



HAL
open science

ETUDE DE L'OXYDATION ET DE L'HYDROLYSE EN MILIEU DIPHASIQUE SOLIDE-GAZ DES GLUCOMANNANES ET D'AUTRES POLYSACCHARIDES

Roberto Nervo

► **To cite this version:**

Roberto Nervo. ETUDE DE L'OXYDATION ET DE L'HYDROLYSE EN MILIEU DIPHASIQUE SOLIDE-GAZ DES GLUCOMANNANES ET D'AUTRES POLYSACCHARIDES. Chimie. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2010. Français. NNT: . tel-00465186

HAL Id: tel-00465186

<https://theses.hal.science/tel-00465186>

Submitted on 19 Mar 2010

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 DE GRENOBLE

THESE

CONFIDENTIELLE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE GRENOBLE

(Arrêté ministériel du 7 août 2006)

Discipline : chimie physique moléculaire et structurale

Présentée et soutenue à huis clos par

Roberto NERVO

Le 17 février 2010

**ETUDE DE L'OXYDATION ET DE L'HYDROLYSE EN MILIEU DIPHASIQUE
SOLIDE-GAZ DES GLUCOMANNANES ET D'AUTRES POLYSACCHARIDES**

Composition du jury :

Serge PEREZ	(président)
Jean-Stéphane CONDORET	(rapporteur)
Philippe MICHAUD	(rapporteur)
Alain DURAND	(examineur)
Alain HEYRAUD	(examineur)
Daniel SAMAIN	(invité)
Philippe VIEILLE	(invité)

Thèse préparée au sein du
CENTRE DE RECHERCHES SUR LES MACROMOLECULES VEGETALES,
CERMAV-CNRS, GRENOBLE

*Questo lavoro é dedicato alla mia famiglia,
senza il loro aiuto non avrei mai potuto raggiungere
questo risultato importantissimo per la mia vita... Grazie di cuore.*

≈ ≈ ≈

*Ce travail est dédié à ma famille,
sans l'aide que j'ai reçue je n'aurais jamais pu obtenir
ce résultat très important pour ma vie... Merci de tout cœur.*

« Dum loquimur fugerit invida aetas:
carpe diem, quam minimum credula postero. »

Quintus Horatius Flaccus
poeta romano

Remerciements

Nous avons passé ensemble de nombreuses années au CERMAV, le Centre de Recherche sur les Macromolécules Végétales de Grenoble, un formidable laboratoire, mais aussi un groupe de personnes aimables et amicales. Le temps de se quitter est malheureusement arrivé et il m'est très difficile et perçu comme une dure épreuve de vous remercier tous ensemble dans ces pages.

Je commence par remercier Serge Perez qui m'a accueilli dans ce laboratoire en 2004 pour le projet de fin d'études de mon diplôme de Master et également Redouane Borsali qui dirige actuellement ce laboratoire. Je remercie Philippe Vieille et Jean-Marc Parry, pour s'être investis et avoir cru en moi dès mon plus jeune âge, Mathieu Le Bras pour l'important travail effectué ensemble et l'entreprise Kalys pour avoir financé cette thèse CIFRE.

Je voudrais remercier les membres du jury, certains venus de loin, qui ont accepté d'évaluer ce manuscrit et la présentation orale. L'échange lors de la soutenance a été très agréable et enrichissant. Un grand merci à Serge Perez, Jean-Stéphane Condoret, Philippe Michaud, Alain Durand.

Je remercie sincèrement Alain Heyraud pour avoir assuré l'encadrement scientifique de ce travail. Je lui suis particulièrement reconnaissant de m'avoir amené jusqu'à la fin de la thèse sans laisser les difficultés rencontrées nous barrer la route. J'exprime aussi toute ma gratitude à Daniel Samain pour avoir co-encadré ce travail, ainsi que pour ses conseils.

Un remerciement spécial et très particulier va à Marguerite Rinaudo, à la quelle je dois beaucoup. Merci à elle pour m'avoir « déraciné » de Turin, pour m'avoir ouvert les yeux vers le monde de la recherche scientifique, pour m'avoir appris, avec son énergie, à lutter dans les difficultés et surtout pour l'aide précieux et les nombreux conseils qu'elle m'a donné pendant ces années. Elle est une personne très importante pour moi.

Je n'aurais pas pu réaliser ce travail sans le support de nombreuses personnes, un merci spécial à Eric Bayma, merci pour son travail ponctuel et très professionnel, mais surtout merci pour son humanité, sa gaieté, son support moral, son amitié. Toutes ces rares qualités ne se perdront jamais.

Je remercie aussi toute l'équipe « Structure et Fonction des Polysaccharides » et j'exprime aussi toute ma gratitude à Karim Mazeau et Luca Albertin pour leurs conseils toujours très pertinents et utiles.

Je tiens à remercier aussi Philippe Colin-Morel, Isabelle Jeacomine, Claude Bosso et Stéphanie Boullanger, Gerard Chambat, Anne Laure Wirotius et Laurine Buon. L'aide qu'ils ont su m'apporter a été cruciale pour la réalisation de ce travail.

Je remercie également Jean-Stéphane Condoret, pour m'avoir permis de travailler au Laboratoire de Génie Chimique de Toulouse dans des conditions de convivialité et de professionnalisme. Je remercie Jerome Cousteils et Alec Maunoury pour leur support technique ainsi que Severine Camy et Philippe Destrac pour leur aide et conseils.

Je souhaite exprimer ma reconnaissance de façon moins formelle, mais tout aussi sincère, à toutes les différentes personnes connues ici au laboratoire qui m'ont accompagné dans cette aventure : Caroline C., Shirin K., Aurélie R., LEMONIA B., Anna S., Nicole M., Camélia S., Jimmy BS, Julie A., Sophie B., Hélène VDB, Carole AH, Ali G., Ondrej S., Yoko O., Johanna P., Martine et Magalie, Alain mon prof. de golf, Pierre... la liste est sans fin !!!

Un merci très particulier va à trois personnes spéciales, trois amis, trois grands esprits : Michael R., Issei O., Eduardo A.

Thanks to Michael, an amazing person, humble, intelligent, rare. I discovered him as a friend, a very, very important one. He always helped me with the utmost commitment and the least effort, it was a pleasure to meet him, and I'm sure our friendship will be eternal.

Muchas gracias a Eduardo, por todo lo que ha hecho en estos años en el periodo final, el mas duro de mi tesis. Ha sido un placer para mi de compartir momentos de todos los tipos juntos, y esta es una experiencia de vida que nunca olvidaré.

一世、どうもありがとう。彼は日本とイタリアの心を半分ずつ持ちあわせた大きな人です。彼はいつも私にアドバイスと笑いを提供してくれました。博士過程の間彼が注いでくれた友情は、私にとってとても素晴らしく、かけがえのない大切なものです。彼は私の視野を新しい世界に、そして驚くほど豊かな新しい文化へと広げてくれました。どうもありがとう。

Un enorme agradecimiento es por una persona muy especial, Ludi, que me acompañó durante mucho tiempo en esta aventura de doctorado, fue capaz de aguantarme en los momentos difíciles, y es en parte también debido a su alcance este objetivo. También doy las gracias a Maritin, una persona única con un corazón enorme. Gracias por reunirse con ella y su disponibilidad. Ella también ha hecho mucho por nosotros en estos últimos años.

Maintenant c'est le temps des remerciements en italien, la lingua di Dante Alighieri, diretta discentente della madre di numerose lingue : il latino.

Grazie a tutti gli amici italiani, che in tutti questi anni ho conosciuto a Grenoble o che mi sono portato dietro da Torino anche se per un breve periodo. Grazie a Luca, un amico molto importante per me, che mi ha accompagnato nella prima avventura dell'erasmus e con il quale non mi sono mai perso di vista e con cui anzi ho ancor più rafforzato il rapporto. Grazie ad Andrea, detto Paco, anche lui é stato per me, sin dai tempi del politecnico, un amico importante, un compagno di serate ma anche di esami, ed é una bella amicizia quella che oggi ci lega. Grazie a Diego, una persona molto generosa.

Un ringraziamento speciale va a Paolo, un amico formidabile, una persona onesta e generosa, che ha saputo accompagnarmi in tutti questi anni, portando avanti insieme seriamente ed allo stesso tempo a cuor leggero il progetto di dottorato qui in Francia. Lui é per me un fratello mancato. Grazie per le pinte di birra, le feste da sbiellati ma anche per la serietà e l'intelligenza del suo impegno che mi hanno dato un grande esempio di vita.

Grazie alla combriccola di stampo prettamente « siculo », Valerio, Ennio, Delfina, senza di voi ragazzi le giornate sarebbero tutte grigie e piene di neve, chissà che freddo... Io, e loro lo sanno, sono praticamente diventato per merito loro, un torinese, che parla siciliano, rimpiange di non essere del sud ed ha ormai un cuore mezzo mezzo. Grazie a Lorenzo ovvero « dj Jim von Lunetta Dos Santos in Autopista con Pantano », grazie a Giuseppe, detto Pino ma anche Grigio, e grazie ad Alessio ed Emilie, una coppia franco-italiana : un notaio ed una istitutrice.

Un grand merci encore à toutes les personnes qui m'ont accompagné, de près ou de loin, pendant cette aventure.



Roberto Nervo

ETUDE DE L'OXYDATION ET DE L'HYDROLYSE EN MILIEU DIPHASIQUE SOLIDE-GAZ DES GLUCOMANNANES ET D'AUTRES POLYSACCHARIDES

Mots clés: glucomannane, polysaccharides, oligosaccharides, dépolymérisation, oxydation, état solide, catalyse acide, hydrolyse, dioxyde d'azote.

Le travail présenté dans ce mémoire porte sur la modification d'un polysaccharide extrait d'un tubercule d'espèces d'*Amorphophallus konjac sp.*, une plante pérenne appartenant à la famille des *Araceae*. Ce polysaccharide, le glucomannane, est un copolymère linéaire soluble dans l'eau, constitué de résidus D-mannopyranosyle (M) et D-glucopyranosyle (G) liés en β -(1→4) ($M/G \cong 1,6$) et la chaîne principale présente des groupements acétyles. La masse molaire varie de 4.10^5 à 2.10^6 g.mol⁻¹ selon les sources botaniques et les méthodes de purification, et l'étude de sa structure ainsi que ses propriétés physico-chimiques ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche. Pour trouver des nouvelles voies de valorisation de ce polysaccharide la modification de sa structure et/ou la réduction de sa masse molaire ont été envisagées. Le but était d'obtenir, soit des polysaccharides originaux avec des propriétés physico-chimiques différentes de celles du polymère de départ, soit des polymères de faible masse molaire ou des oligosaccharides présentant des activités biologiques particulières. Nous avons étudié la modification chimique de glucomannanes par oxydation avec le dioxyde d'azote et l'obtention d'oligosaccharides de glucomannane par des méthodes classiques en milieu aqueux telles que l'hydrolyse acide et enzymatique. *In fine* nous avons développé une nouvelle méthode d'obtention d'oligoglucomannanes partiellement oxydés par réaction hétérogène en milieu diphasique solide/gaz avec le dioxyde d'azote et obtenus des molécules chargées de petites tailles. Nous avons généralisé cette méthode à d'autres polysaccharides sélectionnés parmi les plus connus (alginates, agar, cellulose, xanthane, galactomannanes et dextrans) et enfin nous avons évoqué les principales perspectives de valorisation des molécules obtenues, en particulier grâce aux activités antivirales et prébiotiques.

STUDY OF THE BIPHASIC SOLID-GAS OXIDATION AND HYDROLYSIS OF GLUCOMANNANS AND OTHERS POLYSACCHARIDES

Keywords: glucomannan, polysaccharides, oligosaccharides, depolymerisation, oxidation, solid-state, acid catalysis, hydrolysis, nitrogen dioxide.

The study presented in this manuscript deals with the modification of a polysaccharide extracted from a tuber of *Amorphophallus konjac sp.*, a perennial plant belonging to the *Araceae* family. This polysaccharide, the glucomannan, is a water-soluble linear copolymer of β -(1→4) linked D-mannopyranosyl (M) and D-glucopyranosyl (G) units ($M/G \cong 1.6$) which contains a small percentage of O-acetyl groups. The molar mass varies between 4.10^5 and 2.10^6 g.mol⁻¹ depending on botanical sources and purification methods. Elucidation of its structure as well as its physicochemical properties have been the subject of several studies. Modification and molecular weight reduction of this polymer were carried out in order to find novel applications. The aim was either to obtain novel polysaccharides with different physicochemical properties from those of the starting polymers, or low molecular weight polysaccharides and oligosaccharides with specific biological activities. Chemical modification of glucomannans by oxidation with NO₂ and its conventional depolymerisation by acids or enzymes were investigated. Heterogeneous solid-state hydrolysis and oxidation were studied as a novel method to obtain oxidized glucomannan oligosaccharides. This method was applied to other polysaccharides which include: alginates, agar, cellulose, xanthan, galactomannans and dextrans. Antiviral and prebiotic activities are the main applications of these molecules as a perspective of this work.