

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 642

Ecole doctorale Végétal, Animal, Aliment, Mer, Environnement

Spécialité : Chimie macromoléculaire - Biopolymères et Matériaux biosourcés

Par

« **Asna VAKERI** »

« **Understanding the competition between aggregation and coacervation phenomena in protein/polysaccharide and synthetic polyelectrolyte/polysaccharide systems** »

Thèse présentée et soutenue à « Nantes », le « 11/03/2025 »

Unité de recherche : **Biopolymères Interactions Assemblages**

Rapporteurs avant soutenance :

Fabienne Gauffre	Directrice de recherche, CNRS, Institut des Sciences Chimiques, Rennes
Jean-Paul Chapel	Directeur de recherche, CNRS, Centre de Recherche Paul Pascal, Pessac

Composition du Jury :

	Prénom Nom	Fonction et établissement d'exercice (à préciser après la soutenance)
Président :		
Examineurs :	Isabelle Morfin	Chargée de recherche, CNRS, Université de Grenoble Alpes, LiPhy, Grenoble
	Michael Nigen	Maître de conférences, Université de Montpellier, UMR 1208 IATE, Montpellier
Dir. de thèse :	Denis Renard	Directeur de recherche, INRAE, UR 1268 BIA, Nantes
Co-dir. de thèse :	Saïd Bouhallab	Directeur de recherche, INRAE, UMR STLO, Rennes
Co-encadrement :	Adeline Boire	Chargée de recherche, INRAE, UR 1268 BIA, Nantes

Invité(s)

Prénom Nom	Antoine Bouchoux	Chargé de recherche, INRAE, TBI, Toulouse
------------	------------------	---

Titre: Comprendre la compétition entre les phénomènes d'agrégation et de coacervation dans les systèmes protéine/polysaccharide et polyélectrolyte synthétique/polysaccharide

Mots clés: Coacervation, Agrégation, Millifluidique à gouttes, Interaction électrostatique, Thermodynamique, Études structurales

Résumé: Cette thèse explore l'interaction entre l'agrégation et la coacervation dans les systèmes de complexes de polyelectrolytes (PEC), en utilisant des mélanges lysozyme-alginate et polyéthylèneimine (PEI)-alginate comme modèles. L'agrégation forme des assemblages fractals denses, pilotés par de fortes interactions électrostatiques, tandis que la coacervation implique une séparation de phase liquide-liquide due à une affinité de liaison réduite. La millifluidique à gouttes, la calorimétrie de titration isotherme (ITC) et la diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) ont été utilisés pour étudier l'influence de la force ionique sur ces comportements. Dans les systèmes lysozyme-alginate, le SAXS a révélé une transition de l'agrégation à faible force ionique (<50 mM NaCl) à la coacervation (~150 mM NaCl) et à la formation de complexes nanométriques (~200 mM NaCl), corroborée

par l'ITC montrant des interactions électrostatiques atténuées à des concentrations de sel plus élevées. En revanche, les systèmes PEI-alginate ont formé des coacervats même à faible force ionique, avec un PEI ramifié maintenant une complexation robuste jusqu'à 1,8 M NaCl grâce à sa densité de charge élevée. L'ITC a mis en évidence une coacervation favorable sur le plan entropique dans les systèmes PEI-alginate, contrastant avec le comportement enthalpique observé dans les systèmes lysozyme-alginate. En comparant les systèmes protéine-polysaccharide et polyelectrolyte synthétique-polysaccharide, ce travail identifie les paramètres clés régissant le comportement des PEC et offre des perspectives pour la conception de matériaux avancés en biotechnologie et en science des matériaux mous.

Title: Understanding the competition between aggregation and coacervation phenomena in protein/polysaccharide and synthetic polyelectrolyte/polysaccharide systems

Keywords: Coacervation, Aggregation, Droplets-based millifluidic, Electrostatic interaction, thermodynamic, structural studies

Abstract: This thesis investigates the interplay between aggregation and coacervation in polyelectrolyte complex (PEC) systems, using lysozyme-alginate and polyethyleneimine (PEI)-alginate mixtures as models. Aggregation forms dense, fractal assemblies driven by strong electrostatic interactions, while coacervation involves liquid-liquid phase separation with reduced binding affinities. A droplets-based millifluidic setup, isothermal titration calorimetry (ITC), and small-angle X-ray scattering (SAXS) were used to study the influence of ionic strength on these behaviors. In lysozyme-alginate systems, SAXS revealed a transition from aggregation at low ionic strengths (<50 mM NaCl) to coacervation (~150 mM NaCl) and

formation of nanosized complexes (~200 mM NaCl), supported by ITC showing screened electrostatic interactions at higher salts. Conversely, PEI-alginate systems formed coacervates even at low ionic strengths, with branched PEI maintaining robust complexation up to 1.8 M NaCl due to its higher charge density. ITC highlighted entropically favorable coacervation in PEI-alginate, contrasting with enthalpically driven aggregation and coacervation in lysozyme-alginate. By comparing protein-polysaccharide and synthetic polyelectrolyte-polysaccharide systems, this work elucidates key parameters governing PEC behavior and offers insights for designing advanced materials in biotechnology and soft matter science.