Hussain F, Hojjati M, Okamoto M, Gorga RE: **Polymer-matrix nanocomposites, processing, manufacturing, and application: an overview.** *Journal of Composite Materials* 2006, **40**(17):1511-1575.
46. Frenkel D, Smit B, Editors: **Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications;** 1996.
47. Rieth M, Schommers W, Editors: **Handbook of Theoretical and Computational Nanotechnology, Volume 9; Nanocomposites, Nano-Assemblies, and Nanosurfaces;** 2006.
48. Okada A, Kawasumi M, Usuki A, Kojima Y, Kurauchi T, Kamigaito O: **Nylon 6-clay hybrid.** *Materials Research Society Symposium Proceedings* 1990, **171**(Polym. Based Mol. Compos.):45-50.
49. Sinha Ray S, Okamoto M: **Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing.** *Progress in Polymer Science* 2003, **28**(11):1539-1641.
50. Alexandre M, Dubois P: **Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials.** *Materials Science & Engineering, R: Reports* 2000, **R28**(1-2):1-63.
51. Kawasumi M: **The discovery of polymer-clay hybrids.** *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* 2004, **42**(4):819-824.
52. Doh JG, Cho I: **Synthesis and properties of polystyrene-organoammonium montmorillonite hybrid.** *Polymer Bulletin* 1998, **41**(5):511-517.

53. Weimer MW, Chen H, Giannelis EP, Sogah DY: **Direct Synthesis of Dispersed Nanocomposites by in Situ Living Free Radical Polymerization Using a Silicate-Anchored Initiator.** *J Am Chem Soc* 1999, **121**(7):1615-1616.
54. Zeng QH, Yu AB, Lu GQ, Paul DR: **Clay-Based Polymer Nanocomposites : Research and Commercial Development.** *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 2005, **5**(10):1574–1592.
55. Noh MW, Lee DC: **Synthesis and characterization of PS-clay nanocomposite by emulsion polymerization.** *Polymer Bulletin (Berlin)* 1999, **42**(5):619-626.
56. Jeon HG, Jung HT, Lee SW, Hudson SD: **Morphology of polymer/silicate nanocomposites. High-density polyethylene and a nitrile copolymer.** *Polymer Bulletin (Berlin)* 1998, **41**(1):107-113.
57. Oriakhi CO, Zhang X, Lerner MM: **Synthesis and luminescence properties of a poly(p-phenylenevinylene)/montmorillonite layered nanocomposite.** *Applied Clay Science* 1999, **15**(1-2):109-118.
58. Lee DC, Jang LW: **Preparation and characterization of PMMA-clay hybrid composite by emulsion polymerization.** *Journal of Applied Polymer Science* 1996, **61**(7):1117-1122.
59. Kato M, Usuki A, Okada A: **Synthesis of polypropylene oligomer-clay intercalation compounds.** *Journal of Applied Polymer Science* 1997, **66**(9):1781-1785.
60. Kojima Y, Fukumori K, Usuki A, Okada A, Kurauchi T: **Gas permeabilities in rubber-clay hybrid.** *Journal of Materials Science Letters* 1993, **12**(12):889-890.
61. Han B, Cheng A, Ji G, Wu S, Shen J: **Effect of organophilic montmorillonite on polyurethane/montmorillonite nanocomposites.** *Journal of Applied Polymer Science* 2004, **91**(4):2536-2542.
62. Wu T-M, Liao C-S: **Polymorphism in nylon 6/clay nanocomposites.** *Macromolecular Chemistry and Physics* 2000, **201**(18):2820-2825.
63. Usuki A, Kojima Y, Kawasumi M, Okada A, Fukushima Y, Kurauchi T, Kamigaito O: **Synthesis of nylon 6-clay hybrid.** *Journal of Materials Research* 1993, **8**(5):1179-1184.
64. Zhang Y-Q, Lee J-H, Rhee JM, Rhee KY: **Polypropylene-clay nanocomposites prepared by in situ grafting-intercalating in melt.** *Composites Science and Technology* 2004, **64**(9):1383-1389.
65. Sun T, Garces JM: **High-performance polypropylene-clay nanocomposites by in-situ polymerization with metallocene/clay catalysts.** *Advanced Materials (Weinheim, Germany)* 2002, **14**(2):128-130.

66. Yang F, Zhang X, Zhao H, Chen B, Huang B, Feng Z: **Preparation and properties of polyethylene/montmorillonite nanocomposites by in situ polymerization.** *Journal of Applied Polymer Science* 2003, **89**(13):3680-3684.
67. Shin S-YA, Simon LC, Soares JBP, Scholz G: **Polyethylene-clay hybrid nanocomposites: in situ polymerization using bifunctional organic modifiers.** *Polymer* 2003, **44**(18):5317-5321.
68. Messersmith PB, Giannelis EP: **Synthesis and barrier properties of poly(ϵ -caprolactone)-layered silicate nanocomposites.** *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* 1995, **33**(7):1047-1057.
69. Ke Y, Long C, Qi Z: **Crystallization, properties, and crystal and nanoscale morphology of PET-clay nanocomposites.** *Journal of Applied Polymer Science* 1999, **71**(7):1139-1146.
70. Brown J, Rhoney I, Pethrick RA: **Epoxy resin based nanocomposites: 1. Diglycidyl ether of bisphenol A (DGEBA) with triethylenetetramine.** *Polymer International* 2004, **53**(12):2130-2137.
71. Tortora M, Gorrasi G, Vittoria V, Galli G, Ritrovati S, Chiellini E: **Structural characterization and transport properties of organically modified montmorillonite/polyurethane nanocomposites.** *Polymer* 2002, **43**(23):6147-6157.
72. Moon SY, Kim JK, Nah C, Lee YS: **Polyurethane/montmorillonite nanocomposites prepared from crystalline polyols, using 1,4-butanediol and organoclay hybrid as chain extenders.** *European Polymer Journal* 2004, **40**(8):1615-1621.
73. Chavarria F, Paul DR: **Comparison of nanocomposites based on nylon 6 and nylon 66.** *Polymer* 2004, **45**(25):8501-8515.
74. Lee EC, Mielewski DF, Baird RJ: **Exfoliation and dispersion enhancement in polypropylene nanocomposites by in-situ melt phase ultrasonication.** *Polymer Engineering and Science* 2004, **44**(9):1773-1782.
75. Wang S, Hu Y, Tang Y, Wang Z, Chen Z, Fan W: **Preparation of polyethylene-clay nanocomposites directly from Na⁺ montmorillonite by a melt intercalation method.** *Journal of Applied Polymer Science* 2003, **89**(9):2583-2585.
76. Hotta S, Paul DR: **Nanocomposites formed from linear low density polyethylene and organoclays.** *Polymer* 2004, **45**(22):7639-7654.
77. Vaia RA, Giannelis EP: **Polymer Melt Intercalation in Organically-Modified Layered Silicates: Model Predictions and Experiment.** *Macromolecules* 1997, **30**(25):8000-8009.

78. Wu T-M, Yin T-F, Hsu S-F: **Effect of Premelting Temperatures and Molecular Weight on the Crystallization Behavior of Syndiotactic Polystyrene/Montmorillonite Nanocomposites.** *Journal of Macromolecular Science, Physics* 2004, **B43**(2):329-348.
79. Yoon PJ, Hunter DL, Paul DR: **Polycarbonate nanocomposites. Part 1. Effect of organoclay structure on morphology and properties.** *Polymer* 2003, **44**(18):5323-5339.
80. Burnside SD, Giannelis EP: **Synthesis and properties of new poly(dimethylsiloxane) nanocomposites.** *Chemistry of Materials* 1995, **7**(9):1597-1600.
81. Dai X, Xu J, Guo X, Lu Y, Shen D, Zhao N, Luo X, Zhang X: **Study on Structure and Orientation Action of Polyurethane Nanocomposites.** *Macromolecules* 2004, **37**(15):5615-5623.
82. Fischer S: **Nanoparticle reinforced natural plastics.** *Natural Fibers, Plastics and Composites* 2004:345-364.
83. Sinha Ray S, Bousmina M: **Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world.** *Progress in Materials Science* 2005, **50**(8):962-1079.
84. Dumitriu Severian e: **Polymeric Biomaterials.** New York: Marcel Dekker 2005.
85. Ogata N, Jimenez G, Kawai H, Ogihara T: **Structure and thermal/mechanical properties of poly(L-lactide)-clay blend.** *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics* 1997, **35**(2):389-396.
86. Sinha Ray S, Maiti P, Okamoto M, Yamada K, Ueda K: **New Polylactide/Layered Silicate Nanocomposites. 1. Preparation, Characterization, and Properties.** *Macromolecules* 2002, **35**(8):3104-3110.
87. Maiti P, Yamada K, Okamoto M, Ueda K, Okamoto K: **New Polylactide/Layered Silicate Nanocomposites: Role of Organoclays.** *Chemistry of Materials* 2002, **14**(11):4654-4661.
88. Paul M-A, Alexandre M, Degee P, Henrist C, Rulmont A, Dubois P: **New nanocomposite materials based on plasticized poly(L-lactide) and organo-modified montmorillonites: thermal and morphological study.** *Polymer* 2002, **44**(2):443-450.
89. Pluta M, Galeski A, Alexandre M, Paul MA, Dubois P: **Polylactide/montmorillonite nanocomposites and microcomposites prepared by melt blending: structure and some physical properties.** *Journal of Applied Polymer Science* 2002, **86**(6):1497-1506.

90. Ray SS, Yamada K, Okamoto M, Ueda K: **Poly lactide-Layered Silicate Nanocomposite: A Novel Biodegradable Material**. *Nano Letters* 2002, **2**(10):1093-1096.
91. Maiti P, Batt CA, Giannelis EP: **Renewable plastics: Synthesis and properties of PHB nanocomposites**. *Polymeric Materials Science and Engineering* 2003, **88**:58-59.
92. Avella M, De Vlieger JJ, Errico ME, Fischer S, Vacca P, Volpe MG: **Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications**. *Food Chemistry* 2005, **93**(3):467-474.
93. Park H-M, Lee W-K, Park C-Y, Cho W-J, Ha C-S: **Environmentally friendly polymer hybrids. Part I. Mechanical, thermal, and barrier properties of thermoplastic starch/clay nanocomposites**. *Journal of Materials Science* 2003, **38**(5):909-915.
94. McGlashan SA, Halley PJ: **Preparation and characterization of biodegradable starch-based nanocomposite materials**. *Polymer International* 2003, **52**(11):1767-1773.
95. Fischer H: **Polymer nanocomposites: from fundamental research to specific applications**. *Materials Science & Engineering, C: Biomimetic and Supramolecular Systems* 2003, **C23**(6-8):763-772.
96. Darder M, Colilla M, Ruiz-Hitzky E: **Biopolymer-Clay Nanocomposites Based on Chitosan Intercalated in Montmorillonite**. *Chemistry of Materials* 2003, **15**(20):3774-3780.
97. Darder M, Colilla M, Ruiz-Hitzky E: **Chitosan-clay nanocomposites: application as electrochemical sensors**. *Applied Clay Science* 2005, **28**(1-4):199-208.
98. Wang SF, Shen L, Tong YJ, Chen L, Phang IY, Lim PQ, Liu TX: **Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites: Preparation and characterization**. *Polymer Degradation and Stability* 2005, **90**(1):123-131.
99. Park H-M, Misra M, Drzal LT, Mohanty AK: **"Green" Nanocomposites from Cellulose Acetate Bioplastic and Clay: Effect of Eco-Friendly Triethyl Citrate Plasticizer**. *Biomacromolecules* 2004, **5**(6):2281-2288.
100. Park H-M, Mohanty AK, Drzal LT, Lee E, Mielewski DF, Misra M: **Effect of Sequential Mixing and Compounding Conditions on Cellulose Acetate/Layered Silicate Nanocomposites**. *Journal of Polymers and the Environment* 2006, **14**(1):27-35.
101. Zheng JP, Li P, Ma YL, De Yao K: **Gelatin/montmorillonite hybrid nanocomposite. I. Preparation and properties**. *Journal of Applied Polymer Science* 2002, **86**(5):1189-1194.

102. Zheng JP, Li P, Yao KD: **Preparation and characterization of gelatin/montmorillonite nanocomposite**. *Journal of Materials Science Letters* 2002, **21**(10):779-781.
103. Uyama H, Kuwabara M, Tsujimoto T, Nakano M, Usuki A, Kobayashi S: **Green Nanocomposites from Renewable Resources: Plant Oil-Clay Hybrid Materials**. *Chemistry of Materials* 2003, **15**(13):2492-2494.
104. Mohanty AK, Misra M, Hinrichsen G: **Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites. An overview**. *Macromolecular Materials and Engineering* 2000, **276/277**:1-24.
105. Bonneau M, Souchier B: **Pédologie. Constituants et propriétés du sol**. Paris; 1979.
106. Eslinger E, Pevear D: **Clay Minerals for Petroleum Geologists and Engineers**. Tulsa, USA.: Soc. Economic paleontologists and mineralogists; 1988.
107. Martin RT, Bailey SW, Eberl DD, Fanning DS, Guggenheim S, Kodama H, Pevear DR, Srodon J, Wicks FJ: **Report of the clay minerals society nomenclature committee: revised classification of clay materials**. *Clays and Clay Minerals* 1991, **39**(3):333-335.
108. INRS: **Institut National de Recherche et de Sécurité**. http://www.inrs.fr/htm/amiante_1_essentiel.html 2007.
109. Le Pluart L: **Nanocomposites Epoxyde/amide/montmorillonite : rôle des interactions sur la formation, la morphologie aux différents niveaux d'échelle et les propriétés mécaniques des réseaux**. *Thèse de doctorat*. Lyon: Institut national des sciences appliquées de Lyon; 2002.
110. Boucard S: **Développement de formulations polyoléfines / silicates lamellaires : contrôle de la nanostructuration par la gestion des interactions physico-chimiques et le procédé de mise en œuvre dans le fondu**. *Thèse de doctorat*. Institut national des sciences appliquées de Lyon; 2004.
111. Didier G: **Gonflement cristallin des montmorillonites. Sa prévision**. *Thèse de doctorat*. Lyon: Université Claude Bernard; 1972.
112. Kerns R, Mankin C: **Structural charge site influence on the interlayer hydration of expandable three-sheet clay minerals**. *Clay and Clay Minerals* 1968, **16**:73-81.
113. Sposito G, Prost R: **Structure of water adsorbed on smectites**. *Chemical Reviews* 1982, **82**(6):553-573.

114. Trausch G: **Développement et mise en oeuvre d'une nouvelle méthode fondée sur le phénomène de nutation pour la décomposition d'un signal composite de Résonance Magnétique Nucléaire. Application au signal 1H de l'eau dans des argiles synthétiques.** *Thèse de doctorat.* Nancy: Université Henri Poincaré-Nancy I; 2006.
115. Norrish K: **The swelling of montmorillonite.** *Discussions of the Faraday Society* 1954, **18**:120-134.
116. Viani BE, Low PF, Roth CB: **Direct measurement of the relation between interlayer force and interlayer distance in the swelling of montmorillonite.** *Journal of Colloid and Interface Science* 1983, **96**(1):229-244.
117. Callaghan I, Ottewill R: **Interparticles forces in montmorillonite gels.** *Faraday discussions* 1974, **57**:110-118.
118. Van Olphen H: **Internal mutual flocculation in clay suspension.** *Journal of Colloid and Interface Science* 1964, **19**:313-322.
119. Vandamme EJ, De Baets S, Steinbuechel A, ed.: **Biopolymers, Volume 5: Polysaccharides I, Polysaccharides from Prokaryotes;** 2002.
120. Dumitriu Severian e: **Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility, Second Edition;** 2005.
121. Vanhaverbeke C: **Etude de l'exopolysaccharide de Burkholderia caribensis en relation avec son rôle dans la structuration de la rhizosphère.** *Thèse de doctorat.* Université Joseph Fourier; 2001.
122. Vanhaverbeke C, Heyraud A, Achouak W, Heulin T: **Structural analysis of the exopolysaccharide from Burkholderia caribensis strain MWAP71.** *Carbohydrate Research* 2001, **334**(2):127-133.
123. Rinaudo M: **Advances in characterization of polysaccharides in aqueous solution and gel state.** *Polysaccharides (2nd Edition)* 2005:237-252.
124. Rinaudo M: **On the abnormal exponents a_h and a_D in Mark Houwink type equations for worm like chain polysaccharides.** *Polymer Bulletin (Berlin, Germany)* 1992, **27**(5):585-589.
125. Sho T, Sato T, Norisuye T: **Viscosity behavior and persistence length of sodium xanthan in aqueous sodium chloride.** *Biophysical Chemistry* 1986, **25**(3):307-313.
126. Stokke BT, Brant DA: **The reliability of wormlike polysaccharide chain dimensions estimated from electron micrographs.** *Biopolymers* 1990, **30**(13-14):1161-1181.

127. Viebke C: **Order-disorder conformational transition of xanthan gum.** *Polysaccharides (2nd Edition)* 2005:459-474.
128. Rinaudo M: **Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials.** *Polymer International* 2008, **57**(3):397-430.
129. Courtois B, Courtois J, Heyraud A, Rinaudo M: **Effect of biosynthesis conditions on the chemical composition of the water-soluble polysaccharides of fast-growing rhizobia.** *Journal of General and Applied Microbiology* 1986, **32**(6):519-526.
130. Hebbar KP, Gueniot B, Heyraud A, Colin-Morel P, Heulin T, Balandreau J, Rinaudo M: **Characterization of exopolysaccharides produced by rhizobacteria.** *Applied Microbiology and Biotechnology* 1992, **38**(2):248-253.
131. Nakanishi T, Norisuye T: **Thermally Induced Conformation Change of Succinoglycan in Aqueous Sodium Chloride.** *Biomacromolecules* 2003, **4**(3):736-742.
132. Geremia R, Rinaudo M: **Biosynthesis, structure, and physical properties of some bacterial polysaccharides.** *Polysaccharides (2nd Edition)* 2005:411-430.
133. Boutebba A, Milas M, Rinaudo M: **Order-disorder conformational transition in succinoglycan: calorimetric measurements.** *Biopolymers FIELD Full Journal Title:Biopolymers* 1997, **42**(7):811-819.
134. Balnois E, Stoll S, Wilkinson KJ, Buffle J, Rinaudo M, Milas M: **Conformations of succinoglycan as observed by atomic force microscopy.** *Macromolecules* 2000, **33**(20):7440-7447.
135. Stredansky M: **Succinoglycan.** *Biopolymers* 2002, **5**:159-177.
136. Rinaudo M: **Role of Substituents on the Properties of Some Polysaccharides.** *Biomacromolecules* 2004, **5**(4):1155-1165.
137. Jansson PE, Lindberg B, Lindberg J, Maekawa E, Sandford PA: **Structural studies of a polysaccharide (S-194) elaborated by *Alcaligenes* ATCC 31961.** *Carbohydrate Research* 1986, **156**:157-163.
138. Falk C, Jansson PE, Rinaudo M, Heyraud A, Widmalm G, Hebbar P: **Structural studies of the exocellular polysaccharide from *Sphingomonas paucimobilis* strain I-886.** *Carbohydr Res FIELD Full Journal Title:Carbohydrate research* 1996, **285**:69-79.
139. Villain-Simonnet A, Milas M, Rinaudo M: **Comparison between the physicochemical behavior of two microbial polysaccharides: RMDP17 and rhamsan.** *International Journal of Biological Macromolecules* 1999, **26**(1):55-62.

140. Bian W, Chandrasekaran R, Rinaudo M: **Molecular structure of the rhamsan-like exocellular polysaccharide RMDP17 from *Sphingomonas paucimobilis***. *Carbohydrate Research* 2002, **337**(1):45-56.
141. Paula M, Goissis G, Martins VCA: **Rheological behavior of anionic collagen injectable gels in the presence of rhamsan for plastic surgery applications**. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2007, **18**(9):1683-1690.
142. Villain-Simonnet A, Milas M, Rinaudo M: **A new bacterial polysaccharide (YAS34). I. Characterization of the conformations and conformational transition**. *International Journal of Biological Macromolecules* 2000, **27**(1):65-75.
143. Villain-Simonnet A, Milas M, Rinaudo M: **A new bacterial exopolysaccharide (YAS34). II. Influence of thermal treatments on the conformation and structure. Relation with gelation ability**. *International Journal of Biological Macromolecules* 2000, **27**(1):77-87.
144. Heulin T: **Une bactérie pour lutter contre le stress hydrique**. *CEA Technologies* 2007, **86**.
145. Achouak W, Christen R, Barakat M, Martel M-H, Heulin T: ***Burkholderia caribensis* sp. nov., an exopolysaccharide-producing bacterium isolated from vertisol microaggregates in Martinique**. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1999, **49**(2):787-794.
146. Vanhaverbeke C, Heyraud A, Mazeau K: **Conformational analysis of the exopolysaccharide from *Burkholderia caribensis* strain MWAP71: Impact on the interaction with soils**. *Biopolymers* 2003, **69**(4):480-497.
147. Cerius². In., version 4.6 edn. San Diego, CA: Accelrys; 2001.
148. Allen MP, Tildesley DJ: **Computer Simulation of Liquids**; 1987.
149. Skipper NT, Chang F-RC, Sposito G: **Monte Carlo simulation of interlayer molecular structure in swelling clay minerals. 1. Methodology**. *Clays and Clay Minerals* 1995, **43**(3):285-293.
150. Skipper NT, Sposito G, Chang F-RC: **Monte Carlo simulation of interlayer molecular structure in swelling clay minerals. 2. Monolayer hydrates**. *Clays and Clay Minerals* 1995, **43**(3):294-303.
151. Delville A: **Modeling the clay-water interface**. *Langmuir* 1991, **7**(3):547 - 555.
152. Chang F-RC, Skipper NT, Sposito G: **Computer Simulation of Interlayer Molecular Structure in Sodium Montmorillonite Hydrates**. *Langmuir* 1995, **11**(7):2734-2741.
153. Chang F-RC, Skipper NT, Sposito G: **Monte Carlo and molecular dynamics simulations of interfacial structure in lithium-montmorillonite hydrates**. *Langmuir* 1997, **13**(7):2074-2082.

154. Chang F-RC, Skipper NT, Sposito G: **Monte Carlo and Molecular Dynamics Simulations of Electrical Double-Layer Structure in Potassium-Montmorillonite Hydrates.** *Langmuir* 1998, **14**(5):1201-1207.
155. Odriozola G, Guevara FJ: **Na-montmorillonite hydrates under basin conditions : hybrid montecarlo and molecular dynamics simulations.** *Langmuir* 2004, **20**(5):2010-2016.
156. Sposito G, Skipper NT, Sutton R, Park S, Soper AK, Greathouse JA: **Surface geochemistry of the clay minerals.** *Proc Natl Acad SciUSA* 1999, **96**:3358-3364.
157. Teppen BJ, Rasmussen K, Bertsch PM, Miller DM, Schaefer L: **Molecular Dynamics Modeling of Clay Minerals. 1. Gibbsite, Kaolinite, Pyrophyllite, and Beidellite.** *Journal of Physical Chemistry B* 1997, **101**(9):1579-1587.
158. Capkova P, Pospisil M, Weiss Z: **Combination of modeling and experiment in structure analysis of intercalated layer silicates.** *Journal of Molecular Modeling* 2003, **9**(3):195-205.
159. Capkova P, Maly P, Pospisil M, Klika Z, Weissmannova H, Weiss Z: **Effect of surface and interlayer structure on the fluorescence of rhodamine B-montmorillonite: modeling and experiment.** *Journal of Colloid and Interface Science* 2004, **277**(1):128-137.
160. Capkova P, Pospisil M, Valaskova M, Merinska D, Trchova M, Sedlakova Z, Weiss Z, Simonik J: **Structure of montmorillonite cointercalated with stearic acid and octadecylamine: Modeling, diffraction, IR spectroscopy.** *Journal of Colloid and Interface Science* 2006, **300**(1):264-269.
161. Capkova P, Pospisil M, Vavra P, Zeman S: **Characterisation of explosive materials using molecular dynamics simulations.** *Theoretical and Computational Chemistry* 2003, **12**(Energetic Materials, Part 1):49-60.
162. Gardebien F, Bredas J-L, Lazzaroni R: **Molecular dynamics simulations of nanocomposites based on poly(e-caprolactone) grafted on montmorillonite clay.** *Journal of Physical Chemistry B* 2005, **109**(25):12287-12296.
163. Gardebien F, Gaudel-Siri A, Bredas J-L, Lazzaroni R: **Molecular Dynamics Simulations of Intercalated Poly(e-Caprolactone)-Montmorillonite Clay Nanocomposites.** *Journal of Physical Chemistry B* 2004, **108**(30):10678-10686.
164. Gaudel-Siri A, Brocorens P, Siri D, Gardebien F, Bredas J-L, Lazzaroni R: **Molecular Dynamics Study of e-Caprolactone Intercalated in Wyoming Sodium Montmorillonite.** *Langmuir* 2003, **19**(20):8287-8291.
165. Sikdar D, Katti DR, Katti KS: **A molecular model for e-caprolactam-based intercalated polymer clay nanocomposite: integrating modeling and experiments.** *Langmuir* 2006, **22**(18):7738-7747.

166. Sikdar D, Katti DR, Katti KS, Bhowmik R: **Insight into molecular interactions between constituents in polymer clay nanocomposites.** *Polymer* 2006, **47**(14):5196-5205.
167. Zeng QH, Yu AB, Lu GQ, Standish RK: **Molecular Dynamics Simulation of Organic-Inorganic Nanocomposites: Layering Behavior and Interlayer Structure of Organoclays.** *Chemistry of Materials* 2003, **15**(25):4732-4738.
168. Zeng QH, Yu AB, Lu GQ, Standish RK: **Molecular dynamics simulation of the structural and dynamic properties of dioctadecyldimethyl ammoniums in organoclays.** *Journal of Physical Chemistry B* 2004, **108**(28):10025-10033.
169. Fermeglia M, Ferrone M, Pricl S: **Computer simulation of nylon-6/organoclay nanocomposites: prediction of the binding energy.** *Fluid Phase Equilibria* 2003, **212**(1-2):315-329.
170. Toth R, Coslanich A, Ferrone M, Fermeglia M, Pricl S, Miertus S, Chiellini E: **Computer simulation of polypropylene/organoclay nanocomposites: characterization of atomic scale structure and prediction of binding energy.** *Polymer* 2004, **45**(23):8075-8083.
171. Tanaka G, Goettler LA: **Predicting the binding energy for nylon 6,6/clay nanocomposites by molecular modeling.** *Polymer* 2002, **43**(2):541-553.
172. Katti KS, Sikdar D, Katti DR, Ghosh P, Verma D: **Molecular interactions in intercalated organically modified clay and clay-polycaprolactam nanocomposites: Experiments and modeling.** *Polymer* 2006, **47**(1):403-414.
173. Pospisil M, Capkova P, Weiss Z, Chmielova M: **Study of organically modified clays: molecular modelling and experiment.** *Acta Universitatis Carolinae, Geologica* 2002, **44**(2-4):137-139, 131 plate.
174. Pospisil M, Capkova P, Weiss Z, Malac Z, Simonik J: **Intercalation of octadecylamine into montmorillonite: molecular simulations and XRD analysis.** *Journal of colloid and interface science FIELD Publication Date:2002* 2002, **245**(1):126-132. FIELD Reference Number: FIELD Journal Code:0043125 FIELD Call Number:.
175. Pospisil M, Capkova P, Weissmannova H, Klika Z, Trchova M, Chmielova M, Weiss Z: **Structure analysis of montmorillonite intercalated with rhodamine B: modeling and experiment.** *Journal of Molecular Modeling* 2003, **9**(1):39-46.
176. Pospisil M, Kalendova A, Capkova P, Simonik J, Valaskova M: **Structure analysis of intercalated layer silicates: combination of molecular simulations and experiment.** *Journal of Colloid and Interface Science* 2004, **277**(1):154-161.
177. Yu CH, Newton SQ, Norman MA, Schafer L, Miller DM: **Molecular dynamics simulations of adsorption of organic compounds at the clay mineral/aqueous solution interface.** *Structural Chemistry* 2003, **14**(2):175-185.

178. Yu C-H, Newton SQ, Norman MA, Miller DM, Schafer L, Teppen BJ: **Molecular dynamics simulations of the adsorption of methylene blue at clay mineral surfaces.** *Clays and Clay Minerals* 2000, **48**(6):665-681.
179. Newman SP, Di Cristina T, Coveney PV, Jones W: **Molecular Dynamics Simulation of Cationic and Anionic Clays Containing Amino Acids.** *Langmuir* 2002, **18**(7):2933-2939.
180. Yu CH, Norman MA, Newton SQ, Miller DM, Teppen BJ, Schafer L: **Molecular dynamics simulations of the adsorption of proteins on clay mineral surfaces.** *Journal of Molecular Structure* 2000, **556**(1-3):95-103.
181. Sutton R, Sposito G: **Molecular simulation of a humic substance-Ca-montmorillonite complexes.** *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2006, **70**:3566-3581.
182. Rappe AK, Casewit CJ, Colwell KS, Goddard WA, III, Skiff WM: **UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations.** *Journal of the American Chemical Society* 1992, **114**(25):10024-10035.
183. Casewit CJ, Colwell KS, Rappe AK: **Application of a Universal Force Field to Organic Molecules.** *Journal of the American Chemical Society* 1992, **114**(25):10035-10046.
184. Rappe AK, Goddard WA, III: **Charge equilibration for molecular dynamics simulations.** *Journal of Physical Chemistry* 1991, **95**(8):3358-3363.
185. Ding HQ, Karasawa N, Goddard WA, III: **Atomic level simulations on a million particles: the cell-multipole method for Coulomb and London nonbond interactions.** *Journal of Chemical Physics* 1992, **97**(6):4309-4315.
186. Verlet L: **Computer "experiments" on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules.** *Physical Review* 1967, **159**(1):98-103.
187. Evans DJ, Holian BL: **The Nose-Hoover thermostat.** *Journal of Chemical Physics* 1985, **83**(8):4069-4074.
188. Hoover WG: **Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions.** *Physical Review A* 1985, **31**:1695 - 1697.
189. Connolly ML: **Computation of molecular volume.** *Journal of the American Chemical Society* 1985, **107**(5):1118-1124.
190. Crescimanno G, De Santis A, Provenzano G: **Soil structure and bypass flow processes in a Vertisol under sprinkler and drip irrigation.** *Geoderma* 2007, **138**:110-118.
191. Beall GW, Goss M: **Self-assembly of organic molecules on montmorillonite.** *Applied Clay Science* 2004, **27**(3-4):179-186.

192. Cygan RT, Guggenheim S, Koster van Groos AF: **Molecular Models for the Intercalation of Methane Hydrate Complexes in Montmorillonite Clay.** *Journal of Physical Chemistry B* 2004, **108**(39):15141-15149.
193. Tshipursky SI, Drits VA: **The distribution of octahedral cations in the 2:1 layers of dioctahedral smectites studied by oblique-texture electron diffraction.** *Clay Minerals* 1984, **19**(2):177-193.
194. Viani A, Gualtieri A, Artioli G: **The nature of disorder in montmorillonite by simulation of X-ray powder patterns.** *American Mineralogist* 2002, **87**(7):966-975.
195. Greathouse JA, Refson K, Sposito G: **Molecular dynamics simulation of water mobility in magnesium-smectite hydrates.** *Journal of the American Chemical Society* 2000, **122**(46):11459-11464.
196. Perez S, Kouwijzer M, Mazeau K, Engelsen SB: **Modeling polysaccharides: Present status and challenges.** *Journal of Molecular Graphics* 1996, **14**(6):307-321.
197. CERMAV: **GLYCO3D: A site for glycosciences** CERMAV-CNRS web site : <http://www.cermav.cnrs.fr/glyco3d> 2007.
198. Engelsen SB, Cros S, Mackie W, Perez S: **A molecular builder for carbohydrates: Application to polysaccharides and complex carbohydrates.** *Biopolymers* 1996, **39**(3):417-433.
199. Elsass F, Chenu C, Tessier D: **Transmission electron microscopy for soil samples: preparation methods and use.** *Soil Science Society of America Book Series* 2008, **5**(Methods of Soil Analysis, Part 5: Mineralogical Methods):235-268.
200. Theng BKG, Yuan G, Hashizume H: **Clay minerals and polymers: From soils to nanocomposites.** *Clay Science* 2005, **12**(Suppl. 1):69-73.
201. Raschip IE, Yakimets I, Martin CP, Paes SS, Vasile C, Mitchell JR: **Effect of water content on thermal and dynamic mechanical properties of xanthan powder: A comparison between standard and novel techniques.** *Powder Technology* 2008, **182**(3):436-443.
202. Cojazzi G, Pizzoli M: **Thermal behavior of water in crosslinked dextran.** *Macromolecular Chemistry and Physics* 1999, **200**(10):2356-2364.
203. Park S, Venditti RA, Jameel H, Pawlak JJ: **Hard-to-remove water in cellulose fibers characterized by thermal analysis: a model for the drying of wood-based fibers.** *Tappi Journal* 2007, **6**(7):10-16.