

N° d'ordre : 585

50376
1990
207

50376
1990
207

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE FLANDRES ARTOIS

por obtenir le titre de

DOCTEUR

Mention SPECTROCHIMIE

par

Majda SEKKAL



UTILISATION CONJOINTE DE LA SPECTROMETRIE IRTF ET DE LA MODELISATION MOLECULAIRE A L'ETUDE STRUCTURALE DES CARRAGHENANES

Soutenue le 5 octobre 1990 devant la Commission d'Examen



Président :	J. CORSET
Rapporteurs :	J.C. MERLIN G. VERGOTEN
Examineurs :	A. ADDOU P. LEGRAND J. MOLLION

Cette thèse a été réalisée au laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman (CNRS UPR A 2631 L), que dirige Monsieur **J. CORSET**. Il a accepté de présider ce jury, je le remercie et lui exprime mon profond respect.

Monsieur le Professeur **P. LEGRAND** m'a accueillie dans son équipe et m'a initiée à la spectrométrie I.R.T.F. Je le prie de croire en ma respectueuse gratitude.

Ce travail doit beaucoup à Monsieur le Professeur **G. VERGOTEN**, Directeur du Laboratoire de Génie Biologique et Médical de la Faculté de Pharmacie de Lille. Il m'a permis d'utiliser les moyens du CERIM de la Faculté de Médecine, j'ai pu ainsi bénéficier de sa compétence dans le domaine des calculs de champ de forces. Sa grande culture scientifique, qu'il partage avec enthousiasme et générosité, a favorisé l'accomplissement de ce travail. Je l'en remercie. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude.

Monsieur le Professeur **J.C. MERLIN** me fait l'honneur de siéger dans ce jury. Je l'en remercie très vivement ainsi que pour l'intérêt qu'il a montré pour l'objet de ce travail.

Monsieur **J. MOLLION**, Professeur à l'Université de Tuléar (Madagascar) m'a fourni les carraghénanes et m'a fait bénéficier de ses connaissances sur les polysaccharides algaux. Je le remercie et lui exprime mon profond respect.

Monsieur **A. ADDOU**, Professeur à l'Université de Mostaganem (Algérie) me fait l'honneur de juger ce travail, il n'a cessé de m'encourager. Qu'il soit assuré de mes remerciements et de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier également Monsieur **M. DAUCHEZ** et toute l'équipe du Professeur **G. VERGOTEN** pour l'aide précieuse qu'il m'ont fournie.

Je remercie aussi le "Service Assistance" du C.I.T.I., en particulier Monsieur **Y. TINNEL** pour son aide efficace lors de l'implantation du programme NCT.

Mes remerciements s'adressent à tous les chercheurs et techniciens du L.A.S.I.R., en particulier à Madame **G. PETIT** et Monsieur **B. SOMBRET** pour leurs encouragements et leurs conseils, ainsi que Monsieur et Madame **TURRELL**.

Madame **C. DESCAMPS** a réalisé avec beaucoup de soin la préparation de ce manuscrit, je l'en remercie.

Enfin, je remercie le Ministère de l'Enseignement Supérieur et le Gouvernement Algérien pour le support financier.

A mes parents
A mes frères et soeur

SOMMAIRE

	<i>Page</i>
INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1.: DOMAINES D'APPLICATION DES POLYSACCHARIDES ALGAUX STRUCTURES PRIMAIRES DES DIFFERENTS TYPES DE CARRAGHENANES.....	3
I.1. Les algues et la production de phycocolloïdes.....	3
I.2. Les algues concernées.....	4
I.3. Les différentes méthodes de production.....	6
I.4. Les applications des colloïdes industriels et leur marché mondial.....	6
I.4.a. Les agars.....	6
I.4.b. Les carraghénanes.....	7
I.5. Structures chimiques.....	7
I.5.a. Les agars.....	8
I.5.b. Les carraghénanes.....	9
I.6. Structures hybrides.....	21
I.7. Conclusion.....	22
* Bibliographie.....	24
CHAPITRE II : STRUCTURE SECONDAIRE DES CARRAGHENANES. SON ROLE DANS LA GELIFICATION.....	27
II.1. Structure secondaire des carraghénanes.....	29
II.2. Modélisation de la structure secondaire du ι -carraghénane.....	30
II.3. Construction de modèles par minimisation d'énergie.....	34
II.3.a. Principe de la méthode.....	34
II.3.b. Minimisation d'énergie.....	35
II.3.c. Moyens expérimentaux.....	36
II.3.d. Modélisation de κ, ω, μ -carraghénanes.....	36
II.3.d.i. Le κ -carraghénane.....	39
II.3.d.ii. Le ω -carraghénane.....	42
II.3.d.iii. Le μ -carraghénane.....	45
II.4. Relations entre propriétés physiques et biologiques.....	49
II.5. Conclusion.....	52
* Bibliographie.....	54
CHAPITRE III : CALCUL DES MODES NORMAUX DE VIBRATION DE L' α et DU β -D-GALACTOSE DANS UN CHAMP DE FORCES DU TYPE UREY-BRADLEY-SHIMANOUCI MODIFIE.....	56
III.1. Préparation des composés.....	56
III.1.a. Alpha-D-galactose.....	57
III.1.b. Beta-D-galactose.....	57
III.1.c. Deutération des groupements hydroxyles.....	58
Partie A.: Etude spectroscopique.....	59
III.2. Enregistrement des spectres.....	59
III.2.a. Spectres infrarouges.....	59
III.2.b. Spectres Raman.....	60
III.3. Spectres infrarouges et Raman.....	61

III.4. Analyse des travaux antérieurs.....	61
Partie B. : Calcul des modes normaux de vibration..	80
III.5. Mouvements moléculaires.....	80
III.5.a. Equation du mouvement.....	80
III.5.b. Système de coordonnées.....	82
III.6. Construction de la matrice G.....	88
III.6.a. Géométrie de l'alpha et du beta-D-galactose.....	88
III.6.b. Liaisons hydrogène.....	91
III.7. Diagonalisation de G. Construction de la matrice U.....	94
III.8. Energie potentielle. Matrice F.....	98
III.8.a. Dénombrement des modes normaux de vibration.....	98
III.8.b. Potentiel intermoléculaire.....	99
III.8.c. Potentiel intramoléculaire.....	102
III.9. Discussion.....	122
III.9.a. Validité du champ de forces.....	122
III.9.b. Attribution des modes normaux de vibration.....	124
* Bibliographie.....	134

CHAPITRE IV. : ETUDE PAR SPECTROMETRIE IRTF DE QUELQUES
CARRAGHENANES..... 136

IV.1. Les différentes méthodes utilisées.....	136
IV.1.a. Spectroscopie RMN du ¹³ C.....	136
IV.1.b. Spectroscopie Infrarouge.....	137
IV.1.c. Spectroscopie Raman.....	137
IV.2. Caractérisation des carraghénanes par spectroscopie IRTF..	138
IV.2.a. Discussion générale des spectres infrarouges.....	138
IV.2.b. Bandes caractéristiques des groupements sulfate...	146
IV.3. Identification des polysaccharides contenus dans certaines algues rouges.....	150
IV.3.a. L'algue <i>Eucheuma Muricatum</i>	150
IV.3.b. L'algue <i>Eucheuma Striatum</i>	154
IV.3.c. Identification des bandes caractéristiques de l'omega et du beta-carraghénane provenant de l'algue <i>Rissoella verruculosa</i>	155
IV.4. Conclusion.....	159
*Bibliographie.....	161

CONCLUSION..... 163

ANNEXES

Annexe 1 : Coordonnées cartésiennes des atomes constituant la double hélice du ι -carraghénane.....	165
Annexe 2 : Coordonnées des 125 mailles prises en compte dans le calcul CVOA.....	168
Annexe 3 : Ajustement des constantes de force.....	170

Introduction

Les carraghénanes sont des polysaccharides sulfatés que l'on extrait à partir d'algues rouges. Ils sont principalement constitués d'unités α -D-galactose liées en 1,4 alternées avec des unités β -D-galactose liées en 1,3. En fait, la substitution de ces résidus par des groupements hemi-ester sulfate à différentes positions sur le cycle pyranique, permet de définir plusieurs familles, dont les principales sont nommées κ , λ , β et ω . Cette dernière est une espèce mise en évidence très récemment par J. Mollion [I.50].

Les unités liées en 1,4 se présentent souvent sous forme de 3,6 anhydro-D-galactose, mais il existe des types de carraghénanes où elles sont remplacées par des résidus α -D-galactose 6-sulfate. Il s'est avéré que ceux-ci sont les précurseurs biologiques des résidus anhydres. L'importance de ces polygalactanes réside dans le fait que certains d'entre eux sont dotés de propriétés particulières qui permettent de les utiliser comme agents de stabilisation d'émulsion, d'épaississants ou de gélifiants.

La conformation de ces composés est responsable de leurs propriétés physiques, telle que la force de gel. Sachant que le carraghénane du type *iota*, qui a fait l'objet de plusieurs études de structures secondaire et tertiaire, possède une conformation en double hélice, nous avons procédé, en transférant sa géométrie, à une minimisation d'énergie afin d'obtenir les conformations les plus stables pour les autres espèces : κ , ω et μ . Les structures finales obtenues pour les deux premières, sont très semblables à celle déterminée par R.X. pour le *iota*-carraghénane. La présence d'unités D-galactose 6-sulfate dans le dernier (μ) empêche la formation d'une chaîne de polysaccharide en hélice et ne permet même pas l'association de certaines d'entre-elles pour former des agrégats, la configuration du cycle pyranique de ces unités étant à l'origine de ce phénomène. Ceci explique l'absence totale du pouvoir de gélification dans les précurseurs des carraghénanes. Par contre, bien que l'arrangement en double hélice soit une étape importante dans le

mécanisme de gélification, il n'en est pas seul responsable. La nature du cation ainsi que le nombre des groupements sulfate ont un rôle dans l'établissement d'agrégats qui est l'étape finale de la gélification.

Etant donné que le galactose est l'unité de base dans les carraghénanes et qu'il est très difficile, dans le cas de composés aussi complexes, de procéder à une attribution des modes en se basant uniquement sur les groupements fonctionnels, nous avons décidé, dans la troisième partie de ce travail, d'établir le champ de forces de type Urey-Bradley-Shimanouchi modifié pour les deux formes cristallines du D-galactose (α et β). Pour ce faire, nous avons utilisé comme champ de force initial celui qui provient du D-glucose et nous avons procédé à un ajustement des constantes de force en essayant d'obtenir une bonne coïncidence entre les fréquences observées et calculées. Cette étape terminée, la distribution de l'énergie potentielle nous donne l'attribution des bandes observées sur les spectres I.R. et Raman des deux formes anomériques du galactose correspondent aux $3n-6$ modes de vibration internes de chacune de ces molécules, ainsi que les modes de réseaux situés dans les très basses fréquences. Afin de vérifier la transférabilité de ce champ de forces, nous l'avons appliquée à des dérivés isotopiques tels que le D-galactose O-d5 et le D-galactose 1-d.

Dans le quatrième chapitre, nous avons discuté les bandes communes à tous les types de carraghénanes dans les spectres IRTF. La région située entre 900 et 800 cm^{-1} est très caractéristique de chacun de ces types.

Jusqu'à présent, la spectrométrie RMN ^{13}C a été la plus utilisée pour l'identification de ces composés. La spectrométrie IRTF étant plus rapide et plus commode d'utilisation, nous avons cherché à l'utiliser pour étudier un certain nombre de polysaccharides provenant de diverses algues rouges en espérant rendre cette technique aussi fiable que la RMN ^{13}C .

Lors de cette étude spectroscopique, nous avons mis en évidence les bandes caractéristiques de la nouvelle famille oméga carraghénane en comparant différentes fractions provenant de l'algue *Rissoella Verruculosa*, ainsi que celles qui sont propres au carraghénane de type beta qui coexiste avec le précédent dans les nombreuses fractions étudiées.

Chapitre I

Domaines d'application des polysaccharides
algaux.

Structures primaires des différents types
de carraghénanes.

La végétation marine est essentiellement constituée d'algues . Elles font partie d'un groupe fort complexe et varié qui comprend des espèces qui diffèrent parfois sensiblement les unes des autres, par leurs propriétés biologiques, leur mode de reproduction, leur composition chimique, le procédé de leur récolte et leur répartition. Ce groupe comprend lui-même diverses variétés que l'on peut classer en quatre grandes catégories suivant leur pigmentation photosynthétique.

- *Chlorophyceae* : algues vertes
- *Phaeophyceae* : algues brunes
- *Rhodophyceae* : algues rouges
- *Cyanophyceae* : algues bleues-vertes

Les algues bleues-vertes se trouvent dans les eaux douces. Les algues vertes sont présentes aussi bien dans le milieu marin que dans les eaux douces. Elles sont utilisées principalement pour l'alimentation dans les pays de l'Extrême-Orient. Quelques algues bleues-vertes sont cultivées à titre expérimental comme sources de protéïnes. Les algues rouges et brunes sont par contre présentes principalement dans les eaux salées, elles sont très utilisées dans l'alimentation humaine.

L'importance industrielle de ces algues marines ne cesse de croître, car leurs parois sont essentiellement constituées de certains polysaccharides sulfatés peu répandus dans la nature. On les trouve parfois dans certaines espèces animales mais jamais dans la végétation terrestre ou dans les bactéries.

I.1 - LES ALGUES ET LA PRODUCTION DE PHYCOCOLLOIDES

L'exploitation des algues est le domaine le moins connu des pêcheries

mondiales. Elle est pourtant à la base d'activités artisanales et industrielles importantes. On y distingue deux types d'utilisation. Le premier est géographiquement l'Extrême-Orient et concerne l'utilisation des algues pour la consommation humaine. Il est basé sur le développement de la culture extensive. Le second est plus international, financièrement moins conséquent, mais extrêmement actif. Il s'agit de l'extraction à partir d'algues rouges et brunes, des substances particulières : les pyccolloïdes, qui interviennent plus ou moins dans presque tous les domaines de la vie. Les colloïdes algaux, une fois extraits, se présentent sous forme de poudres ayant des usages très divers.

A côté de ces deux grandes orientations, existent à plus petite échelle, d'autres activités tout à fait différentes comme la production d'engrais ou de farine pour le bétail. Ces activités ont été d'ailleurs abandonnées tout comme l'utilisation des algues marines comme sources d'iode ou d'autres matières minérales.

A partir de 1930 (1), on a utilisé les algues pour l'obtention de produits organiques :

- L'acide alginique dont l'association avec certains sels ou métaux permet la synthèse des alginates.
- Les agar-agars que les japonais furent les premiers à utiliser.
- Les carraghénines liés au sodium, potassium ou au calcium. Les sels de carraghénines ne cristallisant pas. Ils ont été dénommés par la suite carraghénanes.

1.2. LES ALGUES CONCERNEES

Les agars et les carraghénanes sont extraits d'une grande variété d'algues rouges, alors que les alginates sont extraits des algues brunes.

Parmi le grand nombre d'espèces d'algues rouges, la plus anciennement exploitée est l'algue *Chondrus Crispus* mais elle est de plus en plus remplacée par une algue cultivée : le *Eucheuma*.

Les agars sont par contre, extraits d'une grande variété de *Gélidium* et *Gracilaria*. En résumé, les espèces les plus connues sont regroupées dans le tableau suivant [2,3,4] :

* Phaeophyceae (Algues brunes)

}	<i>Macrocystis</i>	ALGINATES
	<i>Laminaria</i>	
	<i>Ascophyllum</i>	
	<i>Ecklonia</i>	
	<i>Eisenia</i>	
	<i>Nereocystis</i>	
	<i>Sargassum</i>	

* Rhodophyceae (Algues rouges)

	<i>Chondrus</i>	
}	<i>Gigartina</i>	CARRAGHENANES
	<i>Euclima</i>	
	<i>Hypnea</i>	
	<i>Iridaea</i>	
	<i>Gymnogongrus</i>	
	<i>Ahnfeltia</i>	
	<i>Furcellaria</i>	
}	<i>Gelidium</i>	AGAR
	<i>Gracilaria</i>	
	<i>Pterocladia</i>	

Certains auteurs ont défini, un colloïde de type nouveau extrait de l'algue *Furcellaria*, c'est la Furcellarane [2]. Cette dernière a d'abord été considérée comme un remplaçant de l'agar, mais elle a plutôt des propriétés voisines du carraghénane de type kappa et du type beta, qui sera défini plus loin. L'importance de ce colloïde réside surtout dans le fait que, mélangé aux agars, aux carraghénanes ou aux alginates, il permet d'obtenir des gélifiants dotés de propriétés particulières.

La teneur des algues en polysaccharides varie suivant, le lieu de récolte, la saison et l'espèce de l'algue considérée. Les algues marines contiennent également des acides gras que l'on peut extraire par de l'éther isopropylique [5]. Des analyses chromatographiques ont montré que ces acides gras, notamment ceux extraits des algues *Euclima spinosum*, *Euclima cottonii*

et *Chondrus Crispus* sont essentiellement composés de cholestérol.

I.3. LES DIFFERENTES METHODES DE PRODUCTION

Les anciens systèmes de récolte étant considérés comme peu rentables, les sociétés se livrent actuellement à une vive concurrence au niveau des sources d'approvisionnement, des techniques de culture, des processus d'extraction, des modes de conditionnement qui se substituent aux méthodes de productions naturelles.

Bien que les stocks naturels d'algues à agar ou à carraghénane continuent à être exploités, ces deux colloïdes sont de plus en plus extraits d'algues de culture. Ces méthodes de culture ont été développées par des chercheurs aux Etats Unis et au Canada [6,9-13].

A cause de son importance comme source de carraghénanes, *Chondrus Crispus* est la première algue à avoir fait l'objet de cultures [14], à titre expérimental alors que les cultures de l'algue du type *Eucheuma* et *Gracilaria* sont largement pratiquées en Extrême Orient. 70.000 tonnes en poids sec d'algues sont ainsi produites.

L'amélioration génétique de *Laminaria Japonica*, a été le succès le plus remarquable réalisé par des chercheurs chinois. Cette manipulation génétique, consiste en des mutations induites par rayons X [15,16,17].

I.4. LES APPLICATIONS INDUSTRIELLES DES COLLOIDES ET LEUR MARCHÉ MONDIAL

Les hydrocolloïdes présentent un grand intérêt industriel, 168 espèces d'algues sont utilisées pour l'industrie alimentaire [7,8]. Les trois types de polysaccharides cités précédemment ont des propriétés communes, ils sont utilisés essentiellement comme agents épaississants et gélifiants. Cependant chaque espèce possède en plus d'autres propriétés qui génèrent des applications spécifiques.

I.4.a - Les agars

Ils ont la propriété de donner des gels durs, résistants à l'attaque des

microorganismes, ce qui n'est pas le cas des autres colloïdes. Ils supportent les fortes pressions sans s'hydrolyser et ils peuvent être stérilisés plusieurs fois sans perdre leurs propriétés. Ils sont donc utilisés dans l'industrie alimentaire comme agents englobants certains aliments. Ils sont également employés dans l'industrie photographique pour la production de pellicules sensibles.

I.4.b - Les carraghénanes

Les différents types de polysaccharides appartenant à la famille des carraghénanes (κ , ι , λ , ...) que nous allons définir plus loin, ont des propriétés fonctionnelles très variées. Certains donnent des gels thermoréversibles plus mous que les agars mais leurs échelles de viscosité peuvent concurrencer les alginates dans l'industrie des cosmétiques [9].

D'autres sont utilisés comme agents de suspension dans les produits alimentaires et en particulier dans les produits laitiers U.H.T. où ils interviennent comme agents stabilisants pouvant se dissoudre rapidement dans un tel système. Ils ont aussi la propriété de se combiner avec les protéines, en effet, l'adjonction de carraghénanes à la caséine fait que le lait se prend en masse, ceci conduisant à la fabrication d'un grand nombre de produits dérivés du lait (yaourt). Cette propriété est aussi mise à profit dans le traitement des ulcères gastriques, ils peuvent se fixer sur la pepsine et neutraliser son action.

Il existe aussi des perspectives d'applications des carraghénanes concernant leur pouvoir anti-coagulant. D'autre part, la présence d'acides gras particuliers dans les algues de type *Laminaria* et *Sargassum* agit sur le taux de cholestérol, ce qui laisse entrevoir des applications dans le domaine médical.

I.5. STRUCTURES CHIMIQUES

Dès les années 1970, les biologistes ont utilisé les informations sur les structures chimiques des polysaccharides extraits d'algues rouges connues telles que *Chondrus Crispus* et *Gigartina stellatae*, pour essayer d'expliquer

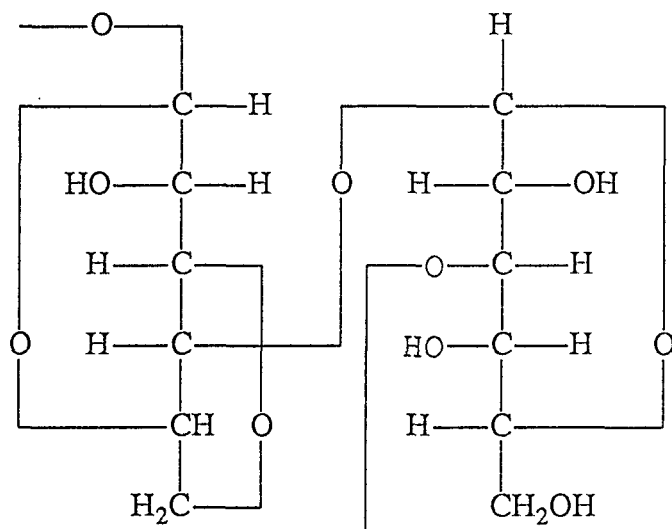
leurs propriétés.

1.4.a - Les agars

C'est Araki et Hirase [19,20, 21] qui ont fait les premières approches sur la structure de polysaccharides algaux du type agar. Ils ont réussi à isoler par méthylation partielle le β -D-4-O- β -D-Galactopyranosyl-3,6 anhydro-L-galactose dimethyl acétal, qu'ils ont appelé par la suite : Agarobiose dimethyl acétal. La caractérisation des produits secondaires de cette méthylation leur a permis d'en déduire la nature des liaisons glycosidiques.

Le résidu 3,6 anhydro-galactose a été identifié grâce à une méthode de mercaptolyse que ces auteurs ont développée et qui consiste à dépolymériser le galactane en milieu acide chlorhydrique en présence de thioéthanol, pour conduire au 3,6 anhydrogalactose diéthyl dithioacétal.

Ils en ont conclu que l'agar est une répétition plus ou moins régulière du motif suivant



Unité α
3,6 anhydro L-galactose

Unité β
D-galactose

La fraction la plus importante extraite de l'agar et qui possède la plus grande capacité de gélification est appelée agarose. Il s'agit d'un copolymère d'unités β -D-galactopyranose. Les motifs répétitifs sont appelés agarobiose. Des études récentes ont indiqué que l'agar consiste en une variété de molécules similaires avec quelques différences dans leur structure chimique. Néanmoins, ceci n'est pas encore très clarifié et certaines ambiguïtés subsistent encore aujourd'hui. Quant aux carraghénanes, bien que leurs structures aient été déterminées une dizaine d'années plus tard, elles sont maintenant bien connues et relativement mieux maîtrisées.

I.5.b - Les carraghénanes

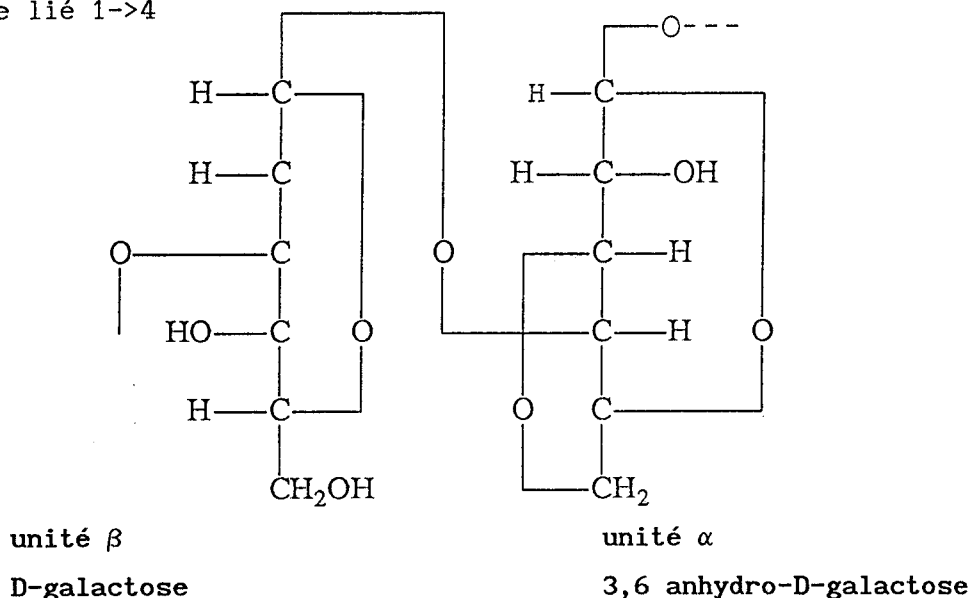
Avant 1950, T. Mori [22] a suggéré que ces polysaccharides sont constituées essentiellement de résidus D-galactose liés en positions C_1 et C_3 . Ceci a été confirmé par Percival [23] qui a effectué la méthode de méthylation sur les mucilages de *Gigartina Stellata* et *Chondrus Crispus* et a pu en isoler le 2,6 Di-O-méthyl- β -Dgalactopyranose, qui démontre la substitution du résidu D-galactose en C_1 , C_3 et C_4 .

Des études de stabilité en milieu alcalin ont montré qu'un demi-ester-sulfate est présent position C_4 . La jonction d'unités galactose se fait donc entre les positions C_1 et C_3 . Certains chercheurs ont suspecté l'existence d'un autre sucre proche du fructose, avant que O'Neil [24] ne démontre que le mucilage de *Chondrus crispus* contient des quantités importantes de 3,6 anhydro-D-galactopyranose. Ces derniers sont mis en évidence en utilisant la même méthode de mercaptolyse décrite auparavant par Araki et Hirase, mais cette fois le résidu anhydride est identifié comme étant l'énanthiomorphe de celui présent dans l'agar. Ce point a été confirmé par la suite par Percival [25]. Ce n'est qu'à partir de ce moment que les différences de structures entre agar et carraghénane ont été élucidées.

Pour compléter les études de structures sur les carraghénanes, Araki et Hirase [26] ont effectué la même méthode de méthylation partielle au mucilage de *Chondrus ocellatus Holmes*, très voisin du *Chondrus crispus* dans ses propriétés chimiques. Le produit de la méthylation est principalement le 2,5 di-O-galactose diméthyl acétal, sa caractérisation a été obtenue par comparaison à son énanthiomorphe, présent dans l'agar. Ce résultat indique que

le résidu D-galactose est lié glycosidiquement à la position C₄ du résidu 3,6 anhydrogalactose. La faible valeur positive de la rotation spécifique du composé obtenu montre qu'il s'agit d'une configuration β pour cette liaison.

A partir du rendement élevé avec lequel le disaccharide a été isolé comme diméthyl acétal et à cause du fait que les résidus D-galactose sont connectés par des liaisons 1,3, il en résulte que les carraghénanes consistent en une alternance de motifs de 3,6 anhydro α-D galactose liés 1->3 et de β-D galactose lié 1->4



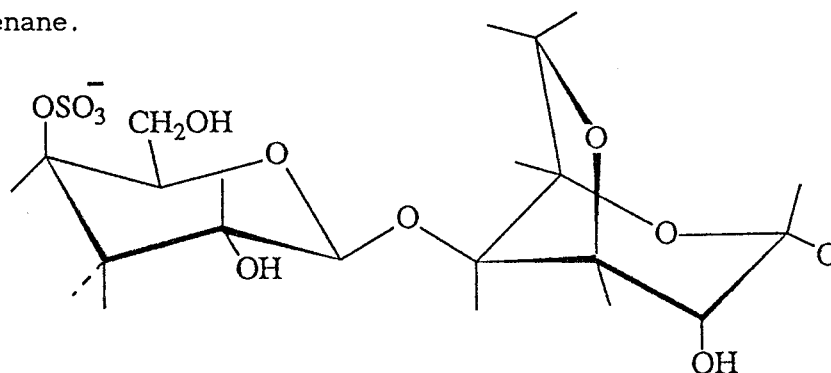
Motif répétitif dans les carraghénanes

Ce disaccharide répétitif a été nommé carrabiose par analogie à l'agarobiose dans les agars [19]. Cependant la nature hétérogène de ces polysaccharides a été longtemps suspectée et plusieurs auteurs ont supposé que plusieurs sortes de carraghénanes pouvaient coexister.

Smith et Cook [27] ont développé une méthode de fractionnement des carraghénanes. Il s'est avéré qu'en ajoutant du chlorure de potassium à une solution diluée de polysaccharides, il se forme deux fractions, une gélifiante qu'on sépare alors par centrifugation et une autre qui reste en solution. La fraction insoluble dans KCl est κ-carraghénane, alors que la fraction soluble est appelée λ-carraghénane.

Une structure du κ-carraghénane a été proposée peu après par O'Neil [28] qui a décrit ce polysaccharide comme un polymère linéaire contenant

alternativement des résidus de β -D-galactose 4-sulfate lié 1,3 et de 3,6 anhydro α -D galactose liés 1,4. Cette sulfatation en C₄ ayant déjà été montrée par Percival [23]. Ce dernier a confirmé cette proposition de structure pour le κ -carraghénane.



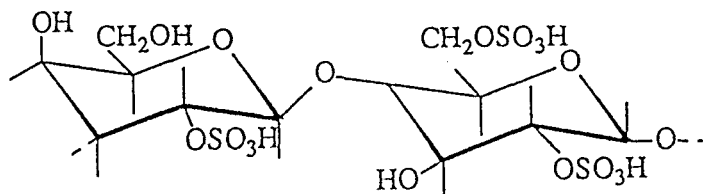
Motif répétitif dans le κ -carraghénane

La fraction restante (λ -carraghénane) est séparée par précipitation à l'éthanol aqueux [29], mais sa structure est restée contestée durant une dizaine d'années. L'une des liaisons glycosidiques a été caractérisée, comme étant du type α -1 \rightarrow 3, étant donné que l'acétylation de la fraction λ donne du 3-O- α -galactopyranosyl D-galactose [29]. Certains auteurs [25,31] ont procédé à l'élimination des sulfates-esters en vue de déduire leurs positions. Les sulfates en C₆ étant très labiles en milieu alcalin, leur élimination SN₂ donne lieu à la formation du pont 3,6 anhydro-galactose avec libération de la même quantité en ions sulfate, ce qui a permis d'introduire la notion d'unité précurseur. Quand un traitement alcalin est fait sur le λ -carraghénane le tiers des sulfates se transforme en ions sulfates libres et entraîne la formation d'unités 3,6 anhydrides. Les unités donnant ce type de transformations (unités précurseurs) ont été identifiées comme constituant 40% des unités structurales principales de ce polysaccharide, ce sont des D-galactose 2,6 disulfate liées en 1,4 [31].

Le résultat d'une méthylation partielle a révélé l'existence d'une liaison glycosidique du type β 1 4 et ce n'est qu'en 1965 [33] que la structure du λ -carraghénane est enfin résolue.

Le fait que les proportions en unités galactose liées 1,4 et celles liées 1,3 soient égales, a permis de conclure à leur alternance dans le λ -carraghénane. Il a aussi été montré qu'un sulfate est souvent présent en C₂ de l'unité liée 1,3.

Le λ -carraghénane ne porte donc aucun sulfate en position C4 pas plus que de ponts 3,6 anhydrogalactose. On représente alors son motif répétitif comme suit :



Motif répétitif dans le λ -carraghénane

Cependant les proportions de sulfate, plus importantes que celles attendues, a laissé supposer qu'il existait des caractères non encore identifiés et que les structures des deux types de carraghénanes n'étaient pas encore complètement élucidées.

En 1955, Bayley [34] avait supposé que des unités "extra" remplacent les résidus 3,6 anhydro-galactose, elles se présentent comme galactose 6-sulfate ou plus rarement comme galactose 2,6 disulfate ou parfois même comme unités non sulfatées.

Quand la fraction κ subit un traitement alcalin [37], les rapports galactose : 3,6 anhydrogalactose : sulfate ,deviennent équimolaires , donc le polysaccharide qui était du type :



se transforme en donnant un polysaccharide régulier du type :



G : unité galactose

A : unité 3,6 anhydro-galactose

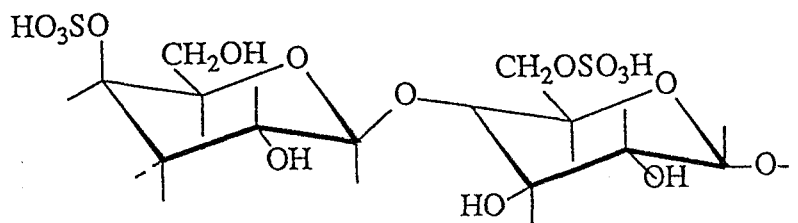
G* : galactose 6-sulfate

Cette modification est aussi possible par traitement enzymatique *in vivo* [35].

Une oxydation périodique montre que les unités 6-sulfate ne proviennent pas du λ -carraghénane, car dans ce cas elles sont aussi 2-sulfatés et seraient donc inattaquables. Ceci n'est pas le cas des unités 6-sulfate présentes dans la fraction κ .

La solubilité dans le chlorure de potassium est insuffisante pour caractériser les polysaccharides présents dans la fraction κ , car ceux-ci sont constitués de deux ou plusieurs types ayant une structure "masquée répétée" introduite par Rees et coll [38], où les unités liées en 1,3 et en 1,4 peuvent être substituées. La structure établie auparavant par O'Neil pour le κ -carraghénane est en fait une structure idéalisée.

L'examen de la fraction soluble dans KCl par méthylation suivi d'hydrolyse a montré [36] qu'il existe en plus du λ -carraghénane déjà défini, une composante non précipitable par KCl, elle possède cependant des analogies avec le κ . En fait le traitement alcalin la transforme totalement en K-carraghénane, il s'agit donc du précurseur biologique de ce dernier, il présente un autre type de carraghénane, appelé μ -carraghénane dont la structure idéalisée est une répétition du motif suivant :

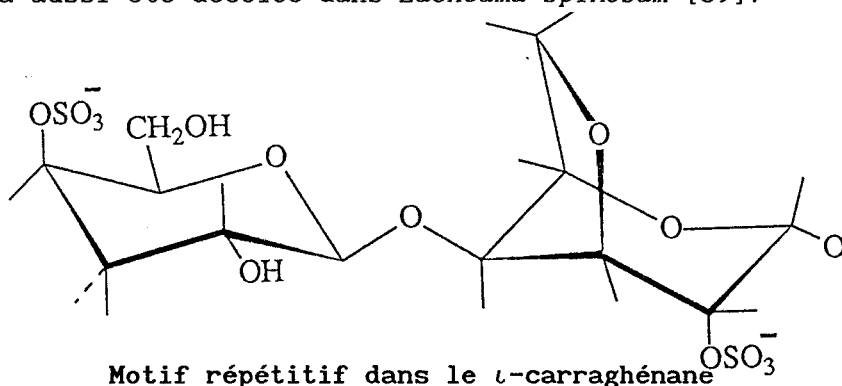


Motif répétitif du μ -carraghénane

L'hypothèse suivant laquelle le μ -carraghénane serait précurseur du κ , a été renforcée par l'isolement d'une enzyme catalysant cette réaction [43].

La partie distincte du μ -carraghénane, résistante à l'hydrolyse a été identifiée par Rees et coll [38] en 1969, elle est nommée ι -carraghénane. Les méthodes de méthylation ont démontré l'existence d'une sulfatation en position

C2 de l'unité liée en 1,4 et une sulfatation en C4 de l'unité liée en 1,3. Cette . Elle a aussi été décelée dans *Eucheuma spinosum* [39].

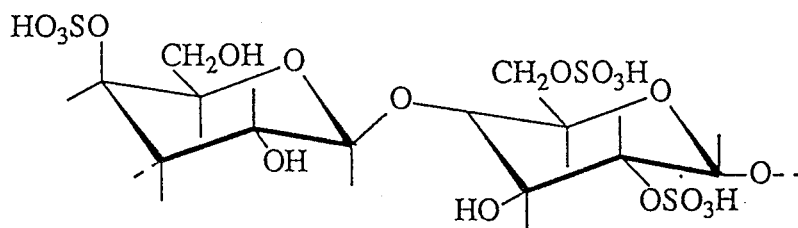


D'autres espèces d'algues rouges ont suscité la curiosité des biologistes et les tentatives d'identification des polysaccharides qu'elles renferment ont permis de mettre en évidence de nouveaux types de carraghénanes.

Ainsi, après traitement alcalin le κ -carraghénane a été mis en évidence dans *Eucheuma cottonii* et le τ -carraghénane dans *Eucheuma spinosum*.

Evidemment, avant ce traitement, certains résidus de galactose sulfaté se trouvent à la place des résidus 3,6 anhydrides. Dans le polysaccharide de *Eucheuma Cottonii*, ces résidus sulfatés sont complètement oxydables par le périodate [39], contrairement à celui présent dans *Eucheuma spinosum*. Ceci indique, en fait, la présence d'un galactose 6-sulfate dans le premier cas et d'un galactose 2,6 disulfate dans le deuxième. Anderson et coll ont suggéré que lorsque les résidus liés en 1,4 sont, soit sous forme de galactose 6-sulfate ou de galactose 2,6 disulfate et que leurs proportions dans le polysaccharide sont supérieures à celles des résidus 3,6 anhydrogalactose, il est préférable de les nommer respectivement μ et ν carraghénane au lieu de κ et ι [39].

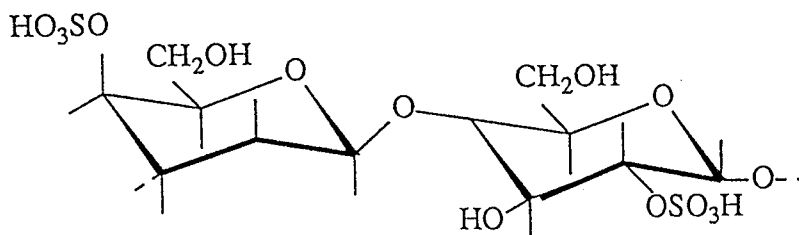
Ils ont alors proposé une structure idéalisée pour le ν -carraghénane représentée par :



L'enzyme isolée à partir de *Chondrus Crispus*, catalysant la conversion du μ -carraghénane en κ , agit également sur le ν le transformant en ι -carraghénane [43].

Lawson et Rees [40] se sont penchés sur l'étude de seize algues rouges pour identifier les structures répétées de leurs galactanes sulfatés. Ils ont alors montré que presque toutes ces structures sont interrompues par des unités galactose 6-sulfates remplaçant les unités 3,6 anhydride. Ils ont appelé ces interruptions "kinking" à cause de leur influence sur la conformation du polysaccharide, que nous allons discuter plus loin.

Par ailleurs, certains polysaccharides provenant de *Eucheuma isoforme*, de *Ahnfeltia durvillae*, de *Arghardihiella tenera* et de *Gymnogongrus furcellatus*, ont des similitudes avec les ι et ν -carraghénanes, mais le traitement alcalin n'a aucun effet sur ces composés. Ceci peut être expliqué, toujours dans le concept de structure masquée répétée, indiquant que les "kinks" ne portent pas de sulfate en position 6 et ne peuvent donc pas se convertir en 3,6 anhydride. Ce type de composés sont appelés "déviant"

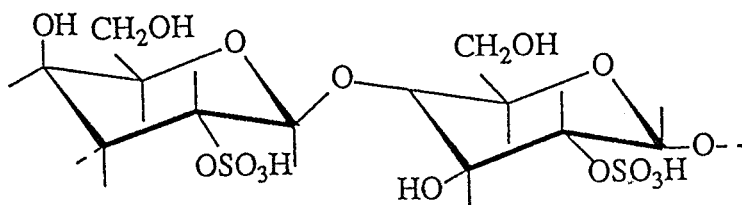


Motif répétitif dans le ι -déviant

Cette même espèce de a été identifiée dans les *Gigartina canaliculata*, *Gigartina chamissoi* et *Gigartina atropurpurea*. Les fractions sont très similaires au λ -carraghénane, car elles contiennent des unités galactose 2-sulfate liées 1,3 et particulièrement dans le polysaccharide de *Gigartina atropurpurea*, dans lequel la teneur en carrabioses consécutifs est de 100% après traitement alcalin. Les unités 1,4 ne contiennent pas de galactose 4-sulfate, ce qui permet de mettre en évidence une nouvelle espèce qui est un polymère de résidus galactose 2-sulfate liés alternativement α -1,4 et β -1,3. Par prolongation de la nomenclature par lettres grecques, il a été nommé

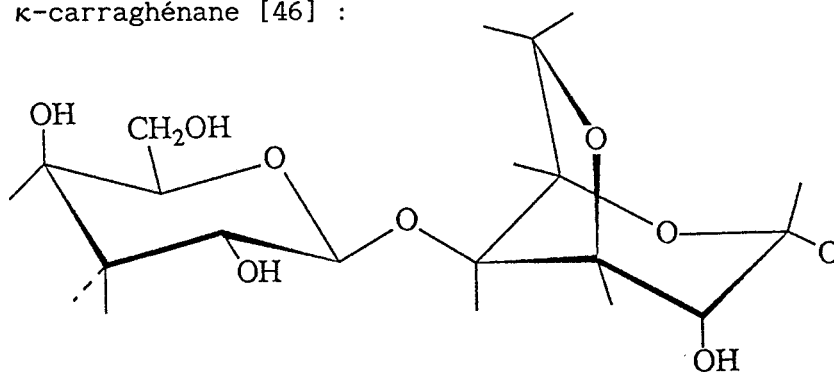
ξ -carraghénane, il diffère du λ -carraghénane parce qu'il n'a pas de sulfatation en C₆ sur le résidu lié 1,4 [41].

La structure idéalisée est représentée par :



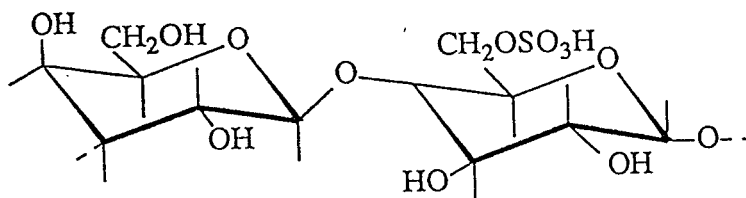
Motif répétitif du ξ -carraghénane

Pendant les études, déjà menées par Penman et coll [41], un polysaccharide entièrement désulfaté a été détecté dans *Chondrus Crispus*, il a été signalé auparavant par Stancioff et Stanley [45] dans *Endocladia muricata*. Il a été enfin isolé à partir de *Furcellaria fastigiata* par Lawson et coll. [40] et identifié dans *Euचेuma gelatinae* par Peat S.[44]. Il comporte des résidus β -galactopyranosyl liés en 1,3 sans aucun sulfate alternés avec des résidus 3,6 anhydro- α -D-galactose. Ce polysaccharide est très souvent accompagné de κ -carraghénane [46] :



Motif répétitif dans le β -carraghénane

Dans l'algue *Euचेuma gelatinae*, le précurseur du β -carraghénane a été identifié par Greer et Yaphe [47]. Alors que dans le *Furcellaria fastigiata*, des études de méthylation réalisées par Penman et Rees [41] ont montré que les résidus liés en 1,4 portent des sulfates en C₆. Ce précurseur a été nommé γ -carraghénane.



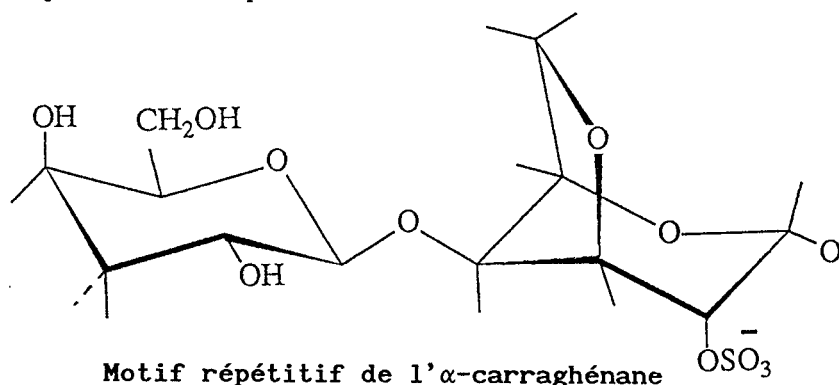
Motifs répétitifs dans le γ -carraghénane

En résumé, nous dirons qu'il existe deux familles de carraghénanes, distinctes par leurs sulfatations.

Dans la famille kappa, les résidus galactopyranosyl liés 1,3 sont sulfatés en C₄. Cette famille est constituée des carraghénanes κ , ι , μ et ν . Dans la famille lambda la sulfatation se fait en position C₂, cette famille comporte les λ et π -carraghénanes, ce dernier sera défini plus loin.

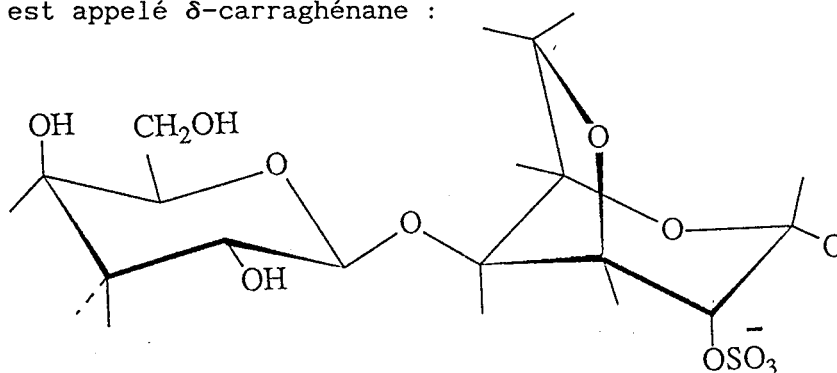
Par la suite, une famille bêta a été mise en évidence, ces composants ont des unités liées 1,3 qui ne portent aucun sulfate, elle comprend les β et γ -carraghénanes.

E. Zablackis et G.A. Santos [48] ont montré qu'il existe une autre espèce appartenant à cette famille, ils l'ont dénommée α -carraghénane, on la trouve dans l'algue rouge *Catenella nipae* et se caractérise par une alternance d'unités β -D-galactose et de 3,6 anhydro α -D-galactose 2-sulfate. Cette sulfatation en C₂ a été mise en évidence par spectrométrie I.R., technique de plus en plus utilisée pour l'identification des carraghénanes, nous allons en discuter dans le quatrième chapitre de ce travail.



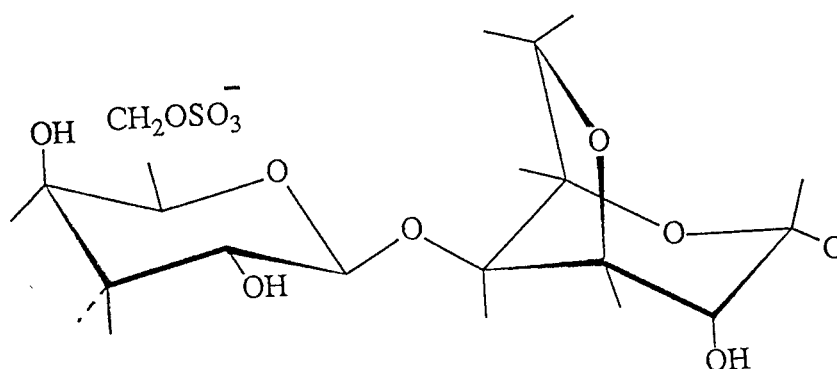
Il existe de faibles quantités du précurseur de l' α -carraghénane où les

unités 3,6 anhydride sont remplacées par des unités galactose 2,6 disulfate. Ce précurseur est appelé δ -carraghénane :



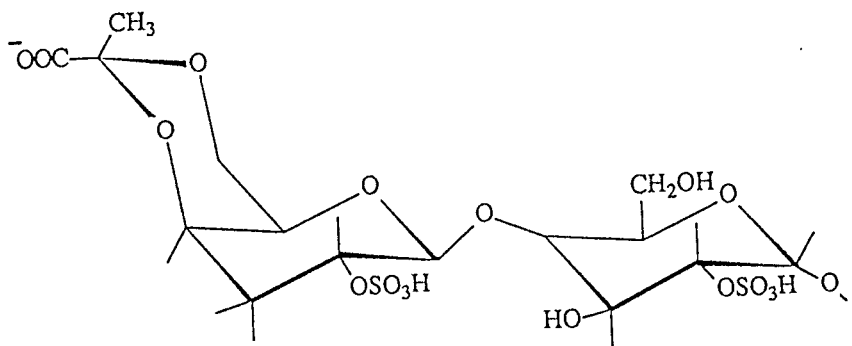
Motif répétilif dans le δ -carraghénane

De plus en plus, de nouvelles espèces d'algues intéressent les biologistes. Combault et all. [49] ont étudié une autre algue rouge qui pousse sur les côtes méditerranéennes, c'est l'algue *Rissoëlla Verruculosa*. Ils l'ont identifiée par spectrométries infrarouge et RMN du ^{13}C comme contenant en majorité du κ -carraghénane. En réalité, dans notre travail nous avons accordé beaucoup d'intérêt aux différentes fractions de cette algue, que nous avons caractérisées par spectrométrie IRTF. En fait, Il , a été démontré que le polysaccharide qui la constitue était un nouveau type de carraghénane qui coexiste avec une minorité de κ -carraghénane. La quantité de sulfate présente dans ce polysaccharide celle des résidus 3,6 anhydro-galactose, et l'exploitation des spectres RMN ^{13}C , ont permis de proposer une structure de néocarrabioses répétés contenant des unités 3-O- β -D-galactose 6-sulfate alternées avec des unités 3,6 anhydro 4-O- α -D-galactopyranosyl. Ce polysaccharide est nommé ω -carraghénane. Les néocarrabioses substitués sont représentés :



Motif répétilif dans ω -carraghénane

Il existe un autre carraghénane, extrait des espèces *Gigartina*, lié à de l'acide pyruvique de façon covalente [51,52,53]. Il est nommé π -carraghénane [53] :



Motif répétitif dans le π -carraghénane

I.6. STRUCTURES HYBRIDES

Parmi les seize galactanes examinés par Lawson et al. [40], des kinks interrompent la structure du kappa carraghénane. Comme nous l'avons préalablement évoqué ces kinks se présentent sous forme de galactose 6-sulfate ou de galactose 2,6 disulfate qui remplacent les unités 3,6 anhydride. De plus dans l'*Eucheuma uncinatum*, on note la présence d'un galactane dont les caractéristiques des ν -carraghénane se combinent aux caractéristiques des ι -carraghénanes. Les auteurs ont conclu que ce polysaccharide était un hybride ι - ν carraghénane. De même, dans le *Furcellaria fastigiata*, certaines unités liées en 1,3 sont apparues incomplètement sulfatées, mais là le traitement alcalin avait fait supposé la présence d'un polysaccharide séparé, ce qui a d'ailleurs été démontré en mettant en évidence le bêta-carraghénane.

Greer et Yaphe ont étudié le carraghénane provenant de l'*Eucheuma gelatinae* et ont essayé de l'identifier à l'aide d'une kappa et d'une iota-carraghénase.

Ils se sont appuyés sur les techniques spectroscopiques infrarouge et RMN¹³C [47] et sur les travaux antérieurs de Bellion et coll., et de Rochas et Heyraud [57, 58, 59], qui avaient démontré la nature hybride des carraghénanes.

Alors que des travaux antérieurs avaient démontré que les différentes

espèces de *Eucheuma* contenaient des éléments de la famille kappa (κ , ι , μ , ν), avec toujours l'un de ces composés en majorité, Greer et Yaphe ont proposé que le carraghénane provenant de l'*Eucheuma gelatinae* était une molécule hybride composée majoritairement d'unités β -carraghénane et minoritairement d'unités κ et γ -carraghénane. Ces différentes espèces se produisent en blocs à l'intérieur même du polysaccharide.

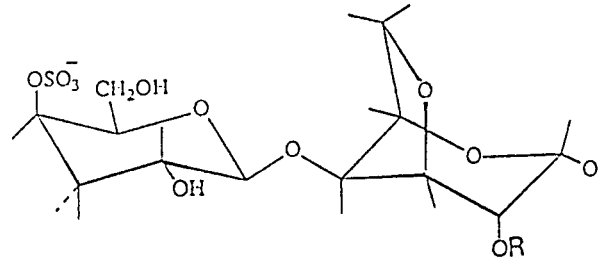
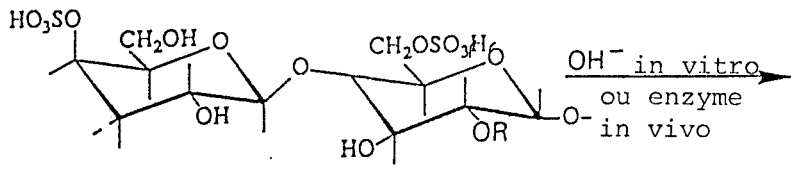
I.7. CONCLUSION

De même, Dininno et Mc Candless [52] ont identifié du ι -carraghénane en majorité dans l'*Eucheuma nudum* coexistant avec du ν et du carraghénane ι -déviant en minorité. Ces deux auteurs [54], ont proposé que le carraghénane provenant de cette même algue était un hybride iota-nu-kappa.

Rees et coll. ont adopté un système de nomenclature des carraghénanes utilisant les lettres grecques (κ , λ , μ , ν , β , γ , et ξ) pour représenter des unités répétées idéalisées. Malgré l'existence d'irrégularités, il existe des fractions de carraghénanes prédominantes, celles-ci sont considérées comme structures extrêmes alors que certains les ont considérées comme structures hybrides. Ce terme est utilisé pour décrire la coexistence de deux ou plusieurs carraghénanes.

En conclusion, il existe finalement 4 familles de carraghénanes, kappa, lambda, beta et oméga, dans la famille kappa, les carraghénanes μ et ν ont été définis comme précurseurs biologiques probables de κ et ι . Une enzyme isolée à partir d'une algue fraîche est capable de scinder le groupe sulfate en C6 du résidu α -D- galactose [42]. Un traitement alcalin peut aussi éliminer les précurseurs, la même chose se produit dans la famille β . Nous regroupons ci-dessous les différents cas.

Famille κ :



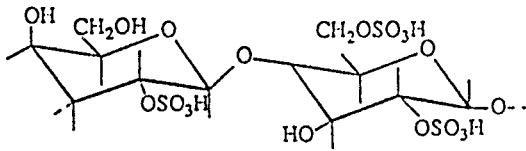
R = H : μ

R = SO₃ : ν

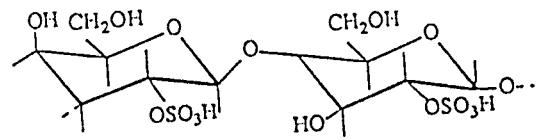
R = H : κ

R = SO₃ : ι

Famille λ :



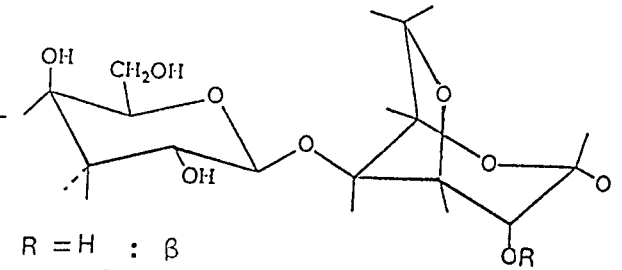
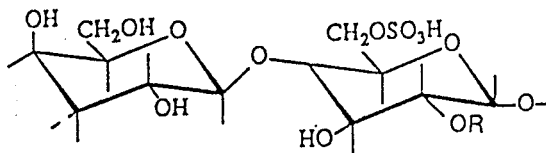
et



λ

ξ

Famille β :



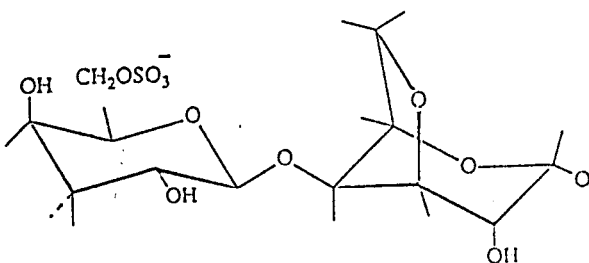
R = H : υ

R = SO₃ : δ

R = H : β

R = SO₃ : α

Famille ω :



BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE I

1. R. Perez, *la pêche maritime*, p. 23-28, janvier (1981)
2. M. Glicksman, *Hydrobiologica*, 151/152 : 31-47, (1987).
3. M. Glicksman, *Gum Technology in the food industry*, Academic Press (1969).
4. G.A. Towle, *Industrial gums*, R.L. Whisler Academic Press Inc.,
5. M.C. Iatrides, J. Artaud, M. Derbesy, et J. Estienne, *Ann. Fals. Exp. Chim.* 71, n° 761, (9-15), 1978.
6. D.P. Cheney, *off prints from Biotechnology in the marine sciences edited by R.R. Colwell, E.R. Pariser et A.J. Sinskey, copyright by J. Wiley et Sons, inc.* (1984)
7. I.A. Abbott et D.P. Cheney, *Selected papers in phycology vol. II, phycological Soc. Amer. Laurence, KA*, pp. 779-787, (1982).
8. Waaland, J., *The biology of seaweeds, Botanical monographs, vol. 7, Univ. of California Press, Berkeley, CA*, 726-741, (1981).
9. D.P. Cheney, A. Mathieson and S. Schubert, *Intl. Seaweed symp. 10* : 559-567 (1981).
10. A. Neish, P. Shacklock and C. Fox, *Can J. Bot.* 55 : 2263-2271 (1977).
11. J. Ryther et coll., *Intl. Seaweed symp.*, 9 : 1-16, (1979).
12. J. Waaland, *Intl. Seaweed symp.*, 9 : 241-247 (1979).
13. C. Tseng, *the biology of seaweeds, botanical monographs, vol. 17, Univ. Calif. Press, Berkeley, CA*, 680-725 (1981).
14. K.F. Wong, J.S. Graigie, *plant physiol.* 61, 663-666 (1978).
15. Anon, *Sci. Sin.*, 19 : 243-252 (1976).
16. T.C. Fang, C.H. Tai, Y.L. Ou, *Sci. Sin.*, 21 : 401-407 (1978).
17. C. Tseng, *Marine phycoculture in China, Intl. seaweed symp.*, 10 : 123-152 (1981).
18. J. Mc Lachlan, J. Van der Meer, N. Bird, *J. Mar. Biol. assoc. UK*, 57 : 1137-1141 (1977).
19. C. Araki, *J. Chem. Soc. Japan*, 65, 533, 627 (1944).
20. C. Araki, S. Hirase, *Bull. Jap. Chem.* 27, 109 (1954).
21. C. Araki, S. Hirase, *a/ibid*, 26, 463 (1953), *a/ibid*, 27, 105 (1954).
22. T. Mori and T. Tsuchiya, *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 14, 585 (1941).
23. R. Johnston, and E.G.V. Percival, *J. Chem. Soc.*, 1994 ,(1950).

24. A.N. O'Neil, *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 2837 (1954).
25. E.E. Percival, *Chem. Ind.*, 1487, (1954).
26. Araki et Susumi, *Bull. Chem. Jap.*, 29, 7, 770 (1956).
27. Smith, D.B. and W.H. Cook, *Fractionation of carrageenine*, *Arch. Biochem. Biophys.*, 45 : 232-233 (1953).
28. A.N. O'Neil, *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 6324 (1955).
29. Smith, O'Neil and Perlin, *Canad. J. Chem.*, 33, 1353, (1959).
30. D.A. Rees, *J. Chem. Soc.*, 1821, (1963).
31. D.A. Rees, *J. Chem. Soc.*, (1961), 5169.
32. Morgan and O'Neil, *Canad. J. Chem.*, 33, 1353, (1959).
33. Dolan, T.C.S. et Rees D.A., *J. Chem. Soc.* 3534, (1965).
34. S.T. Bayley, *Bioch. Biophys. Acta*, 17, 194 (1955).
35. J. Weigl and W. Yaphe, *Can. J. Microbiol.*, 12 : 939-947 (1966).
36. N.S. Anderson et coll., *J. Chem. Soc. (C)*, 602, (1968).
37. N.S. Anderson et coll., *J. Chem. Soc. (C)*, 596, (1968).
38. D.A. Rees, *Adv. Carbohydrate Chem. Biochem.*, 24, 267, (1969).
39. N.S. Anderson, C.S. Dolan et D.A. Rees, *J. Chem. Soc.*, 2173 (1973).
40. C.J. Lawson, D.A. Rees, D.J.L. Stancioff et N.F. Stanley, *J. Chem. Soc. (C)* 2177 (1973).
41. A. Penman, D.A. Rees, *J. Chem. Soc. (C)* 2182 (1973).
42. C.J. Lawson and D.A. Rees, *Nature*, 1970, 227, 392.
43. K.F. Wong and J.S. Craigie, *Plant Physiol.* 61 : 663-666 (1978).
44. Peat.S., *Int. seaweed symp.* 10 : 495-502 (1981).
45. Stancioff D.J. and N.F. Stanley, *Int. seaweed symp.* 6 : 595-609 (1969).
46. J. Mollion, *Thèse de Doctorat Sc. Nat. de l'USTLFA*, 1988.
47. Greer et Yaphe, *Bot. Mar.* 27 : 473-478 (1984).
48. E. Zablackis et G.A. Santos, *Bot. Mar.*, 29 : 319-322, 1986.
49. G. Combault, L. Piovetti, G. Canal et A. Sancho, *Phytochemistry*, 24, 7 1597-1599 (1985).
50. J. Mollion, S. Moreau, D. Chritiaen, *Bot. Mar.*, 29, 549-552, (1986).
51. S. Hirase, and K. Watanable, *Bull. Inst. Chem. res. Kyoto. Univ.* 50 : 332-336, 1972.
52. Dininno and all. *Carbohydr. res.* 67 : 235-241, 1978., *Carbohydr. res.* 66 85-93, (1978).
- Dininno and all. *Biomed. Mass. Spectrom.* 5 : 661-673 (1978).

53. Dinunno and all. *Carb. res.* 71 : C1-C4 (1979), *Carb. res.* 72 : 157-163 (1979).
54. C.W. Greer and W. Yaphe, *Bot. Mar.* 27, 479-484, 1984.
55. C. Bellion et G. Brigand, *Carb. res.* 119, 31-48 (1983).
56. Terence J. Painter, *Algal polysaccharides*, 213
57. C. Bellion and al., *Proc. Int. seaweed symp.*, 10, 379-384 (1981).
58. C. Rochas and A. Heyraud, *Polymer Bull.*, 5 : 81-86 (1981).

Chapitre II

Structure secondaire des carraghenanes.

Son rôle dans la gélification.

Certaines propriétés physiques de polysaccharides naturels, permettent de bien les exploiter dans différents domaines. Ainsi, l'utilisation des carraghénanes, essentiellement dans l'industrie alimentaire est due à leurs caractéristiques remarquables. Nous n'avons d'ailleurs pas omis de rappeler dans la première partie de ce travail, que ces biopolymères sont d'excellents agents épaississants et surtout gélifiants.

Ces propriétés physiques ont très vite été corrélées aux structures chimiques [1]. Il s'avère que certains composés de la famille des carraghénanes révèlent de grandes similitudes, telles que leur capacité à former des gels thermoréversibles, d'autres, par contre, ne gélifient pas du tout. A la suite du progrès considérable qui s'est produit dans le domaine de la biochimie des protéines et des acides nucléiques, surtout dans les relations propriétés-structure, il n'a pas été difficile de supposer que même pour les polysaccharides, les analogies et les différences peuvent être reliées aux structures primaires [2].

Ainsi la teneur en unités 3,6 anhydro-D-galactose (3,6 A-G) a été la première soupçonnée responsable de la gélification. En effet, les molécules ayant un taux élevé en 3,6 A-G sont les moins solubles dans les solutions de KCl et ont une très grande capacité de gélification.

Il a déjà été montré [3] que la force de cette gélification augmente considérablement quand les carraghénanes sont soumis à un traitement alcalin. Or, les travaux de Rees cités dans la première partie, ont permis de comprendre que la structure primaire des carraghénanes contient des anomalies, expliquées en termes de structures masquées, qui consistent en des unités galactose 6-sulfate liées en 1,4. Ceux-ci se transforment justement en

unités 3,6 anhydro-galactose, sous l'effet du traitement alcalin. Les comportements des carraghénanes en solution, à différentes températures, notamment les transitions sol --->gel ---> sol lors du refroidissement suivi d'un chauffage, leur capacité à piéger les molécules d'eau et à réagir sélectivement avec les cations, ont permis de conclure que la structure primaire ne peut pas à elle seule expliquer ces phénomènes.

Il a donc fallu, tout comme pour les protéines, introduire la notion de structures secondaires, tertiaires et même parfois quaternaires. Toutefois, il ne faut pas exclure le rôle de la configuration du cycle pyranique de l'unité 3,6 A-G sur la conformation générale de la chaîne de polysaccharide et par la suite, sur la force de gélification.

En effet, les résidus galactose et anhydro-galactose, adoptent tous deux une conformation chaise du cycle, et il existe deux configurations possibles pour les cycles chaises désignées 4C_1 et 1C_4 par Reeves [4].

Des analyses par diffractions des rayons X sur les κ et λ -carraghénanes, ont montré que le résidu galactose a une conformation chaise 4C_1 alors que le résidu 3,6 A-G correspond à une configuration inverse, c'est à dire 1C_4 [5]. figure (1). Le traitement alcalin sur un carraghénane natif se traduit donc, non seulement par une modification chimique mais aussi conformationnelle.

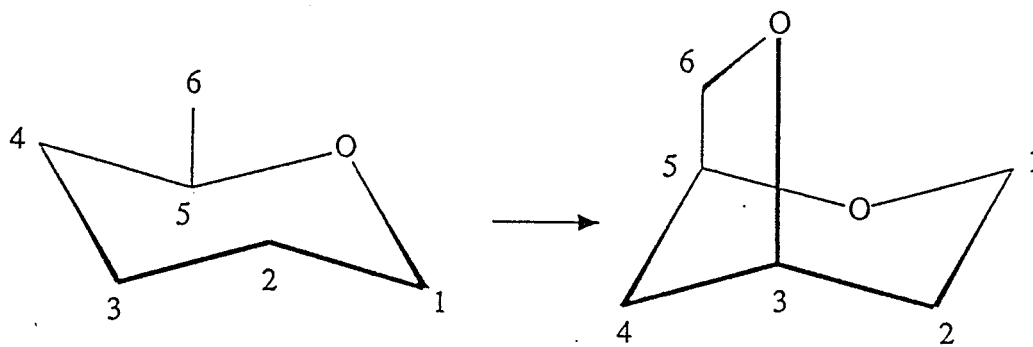


figure 1.

Configuration chaise 4C_1
galactose

Configuration chaise 1C_4
3,6 A-G

Nous allons revenir plus loin sur le rôle de ce changement de configuration sur la conformation générale du polysaccharide.

II.1 - STRUCTURE SECONDAIRE DES CARRAGHENANES

Bien que les analyses R.X. effectuées par Bayley [5] aient révélé que la structure du κ -carraghénane a une période de répétition de motifs de 25.2Å et que cette période est elle même subdivisée en trois unités similaires donnant de faibles réflexions distantes de 8.4 Å. Ces sous périodes sont constituées en deux résidus galactose et l'insuffisance sur les données chimiques de ces composés a limité l'interprétation des arrangements moléculaires.

Les aspects physiques des structures primaires régulières des carraghénanes favorisent l'utilisation des méthodes de diffraction de fibres orientées, en vue de leur analyse structurale.

Pour de telles études, les polysaccharides de ι et κ carraghénanes ont du subir un traitement alcalin, afin d'obtenir des structures covalentes régulières [6]. Leurs modèles de diffractions R.X. obtenus, sont à la base de l'hypothèse proposée par Anderson et coll. [6] qui consiste à dire que des paires de chaînes de ces polysaccharides sont arrangées en double hélice et dans chaque chaîne trois disaccharides forment un tour d'hélice avec une distance de répétition de 26 Å pour le ι et de 24.6 Å pour le κ -carraghénane. Ceci se rapproche des résultats obtenus auparavant par Bayley. Dans ce cas les carraghénanes se présentent sous forme de sels monovalents.

Arnott et Scott ont analysé ensuite des sels de Ca^{2+} et Sr^{2+} qui donnent d'excellents diagrammes de diffraction X. Ils ont observé de plus, qu'avec les sels de Mg^{2+} , des extinctions de raies faibles apparaissent tous les 13 Å. Ceci a confirmé l'existence du modèle proposé précédemment formé de deux hélices parallèles coaxiales décalées l'une par rapport à l'autre d'une demi-période (13Å). Cependant les extinctions les plus intenses apparaissent

souvent à des distances multiples de 26Å et non du 13Å dans le cas du ι . Il n'a pas été possible d'obtenir les mêmes résultats sur le κ -carraghénane en raison de la médiocrité du diagramme. Toutefois, l'existence d'un hysteresis durant la dispersion rotatoire optique accompagnant la solubilisation puis la gélification par refroidissement [1], montre que κ -carraghénane possède une structure similaire à celle du ι -carraghénane.

Des liaisons hydrogène à l'intérieur de la double hélice ont été mises en évidence. Elles se font entre deux groupements hydroxyls non substitués, c'est à dire entre l'oxygène O(2) d'un résidu galactose appartenant à l'une des chaînes formant la double hélice et l'oxygène O(6) appartenant au résidu galactose de la chaîne adjacente. Son existence a été confirmée par dichroïsme infrarouge. Une absorption due à une élongation O---H à 3330 cm^{-1} reste inchangée après deutération. Cette liaison hydrogène est décrite comme étant transverse à l'axe de l'hélice [7], son orientation est définie par [8]

$$\begin{aligned} \text{angle } [C_6 - O_6 - O_2] &= 105^\circ \\ \text{angle } [C_2 - O_2 - O_6] &= 135^\circ \\ \text{et } d_{O2---O6} &= 2.7\text{\AA} \end{aligned}$$

Dans ce modèle, l'oxygène O(6) est donneur d'hydrogène, ce qui nous confirmerons plus loin.

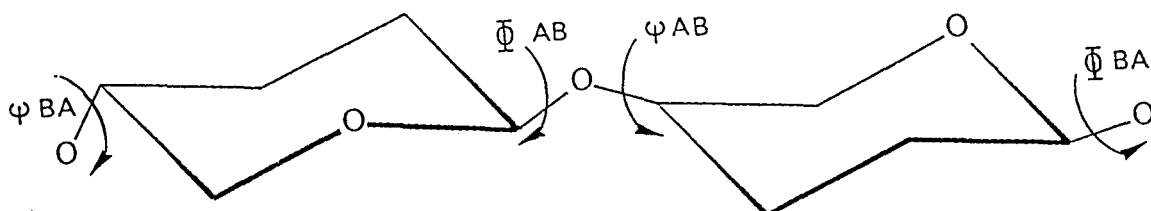
II.2. MODELISATION DE LA STRUCTURE SECONDAIRE DU ι -CARRAGHENANE

L'étude tridimensionnelle des macromolécules en général, a longtemps été inabordable en raison de la taille des systèmes étudiés. Une connaissance précise des positions atomiques et des structures est difficilement appréhendable. Une méthode de choix d'obtention de ces données est la radiocristallographie, comme nous venons de le voir, mais le problème majeur de cette méthodologie est l'obtention de cristaux homogènes, qui dans le cas des carraghénanes nécessite des fibres orientées. Seule la forme ι -carraghénane a permis de telles analyses. Les résultats obtenus ont conduit certains auteurs [6,8] à modéliser ce polysaccharide, en utilisant différentes méthodes de calcul, suivies d'affinements par rapport au modèle

observé.

Anderson et coll. [6] ont systématiquement exploré les conformations des chaînes de α -carraghénane qui peuvent donner des simples ou des doubles hélices, suivant leur stéréochimie et les forces de Van Der Waals.

Dans la construction de ces modèles, il est supposé que tous les résidus monosaccharides, de même que les longueurs des liaisons glycosidiques, ont une géométrie fixe. Pour définir une conformation de chaîne régulière, il est alors nécessaire de déterminer les quatre angles de torsion qui caractérisent les liaisons glycosidiques, ϕ_{AB} , ψ_{AB} , ϕ_{BA} , ψ_{BA} schématisés ci-dessous :



Cette approche a été largement utilisée dans les analyses conformationnelles de macromolécules [9,10,11].

En incrémentant ces quatre angles de 10° et en sachant que $n=3$ (nombre de disaccharide par tour d'hélice) et $h = 8.67\text{\AA}$ (projection du disaccharide sur l'axe de l'hélice), les modèles donnant des contacts impossibles sont éliminés.

Un seul modèle est retenu, il résulte de deux méthodes de calculs différentes, il satisfait à toutes les contraintes du modèle observé et, possède une chiralité orientée vers la droite permettant la formation d'une double hélice.

En calculant les coordonnées des atomes qu'ils ont reconstituées à partir des paramètres géométriques obtenus, la double hélice a pu être modélisée, les groupements sulfates sont dirigés vers l'extérieur.

Arnott et coll. [8], dans leur modélisation du ι -carraghénane, se sont basés sur les diffractions des sels bivalents de Ca^{2+} et Sr^{2+} de ce polysaccharide. La méthode de calcul qu'ils ont utilisée est l'ajustement par moindres carrés [12]. En posant au départ des paramètres géométriques déjà connus, tels que la translation axiale $h = 8.85 \text{ \AA}$ et la rotation par résidu $t = 120^\circ$. Les valeurs des longueurs de liaisons et des angles du galactose ont été assimilées à celle du β -D-glucose [12] avec inversion de la configuration du groupement O-H sur le C_4 . La géométrie du résidu anhydro D-galactose provient de la structure cristalline du méthyl 3,6 anhydro α -D-galactoside donnée par Campbell et Harding [13]. Dans ces conditions, comme dans le cas précédent, quatre torsions interviennent dans les liaisons glycosidiques, ainsi qu'un angle hydroxyméthyl (groupement C_6).

Les paramètres h , t et l'existence d'une liaison hydrogène de 2.7 \AA conduisent à trois conformations possibles. Cependant, un seul modèle est compatible avec la symétrie du groupe spatial P3_212 et respecte la distance standard $\text{Ca}^{2+} - \text{O}$ de 2.6 \AA . Les valeurs de départ dans le raffinement par moindres carrés réalisé par Arnott et coll sont les résultats de Anderson et coll :

$$\begin{aligned} \Psi_{\text{BA}} &= \text{torsion } [\text{C}_3 - \text{C}_1 - \text{O}_1 - \text{C}_4] = 148^\circ \\ \Phi_{\text{BA}} &= \text{torsion } [\text{C}_1 - \text{O}_1 - \text{C}_4 - \text{C}_1] = 140^\circ \quad \text{pour la liaison 1,4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Psi_{\text{AB}} &= \text{torsion } [\text{C}_4 - \text{C}_1 - \text{O}_1 - \text{C}_3] = 140^\circ \\ \Phi_{\text{AB}} &= \text{torsion } [\text{C}_1 - \text{O}_1 - \text{C}_3 - \text{O}_3] = 198^\circ \quad \text{pour la liaison 1,4} \end{aligned}$$

$$\text{et torsion } [\text{O}_5 - \text{C}_5 - \text{C}_6 - \text{O}_6] = 70^\circ \quad \text{pour le groupement hydroxyméthyl.}$$

Les conformations initiales attribuées aux groupements sulfates sont :

$$\begin{aligned} \text{torsion } [\text{S} - \text{O}_4 - \text{C}_4 - \text{C}_5] &= 120^\circ \\ \text{torsion } [\text{O}_7 - \text{S} - \text{O}_4 - \text{C}_4] &= 180^\circ \\ \text{torsion } [\text{S} - \text{O}_2 - \text{C}_2 - \text{C}_1] &= 90^\circ \end{aligned}$$

$$\text{torsion } [O_7 - S - O_2 - C_2] = 180^\circ$$

Pour le galactose et notamment pour le 3,6 anhydro-galactose ces conformations varient considérablement durant le raffinement du modèle.

Le modèle final du sel de Ca^{2+} iota-carraghénane qui donne le meilleur accord avec les données radiocristallographiques, conduit aux liaisons suivantes :

(conformations des angles en degrés)

Liaison glycosidique 1,4 : torsion $[C_1 - O_4 - C_4 - C_3] = - 159$
 torsion $[O_5 - C_1 - O_4 - C_4] = - 87$

Liaison glycosidique 1,3 : torsion $[C_1 - O_3 - C_3 - C_4] = 79$
 torsion $[C_2 - C_1 - O_3 - C_4] = - 163$

Groupement hydroxyméthyl : torsion $[O_6 - C_6 - C_5 - O_5] = 55$

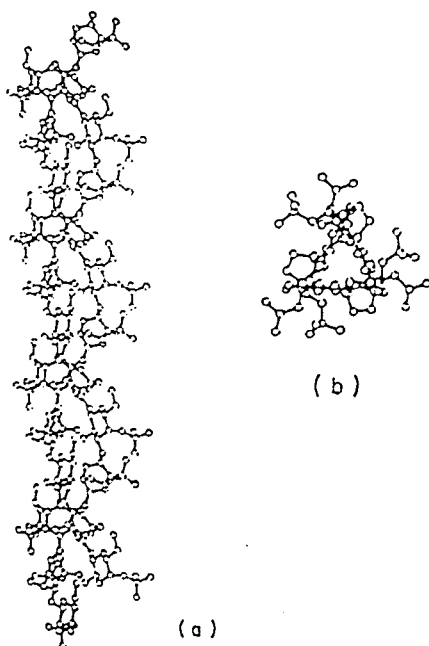
Galactose sulfate : torsion $[C_5 - C_4 - O_4 - S] = 115$
 torsion $[C_4 - O_4 - S - O_7] = - 159$

Anhydrogalactose sulfate : torsion $[C_1 - C_2 - O_2 - S] = 101$
 torsion $[C_2 - O_2 - S - O_7] = - 165$

Distances $Ca^{2+} - O = 2.6 \text{ \AA}$

Ces valeurs ont permis de déterminer les coordonnées des trois résidus disaccharides du iota-carraghane dans la double hélice. La conformation du groupement hydroxyméthyl (55°), bien que modifiée par rapport à la valeur initiale (70°), est très voisine des valeurs observées pour d'autres sucres [14, 15].

Nous reportons ici, la double hélice modélisée par Arnott et Scott pour le ι -carraghénane.



(a): vue face à l'axe de l'hélice, (b) : vue au dessus de l'axe

II.3 - CONSTRUCTION DE MODELES PAR MINIMISATION D'ENERGIE

Le ι -carraghénane, ayant fait l'objet du plus grand nombre d'études sur la structure secondaire, il nous a servi de point de départ pour la détermination et la visualisation des structures de κ , μ et ω -carraghénanes. De plus les données de Arnott et coll sont déposées dans la "Protein Data Bank" qui est une banque de données de structures résolues de macromolécules, utilisée par le logiciel de minimisation d'énergie que nous avons utilisé.

Grâce au développement des systèmes et des moyens informatiques, la modélisation moléculaire est devenue une méthode originale et efficace d'étude de structures de molécules difficiles à atteindre par d'autres méthodes.

Au moyen de stations graphiques et de logiciels adaptés, il est possible de visualiser, déplacer, voire générer et modifier toutes structures tridimensionnelles. Celles-ci sont ensuite optimisées par minimisation d'énergie, afin d'aboutir à la géométrie la plus favorable. Nous avons utilisé cette méthode sur trois types de carraghénanes.

II.3.a - Principe de la méthode :

Cette étude consiste à chercher la conformation la plus probable, c'est à dire celle qui possède une énergie minimale. Les conformations sont obtenues au moyen d'un programme basé sur une méthode empirique de mécanique moléculaire, appelée parfois méthode de champ de forces. L'énergie de conformation est considérée comme une somme de potentiels classiques empiriques faisant intervenir des forces d'origines diverses, telles que les forces électrostatiques, les forces de liaisons hydrogène ou de Van de Waals. En général la fiabilité des résultats de cette méthode est presque du même ordre que celle obtenues par des méthodes quantiques.

Les étapes essentielles dans cette méthode de mécanique moléculaire sont les suivantes :

- Formulation de la fonction énergie potentielle
- Paramétrisation de cette fonction
- Minimisation de l'énergie globale de la molécule.

Le potentiel utilisé est le potentiel TRIPOS 5.2 [24] intégré dans le logiciel de graphisme moléculaire SYBYL, il a la forme :

$$V(\mathbf{r}) = V(\mathbf{r}_0) + \sum_{\alpha}^{3N} \left(\frac{\partial V}{\partial r_{\alpha}} \right) dr_{\alpha} + \frac{1}{2!} \sum_{\alpha, \beta}^{3N} \left(\frac{\partial^2 V}{\partial r_{\alpha} \partial r_{\beta}} \right) \partial r_{\alpha} \partial r_{\beta} + \dots$$

$V(\mathbf{r}_0)$: énergie du système à l'équilibre

r_α : sont les différentes grandeurs qui peuvent varier telles que les longueurs de liaisons, les angles formés par trois atomes et les angles de torsions.

Cette énergie fait intervenir, en plus, un potentiel de Van der Waals et un potentiel électrostatique.

Le but recherché est de rendre minimale la valeur de $V(r)$. Ceci revient à résoudre une fonction multidimensionnelle ($3N$ coordonnées) non linéaire. Il existe donc plusieurs minima d'énergie. En réalité, la mécanique moléculaire conduit à un minimum local, le plus proche de la structure de départ. L'obtention du minimum global impose de franchir des barrières de potentiel, ce qui deviendrait alors un problème de dynamique moléculaire [25]. Dans ce dernier cas, les temps de calculs sont prohibitifs pour des molécules telles que les carraghénanes, à cause du grand nombre de variables.

II.3.b - Minimisation d'énergie

Le champ de forces étant choisi, le programme cherche à déterminer la structure qui correspond à une énergie minimale. La méthode utilisée est itérative c'est à dire que les coordonnées atomiques sont modifiées à chaque fois, jusqu'à obtenir la valeur optimale de l'énergie. Quand l'énergie de départ est trop élevée, on applique en premier lieu, une technique qui élimine les mauvais contacts électrostatiques, elle est appelée "Simplex", elle est suivie de la méthode du gradient conjugué qui utilise la dérivée première de l'énergie.

II.3.c - Moyens expérimentaux

Le logiciel utilisé SYBYL permet la construction de molécules par minimisation d'énergie, il fonctionne sur un ordinateur Vax 6210 relié à une console graphique haute résolution du type PS 350 (EVANS et SUTHERLAND). L'écran de visualisation possède un balayage cavalier qui affecte l'image point par point et une troisième dimension. Il permet de visualiser des

molécules à partir des coordonnées cartésiennes, mais aussi de les manipuler.

II.3.d - Modélisation des κ , ω et μ -carraghénanes

Les coordonnées cartésiennes de la double hélice du ι -carraghénane dans "Protein Data Bank" représentent six résidus galactose pour chaque bras de la double hélice [Annexe 1] donc 174 atomes. Ils nous ont permis de visualiser ce polysaccharide sur écran et d'en vérifier certaines caractéristiques.

L'image (1) montre que le pas de l'hélice est bien constitué de trois disaccharides et leur projection sur l'axe de la double hélice a été mesurée en sélectionnant les deux atomes de carbone dans chaque bout d'une même hélice . C'est ainsi que la grandeur $h = 26.56 \text{ \AA}$ est obtenue .

De même, en observant cette structure à trois dimensions, on remarque qu'une liaison hydrogène est effectivement possible entre les oxygènes O(2) et O(6) appartenant à deux résidus galactose appartenant chacun à une chaîne différente. Une vue dans le sens de l'axe, nous montre que les sulfates et les ponts oxygène du 3,6 anhydro-galactose sont orientés vers l'extérieur de la double hélice .

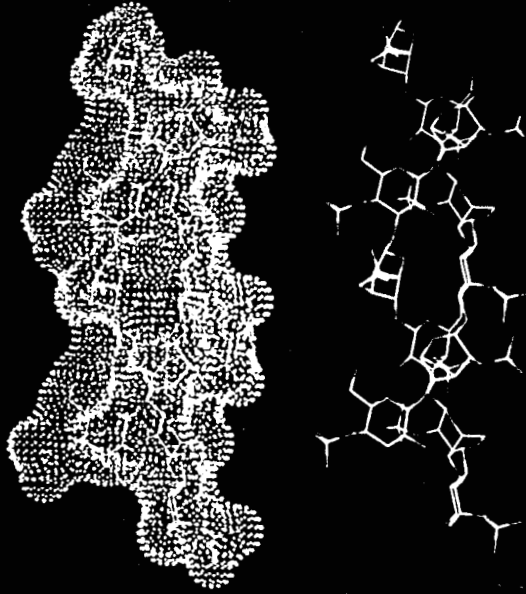
Sur le même bras d'hélice, nous avons mesuré les distances séparant respectivement le groupement sulfate en position C_2 du résidu 3,6 anhydro au groupement sulfate en position C_4 du résidu galactose et celle séparant les groupements sulfate en position C_4 et en position C_2 du disaccharide suivant. Les distances moyennes obtenues sont :

$$d S(C_2) - S(CH) = 11,46 \text{ \AA}$$

$$d S(C_4) - S(C_2) = 4.64 \text{ \AA}$$

La première valeur étant plus importante que la seconde, nous amène à supposer que le cation peut s'associer à la chaîne qu'entre deux groupements sulfate appartenant à deux disaccharides différents. De ce fait, puisque la

HYDRA Release 1.15



IOTA-CARRAGEENAN

Image 1a : Iota-carraghénane

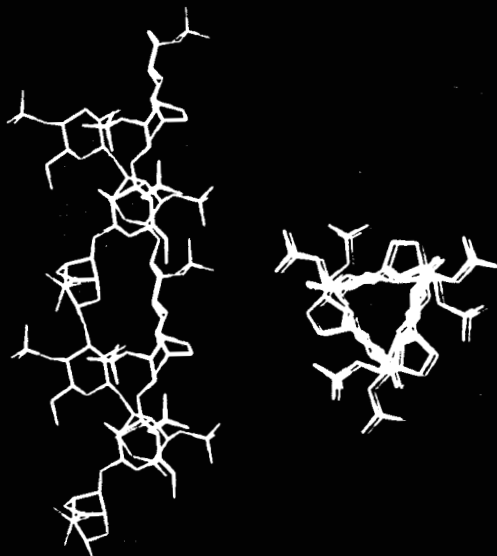


Image 1b : Iota-carraghénane/ vue au dessus de l'axe de l'hélice

force de gélification dépend aussi du nombre de cations associés [17], la présence d'un sulfate en C_2 sur le ι -carraghénane pourrait expliquer son élasticité par rapport au κ où un seul groupement est présent par disaccharide.

Les trois autres formes de carraghénanes sont obtenues en prenant la géométrie de double hélice caractéristique du ι -carraghénane. Suivant le type de carraghénane (κ , ω ou μ) nous avons placé les groupements sulfates, et dans le cas du μ carraghénane nous avons éliminé le pont 3,6 anhydro en le remplaçant par un groupement hydroxyméthyl sur le C(6) et par un groupement hydroxyl sur le C(3). La configuration du cycle pyranique est alors inversée de 1C_4 en 4C_1 .

La première étape consiste à effectuer un calcul de charges à l'aide de la méthode Gasteiger dans chaque cas, car la prise en compte du terme électrostatique est fondamentale en raison de la présence de groupements sulfatés chargés. La seconde partie est la minimisation d'énergie pour chaque molécule, ceci se fait en utilisant la subroutine MAXIMIN 2 du logiciel SYBYL qui utilise un champ de forces empirique qui comprend les termes habituels, à savoir un terme d'énergie de liaison, d'angle de valence, de torsion et les termes d'énergie d'atomes non liants (type Van der Waals) et d'énergie électrostatique. Ces termes sont présentés pour chaque type de molécule.

Durant la minimisation de l'énergie, tous les degrés de liberté de la molécule peuvent relaxer. L'opération continue jusqu'à ce que une différence d'énergie entre deux cycles soit de 0.05 kcal/mole. Il est à noter que cette méthode considère que la molécule est isolée, les effets de solvants et de contre ion du groupement sulfate ne sont pas pris en compte. Ces caractéristiques pourraient en effet modifier les conformations obtenues.

Nous avons déterminé quelques paramètres caractéristiques de carraghénanes chimiquement différents, tels que le kappa, le oméga et le mu carraghénane. En plus nous avons vérifié l'éventuelle structure de paires de chaînes de polysaccharides en double hélice.

II.3.d.i - Le κ -carraghénane

Comme nous l'avons cité précédemment, le κ -carraghénane a été caractérisé une première fois par Bayley, comme ayant une structure d'hélice où trois unités disaccharidiques forment un tour complet de l'hélice ($n=3$) et la projection de ce motif sur l'axe de l'hélice conduit à une longueur $h = 24.6 \text{ \AA}$. Anderson et all. avaient ensuite proposé pour ce polysaccharide une structure en double hélice très similaire à celle du ι -carraghénane. Ils n'ont cependant pas pu modéliser ceci, car il n'offrait pas les mêmes propriétés physiques pour pouvoir faire des analyses par diffraction R.X. de fibres orientées.

Les énergies initiale et finale de la molécule formée de trois disaccharides sont représentées ci-dessous :

Energie initiale de la molécule : Kappa-carraghénane

Energie de la liaison	:	14.442
Energie de déformation angulaire	:	99.531
Energie de torsion	:	100.905
Energie de Van der Waals du type 1-4	:	41.200
Energie de Van der Waals	:	- 43.938
Energie électrostatique du type 1-4	:	268.054
Energie électrostatique	:	44.410
		=====
Energie totale		524.604 kcals/mol.

Energie finale de la molécule : Kappa-carraghénane

Energie de la liaison	:	7.920
Energie de déformation angulaire	:	123.808
Energie de torsion	:	67.987
Energie de Van der Waals du type 1-4	:	11.423
Energie de Van der Waals	:	- 75.278
Energie électrostatique du type 1-4	:	249.398
Energie électrostatique	:	- 15.041
		=====
Energie totale		370.216 kcals/mol.

Les valeurs des angles de torsion sont représentées pour les liaisons 1,4 et 1,3 suivant :

	Angle :	(C1 - O1 - C4 - C3) = -159.3 °
1° Disaccharide	Angle :	(O5 - C1 - O1 - C4) = - 87.4 °
	Angle :	(C1 - O1 - C3 - C4) = 79.2 °
	Angle :	(C2 - C1 - O1 - C3) = -163.5 °
2° Disaccharide	Angle :	(C1 - O1 - C4 - C3) = -159.3 °
	Angle :	(C5 - C1 - O1 - C4) = - 87.3 °
	Angle :	(C1 - O1 - C3 - C4) = 79.3 °
	Angle :	(C2 - C1 - O1 - C3) = -163.5 °
3° Disaccharide	Angle :	(C1 - O1 - C4 - C3) = -159.3 °
	Angle :	(O5 - C1 - O1 - C4) = - 87.4 °

Distance : M1(S) - M1(S) = 13.360 Å

Distance : M1(S) - M1(S) = 13.200 Å

Les deux dernières mesures correspondent aux distances qui séparent deux groupements sulfates appartenant à une même hélice. Elle est mesurée par projection sur l'axe de l'hélice. La projection des trois disaccharides sur cet axe a été mesurée directement à l'écran soit $h = 24.35$ Å (Cette mesure se fait en sélectionnant les atomes sur écran, l'ordinateur procède au calcul de la distance, celle ci est, ensuite affichée).

Nous avons aussi mis en évidence la liaison hydrogène qui pouvait avoir lieu entre O(2) et O(6) de deux résidus adjacents, ceci après génération d'une double hélice similaire au iota et en tournant le modèle autour de l'axe de l'hélice sur écran. L'oxygène O(6) est le donneur d'hydrogène, en effet les distances OH...O mesurées sont :

$d\ O(6)\dots O(2) = 2.697$ Å et $d\ H(O6)\dots(O2) = 1.949$ Å alors que

$d\ (O_2)\ \dots O(6) = 3.48$ Å ce qui ne peut donner lieu à une liaison hydrogène avec O(2) donneur d'hydrogène.

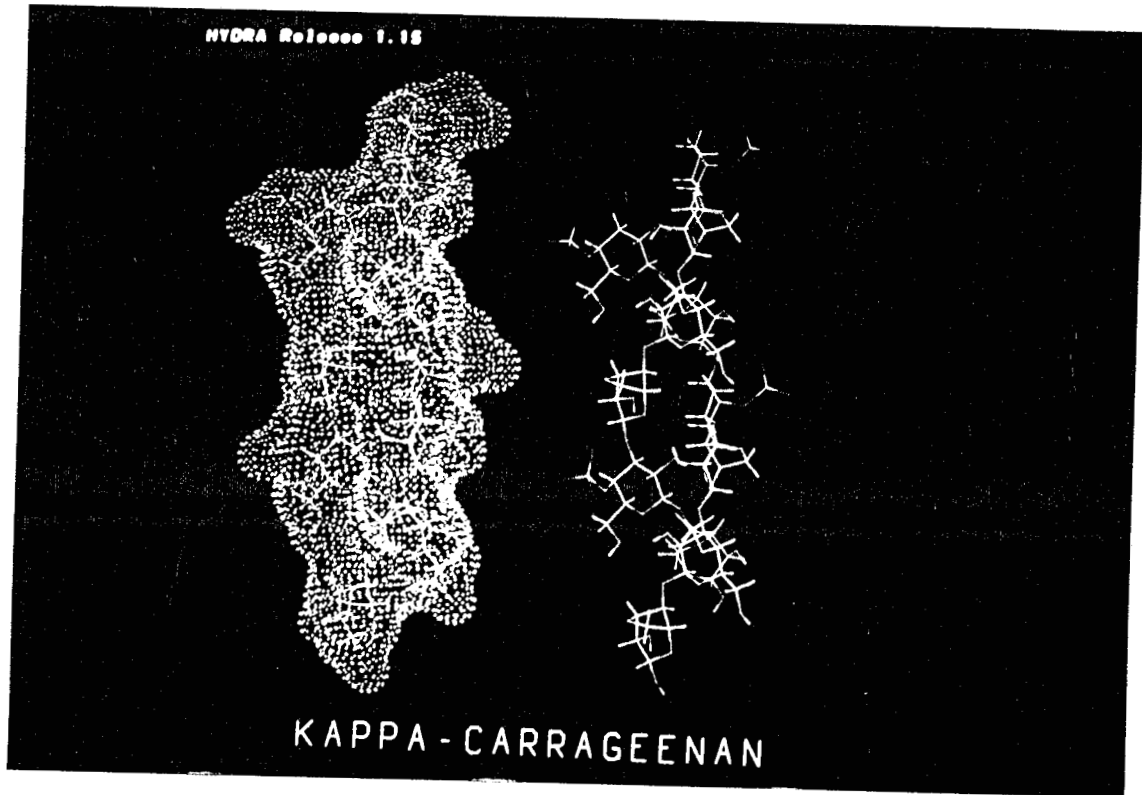


Image 2a : Kappa-carraghénane

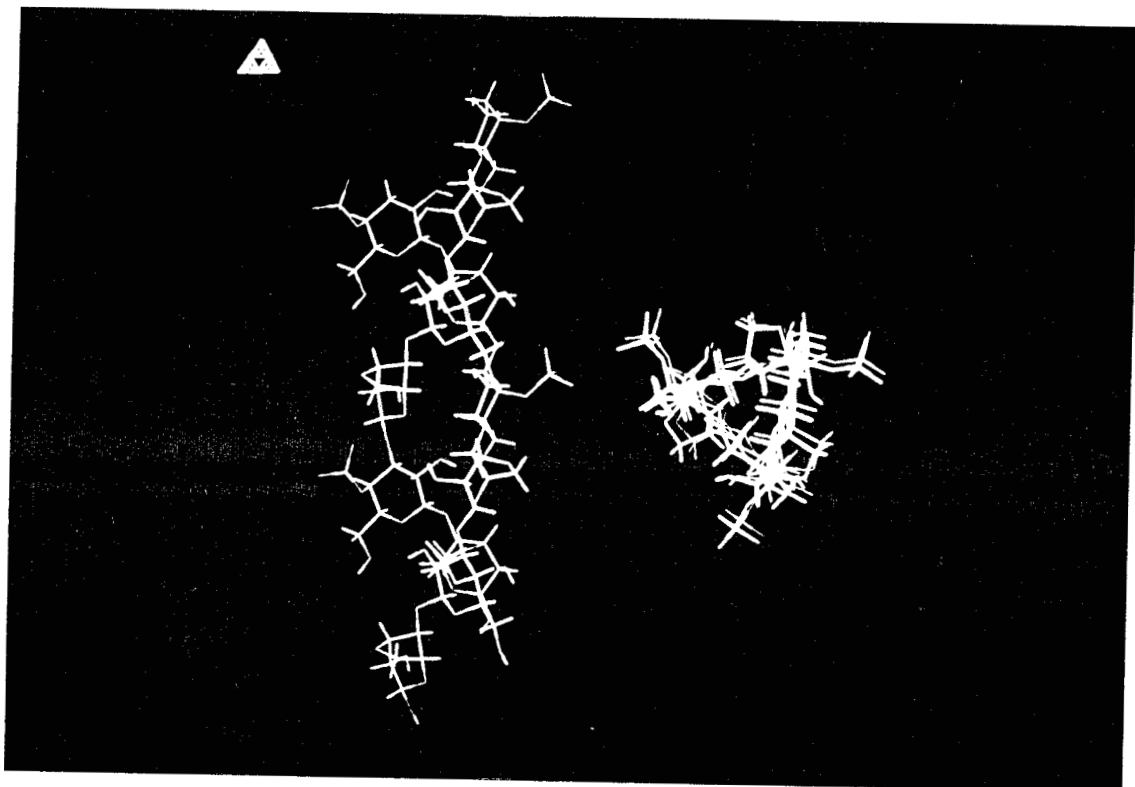


Image 2b : Kappa-carraghénane/ vue au dessus de l'axe de l'hélice

Distance : (O6 - O2H) = 2.697Å
 Distance : (O6 - H) = 1.949Å
 Distance : (H - O2) = 3.489Å
 Distance : (O6 - O2) = 2.695Å
 Distance : (O6 - H) = 1.909Å
 Distance : (H - O2) = 3.510Å.

Sur les images (1) et (2), nous mettons en évidence la double hélice formée par le κ -carraghénane et nous remarquons, tout comme dans le iota, que les groupements sulfates sont dirigés vers l'extérieur de la double hélice. L'image (2), vue a et b, a une certaine similitude avec les images représentées par Arnott et Scott.

II.3.d.ii - Le ω -carraghénane

Le ω -carraghénane ayant été pour la première fois mis en évidence par Mollion et coll. en 1987 [18], aucune étude de conformation n'avait encore été entreprise. Bien que les auteurs ont très souvent supposé qu'il existait de très grande similitudes structurales entre les différents carraghénanes, il nous a semblé utile de déterminer sa structure par minimisation d'énergie. Nous avons procédé exactement de la même façon que dans le cas du kappa, en plaçant bien sûr le groupement sulfate sur le C(6) de l'unité β -D-galactose et en éliminant les autres.

Les énergies de départ et d'arrivée sont :

Energie initiale de la molécule : Omega-carraghénane

Energie de liaison	:	14.444
Energie de déformation angulaire	:	97.000
Energie de torsion	:	78.627
Energie de Van der Waals du type 1-4	:	44.151
Energie de Van der Waals	:	342.087
Energie électrostatique du type 1-4	:	270.757
Energie électrostatique	:	42.689
		=====
Energie totale		889.755 kcal/mol

Energie finale de la molécule : Omega-carraghénane

Energie de la liaison	:	10.342
Energie de déformation angulaire	:	121.172
Energie de torsion	:	67.475
Energie de Van der Waals du type 1-4	:	11.823
Energie de Van der Waals	:	- 79.538
Energie électrostatique du type 1.4	:	260.664
Energie électrostatique	:	- 17.181
		=====

Energie totale 374.757 kcals/mol.

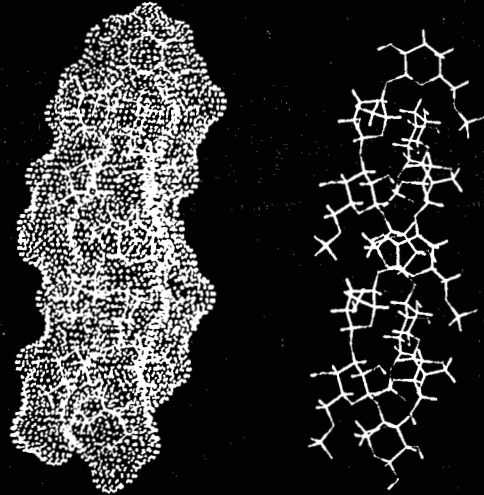
Sur les modèles visualisés, nous avons pu mesurer les angles de torsions autour des liaisons glycosidiques :

	angle :	(C1 - O1 - C4 - C3) = - 162.0 °
1° disaccharide	angle :	(O5 - C1 - O1 - C4) = - 71.7 °
	angle :	(C1 - O1 - C3 - C4) = 89.7 °
	angle :	(C2 - C1 - O1 - C3) = - 168.5 °
2°disaccharide	angle :	(C1 - O1 - C4 - C3) = - 158.4 °
	angle :	(O5 - C1 - O1 - C4) = - 70.1 °
	angle :	(C1 - O1 - C3 - C4) = 88.8 °
	angle :	(C2 - C1 - O1 - C3) = - 177.7 °
3° disaccharide	angle :	(C1 - O1 - C4 - C3) = - 165.2 °
	angle :	(O5 - C1 - O1 - C4) = - 60.3 °

Le pas de l'hélice est là encore formé de trois disaccharides ($n = 3$), la projection de celui-ci sur l'axe de l'hélice est $h = 24.35 \text{ \AA}$.

Les groupements sulfate sont dirigés vers l'extérieur de l'hélice, mais leur orientation est différente par rapport à celle du sulfate dans le kappa. L'angle de torsion $C_4-C_5-C_6-O_6$ de -168.3° s'écarte de plus de 50° vers l'intérieur de la double hélice. Il y a donc possibilité d'arrangement en

HYDRA Release 1.15



OMEGA-CARRAGEENAN

Image 3a : Oméga-carraghénane

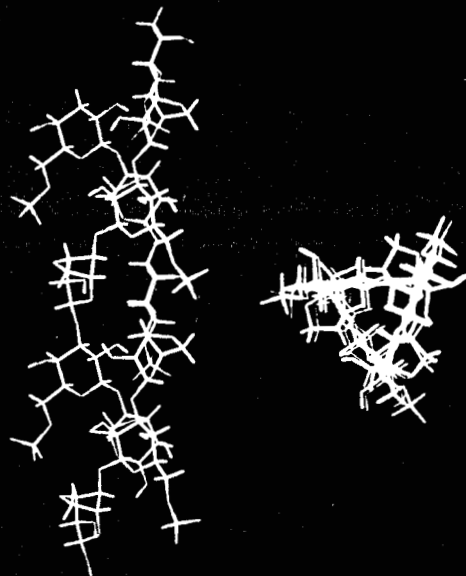


Image 3b : Oméga-carraghénane/ vue au dessus de l'axe de l'hélice

double hélice sans encombrement stérique (image 3), mais pas de possibilité d'existence d'une liaison hydrogène puisque O(6), qui pourrait la porter, est substitué par un sulfate dans ce cas. La distance entre O(6) et O(2) du résidu adjacent reste pourtant minimale (2.94 Å) et $d\ O(2)...H(6) = 2.26\ \text{Å}$. Nous avons essayé de faire pivoter le groupement sulfate autour de la liaison O-S, mais dans ce cas ces distances augmentent, ce qui prouve qu'elles sont minimales et correspondent bien à la conformation la plus stable alors que pour le kappa et le iota-carraghénane la liaison hydrogène contribue à stabiliser la structure

II. 3.d - iii : le μ -carraghénane

Nous avons déjà signalé que la seule différence entre le ι et le μ -carraghénane dans leur structure primaire est le remplacement du résidu 3,6 anhydro-galactose par un résidu galactose 6-sulfate. Les résultats obtenus sur les énergies initiales et finales sont reportés ci-dessous :

Energie initiale de la molécule : Mu-carraghénane

Energie de la liaison	:	14.540
Energie de déformation angulaire	:	153.980
Energie de torsion	:	67.532
Energie de Van der Waals du type 1-4	:	133.411
Energie de Van der Waals	:	546445.091
Energie électrostatique du type 1-4	:	293.127
Energie électrostatique	:	180.083
		=====
Energie totale		547287.763 kcals/mol.

Energie finale de la molécule : Mu-carraghénane

Energie de la liaison	:	12.137
Energie de déformation angulaire	:	204.399
Energie de torsion	:	65.390
Energie de Van der Waals du type 1-4	:	17.674
Energie de Van der Waals	:	-41.019
Energie électrostatique du type 1-4	:	279.933
Energie électrostatique	:	21.714
		=====

Energie totale 560.227 kcals/mol.

Les angles de torsions finaux autour des liaisons 1,3 et 1,4 sont :

	angle : (C1 - O1 - C4 - C3) = 74.4 °
1° disaccharide	angle : (O5 - C1 - O1 - C4) = -68.9 °
	angle : (C1 - O1 - C3 - C4) = 80.3 °
	angle : (C2 - C1 - O1 - C3) = 76.8 °
2° disaccharide	angle : (C1 - O1 - C4 - C3) = 71.4 °
	angle : (O5 - C1 - O1 - C4) = -72.2 °
	angle : (C1 - O1 - C3 - C4) = 82.1 °
	angle : (C2 - C1 - O1 - C3) = 77.6 °
3° disaccharide	angle : (C1 - O1 - C4 - C3) = 77.4 °
	angle : (O5 - C1 - O1 - C4) = -67.4 °

Nous observons que l'énergie initiale qui correspond à la géométrie μ -carraghénane, est très grande par rapport à celle du kappa et de l'oméga. Ceci prouve que cette structure est très différente. D'autre part, le résultat de la minimisation d'énergie donne des angles de torsion des liaisons glycosidiques très éloignés de ceux obtenus dans les deux cas précédents, ce qui laisse supposer là encore des changements dans la géométrie du polysaccharide, comme le montrent les visualisations sur les images 4a et 4b.

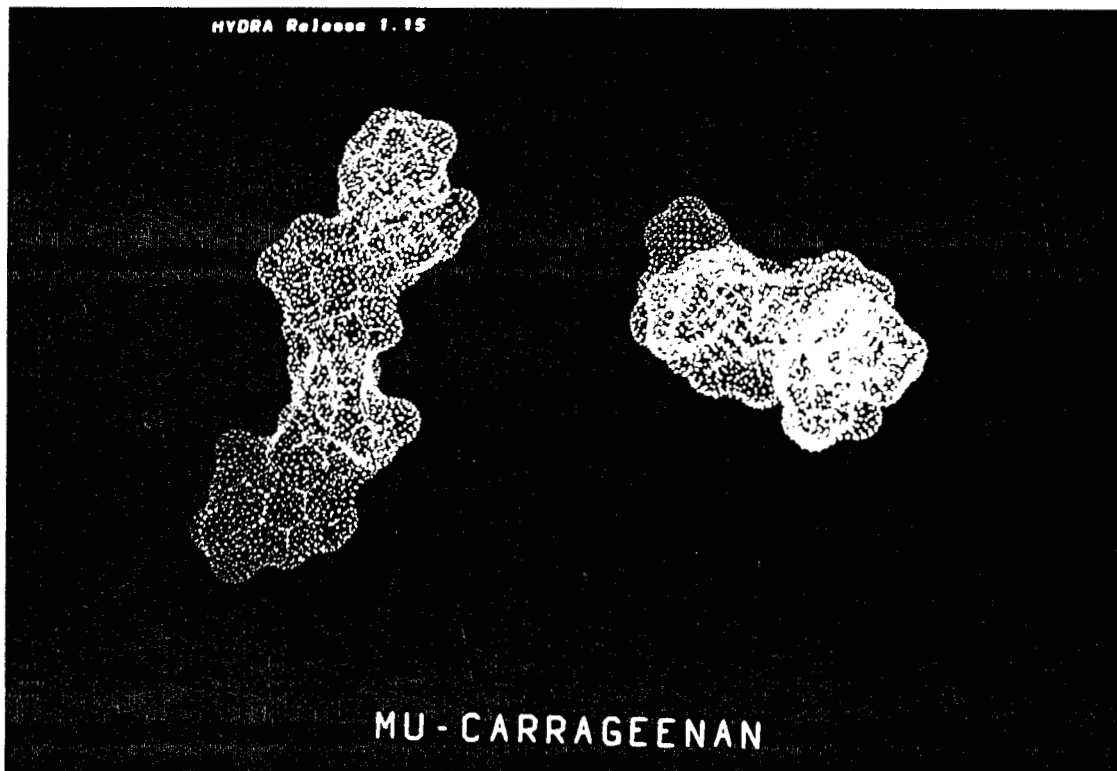


Image 4a : Mu-carraghénane

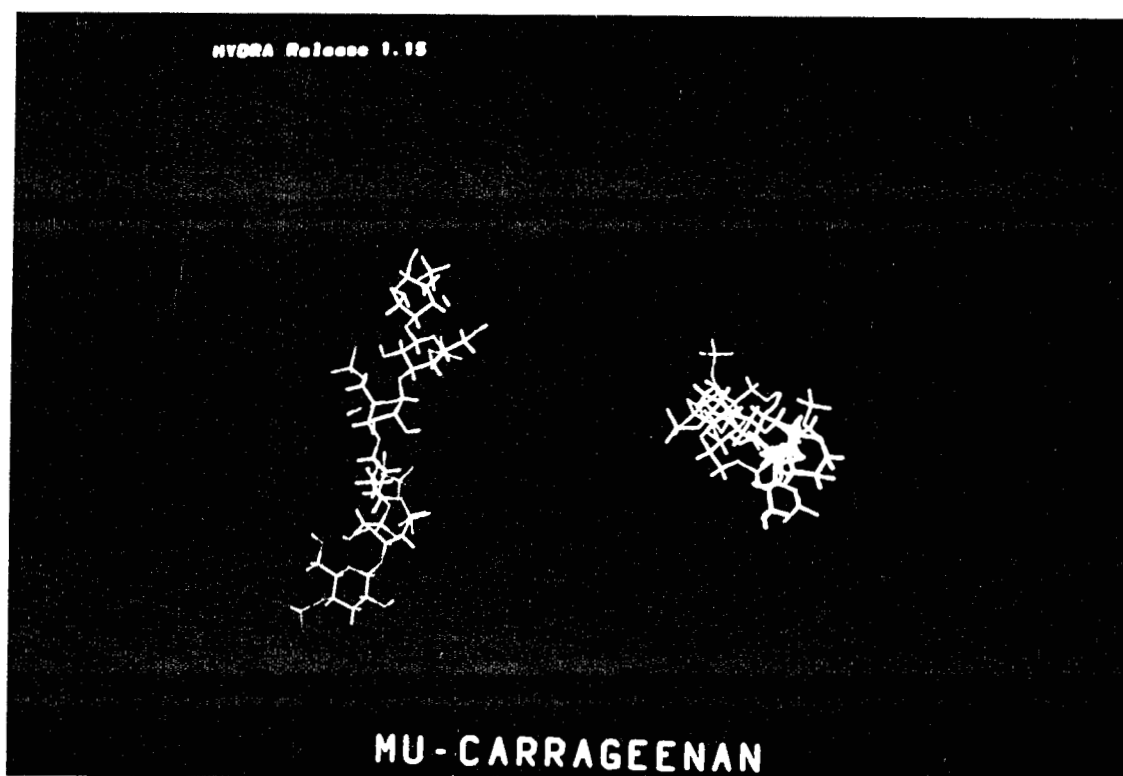


Image 4b : Mu-carraghénane

Il est intéressant de signaler que durant la minimisation d'énergie conduisant à cette visualisation, la structure en hélice du polysaccharide est totalement détruite ce qui ne permet plus l'arrangement en paires de chaînes imbriquées. L'observation faite antérieurement par Rees et coll. qui consiste à affirmer que la formation de 3,6 anhydrogalactose favorise la gélification, est en accord avec la configuration du cycle pyranique. En effet l'inversion de cette configuration de 1C_4 en 4C_1 modifie les torsions entre les résidus, ce qui entraîne la disparition des propriétés de gélification. Ce résultat, que nous avons dans un premier temps lié à une structure primaire puis secondaire dépend également d'autres facteurs que nous allons discuter.

II.4. RELATIONS ENTRE PROPRIETES PHYSIQUES ET BIOLOGIQUES

Les premières interprétations du mécanisme de gélification ont été proposées par Rees et coll. [1,6] pour le κ et le ι -carraghénane. Ces deux polysaccharides se trouvent naturellement à l'état de gel. Après leur extraction, ils peuvent former des gels durs thermoreversibles, dans des solutions aqueuses à faible concentration.

Cette gélification met en jeu des croisements ou associations entre deux ou plusieurs chaînes [21]. Les conformations évoluent vers une géométrie régulière qui permet l'agrégation des chaînes en un réseau tridimensionnel responsable de l'état et de la force du gel.

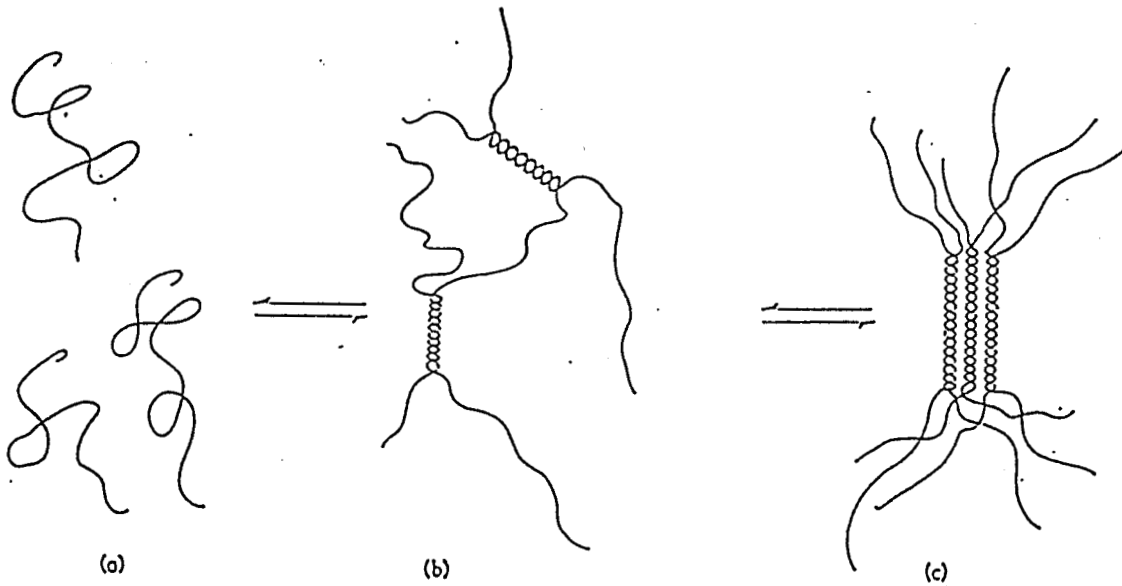


Schéma (1) - Réf. [1]

(a) : polysaccharide en solution

(b) : formation des doubles hélices

(c) : agrégation des doubles hélices en réseau tridimensionnel - état de gel

Ce mécanisme a été suivi et donc confirmé par des mesures de polarimétrie durant le chauffage et le refroidissement d'une solution aqueuse de κ -carraghénane [1].

Les molécules sont initialement dans un état désordonné, en forme de "pelote" dans la solution (a). Lors du refroidissement, les chaînes de polysaccharides acquièrent leurs conformations stables et la formation des doubles hélices commence à se produire (b), l'état gel n'étant pas encore atteint. Elles se combinent ensuite largement pour donner des agrégats (c).

Les séquences régulières dans les carraghénanes favorisent les interpénétrations des chaînes qui sont assez longues pour permettre aux attractions non covalentes d'être suffisamment fortes pour maintenir l'association. Cette hypothèse est proposée par Anderson et coll. Un changement dans la séquence covalente met fin à la régularité, la chaîne change alors d'orientation, quitte l'association et a une possibilité d'aller s'introduire dans une autre. Les agrégats s'enchevêtrent donc entre eux, pour former un filet tridimensionnel. Lorsque l'état d'agrégation est assez grand, il y a expulsion du solvant par contraction des mailles ce qui constitue l'étape finale du processus.

Le squelette de la double hélice est formé essentiellement de groupements apolaires d'atomes d'hydrogène et de carbone, dont les interactions de type Van Der Waals sont en grande partie attractives et nécessitent la présence de cations car il s'est avéré ensuite [20, 23] que l'existence d'agrégats est favorisée par l'adjonction des cations qui stabilisent les doubles hélices en créant un effet d'écran électrostatique à l'égard des charges fixes du polymère (Schéma 2.a).

Dans le cas du sel Ca^{2+} - ι -carraghénane, cette adjonction a d'ailleurs été mise en évidence. Chaque cation Ca^{2+} est coordonné à deux groupements sulfate provenant chacun d'une double hélice différente de façon à produire une chaîne Ca^{2+} -sulfate- Ca^{2+} -sulfate... parallèle à l'axe des fibres (Schéma 2.b). Il en résulte que chaque hélice est liée à ses voisines par l'intermédiaire des cations. La distance Ca^{2+} -O a, dans ce cas, une valeur

standard $d = 2.7 \text{ \AA}$. Les molécules d'eau présentes par l'intermédiaire de liaisons hydrogène, ont aussi certainement un rôle dans l'association des hélices.

La nature du "contre ion" a aussi une influence dans la formation de gel. Il a été observé [20] que dans des conditions identiques de concentration et de force ionique, la présence de cation Li^+ , Na^+ ou $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ ne permet pas la formation de gel, bien que la structure en hélice soit mise en évidence par rotation optique. Cependant des gels sont obtenus avec les ions du groupe I (K^+ , Rb^+ , Cs^+) et avec NH_4^+ . Nous pensons que la raison de ceci est la taille de ses cations, car par exemple, Na^+ est facilement hydraté, les molécules d'eau qui l'entourent, augmentent son rayon et si les distances sulfate-sulfate sont trop petites, comme nous l'avons vu dans le cas du iota, l'association du cation n'est plus possible. Des études par spectrométrie I.R. ont montré, à l'aide des fréquences d'élongation du sulfate, que la formation de paire d'ions avait lieu dans le κ et ι -carraghénane en présence de K^+ . Les liaisons sont plus fortes dans l'espèce kappa que dans l'espèce iota [23].

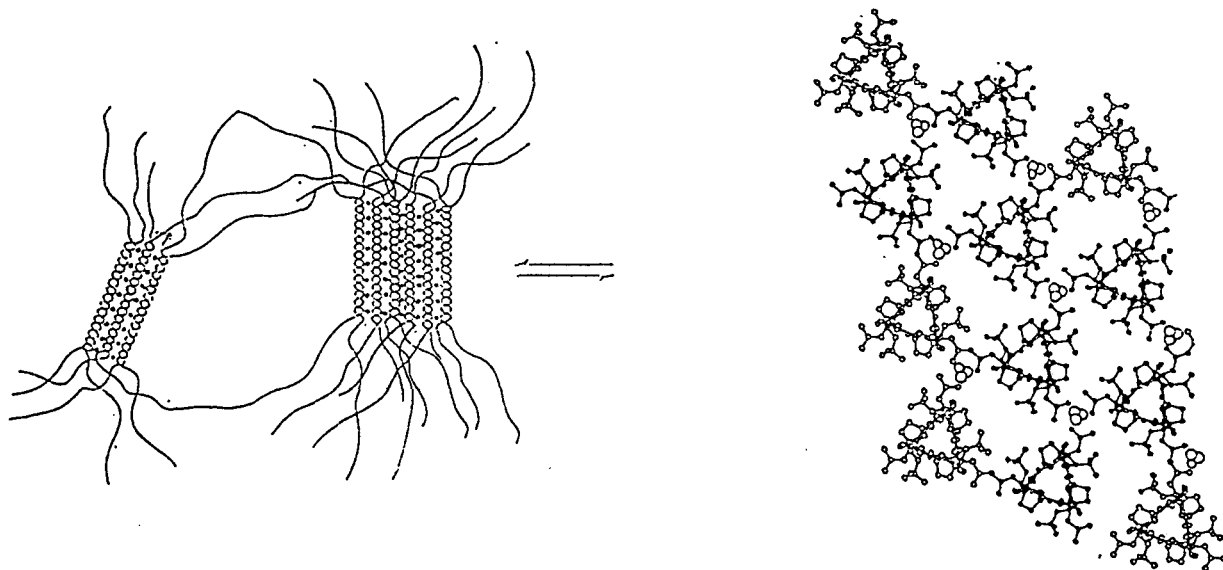


Schéma (2)

- (a) : Formation d'agrégats par l'intermédiaire de cation
vue face à l'axe de l'hélice
- (b) : Agrégat 1 - Vue au dessus des axes des hélices.

II.5. CONCLUSION

Les structures primaire, secondaire et tertiaire des carraghénanes et la nature du cation, peuvent être considérées comme les facteurs les plus importants dans le mécanisme de gélification. En effet, l'état gel ne peut avoir lieu que dans le cas où l'association des doubles hélices est assez forte pour favoriser l'existence d'agrégats (structure tertiaire). Ce n'est que dans cette dernière étape que la nature du cation ainsi que l'orientation du groupement sulfate par rapport à la double hélice, deviennent importants. Les doubles hélices peuvent exister sans qu'il n'y ait pour autant existence de gel. Ainsi si sa taille est petite, son adjonction aux doubles hélices ne fait qu'accentuer le phénomène d'agrégation qui est l'étape finale de la gélification.

Les doubles hélices (structure secondaire) initient la gélification. Tous les types de carraghénanes (κ , ι , ω) sont caractérisés par une telle structure, la position du sulfate est donc presque sans intérêt dans cette étape (sulfate du type précurseur, mis à part).

Dans le tableau suivant, nous comparons les différentes conformations

(τ) degrés	Anderson (τ)	Amott (τ)	Nos résultats par minimisation d'énergie		
			(τ) κ	(τ) ω	(τ) μ
φ_1	148.	-159.	-159.3	-158.4	76.8
φ_2	140.	-87.	-87.3	-70.1	71.4
ψ_1	140.	79.	79.3	88.8	-72.2
ψ_2	198.	-163.	-163.5	-177.7	82.2

Entre le κ et le ι , les différences sont très légères. Arnott et coll. ont d'ailleurs attribué la même conformation pour ces deux types de carraghénanes et ont supposé qu'elle n'était pas valable pour les autres types. Le ω -carraghénane est caractérisé par des angles de torsion autour des liaisons glycosidiques, légèrement écartés par rapport aux autres espèces.

Cependant nous avons déjà mentionné que les groupements sulfate changent d'orientation, ce qui n'empêche pas la formation d'une double hélice mais peut avoir une grande influence sur la structure tertiaire, ce qui expliquerait la faible gélification. Quant à la structure primaire, nous avons déjà vu que dans le cas du μ -carraghénane, l'absence du pont 3,6 anhydride rompt totalement la chaîne et ne permet plus la formation de double hélice. Ceci se produit certainement de la même façon dans tous les précurseurs biologiques des κ , ι , ω , et β carraghénanes, qui sont dépourvus de caractéristique gélifiante.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE II

1. D.A. Rees, I.W. Steele et F.B. Williamson, *J. Polymer Sci. : Part C* 28, 261-276 (1969).
2. D.A. Rees *Biochem. J.* 126, 257-273 (1972).
3. O. Smidrod, B. Larsen, A.J. Pernas, et A. Haug, *Acta Chem. Scand.*, 21, 2585-2598 (1967).
4. R.E. Reeves, *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 173 (1950).
5. S.T. Bayley, *Biochim. Biophys. Acta*, 17, 194-205 (1955)
6. N.S. Anderson, J.W. Campbell, M.M. Harding, D.A. Rees, J.W. Samuel *J. Mol. Biol.* 45, 85-99 (1969).
7. F.B. Williamson, *Thèse Ph.D., Université d'Edinburg* (1970).
8. S. Arnott, W.E. Scott, D.A. Rees et C.G.A. Mc Nab, *J. Mol. Biol.* 90, 253-267, (1974).
9. Ramachandran G.N., Ramakrishan C. et Sasisekharan V., *Aspects of protein structure*, p. 121, New York, Academic Press (1963).
10. Ramachandran G.N. et Sasiekharan V., *Advanc. Protein Chem.* 23, 283 (1968).
11. De Santis, P., Giglio. E., Liquori. A.M. et Ripamonti, A. *J. Polymer, Sci., Pt. A*, 1, 1383 (1963).
12. Arnott. S, et Scott. W.E, *J. Chem. Soc. Perkin Trans II*, 324-335 (1972).
13. Campbell. J.W., et Harding, *Ibid*, 1721-1723 (1972)
14. Chu. S.S.C. et Jeffrey. G.A., *Acta Crystallogr. Sect. B*24, 830-838 (1968)
15. Fries et coll., *Acta Crystallogr., Sect. B*27, 944 (1973).
16. Smith. P.J.C., *Thèse Ph.D., Université d'Edinburg* (1972)
17. T.A. Bryce, A.A. Mc Kinnon, E.R. Morris, D.A. Rees, D. Thom., *J. Am. Chem. Soc.*, 221 (1974).
18. J. Mollion et coll. *Food hydrocolloïds*, vol.1, n° 5/6, p.413-421 (1987).
19. Percival, E.E., et Mc Dowel, R.H. *Chemistry and enzymology of marine*

Algal polysaccharides (1967), London : Academic Press.

20. E.R. Morris, D.A. Rees, G. Robinson, *J. Mol. Biol.* 138, 349-362 (1980).
21. C. Rochas, M. Rinaudo, *Biopolym.*, 23, 735-745, (1984).
22. I.T. Norton and Coll., *J. Chem. Soc. Faraday Trans 1*, 79, 2501-2515 (1983).
23. M.G. Semenova, I.G. Plashchina, E.E. Brando and BV.B. Tolstoguzov *Carbohydr. Polym.* 9, 133-145 (1988).
24. TRIPOS 5.2. Force Field (1988)
Tripos Associates, 1699, S. Hanley Road, St. Louis, M.O. 63144, SYBYL
25. B.P. Flannery, S.A. Teukolsky et W.T. Vetterling, Press W.H.,
Numerical recipes ; The Art of Scientific Computing, Cambridge University Press (1986).

Chapitre III

Calcul des modes normaux de vibration
de l'alpha- et du beta- D - galactose
dans un champ de forces du type
Urey-Bradley-Shimanouchi modifié.

Etant donné que les carraghénanes sont des polygalactanes où les deux formes anomériques α et β du D- galactose sont disposées alternativement, une étude vibrationnelle complète de ces deux monomères de base s'avère d'une grande utilité pour l'interprétation des spectres infrarouge et Raman de ces polysaccharides. Avant ce travail, les attributions de fréquences des carraghénanes ont été faites en se basant sur les résultats obtenus pour le glucose dans la mesure où ce sucre, plus commun dans les composés biologiques, a fait l'objet d'études plus détaillées. De plus une grande variété de substituants deutériés est disponible commercialement, ce qui a beaucoup facilité l'obtention de résultats fiables.

Le calcul des modes de vibration du galactose implique une détermination des constantes de force convenables, c'est à dire l'obtention d'un champ de forces donnant un bon accord entre fréquences calculées et fréquences observées. Une fois ce champ de forces obtenu, la distribution de l'énergie potentielle nous renseignera sur la nature des modes de vibration.

Notre but a consisté, dans un premier temps, à développer et d'affiner un champ de forces transférable de l' α -galactose au β -galactose et d'autre part à attribuer et interpréter les spectres de ces deux composés, de manière à aboutir à une meilleure compréhension des spectres des carraghénanes.

Nous allons décrire les différentes étapes qui nous ont permis de tendre vers cet objectif.

III.1. PREPARATION DES COMPOSES

Le galactose commercialisé étant un mélange des deux anomères, nous avons procédé à leur séparation suivant la méthode décrite par B. Sheldrick [1] qui

est basée sur la solubilité dans le mélange eau-éthanol de l'alpha et du beta-D-galactose, respectivement à chaud et à froid.

III.1.a. Alpha-D-galactose

Le D-galactose est un produit commercialisé par Sigma, la forme cristalline α est obtenue en dissolvant 10 g dans 8 ml d'eau distillée ; 120 ml d'éthanol bouillant sont ensuite rajoutés. Le mélange est refroidi lentement à l'air, ce qui permet la formation de cristaux d'alpha-D-galactose, qui sont filtrés et séchés.

III.1.b. Beta-D-galactose

8 g. de D-galactose sont solubilisés dans l'eau distillée à chaud, cette solution est ensuite refroidie à 0°C. 200 ml d'éthanol, préalablement refroidi sont introduits dans cette solution sous agitation. Les cristaux obtenus de β -D-galactose sont lavés à l'éthanol froid et séchés. L'obtention de β -D-galactose pur est très difficile et nécessite beaucoup de rapidité dans la manipulation.



Clichés de poudre de : a/ α -galactose . b/ β -galactose

Des clichés de poudre des deux composés sont réalisés afin de contrôler leur pureté. Nous constatons sur la figure ci dessus que les raies caractéristiques de la forme α sont toutes présentes dans la forme β (1-6). Elles sont cependant moins intenses que celles normalement caractérisant le β -D-galactose. Par contre, ces dernières sont totalement absentes dans la figure 1.a. Nous en déduisons que l' α -galactose est pur, alors que le β

contient encore des proportions de son anomère. Nous avons recommencé plusieurs fois la recristallisation du β -D-galactose sans pouvoir modifier ce résultat de manière significative.

III.1.c. Deuteration des groupements hydroxyles

Très peu d'études spectroscopiques ont été menées jusqu'ici sur le D-galactose, mis à part quelques travaux dans le domaine des basses fréquences [2], ainsi que les travaux de Wells [3] et Barker [4]. Nous avons à notre disposition très peu de données expérimentales pour mener à bien cette étude vibrationnelle. Cependant, sachant que les hydrogènes des groupements hydroxyle sont les plus labiles et donc les plus facilement deutérables, nous avons pu obtenir le D-galactose O-D₅ en procédant de la manière suivante :
Sous atmosphère d'azote, 10 mg de D-galactose sont solubilisées dans 10 cm³ de D₂O (99,5 %) ce qui entraîne un excès d'eau lourde par rapport à la quantité de sucre et la totalité des hydroxyles sont impliqués dans l'échange. Le D₂O et H₂O résiduels sont ensuite éliminés par lyophilisation pendant 24 heures. Le produit obtenu se présente sous forme de poudre blanche. L'inconvénient de cette méthode réside dans le fait que les sucres en général, se présentent en solution sous leurs deux formes anomériques, la forme furanique peut parfois coexister dans ce cas, mais la forme α reste la prépondérante, comme le montrent les spectres infrarouges et Raman que nous présentons plus loin.

Le composé obtenu va pouvoir nous aider à attribuer les bandes caractéristiques des élongations O-H ainsi que les déformations angulaires C-O-H et par la suite à affiner les constantes de forces correspondantes.

PARTIE A : ETUDE SPECTROSCOPIQUE

III.2. ENREGISTREMENT DES SPECTRES

III.2.a. Spectres infrarouges

- ECHANTILLONNAGE

Les spectres des deux composés α et β -D-galactose, ainsi que celui du galactose O-D5 ont été enregistrés à l'état solide. Pour les basses fréquences (50 à 600 cm^{-1}), le α et le β -D-galactose se présentent en suspension dans la graisse d'Apiezon M, alors que le composé deutérié, est échantillonné sous forme de pastille en diluant 5 mg du produit dans 95 mg de polyéthylène.

Pour le moyen infrarouge (500-4000 cm^{-1}), 2 mg de composé sont dilués dans 98 mg de KBr.

- MATERIEL UTILISE

Les spectres infrarouges sont obtenus à l'aide d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier BRUKER IFS 113 V, fonctionnant sous vide, ce qui permet d'éliminer totalement les spectres de la vapeur d'eau et de CO₂. L'appareil possède deux sources : une lampe à vapeur de Hg (I.R lointain) et un globar (IR moyen). Il est équipé de deux détecteurs : D.T.G.S. à fenêtre de polyéthylène ou bolomètre pour la première région, M.C.T. refroidi à l'azote liquide pour la seconde.

Pour que les spectres à température ambiante et à celle de l'azote liquide soient enregistrés dans les mêmes conditions, nous avons utilisé dans les deux cas une cellule R 11 C .

Les conditions d'enregistrement sont les suivantes :

Résolution : 2 cm^{-1}

Nombre d'accumulations pour l'échantillon : 100

Nombre d'accumulations pour la référence : 100

Ordonnée du spectre : Absorbance

Coefficient de lissage = 0

III.2.B. Spectres Raman

- ECHANTILLONNAGE

Les poudres de α et β -D-galactose sont simplement mis dans des capillaires en verre, pouvant être scellés, notamment pour le D-galactose O-D5 afin d'éviter les échanges D \rightarrow H pendant l'enregistrement du spectre.

MATERIEL UTILISE

Les spectres de diffusion Raman ont été enregistrés sur un spectromètre DILOR type RT 30. Il s'agit d'un appareil à balayage possédant trois étages dispersifs, chaque étage étant muni d'un réseau holographique plan de 1800 traits/mm. Le montage est du type Sergeant-Rozey et la focale est de 800 mn, les fentes sont réglables de façon continue. Il présente un avantage important qui est son faible taux de lumière parasite en basses fréquences. Cette qualité est très appréciée lors d'études de cristaux nécessitant la mise en évidence des modes externes. Le détecteur est un photomultiplicateur refroidi par effet Peltier afin de diminuer le bruit thermique.

Les sources consistent en deux LASERS Spectra Physics, l'un à Argon, et Krypton ionisé.

Les spectres Raman à basse température ont été réalisés à l'aide d'un cryostat de type mécanique, refroidi par une circulation d'azote, il est constitué de quatre faces à 90° , placées sur un support métallique.

* Conditions d'enregistrement

Vitesse de réseaux : $64 \text{ cm}^{-1}/\text{mn}$

Excitatrice : 5682 (Å)

Puissance du LASER : 50 mW

Nombre d'accumulations : 4

Résolution : $2.0 \text{ (cm}^{-1}\text{)}$

Constante de temps : 0.5 s

III.3. SPECTRES INFRAROUGES ET RAMAN

Nous représentons les spectres infrarouge et Raman à température ambiante et à celle de l'azote liquide sur les figures (1-17). Comme nous l'avons signalé, les spectres associés au β -D-galactose représentent en réalité le mélange α et β -D-galactose, alors que celui de l' α -D-galactose correspond au produit pur, ce qui permet d'attribuer les bandes supplémentaires dans les spectres du mélange au β -D-galactose. Les autres bandes sont obtenues en comparant soit leurs intensités ou leur largeur. En outre, nous nous sommes appuyés sur les spectres préalablement enregistrés par Wells [3]. Bien que ces derniers contiennent encore, à notre avis, des impuretés anomériques et en particulier le spectre infrarouge associé au β -D-galactose.

III.4. ANALYSE DES TRAVAUX ANTERIEURS

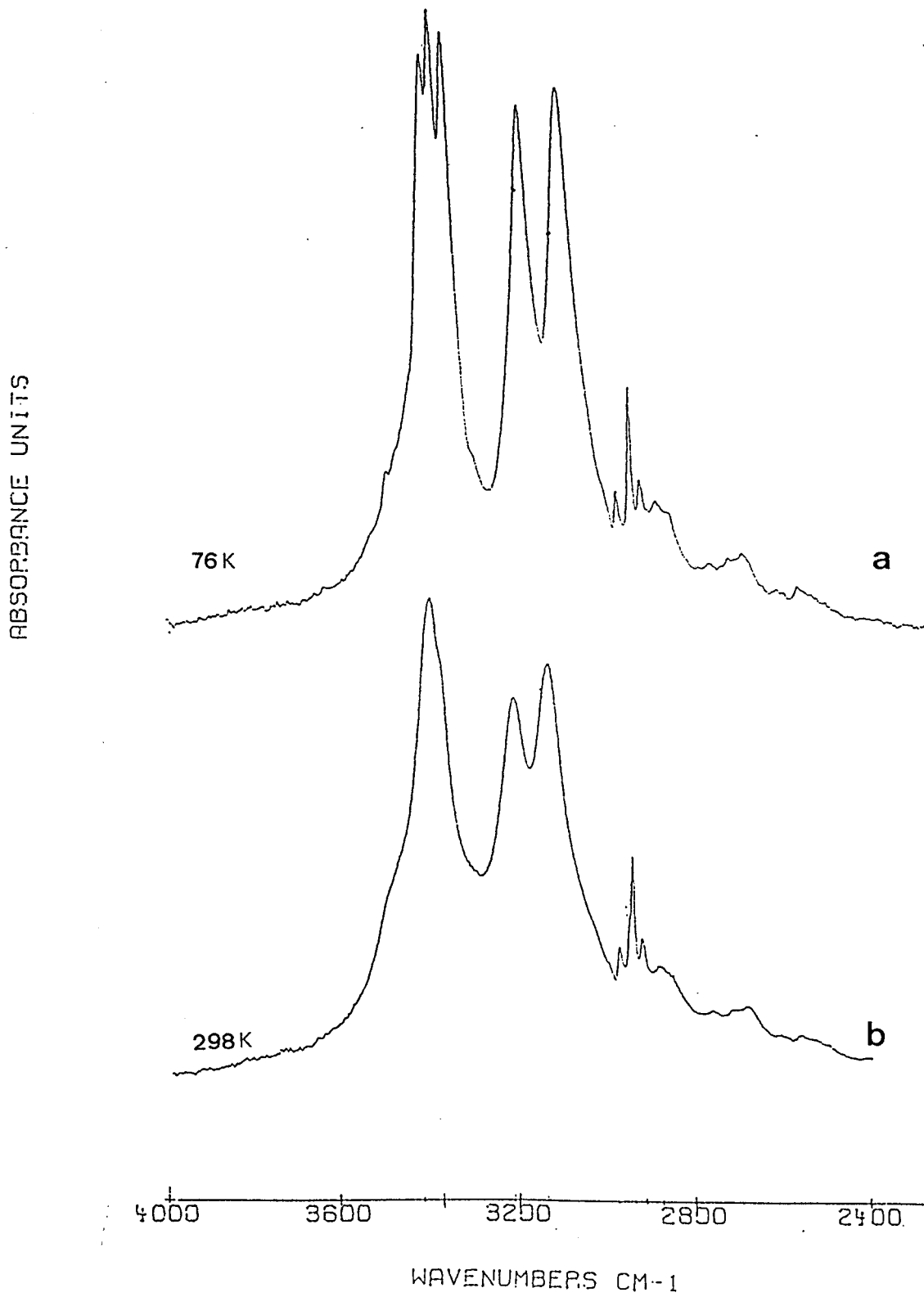
Le galactose a fait l'objet d'études spectroscopiques très limitées. En 1950, L.P. Kuhn [6] a enregistré une série de spectres infrarouges de 79 hydrocarbures, dont le galactose, dans la région du moyen infrarouge de 4000 à 400 cm^{-1} . Ce n'est que beaucoup plus tard que le spectre dans le lointain I.R. a été réalisé par M. Hinéno et coll. [7, 8] qui avaient pour but d'identifier les modes de déformation et de torsion de ce composé. Ces derniers ont alors enregistré le spectre du galactose à température ambiante et à celle de l'hélium liquide afin d'augmenter la résolution et d'éliminer le bruit thermique en dessous de 200 cm^{-1} mais il n'a pas été précisé de quel anomère il s'agissait.

Après une comparaison avec nos spectres du α -D-galactose, nous avons noté que les bandes à 346 cm^{-1} et à 316 cm^{-1} , ainsi que les dédoublements à

428, 407 et à 330 cm^{-1} sont dus à la présence de β -D-galactose, nous en concluons que dans les travaux de Hinéno, le spectre du D-galactose représente les deux anomères.

Dans le but de calculer les modes normaux de vibration du D-galactose en molécule isolée, Wells a enregistré les spectres de l' α et du β -D-galactose séparément à température ambiante et à celle de l'hélium liquide, à la fois en infrarouge et en Raman. A part quelques petites différences, ces spectres sont en assez bon accord avec les notres. Cependant l'originalité de notre travail concerne les basses fréquences. En effet, nous avons identifié pour la première fois, les bandes caractéristiques, soit de la forme α ou β , en dessous de 200 cm^{-1} . De plus, nous effectuons ici le calcul des modes normaux de vibration des deux formes cristallines du galactose pour la première fois.

Figure 1 : Spectre I.R de l' α - D - galactose
Région 4000- 2400 cm^{-1}



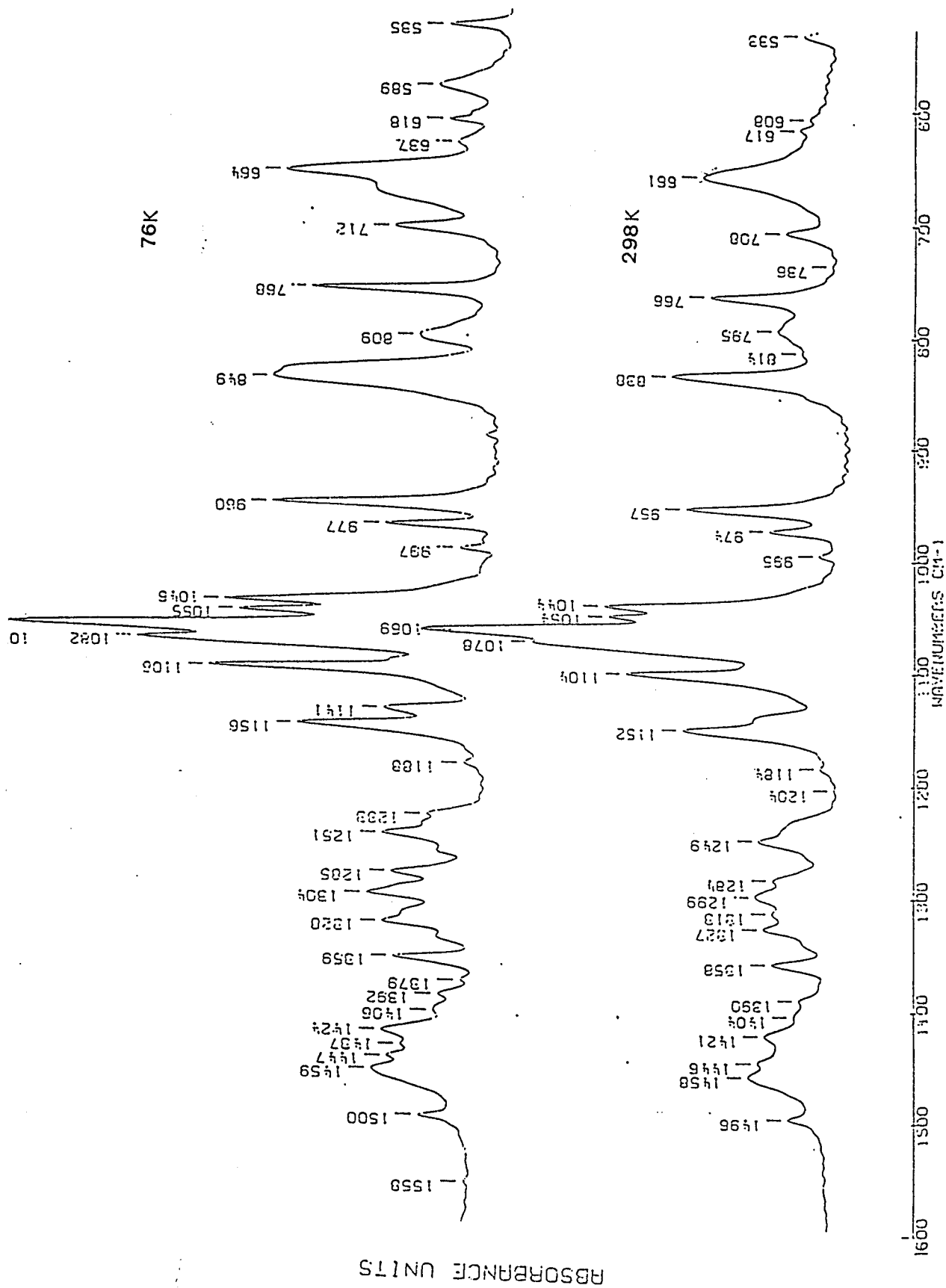


Figure 2 : Spectre I.R de l' α - D - galactose
Region 1600 - 500 cm^{-1}

Figure 3 : Spectre I.R de l' α - D - galactose
region 600- 50 cm^{-1}

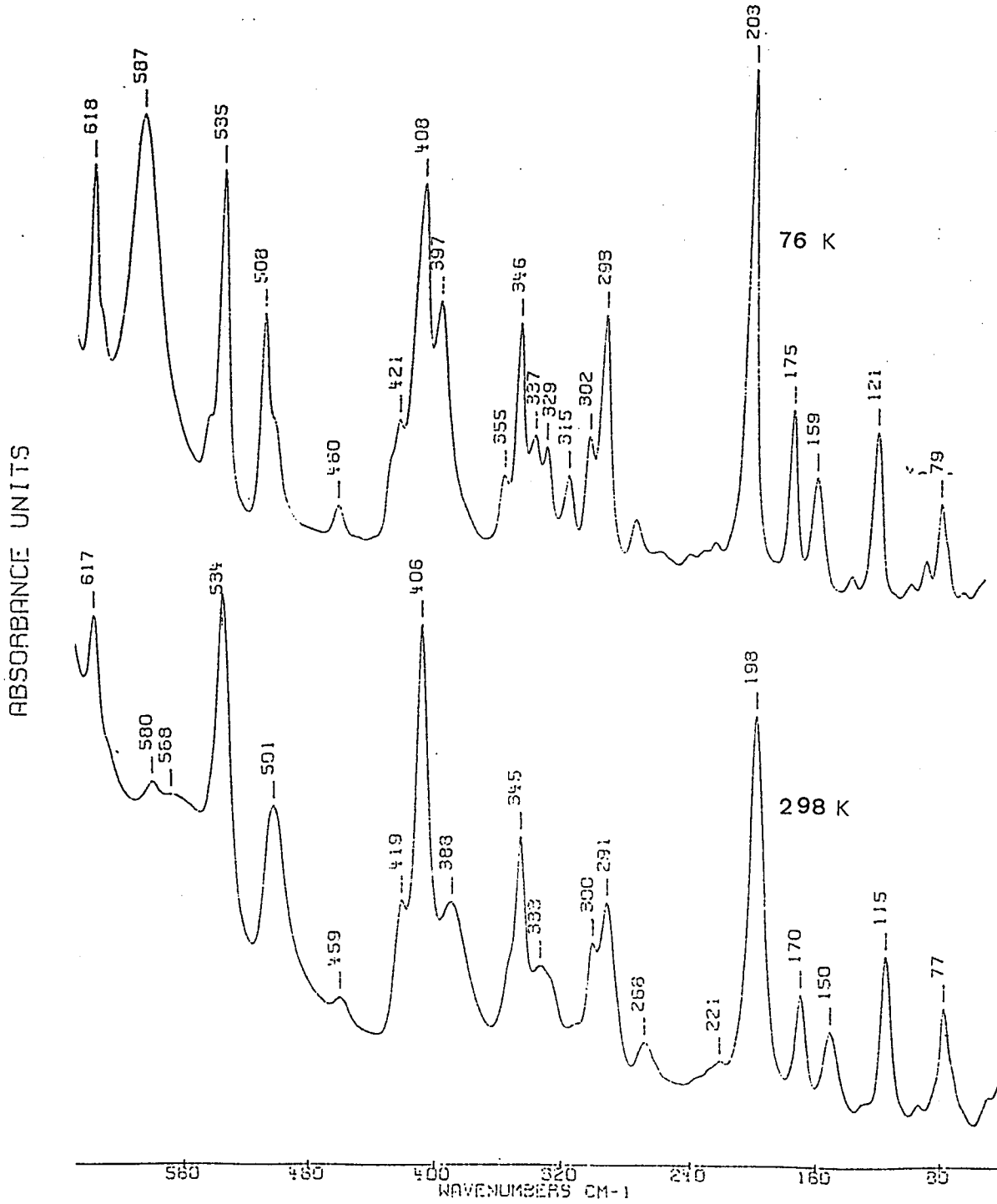


Figure 4 : Spectre Raman de l' α - D - galactose
Region $3500 - 2700 \text{ cm}^{-1}$

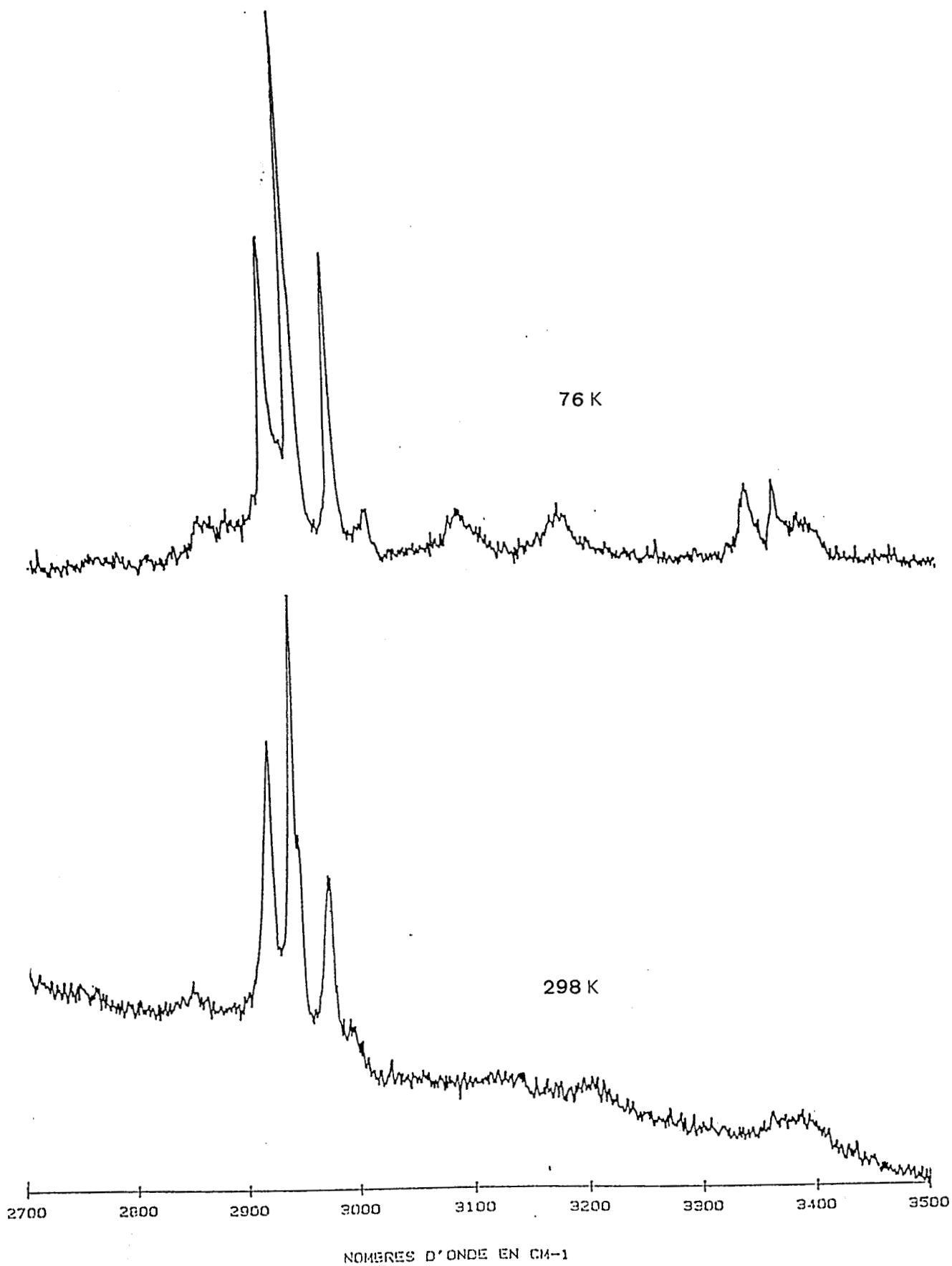


figure 5 : Spectre Raman de l' α - D - galactose
Region 1600 - 30 cm^{-1}

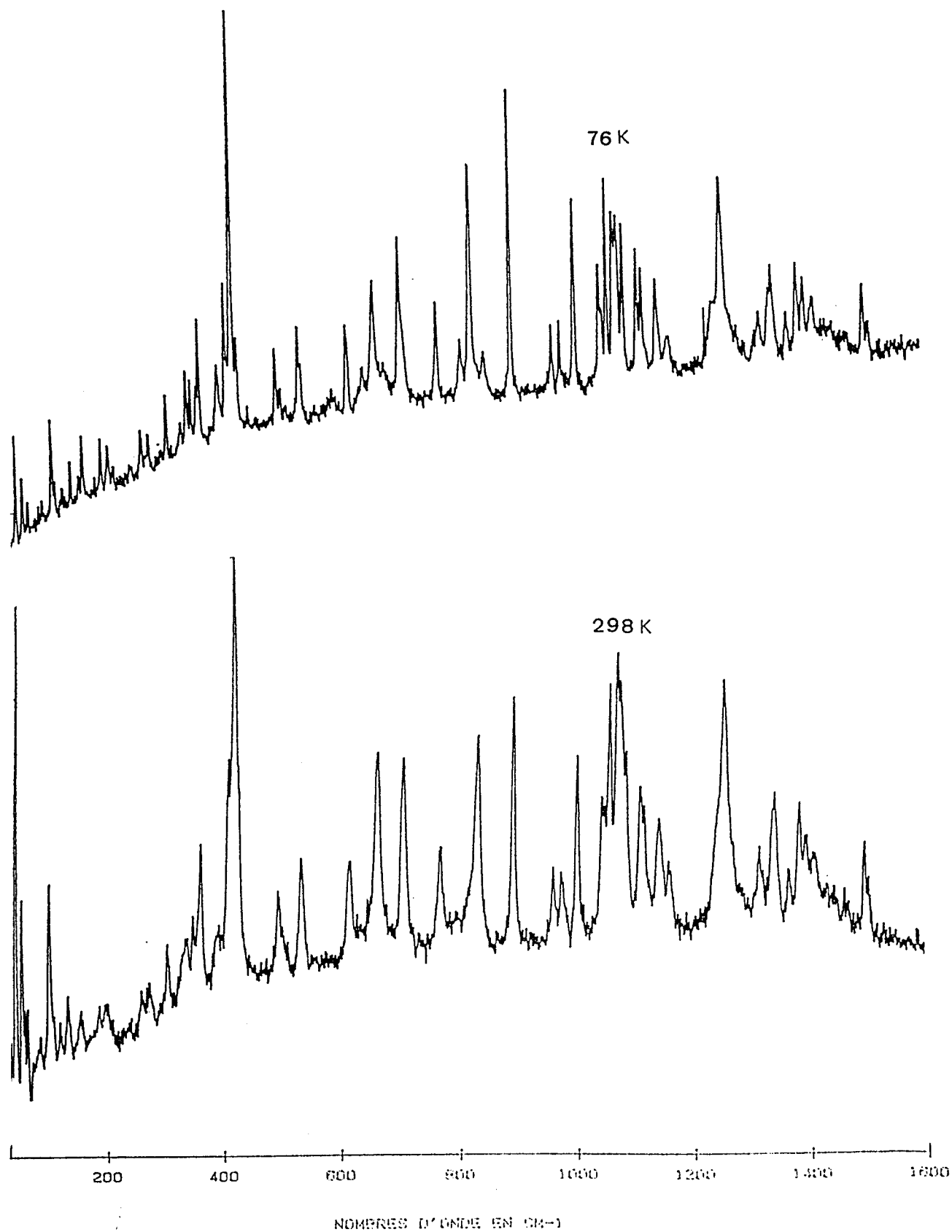


Figure 6 : Spectre Raman de l' α - D - galactose
Region 1600 -1000 cm^{-1}

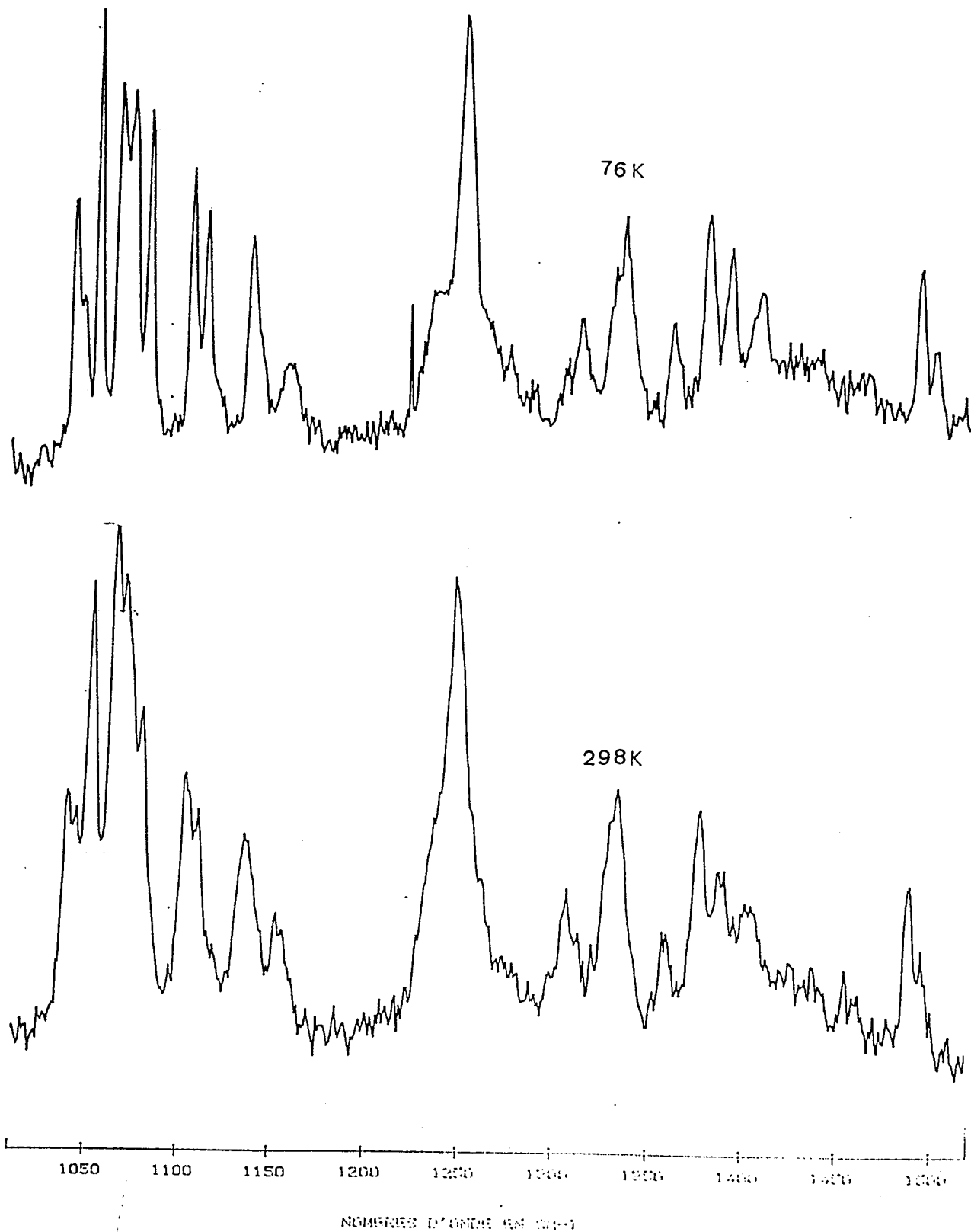


Figure 7 : Spectre Raman de l' α - D - galactose
Region 1000 - 450 cm^{-1}

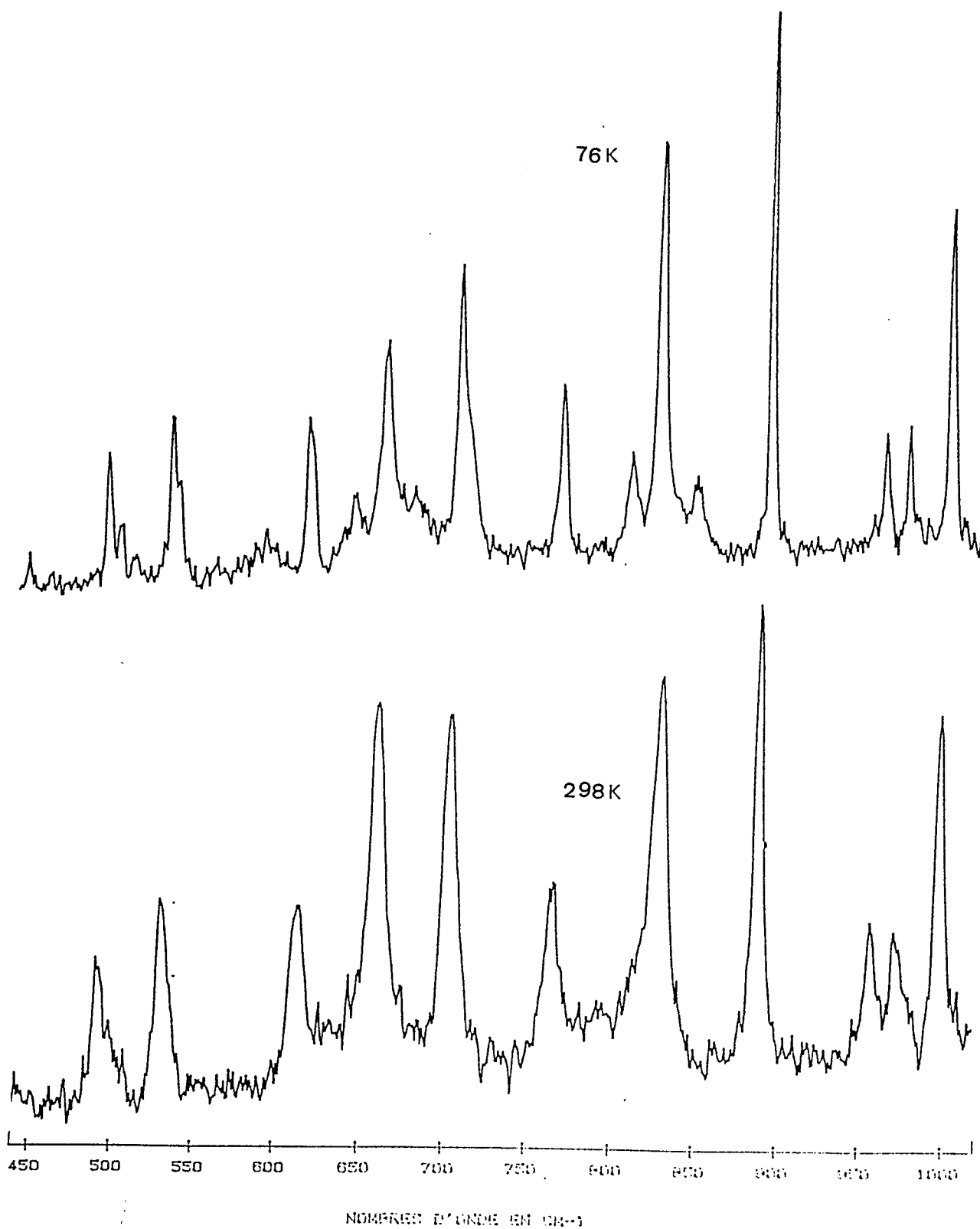


Figure 8 : Spectre Raman de l' α - D - galactose
Region 450 - 30 cm^{-1}

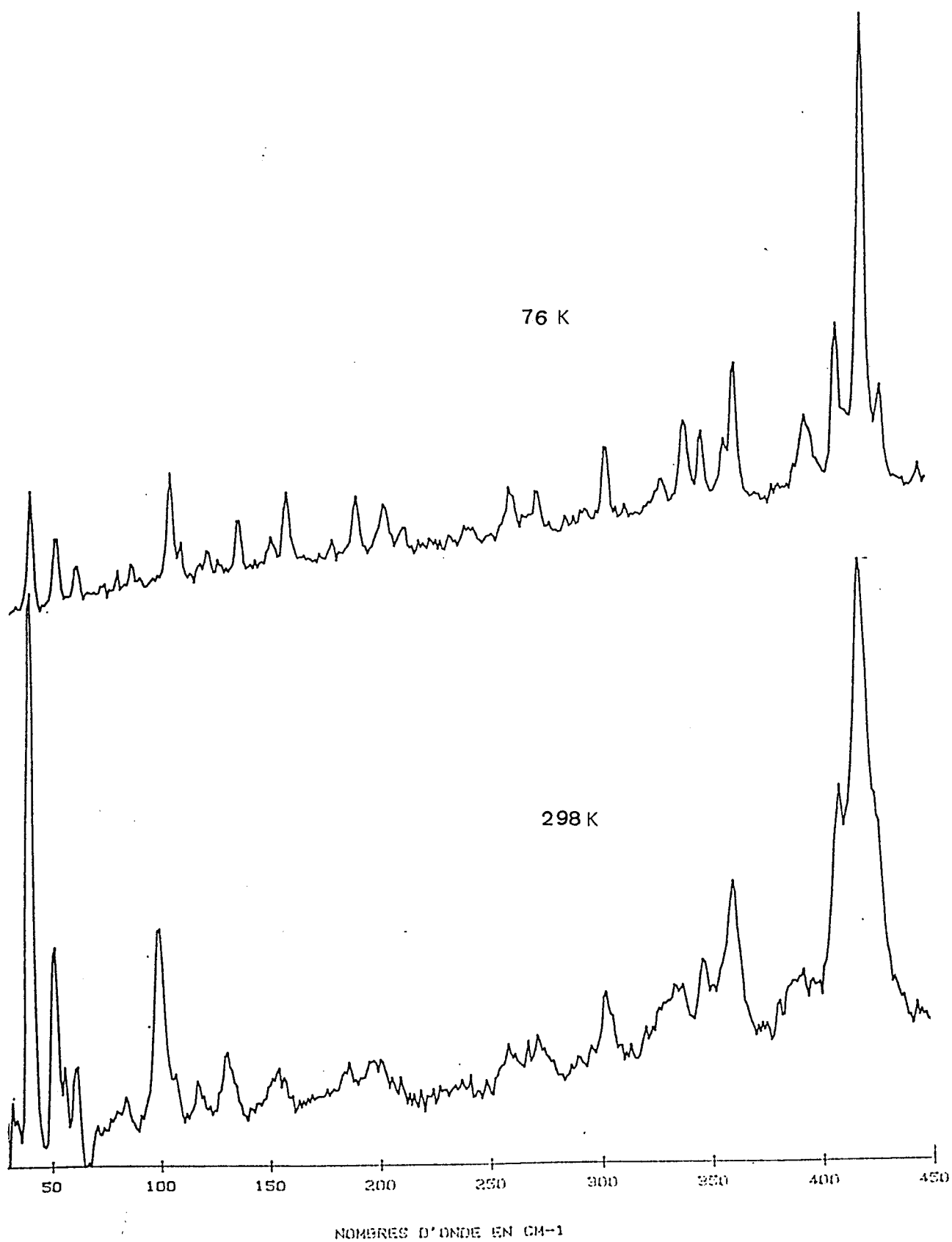
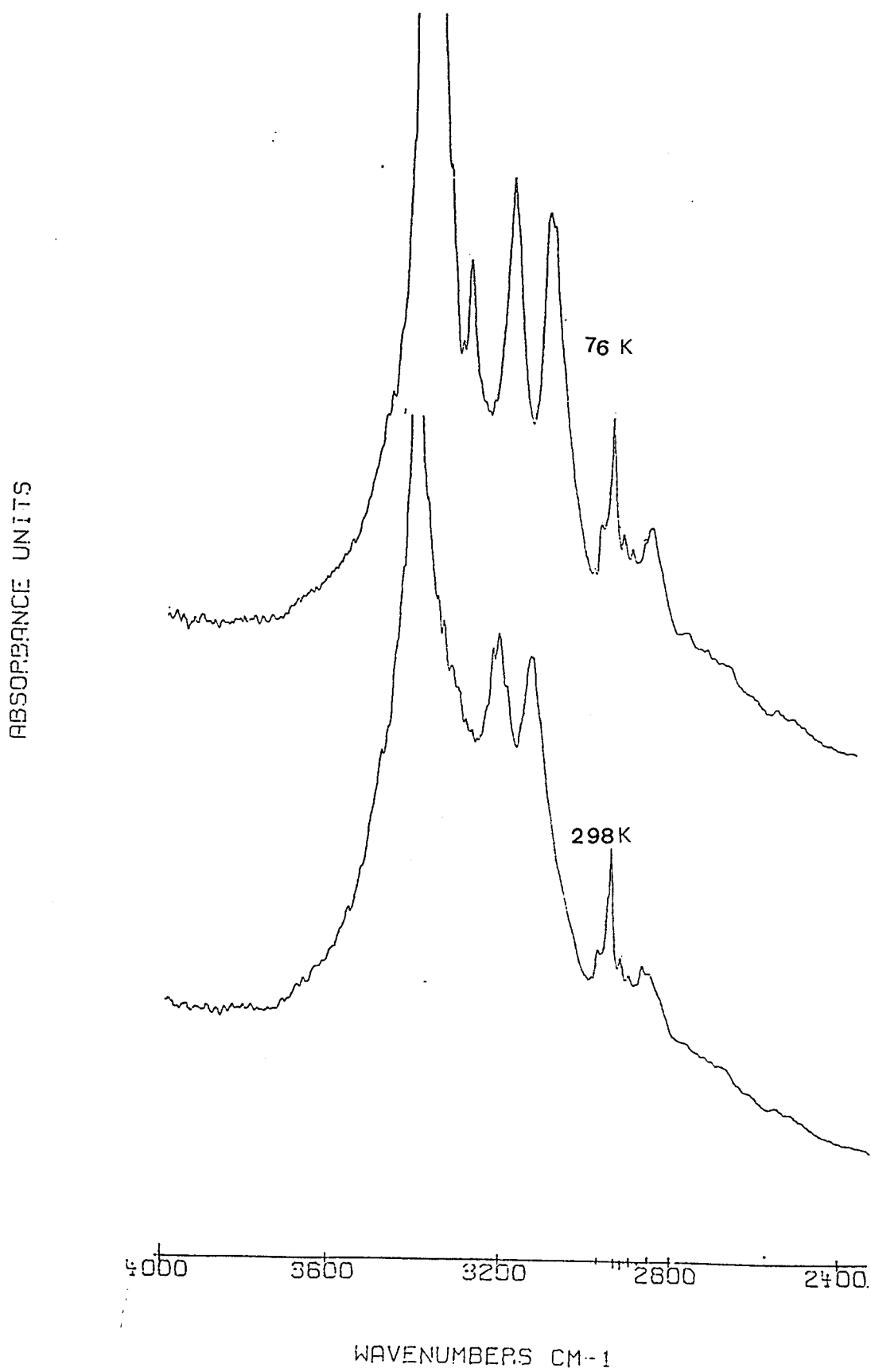


Figure 9 : Spectre I . R du β - D - galactose
Region 4000 - 2400 cm^{-1}



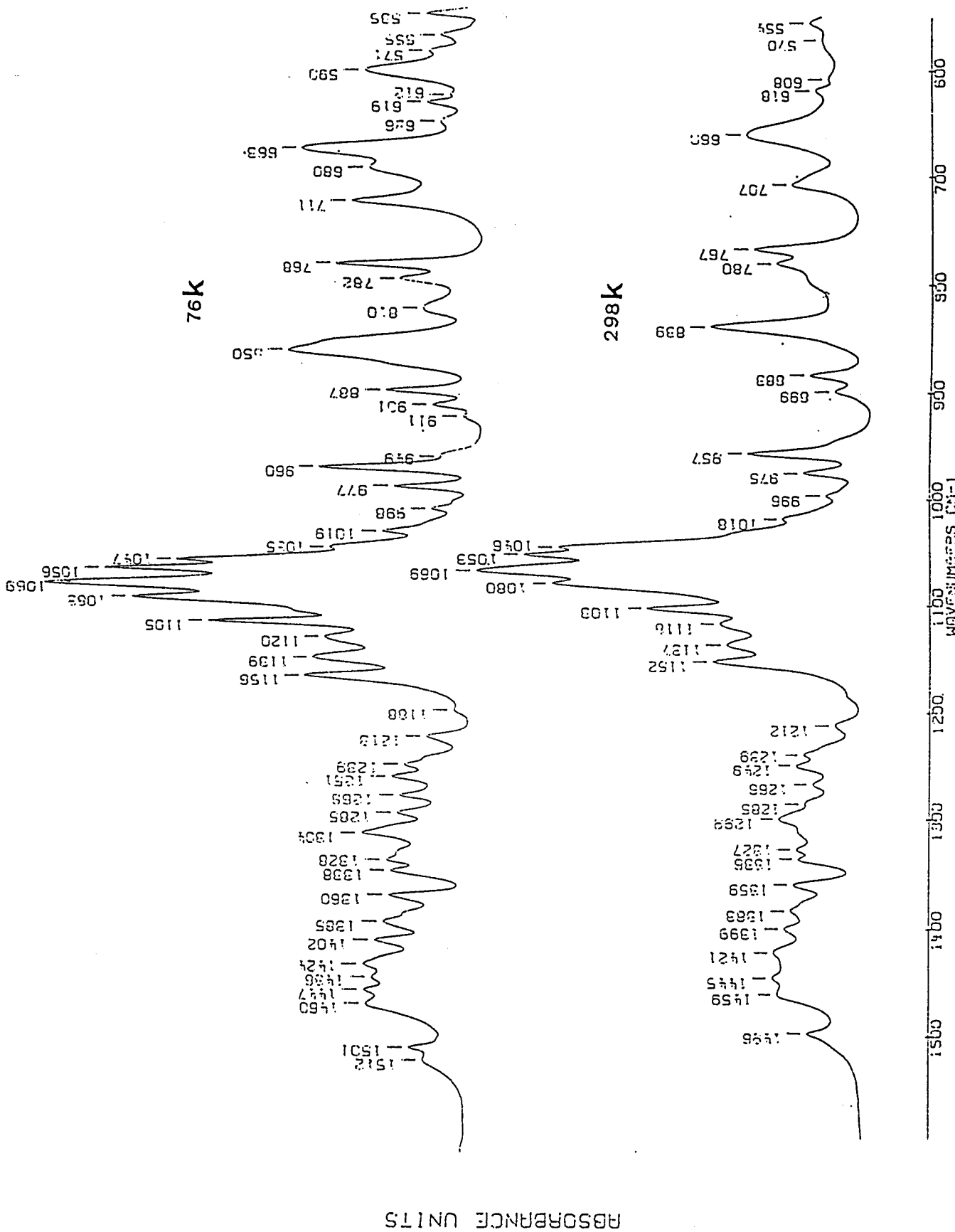


Figure 10 : Spectre I.R du β - D - galactose
 Region 1600 - 500 cm⁻¹

Figure 11 : Spectre I.R du β - D - galactose
 Region 600 - 50 cm^{-1}

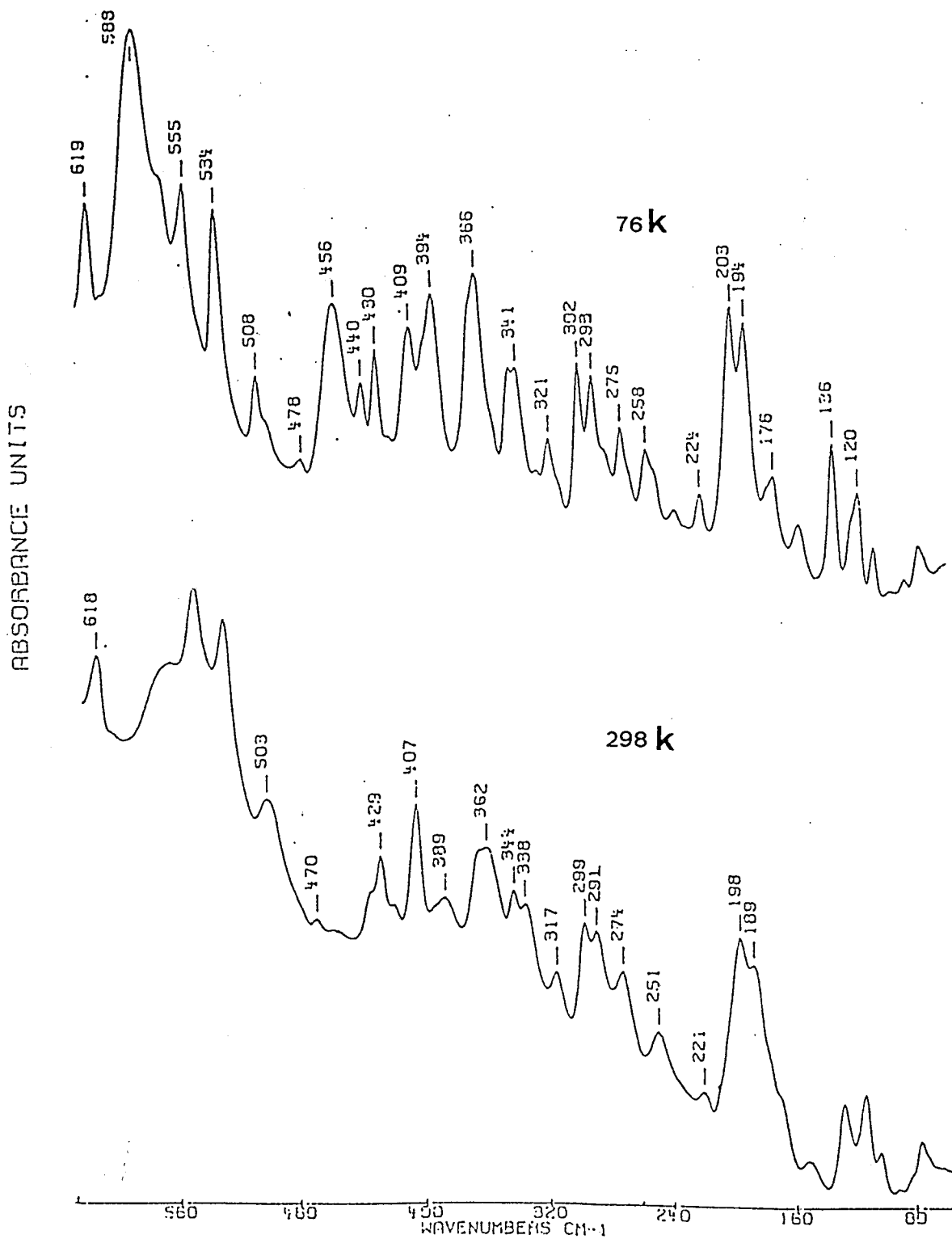


Figure 12 : Spectre Raman du β - D - galactose

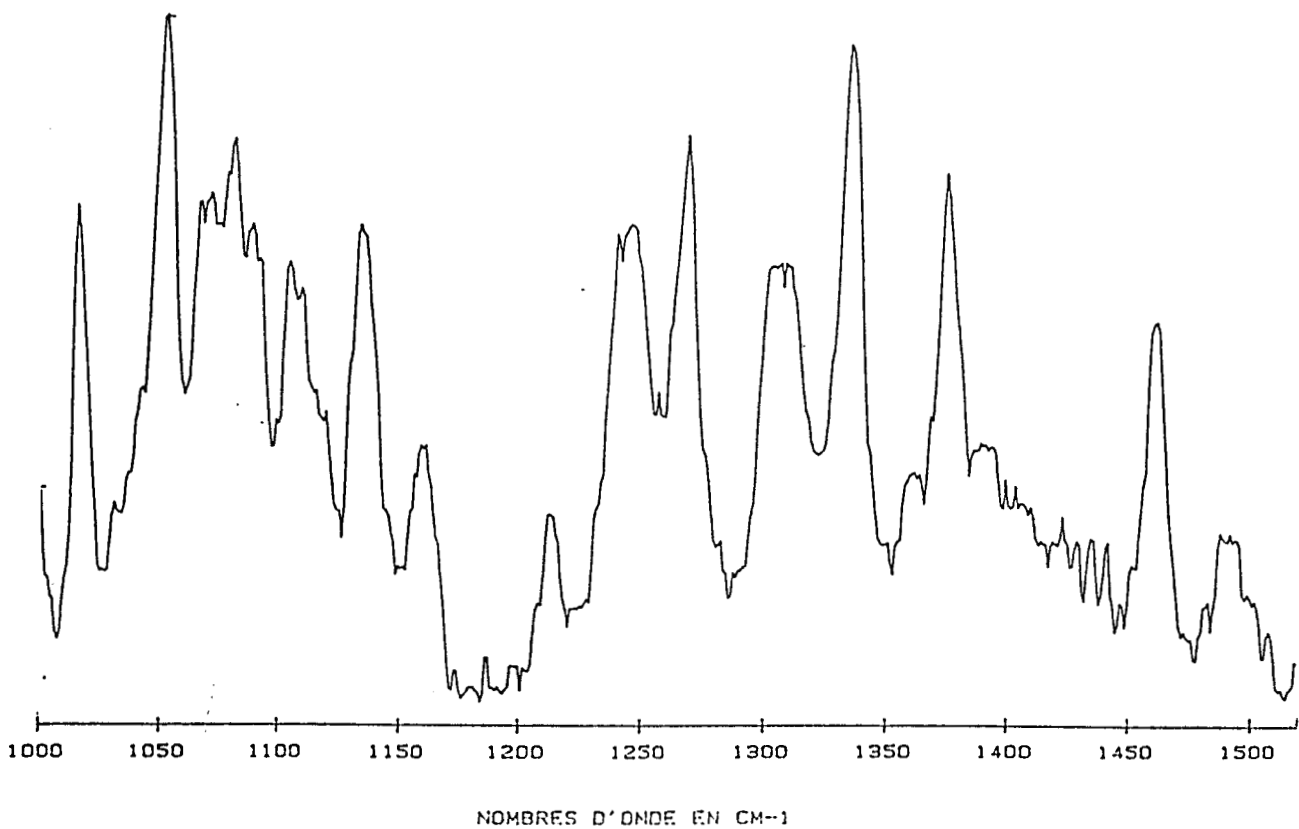
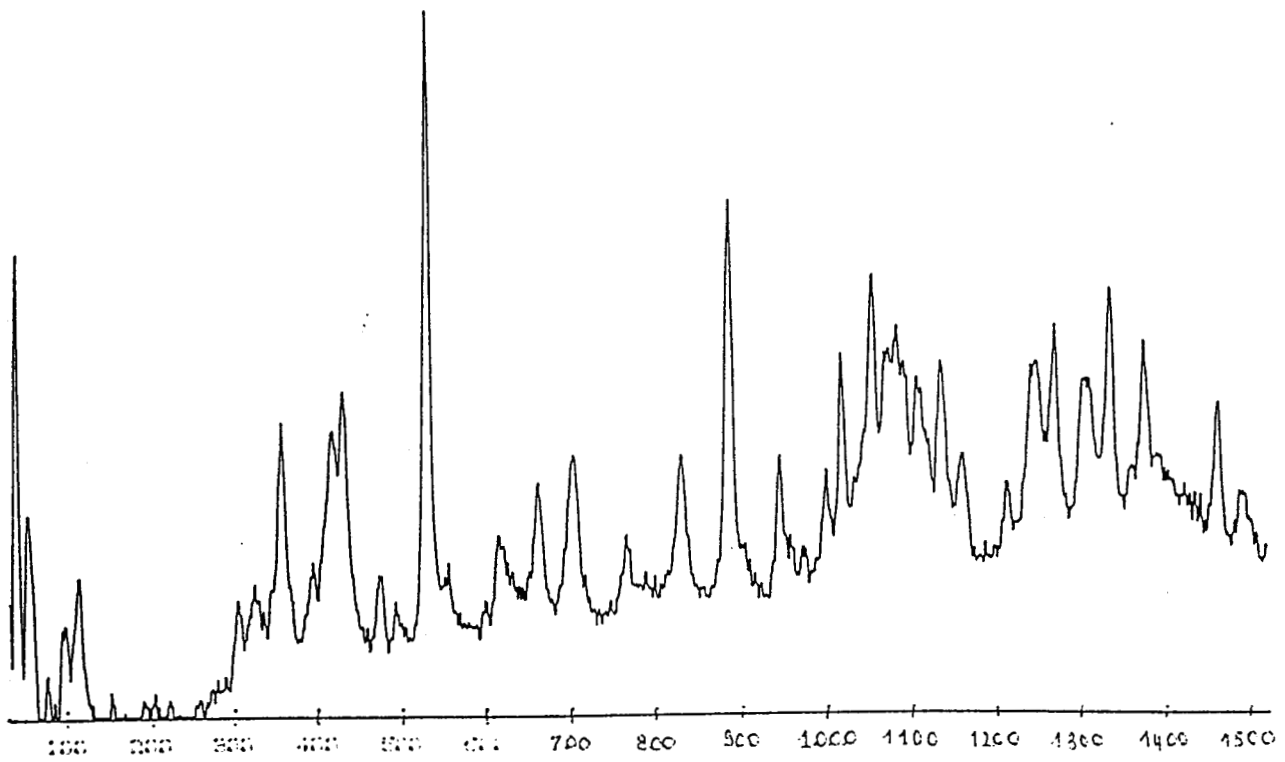
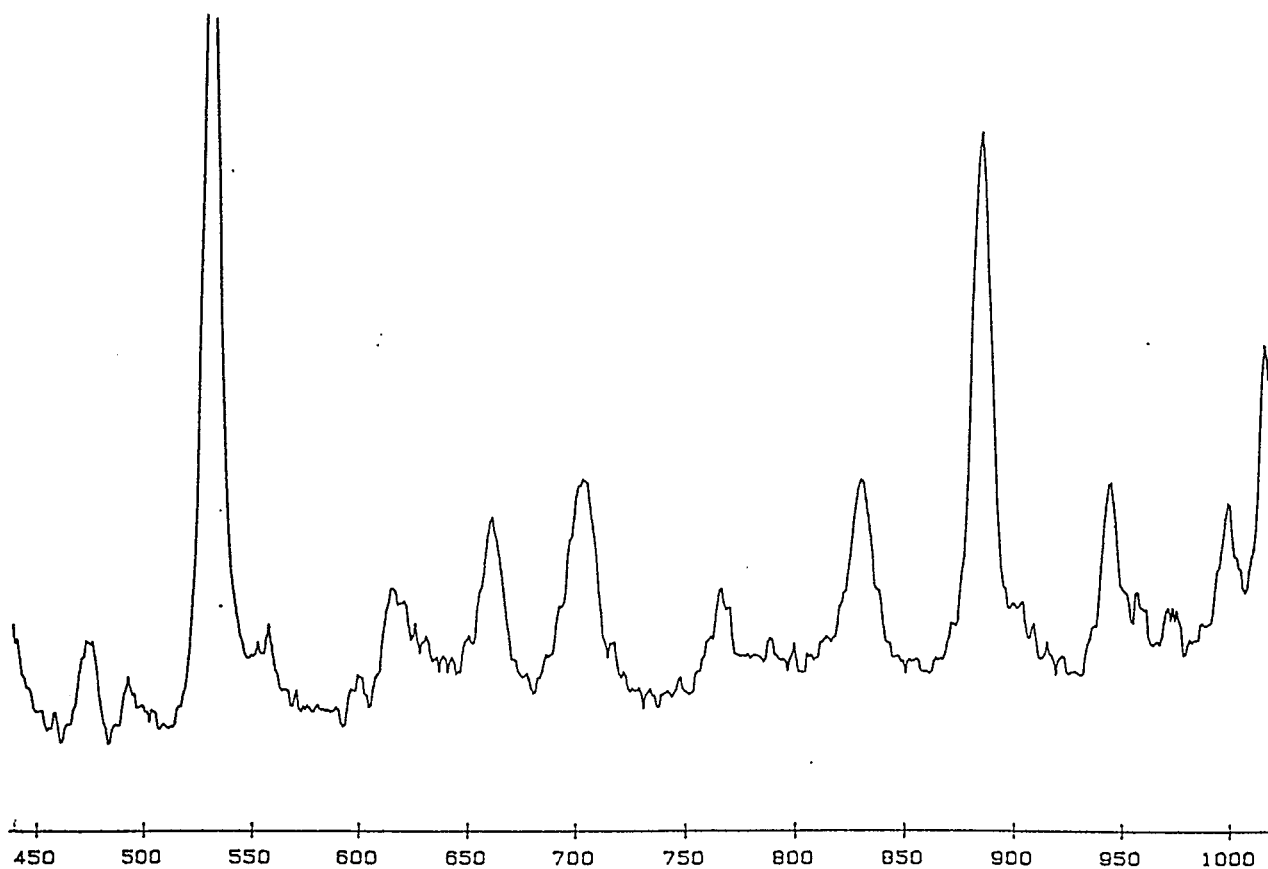
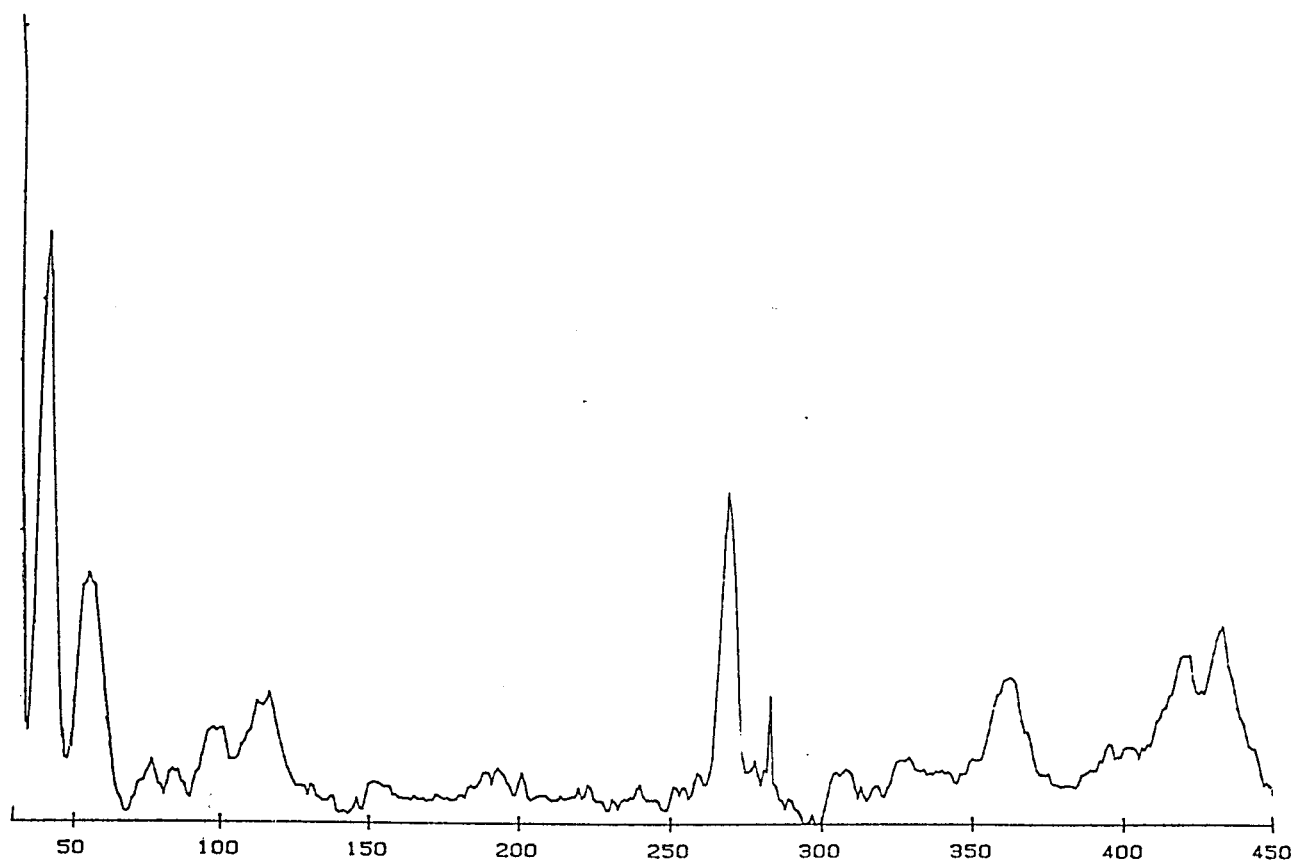


Figure 13 : Spectre Raman du β - D - galactose



NOMBRES D'ONDE EN CM-1



NOMBRES D'ONDE EN CM-1

Figure 14 : Spectre I.R du D- galactose O- D5

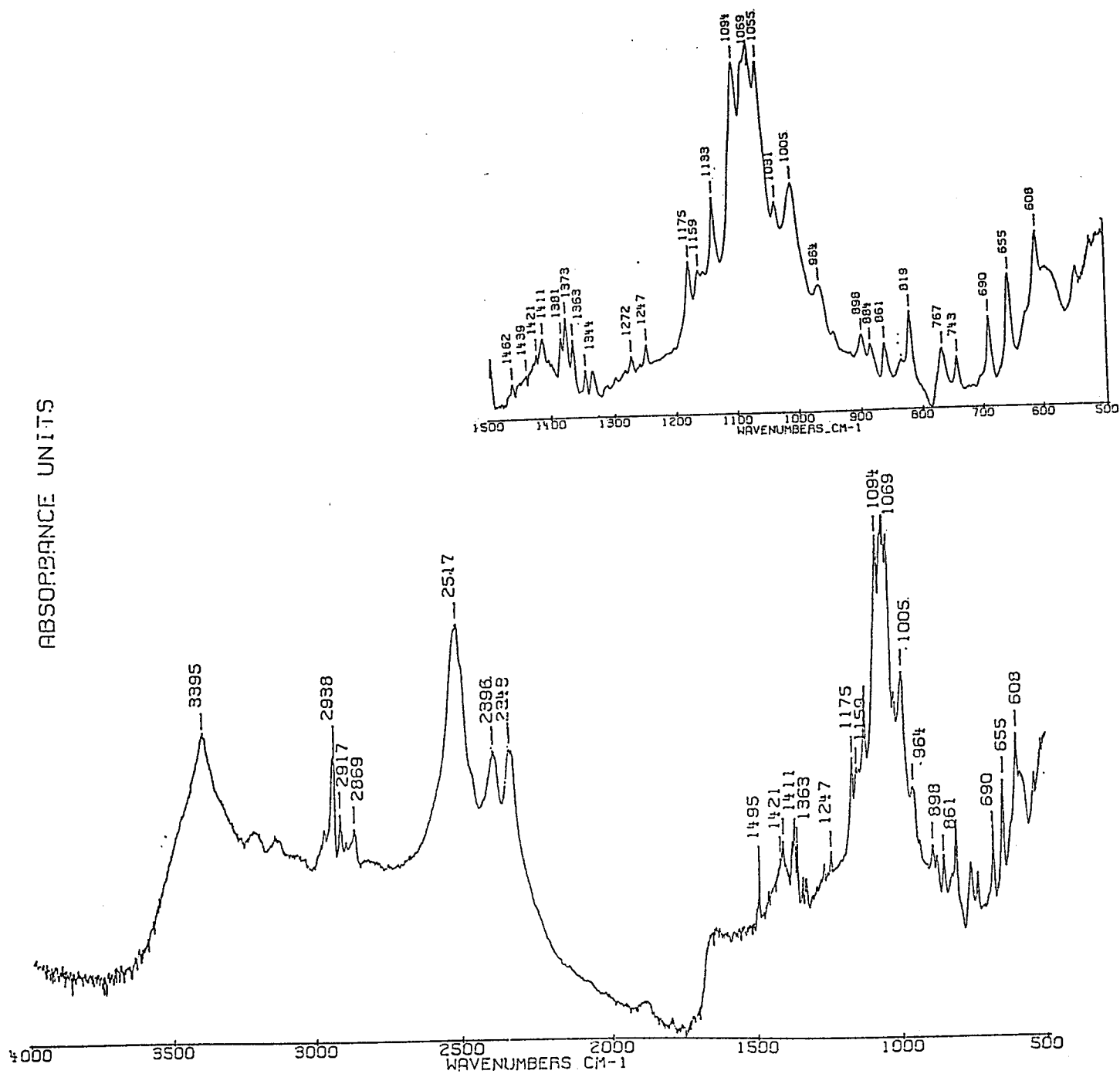
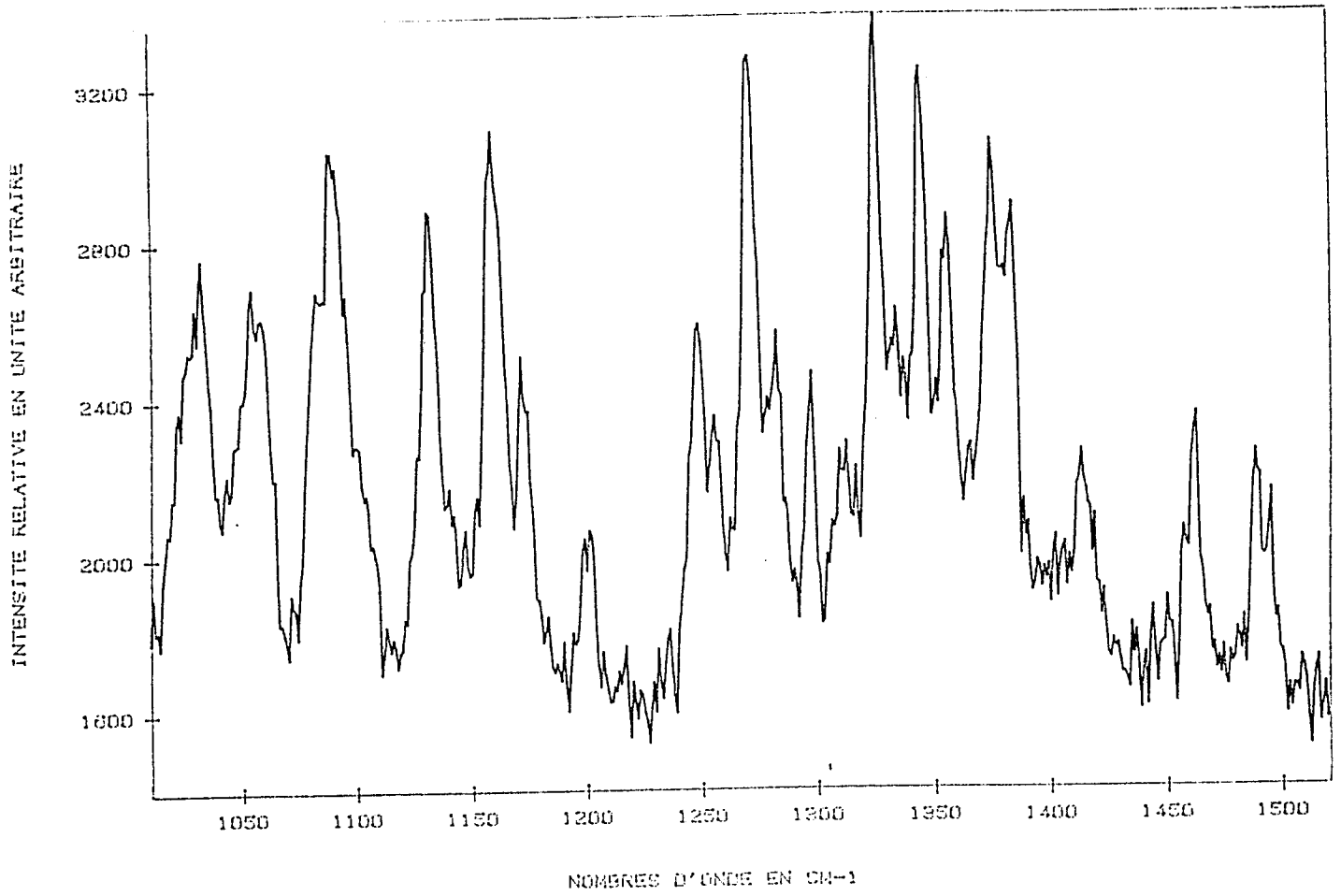


Figure 15 : Spectre Raman du D- galactose O- D5



SPECTRE RAMAN : GALACTOSE D

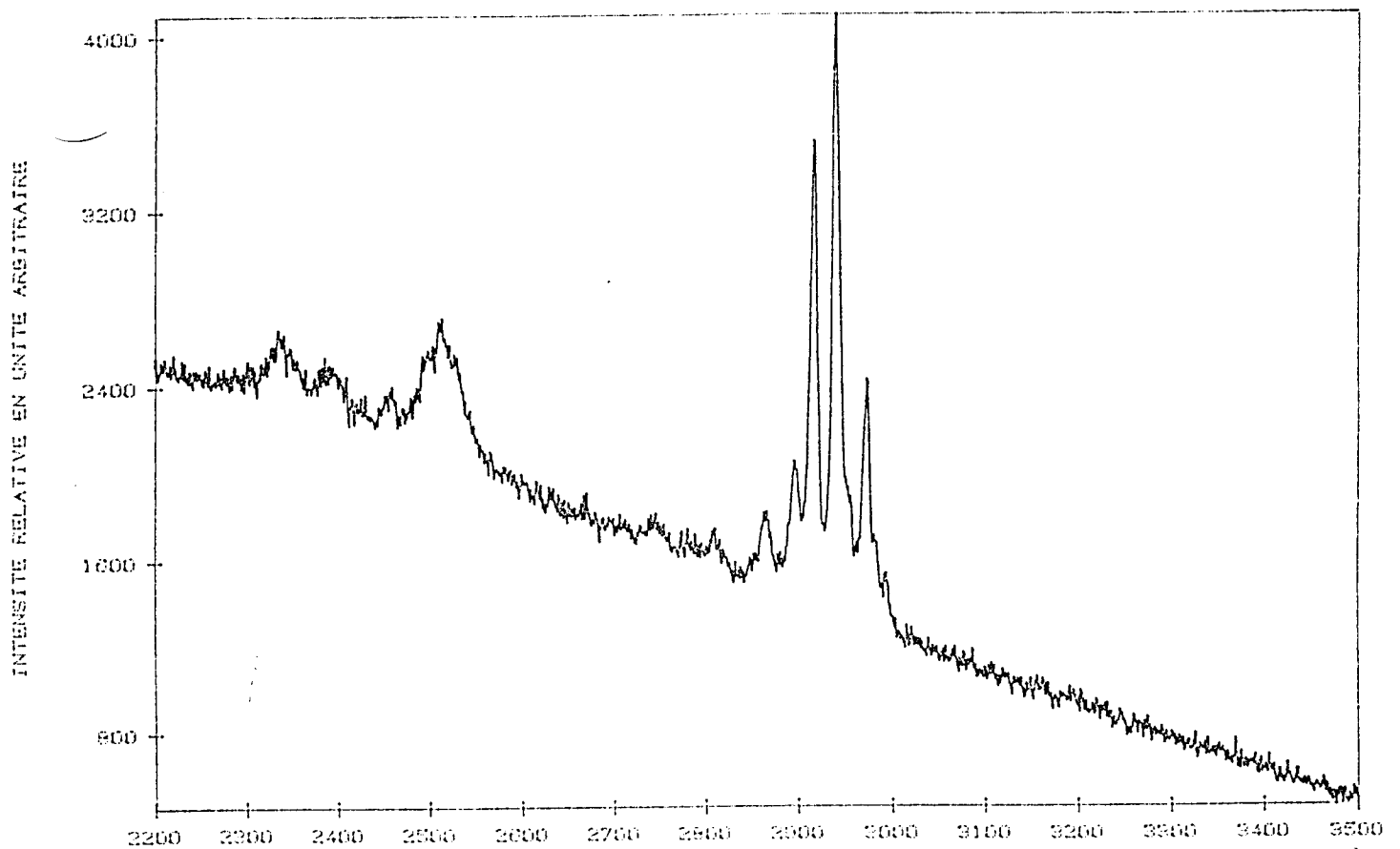
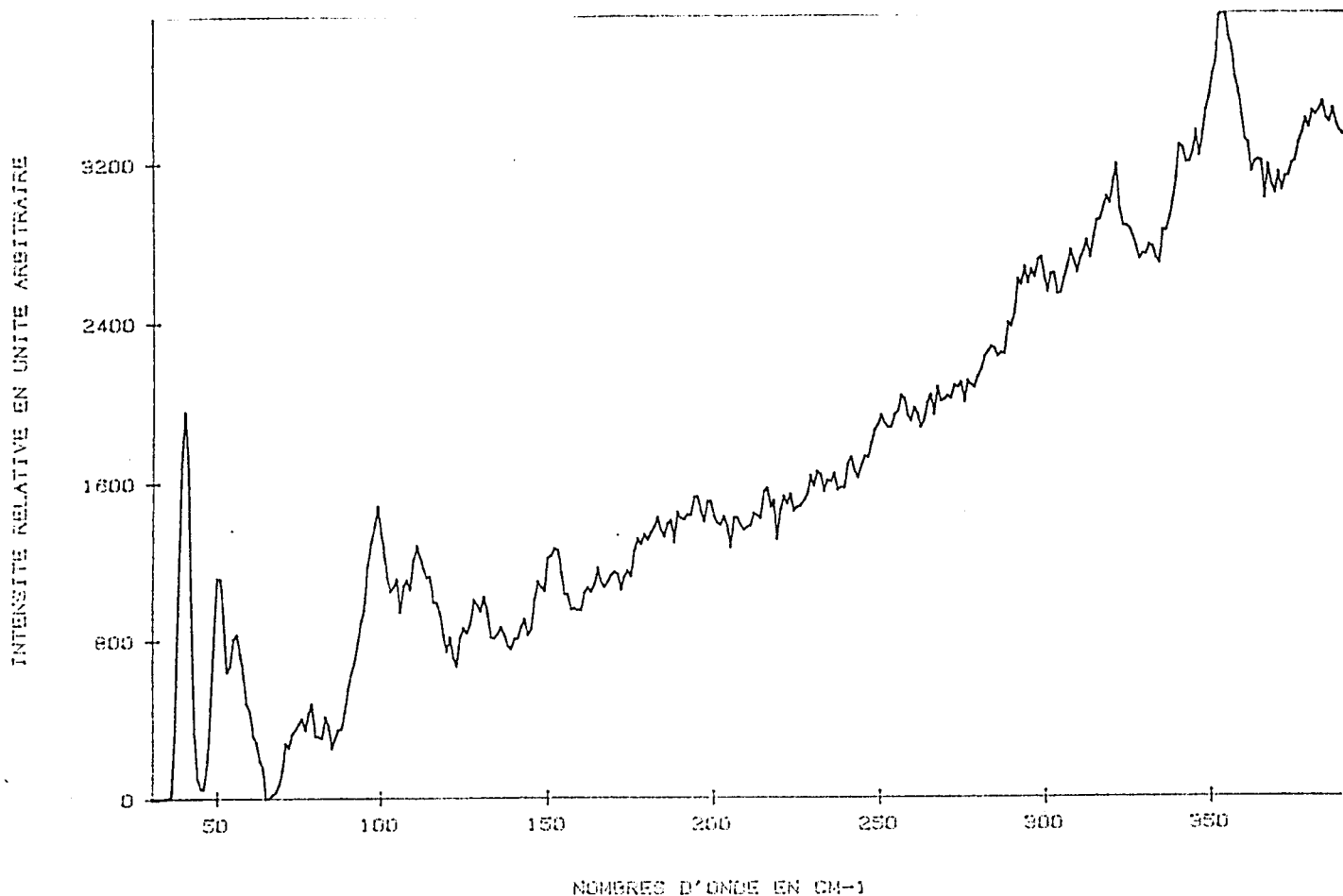


Figure 16 : Spectre Raman du D- galactose O- D5



SPECTRE RAMAN : GALACTOSE D

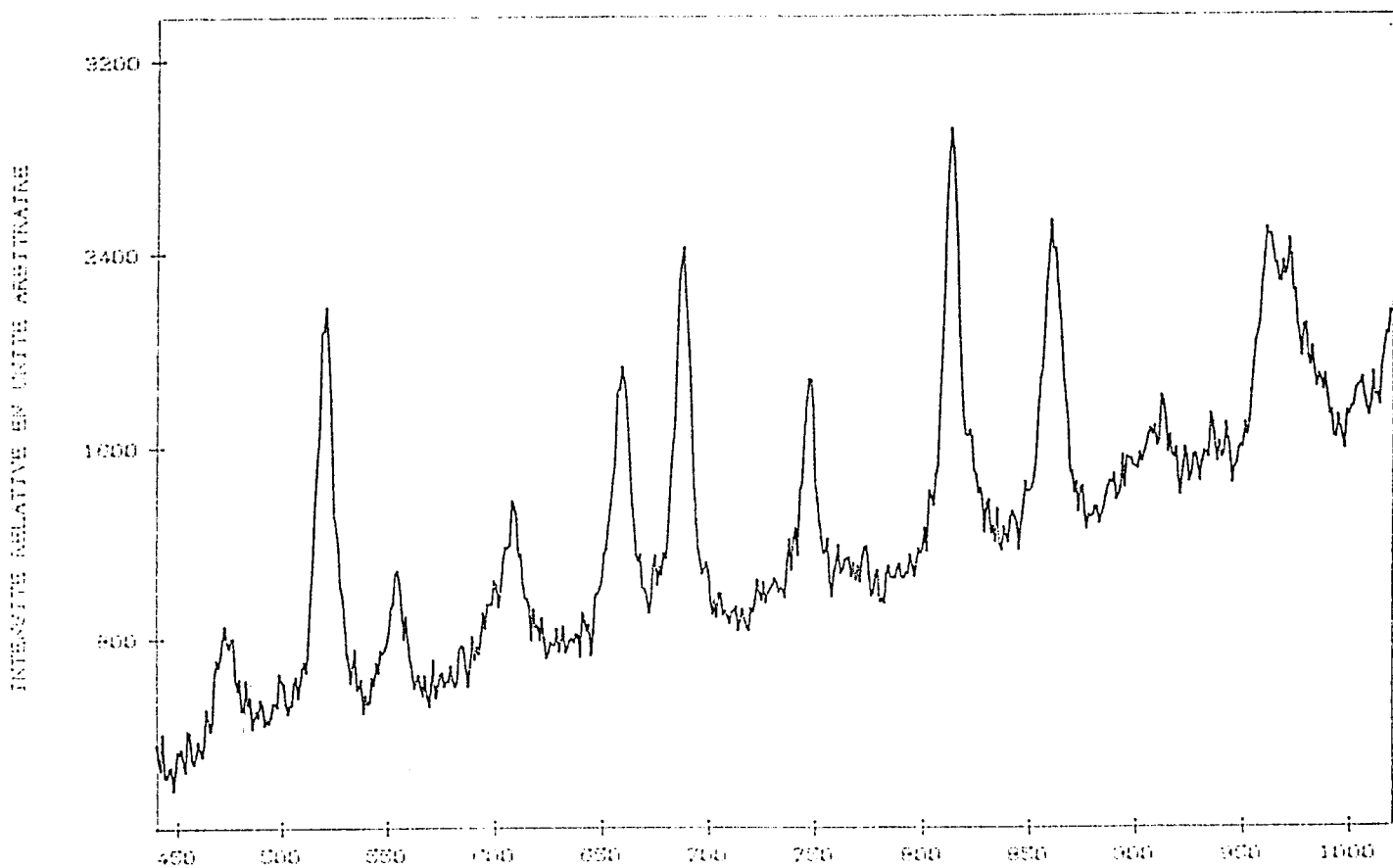
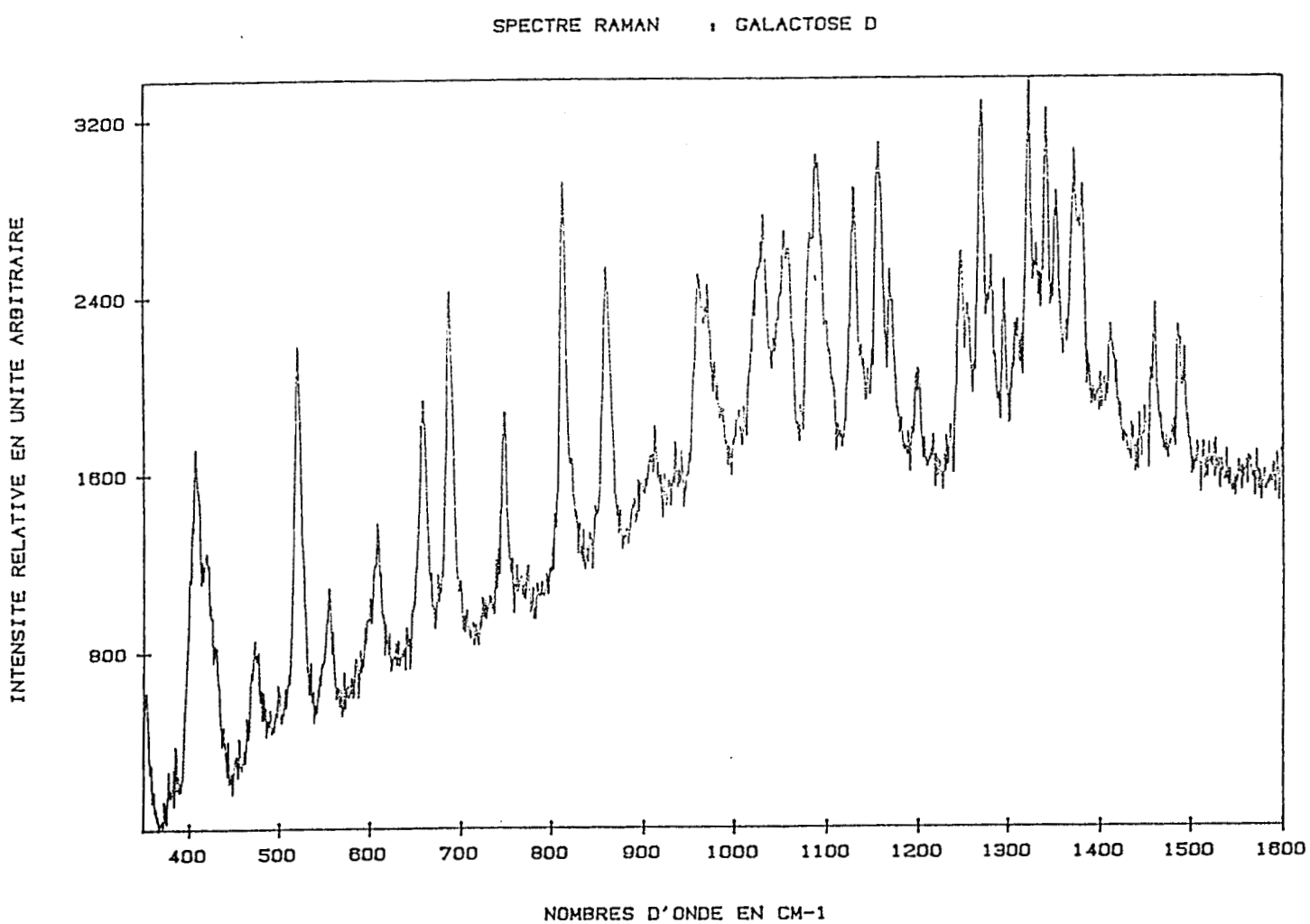


Figure 17 : Spectre Raman du D- galactose O- D5



PARTIE B : CALCUL DES MODES NORMAUX DE VIBRATION

Le traitement des mouvements moléculaires dans les cristaux combine deux méthodes. La première utilise l'approximation du corps rigide et décrit les vibrations du réseau qui consistent en trois déplacements de translation selon les axes (Tx, Ty, Tz) et trois rotations autour des principaux axes d'inertie (Ra, Rb, Rc). La seconde traite les vibrations internes de la molécule. Le nombre de ces mouvements de vibrations internes est $3n-6$ (n étant le nombre d'atomes de la molécule), ils sont totalement indépendants des six précédents et orthogonaux entre eux.

Les bandes observées sur les spectres infrarouges et Raman correspondent à ces mouvements moléculaires. Pour des molécules telles que le galactose, ces mouvements de vibration sont purs dans les hautes fréquences au dessus de 2800 cm^{-1} , mais généralement très couplés en dessous de 1500 cm^{-1} [9-12]. Les modes externes sont par contre observés aux très basses fréquences en dessous de 200 cm^{-1} , ils sont parfois couplés à certains modes de vibration comme les torsions.

III.5.a . Equation du mouvement [13,35]

La détermination des mouvements de la molécule nécessite la connaissance des deux types d'énergie, cinétique et potentielle.

L'énergie cinétique s'écrit d'une façon très simple si les coordonnées considérées sont des coordonnées cartésiennes pondérées définies par :

$$q_i = \sqrt{m_i} x_i$$

m_i et x_i étant respectivement la masse et la coordonnée cartésienne du i ème atome, l'énergie cinétique s'écrit alors :

$$2 T = \sum_{i=1}^{3n} \dot{q}_i^2$$

L'énergie potentielle V du système est fonction des coordonnées de déplacements relatifs des atomes. Pour de petits mouvements, elle s'écrit sous forme d'un développement en séries de Taylor :

$$2V = V_0 + 2 \sum_i \left(\frac{\partial V}{\partial q_i} + \sum_{ij} \left(\frac{\partial^2 V}{\partial q_i \partial q_j} \right)_0 q_i q_j + \frac{1}{3} \sum_{ijk} \left(\frac{\partial^3 V}{\partial q_i \partial q_j \partial q_k} \right)_0 q_i q_j q_k + \dots$$

Dans ces conditions l'énergie V_0 est prise égale à zéro.

Dans l'approximation harmonique, les termes d'ordre supérieur sont négligés, car leur contribution est très faible et leur détermination nécessite la connaissance d'un grand nombre de données expérimentales, ce qui n'est pas toujours facile, dans le cas de molécules à grand nombre d'atomes.

L'énergie potentielle prend alors la forme :

$$2V = \sum_{ij} f_{ij} q_i q_j \quad \text{avec } f_{ij} = f_{ji}$$

Les termes f_{ij} sont constants et sont normalement appelés "constantes de force".

L'équation du mouvement global de la molécule, s'écrit dans l'approximation harmonique de la façon suivante :

$$\ddot{q}_i + \sum_j f_{ij} q_j = 0$$

La détermination des énergies cinétique et potentielle, implique la résolution d'un système de $3n$ équations linéaires homogènes de la forme :

$$\sum_i (f_{ij} - \lambda_i \delta_{ij}) A_j = 0 \quad , \quad A_j : \text{amplitudes de vibration}$$

ce qui revient à résoudre "l'équation séculaire".

III.5.b Système de coordonnées :

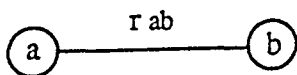
Il existe un système de coordonnées qui rend très simple la résolution de l'équation séculaire, c'est le système des coordonnées normales, elles permettent d'obtenir des matrices diagonales pour les deux énergies décrivant les mouvements de la molécule. Cependant, l'inconvénient de l'utilisation de telles coordonnées, réside dans le fait qu'elles demeurent inconnues jusqu'à la résolution de l'équation séculaire.

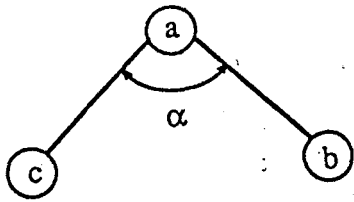
D'autre part, les coordonnées cartésiennes qui peuvent être connues directement à partir des résultats de la cristallographie, offrent aussi un mauvais choix, car dans cette base les constantes de force n'ont aucune signification physique. Ce choix serait par contre très convenable si notre objectif se limitait au calcul des fréquences.

- Coordonnées internes

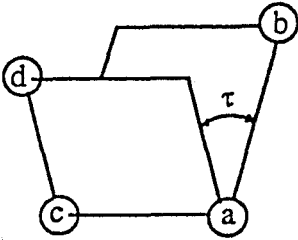
En spectroscopie, nous sommes généralement intéressés par les fréquences de vibration afin d'en tirer des informations sur la nature des mouvements. Il faut donc se baser sur un choix de coordonnées qui les caractérise. Nous avons choisi le système des coordonnées internes avec les définitions suivantes :

Les coordonnées de valence : variation des longueurs des liaisons

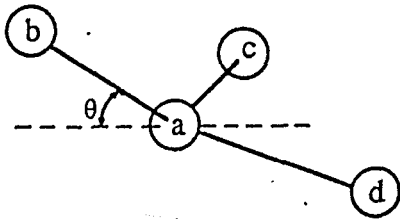




Les coordonnées de déformation angulaire :
variation de l'angle α



Les coordonnées de déformation angulaire hors
du plan

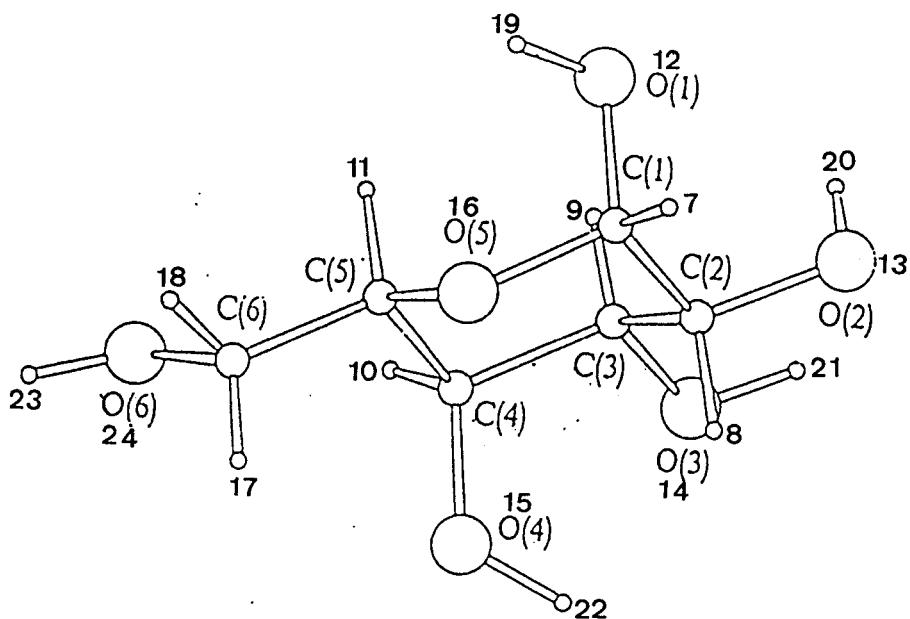


Les coordonnées de torsion : variation
de l'angle dièdre τ

Dans le cas du galactose, le troisième type de ces coordonnées n'existe pas. Nous définissons par contre pour cette molécule à 24 atomes :

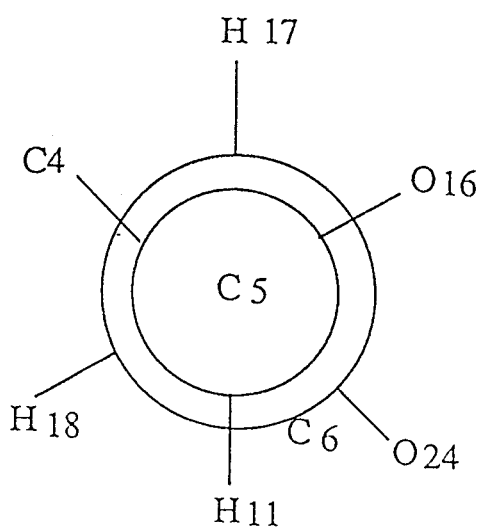
- 24 coordonnées de valence
- 42 coordonnées de déformation angulaire
- 12 torsions

NUMEROTATION DES ATOMES DANS L'ALPHA-D-GALACTOSE



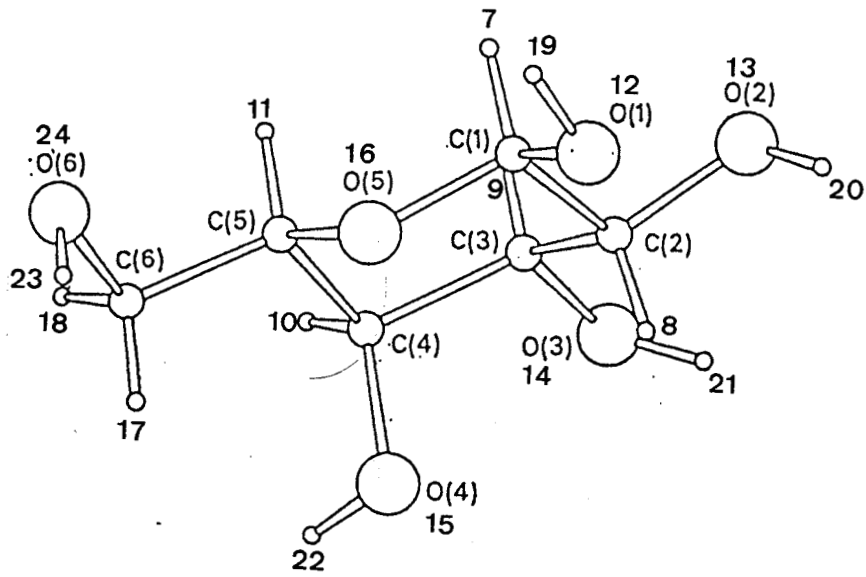
17 a

CONFIGURATION DU GROUPEMENT CH₂OH DANS L'ALPHA-D-GALACTOSE
G.T (GAUCHE-TRANS)



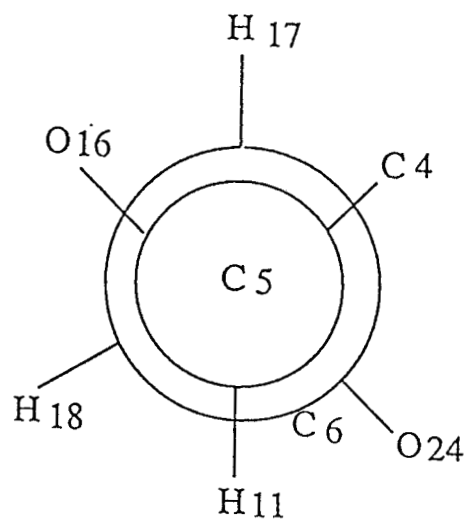
17 b

NUMEROTATION DES ATOMES DANS LE BETA -D- GALACTOSE



18a

CONFIGURATION DU GROUPEMENT CH₂OH DANS LE BETA-D- GALACTOSE
T.G (TRANS-GAUCHE)



18b

D'après la numérotation des atomes, que nous avons donnée, nous représentons les coordonnées internes (identiques pour la forme α et la forme β).

Valence :

R1 : C1 - C2 (1-2)	R13 : C5 - O5 (5-16)
R2 : C1 - H1 (1-7)	R14 : C5 - C5 (5-6)
R3 : C1 - O1 (1-12)	R15 : C5 - H5 (5-11)
R4 : C2 - C3 (2-3)	R16 : O5 - C1 (16-1)
R5 : C2 - H2 (2-8)	R17 : O1 - H19 (12-19)
R6 : C2 - O2 (2-13)	R18 : O2 - H20 (13-20)
R7 : C3 - C4 (2-4)	R19 : O3 - H21 (14-21)
R8 : C3 - H3 (3-9)	R20 : O4 - H22 (15-22)
R9 : C3 - O3 (3-14)	R21 : C6 - H6 (6-17)
R10 : C4 - C5 (4-5)	R22 : C6 - H6' (6-18)
R11 : C4 - H4 (4-10)	R23 : C6 - O6 (6-24)
R12 : C4 - O4 (4-15)	R24 : O6 - H23 (24-23)

Déformation angulaire :

R25 : C1-C2-C3 (1-2-3)	R46 : C6-C5-O5 (6-5-16)
R26 : C1-C2-H2 (1-2-8)	R47 : H5-C5-O5 (11-5-16)
R27 : C1-C2-O2 (1-2-13)	R48 : C5-C5-H5 (6-5-11)
R28 : H2-C2-C3 (8-2-3)	R49 : C5-O5-C1 (5-16-1)
R29 : O2-C2-C3 (13-2-3)	R50 : O5-C1-C2 (16-1-2)
R30 : H2-C2-O3 (8-2-13)	R51 : O5-C1-H1 (16-1-7)
R31 : C2-C3-C4 (2-3-4)	R52 : O5-C1-O1 (16-1-12)
R32 : C2-C3-H3 (2-3-9)	R53 : H1-C1-C2 (7-1-2)
R33 : C2-C3-O3 (2-3-14)	R54 : C2-C1-O1 (12-1-2)
R34 : H3-C3-C4 (9-3-4)	R55 : H1-C1-O1 (7-1-12)
R35 : O3-C3-C4 (14-3-4)	R56 : C1-O1-H19 (1-12-19)
R36 : H3-C3-O3 (9-3-14)	R57 : C2-O2-H20 (2-13-20)
R37 : C3-C4-C5 (3-4-5)	R58 : C3-O3-H21 (3-14-21)
R38 : C3-C4-H4 (3-4-10)	R59 : C4-O4-H22 (4-15-22)

R39 : C3-C4-04 (3-4-15)	R60 : C5-C6-06 (5-6-24)
R40 : H7-C4-C5 (10-4-5)	R61 : C5-C6-H17 (5-6-17)
R41 : 04-C4-C5 (15-4-5)	R62 : C5-C6-H18 (5-6-18)
R42 : H4-C4-04 (10-4-15)	R63 : H6-C6-06 (17-6-24)
R43 : C4-C5-05 (4-5-16)	R64 : H6'-C6-06 (18-6-24)
R44 : C4-C5-C6 (4-5-6)	R65 : H6-C6-H6' (17-6-18)
R45 : C4-C5-H5 (4-5-11)	R66 : C6-06-H23 (6-24-23)

Torsions :

R67 : tor C1-C2	R73 : tor C1-01
R68 : tor C2-C3	R74 : tor C2-02
R69 : tor C3-C4	R75 : tor C3-03
R70 : tor C4-C5	R76 : tor C4-04
R71 : tor C5-05	R77 : tor C5-C6
R72 : tor 05-C1	R78 : tor C6-06

Dans la base des coordonnées internes, l'équation séculaire s'écrit dans le formalisme de Wilson [13]

$$GFL = LA$$

G : matrice déterminée par la géométrie
 F : matrice des constantes de forces
 L : matrice des vecteurs propres de GF
 A : matrice des valeurs propres de GF (fréquences)

Dans ce formalisme, les deux matrices G et F sont déterminantes dans le calcul des fréquences. La matrice G dépend uniquement de la géométrie de la molécule dans le cristal.

Nous allons donc, dans un premier temps, donner les éléments qui décrivent les structures moléculaires de l' α et du β -D-galactose. Nous procédons ensuite à la diagonalisation de la matrice G en utilisant la matrice U que nous décrirons plus loin. Enfin, nous exprimerons la matrice qui rend compte de la distribution de l'énergie potentielle.

III.6. CONSTRUCTION DE LA MATRICE G

III.3.6.a. Géométrie de l' α et du β - D- galactose

Avant 1976, la géométrie du D-galactose était inconnue. Dans ses calculs des modes normaux de vibration du galactose, H.A. Wells [3] avait considéré une géométrie analogue à celle du glucose en inversant la configuration du groupement hydroxyle en position C(4). Il s'est cependant confronté à un autre problème qui est la configuration du groupement méthyle en C(6), qu'il a résolu en considérant toutes les configurations possibles et en répétant son calcul pour chaque cas de figure.

En fait, la connaissance précise de la géométrie du galactose est très importante dans l'établissement d'une matrice G correcte. Les structures des deux anomères ont été décrites, la même année, dans deux travaux différents. B. Scheldrick [14] a déterminé les deux structures alors que J. Ohanessian et coll. [15] ont publié séparément les résultats concernant l' α et le β -D-galactose . Dans les deux cas, les valeurs données pour les longueurs de liaison, les angles et les torsions sont comparables. Nous avons choisi d'utiliser ces dernières données dans la mesure où les liaisons hydrogène sont décrites avec beaucoup plus de détails.

- Les molécules de α et de β -D-galactose possèdent chacune 24 atomes. La forme α correspond à un atome d'hydrogène équatorial sur le carbone C(1). Par contre, dans la forme β , tous les atomes d'hydrogène sont en position axiale, excepté celui porté par le C(4) qui est en position équatoriale, et qui constitue la différence majeure existant entre le glucose et le galactose.

- Le cycle pyranique adopte, dans les deux cas, une conformation chaise 4C_1 (très fréquente pour les monosaccharides).

- La conformation du groupement CH_2OH diffère dans les deux formes. Dans le cas du α -D-galactose elle est, relativement à la liaison C(5)-C(6), telle que C(6)-O(6) se trouve en position gauche par rapport à la liaison C(4)-C(5) et en position trans par rapport à la liaison C(4)-O(5) (gauche-trans ou

G.T.). Dans le cas du β -D-galactose, c'est la conformation trans-gauche qui existe (T.G.).

- Les deux composés cristallisent dans un système orthorhombique et appartiennent au groupe spatial D_2^4 , $P2_12_12_1$. La maille contient 4 molécules par maille (Z=4).

Les paramètres de maille sont :

pour le α -D-galactose : a = 5.939 Å, b = 7.871 Å, c = 15.8 Å

pour le β -D-galactose : a = 12.655 Å, b = 7.771 Å, c = 7.701 Å

Les coordonnées cartésiennes sont déduites à partir des paramètres de maille et des coordonnées réduites.

Les coordonnées cartésiennes des trois autres molécules de la maille d'origine sont déterminées par les opérations de symétrie du groupe spatial. On définit la matrice W et le vecteur T tels que :

$$A_n = W A_1 + T$$

A₁ : paramètres atomiques de la molécule référence

A_n : paramètres atomiques des trois autres molécules.

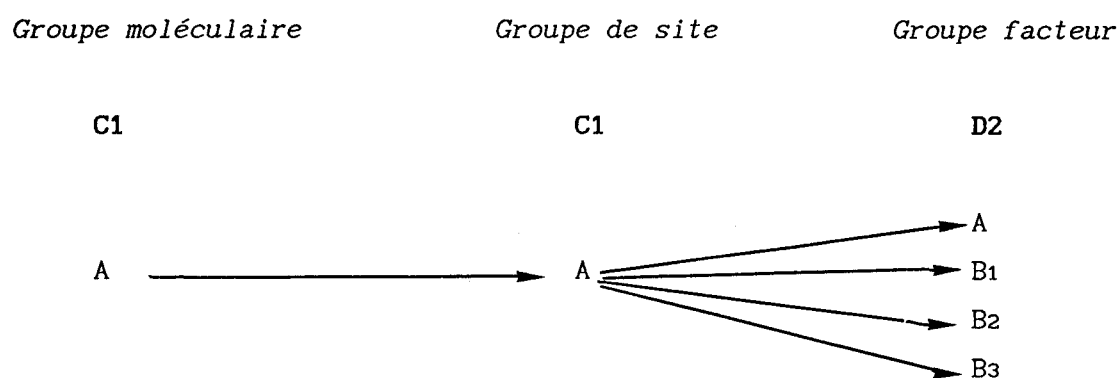
Les matrices W_n et T_n sont définies comme suit, pour les molécules n = 2,3,4.

$$W_{12} = \begin{pmatrix} X & Y & Z \\ -1. & 0. & 0. \\ 0. & -1. & 0. \\ 0. & 0. & 1. \end{pmatrix} \quad T_{12} = \begin{pmatrix} 0.5 \\ 0.0 \\ 0.5 \end{pmatrix}$$

$$W_{13} = \begin{pmatrix} X & Y & Z \\ 1. & 0. & 0. \\ 0. & -1. & 0. \\ 0. & 0. & -1. \end{pmatrix} \quad T_{13} = \begin{pmatrix} 0.5 \\ 0.5 \\ 0.0 \end{pmatrix}$$

$$W_{14} = \begin{pmatrix} X & Y & Z \\ -1. & 0. & 0. \\ 0. & -1. & 0. \\ 0. & -0. & -1. \end{pmatrix} \quad T_{14}: \begin{pmatrix} 0.0 \\ 0.5 \\ 0.5 \end{pmatrix}$$

Les vibrations internes de ces 4 molécules de la maille élémentaire vont se coupler suivant les éléments de symétrie du groupe D2 d'après le diagramme de corrélation :



Les phases vibrationnelles des molécules 2,3,4 par rapport à la molécule 1, sont tels que :

<i>Molécule</i>	2	3	4
<i>Espèce</i>			
B1	+	-	-
B2	-	-	+
B3	-	+	-

Dans l'espèce A, les 4 molécules vibrent en phase

Dans l'espèce B1, la molécule 2 vibre en phase avec la molécule 1, tandis que les molécules 3 et 4 sont en opposition de phase.

Dans l'espèce B₂, les molécules 2 et 3 sont en opposition de phase, alors que la molécule 4 vibre en phase.

Dans l'espèce B₃, les molécules 2 et 4 sont en opposition de phase, la molécule 3 en phase.

III.6.b Liaisons hydrogène

Dans le α -D-galactose :

- Il existe cinq liaisons hydrogène qui relient la molécule référence à ses voisines.
- L'oxygène cyclique ne participe pas dans les liaisons hydrogène.
- La conformation G.T. de l' α -D-galactose empêche l'existence d'une liaison intramoléculaire entre les groupements hydroxyle O(4)-H et O(6)-H.
- Les résultats radiocristallographiques donnent des renseignements sur les positions des liaisons hydrogène, mais pas toujours par rapport à la molécule de référence. En revanche, les valeurs des distances entre paires O...O et O...H sont parfaitement précisées. Le programme CVOA [16] que nous utilisons pour le calcul des fréquences, permet entr'autre de régénérer le cristal et de replacer la seconde extrémité de la liaison hydrogène, en prenant à chaque fois, comme point de départ un atome d'hydrogène dans la molécule de référence.

Dans le α -D-galactose, les mailles prises en compte sont au nombre de 125 (2 mailles de chaque côté des 3 axes de la molécule). Leur numérotation est donnée en annexe (2).

Les cinq liaisons hydrogènes sont définies par :

Liaison hydrogène	d O...O (Å)	d O...H (Å)
H23 012 - H19.....024 - C6	2.652	2.01
molécule 1 molécule 3		
maille 1 maille 9		

H21
|

013 - H20.....	014 - C3	2.704	1.89
molécule 1	molécule 4		
maille 1	maille 40		

H22
|

014 - H21.....	015 - C4	2.906	2.0
molécule 1	molécule 4		
maille 1	maille 40		

H20
|

015 - H22.....	013 - C2	2.861	2.68
molécule 1	molécule 4		
maille 1	maille 4		

H20
|

024 - H23.....	013 - C2	2.765	1.78
molécule 1	molécule 2		
maille 1	maille 2		

En ce qui concerne le β -D-galactose, on définit de la même façon :

- Cinq liaisons hydrogène partant de la molécule référence, elles relient celle-ci à ses voisines.

- Comme pour le α -D-galactose, l'oxygène cyclique ne participe dans aucune de ces liaisons. La conformation T.G. autour de C(5) - C(6) interdit l'existence d'une liaison intramoléculaire entre les groupements hydroxyl O(4)-H et O(6)-H.

- Le réseau des liaisons hydrogène dans les cristaux de β -D-galactose est défini de la même façon que précédemment pour la forme α . Dans ce cas, on ne

prend en compte que les 27 mailles entourant la molécule référence

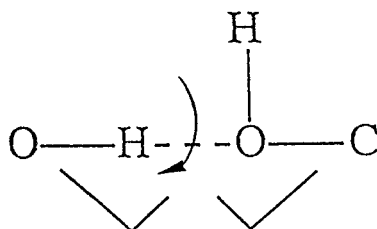
- Les liaisons hydrogène sont définies comme suit :

Liaison hydrogène	d O...O (Å)	d O...H (Å)
H23 		
012 - H19....024 - C6 molécule 1 molécule 2 maille 1 maille 6	2.621	1.65
H19 		
014 - H21....012 - C1 molécule 1 molécule 4 maille 1 maille 13	2.887	2.165
H22 		
013 - H20....014 - C4 molécule 1 molécule 4 maille 1 maille 13	2.824	1.93
H20 		
024 - H23....013 - C2 molécule 1 molécule 1 maille 1 maille 2	2.727	1.82
H21 		
015 - H22....014 - C4 molécule 1 molécule 4 maille 1 maille 3	2.813	1.89

Comme nous pouvons le constater, les deux systèmes de liaisons hydrogène sont différents dans les deux formes α et β , cette différence nous conduira par la suite à différencier les constantes de force associées aux différents groupements C-O-H.

Pour chaque liaison hydrogène intermoléculaire, nous définissons 5 coordonnées internes supplémentaires.

- 1 coordonnée interne de valence (O...H)
- 2 coordonnées internes de déformation angulaire (O-H...O et H...O-C)
- 2 torsions autour de H...O et de O-C



III.7. DIAGONALISATION DE LA MATRICE G - CONSTRUCTION DE LA MATRICE U

Le nombre de coordonnées internes est généralement supérieur au nombre de degrés de liberté de la molécule ($3n-6$). Le système des coordonnées internes contient donc des coordonnées redondantes linéairement dépendantes. La diagonalisation de la matrice G donne autant de valeurs propres nulles qu'il existe de coordonnées redondantes.

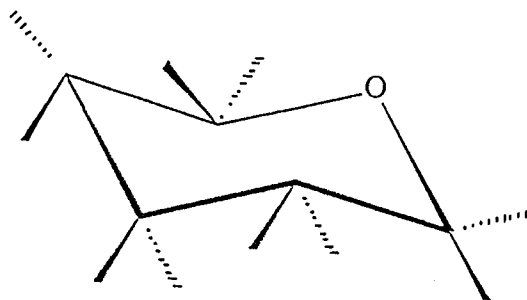
Le nombre de coordonnées est réduit par la méthode de Miyazawa [17] en utilisant les coordonnées de symétrie, qui doivent cependant satisfaire à certaines conditions [18]

$$S = U R$$

S : matrice des coordonnées de symétrie.

L'obtention de la matrice U permet de décrire la matrice F et G dans la base des coordonnées de symétrie non redondantes. Il est donc nécessaire de déterminer et d'éliminer les 12 redondances. Le nombre de coordonnées de

symétrie sera donc 72, qui sont des combinaisons linéaires des 84 coordonnées internes. Parmi les 12 redondances, 6 sont dues au cycle et 6 aux groupements tétraédriques dont l'un (C(6)) peut être considéré comme ayant une pseudo-symétrie C_{2v} . La redondance arbre relative au groupement C6 est éliminée en utilisant une symétrie locale. Les 11 autres sont déterminées à l'aide du programme REDUND dont le principe repose sur la diagonalisation du produit Bs_*Bs ($S=Bs_*X$). Cette méthode est appliquée uniquement sur le cycle directement substitué (Fig.suivante).

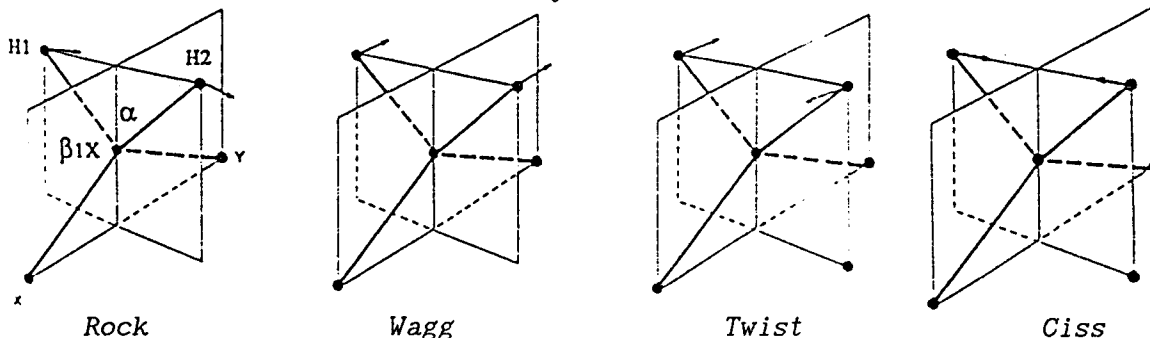


43 coordonnées internes interviennent :

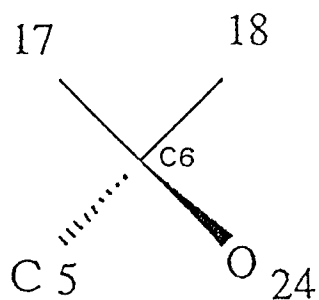
- 6 valence cycle
- 31 déformations angulaires (6 angles pour chacun des 5 groupements tétraédriques et un angle C-O-C)
- 6 torsions du cycle

- On met alors en évidence, 11 valeurs propres nulles qui représentent chacune une redondance. On procède ensuite à l'élimination des coordonnées de symétrie redondantes et à une rénumérotation des nouvelles coordonnées. La matrice U obtenue est réduite à (32x43) au lieu (43x43).

- La 12ème redondance due au groupement C(6) est déterminée par le programme Ogawa [19] qui calcule la relation de redondance et orthogonalise les coordonnées de déformations de symétrie locale définies comme suit :



Les expressions des coordonnées de symétrie locale sont données en fonction des six angles du groupement C6.



Groupement C6 du α -D-galactose après orthogonalisation.

$S_j \setminus R_i$	R 65	R 63	R 61	R 64	R 62	R 60
S 33	3.758083	-1.001804	-1.021193	-1.0	-1.01093	0.0
S 34	0.0	1.030175	-1.0	1.025718	-1.025352	0.0
S 35	0.0	1.0	-1.006053	-1.0	1.000102	0.0
S 36	0.0	1.0	1.018885	-1.020943	-1.010297	0.0
S 37	-1.082580	-1.001804	-1.021193	-1.0	-1.010930	5.498946

Groupement C6 du β -D-galactose après orthogonalisation.

$S_j \setminus R_i$	R 65	R 63	R 61	R 64	R 62	R 60
S 33	4.107343	-1.0	-1.00102	-1.001408	-1.00262	0.0
S 34	0.0	1.001244	-1.002156	1.003143	-1.0	0.0
S 35	0.0	1.000078	-1.0	-1.000301	1.00033	0.0
S 36	0.0	1.003533	1.001679	-1.0	-1.002201	0.0
S 37	-1.0	-1.024247	-1.025292	-1.025689	-1.026931	4.852144

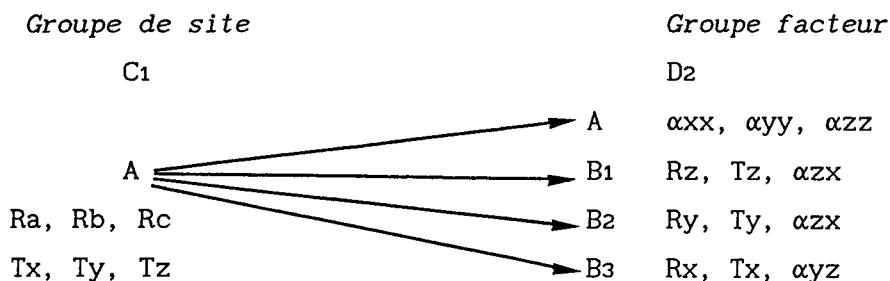
R_i et S_j sont respectivement la coordonnée interne numéro i et la coordonnée de symétrie numéro j

III.8. ENERGIE POTENTIELLE - MATRICE F

Le calcul dans le cristal a été traité et discuté par plusieurs auteurs [20, 21]. Le programme mis au point par Shimanouchi que nous utilisons considère un modèle d'énergie potentielle mettant en jeu non seulement les interactions intramoléculaires, mais aussi les interactions intermoléculaires. Ces dernières résultent de l'existence de liaisons hydrogène dont la contribution est parfois très importante, ainsi que des interactions dipole-dipole induites par les fluctuations de la charge d'un atome en présence d'un autre atome, des forces électrostatiques entre charges résiduelles et d'interactions entre paires d'atomes non liés. La théorie de base de la dynamique des cristaux a été établie par Born et Huang [22].

III.8.a. Dénombrement des modes normaux de vibrations

Les six mouvements de rotation et de translation représentent les vibrations optiques du réseau :



$$\Gamma_{\text{réseau}} = 6A + 5 B_1 + 5 B_2 + 5 B_3$$

activité (R) (IR,R) (IR,R) (IR,R)

Les translations d'ensemble optiquement inactives étant d'espèce B1, B2 et B3.

La représentation irréductible des vibrations du cristal du galactose s'écrit :

$$\Gamma_{\text{vib}} = 72 A + 71 B_1 + 71 B_2 + 71 B_3$$

(R) (IR,R) (IR,R) (IR,R)

III.8.b. Potentiel intermoléculaire

Il est la somme de trois termes :

$$V_{\text{inter}} = V_1 + V_2 + V_3$$

* V_1 étant le potentiel d'interaction entre paires d'atomes non liés, il est du type Buckingham [23], il est constitué par une énergie potentielle de répulsion (courte distance), augmenté d'une énergie de type Van der Waals (attraction longue distance)

$$V_1 = \sum A_{ij} \exp(-B_{ij} R_{ij}) + \sum -C_{ij} / R_{ij}^6$$

A_{ij} , C_{ij} sont des constantes exprimées en Kcal/mole et B_{ij} en \AA^{-1} , elles sont propres à un potentiel de type Buckingham. Leurs valeurs proviennent des références [24].

Type	$V(r) = A e^{-Br} - C/r^6$			$r_{\min} < r < r_{\max} \text{ (\AA)}$		
	A(kcal/mol)	B(\AA^{-1})	C(kcal/mol)	r_{\max}	$r_{\min}(\alpha)$	$r_{\min}(\beta)$
C.....C	83630.	3.600	568.	6.	2.85	2.55
C.....O	63700.	3.881	441.	6.	2.80	2.45
C.....H	8766.	3.670	125.	6.	2.40	2.09
O.....O	96500.	4.333	346.	6.	2.36	2.26
O.....H	57500.	4.727	122.	6.	2.24	2.17
H.....H	2654.	3.740	27.3	6.	1.78	1.60

* V_2 est le potentiel dû aux interactions entre charges résiduelles atomiques, il est du type :

$$V_2 = V(r) = qq' / \epsilon r$$

r = distance séparant deux atomes

$\epsilon = 3.0$

Les charges résiduelles des 24 atomes du α et du β -D-galactose ont été calculées par la méthode semi-empirique AM1 [25]. Elles sont données en unités électroniques .

N° Atome	Charge (forme α)	Charge (forme β)
C1	0.1271	0.1266
C2	-0.0158	-0.0531
C3	-0.037	0.0499
C4	0.0141	-0.0356
C5	0.0349	-0.0333
C6	-0.0168	-0.0167
H7	0.1255	0.1275
H8	0.1483	0.1003
H9	0.1015	0.1349
H10	0.1113	0.1012
H11	0.1077	0.1053
O12	-0.3707	-0.3197
O13	-0.3207	-0.3045
O14	-0.3321	-0.2986
O15	-0.3247	-0.3254
O16	-0.2920	-0.3103
H17	0.0799	0.0805
H18	0.0983	0.1093
H19	0.2265	0.2443
H20	0.2194	0.2134
H21	0.2221	0.2155
H22	0.2210	0.2100
H23	0.2068	0.2169
O24	-0.3346	-0.3182

V_3 est le potentiel propre aux liaisons hydrogène, on utilise pour ceci un champ de forces de type Urey-Bradley qui sera décrit lorsque nous considererons le potentiel intramoléculaire. Il a pour expression :

$$2V_H = \sum K_{O..H} (\Delta R_{O..H})^2 + \sum R_{O-H} \cdot R_{H..O} \cdot H_{O-H..O} (\Delta \alpha_{O-H..O})^2 + \sum R_{H..O} \cdot R_{O-C} \cdot H_{H..O-C} (\Delta \alpha_{H..O-C})^2 + \sum Y_{O-H} (\Delta \tau_{O-H})^2 + \sum Y_{H..O} (\Delta \tau_{H..O})^2$$

Les constantes de force caractérisant ce potentiel sont obtenues en se basant sur les bandes observées sur les spectres infrarouges et Raman aux très basses fréquences. L'ajustement de ces fréquences est réalisé de la même façon que pour les hautes fréquences, il sera détaillé plus loin.

Les valeurs finales de ces constantes sont :

Constantes	Forme α (mdyne/Å)	Forme β (mdyne/Å)
$K_{O..H}$	0.155	0.09
$H_{O-H..O}$	0.030	0.025
$H_{H..O-C}$	0.030	0.035
Y_{O-H}	0.0	0.0
$Y_{H..O}$	0.0	0.0

Les différences de ces constantes de force entre l' α -D et le β -D-galactose sont dues au fait que les liaisons hydrogène ne sont pas les mêmes dans les deux composés. Les constantes de torsion Y_{O-H} et $Y_{H..O}$ restent nulles dans les deux cas, dans la mesure où elles ont de très fortes contributions sur l'ensemble du spectre calculé.

III.8.c. Potentiel intramoléculaire

Choix du champ de forces

Les constantes de force peuvent être calculées suivant la méthode décrite en annexe (3). Cette méthode considère qu'il existe une relation linéaire pour de petits changements

$$\Delta\nu = J \Delta F$$

La plus grande difficulté rencontrée est le nombre élevé des constantes de force qui est en général plus grand que le nombre de données expérimentales à notre disposition. Ce nombre dépend de la taille de la molécule $P(P+1)/2$ pour p fréquences de vibration). Plus le nombre d'atomes devient important, moins les données expérimentales sont accessibles, telles que les constantes de couplage de Coriolis et les constantes de couplage rotation-vibration. Le calcul des constantes de force dans le cas de molécules à nombre d'atomes élevé, repose entièrement sur les fréquences observées qui restent alors les seules données expérimentales pour la détermination du champ de forces. Elles sont parfois augmentées par les effets des substitutions isotopiques.

L'existence de symétrie réduit considérablement le nombre d'éléments de la matrice F . Par contre en l'absence de celle-ci, le seul moyen pour réduire la dimension de F est l'introduction de certaines simplifications dans l'expression de l'énergie potentielle.

- Fonctions énergie potentielle

Plusieurs auteurs ont essayé de développer différentes approches dans le but de limiter le nombre de constantes de force. Il existe jusqu'à présent plusieurs modèles de champs de forces dont les plus connus sont :

Le champ de forces de valence simple (SVFF) où le potentiel considéré à la forme suivante :

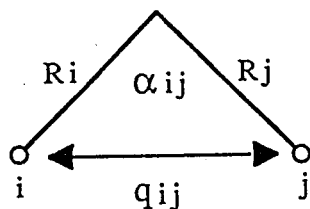
$$V = \frac{1}{2} \sum K_{ij} (\Delta r_{ij})^2 + \sum H_{ijk} (\Delta \alpha_{ijk})^2 + \sum Y_{ijkl} (\Delta \tau_{ijkl})^2$$

où sont considérées, uniquement les constantes de force correspondant aux variations des différentes coordonnées internes.

Le champ de forces de valence généralisée (G.V.F.F.) qui tient compte en plus de toutes les interactions. Nous avons dans un premier temps utilisé ce champ de forces en utilisant comme constantes initiales, celles établies par Vasko et coll. [26] pour le glucose, mais étant donné que le nombre de constantes restait encore très grand et que les résultats n'étaient pas très satisfaisants, nous avons décidé d'entreprendre un calcul de champ de forces dans le cristal en utilisant la méthode d'Urey-Bradley-Shimanouchi modifié [29], d'autant plus que celle-ci a été appliquée sur le glucose et ses dérivés avec succès [27].

Le champ d'Urey-Bradley [28] est en réalité un champ de force V.F.F. modifié qui tient compte de constantes de force de répulsion d'atomes non liés

$$V = \frac{1}{2} \sum k_{ij} (\Delta r_{ij})^2 + \frac{1}{2} \sum H_{ijk} (\Delta \alpha_{ijk})^2 + \frac{1}{2} \sum Y_{ijkl} (\Delta \tau_{ijkl})^2 + \frac{1}{2} \sum F_{ij} (\Delta q_{ij})^2$$



Les nouvelles coordonnées (Δq_{ij}) ne sont pas indépendantes et l'élimination des coordonnées redondantes Δq est faite en introduisant des

termes linéaires F' dans les termes quadratiques.

Dans les calculs UBFF un potentiel du type répulsif est de la forme :

$$V = B/ q^6$$

Une relation existe entre F et F' : $F' = -0.1F$, cette relation est adoptée dans tous les types de calculs.

L'expression du potentiel intra-moléculaire utilisé dans le cas d'un champ UBFF-S modifié s'écrit dans notre cas, c'est à dire en l'absence de déformation angulaire hors du plan :

$$2V = \sum K_i (\Delta R_i)^2 + \sum H_{ij} (\Delta \alpha_{ij})^2 + \sum F_{ij} (\Delta q_{ij})^2 + \sum Y_i (\Delta \tau_i)^2 \\ + \sum F'_{ij} W_{g_{ij}} (\Delta R_i \Delta \alpha_{ij}) + \sum K_t W_t (\Delta \alpha_{ij})$$

$\Delta R_i, \Delta R_j$: variation des longueurs de liaison

$\Delta \alpha_{ij}$: variation des angles de liaison

q_{ij} : variation de la distance entre atome i et j non liés (type 1-3)

K_i : constante d'élongation

H_{ij} : constante de force de déformation angulaire

F_{ij} : constante de répulsion de type (1-3)

Y_i : constante de torsion

F'_{ij} : constantes de force dues aux termes linéaires de répulsion (sert à éliminer la redondance introduite par les considérations d'Urey-Bradley (redondances de type gem))

K_t : constante de tension interne caractéristique des groupements tétraédriques (élimine la redondance de type tetra).

- Champ de forces du galactose

Nous avons pris comme constantes de force initiales, celles qui proviennent du glucose, qui dérivent elles-mêmes de champ de forces du cyclohexane [30] et d'éthers et alcools aliphatiques [31]. Afin de limiter

le nombre de ces constantes, nous avons confondu, contrairement aux autres groupements tétraédriques, les groupements C(2) et C(3). L'atome C(1) est à l'origine de l'existence de deux conformères (α et β), le groupement C(5) est substitué par un groupement méthylique, le carbone C(6) est hors du cycle. Les constantes du type gauche-trans sont différentes dans les deux molécules ainsi que la constante caractéristique d'un groupe CH₂XY, que nous définissons ici :

trans: $\Delta\Phi.\Delta\Phi'$

gauche: $\Delta\Phi.\Delta\Phi'$

1: $\Delta\Phi.\Delta\theta$

-1: $\Delta\Phi'.\Delta\theta$

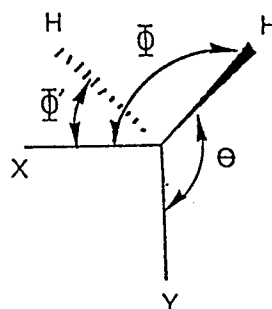
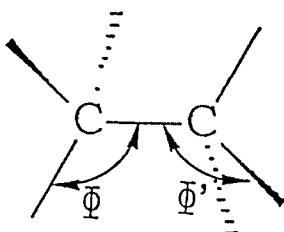
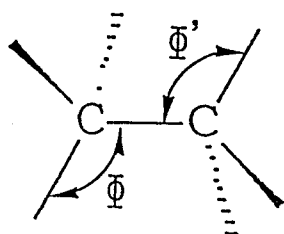


Tableau (III. 1): Constantes de force des anomères du galactose.

Type	Valeur de F		Type	Valeur de F	
	α	β		α	β
K C-Ccycl	2.8	-	K C-H	4.09	-
K C5-C6	3.3	-	K C6-H	3.97	4.1
K C-Ocycl	3.4	-	K O-H	5.93	6.09
K C-O	3.9	-	K O1-H	6.09	5.72
K C1-O1	4.1	-	K O4-H	5.18	6.05
K C6-O6	4.1	-	K O6-H	5.0	5.19
CCO H	0.3	0.35	CC4C H	0.27	0.32
F	0.55	0.70	F	0.16	0.20
CC6O H	0.3	-	CC6C H	0.32	-
F	0.55	-	F	0.20	-
O5C1C H	0.36	-	CCH H	0.225	-
F	0.70	-	F	0.482	-
O5C5C H	0.29	0.31	CC1H H	0.217	0.194
F	0.40	0.45	F	0.482	-
C2C1O H	0.35	-	CC6H H	0.16	0.165
F	0.40	0.45	F	0.48	0.485
CC4O H	0.28	0.38	C6C5H H	0.185	0.20
F	0.37	0.45	F	0.47	0.48
OCO H	0.445	-	HCO H	0.185	-
F	0.80	-	F	0.33	-
CCC H	0.32	-	HC1O5 H	0.311	0.35
F	0.20	-	F	0.48	0.40
HC1O1 H	0.18	-	Y C-Ccycl	0.15	-
F	0.33	-	Y C5-C6	0.15	0.155
HC5O5 H	0.255	-	Y C-Ocycl	0.061	-
F	0.47	-	Y C-O	0.052	0.063
HC6O6 H	0.195	0.187	Y C6-O6	0.047	0.055

	F	0.40	0.39	Y C1-O1	0.065	0.086
C-OH	H	0.217	0.20			
	F	0.585	0.55	l	-0.045	-0.005
C1-OH	H	0.21	0.184			
	F	0.544	0.540	κ C1	0.018	-0.002
C6-OH	H	0.195	0.215	κ C2	0.040	0.028
	F	0.542	0.557	κ C3	0.042	0.028
C4-OH	H	0.195	-	κ C4	0.029	0.028
	F	0.58	-	κ C5	0.029	0.012
COC	H	0.62	-	κ C6	0.025	0.022
	F	0.31	-			
HCH	H	0.41	-			
	F	0.07	-			

(-): Constante inchangée par rapport à l' α -D-Galactose

Les constantes de force de liaison (K), d'angles de valence (H et F) sont exprimées en mdyne/Å

Les constantes de force de torsion (Y), les kappas (κ) et les interactions gauche (g), trans (t) et l sont exprimées en mdyne.Å

Tableau des constantes d'interaction gauche et trans considérées pour chacun des anomères du galactose.

	α	β		α	β
H9/H21	0.0	-0.035	C3/H20	-0.065	-0.05
H10/H22	0.35	0.009	H9/H21	0.0	-0.005
H7/C3	0.0	0.008	O14/O15	0.0	0.003
H7/H9	0.05	-0.05	H9/H10	-0.012	0.0
H7/H9	0.05	-0.05	H9/C5	-0.04	0.0
O12/O13	0.0	0.008	H10/H22	0.015	0.0
H8/H20	0.03	0.03	H11/H17	0.0	-0.05
H8/H9	-0.013	-0.045	H17/H23	0.0	-0.08

Tableau (III . 4): Fréquences calculées et observées de l' α -D-galactose

Fréquences observées				Fréquences calculées				Distribution de l'énergie potentielle (%)
Température 76K		Température 298K		Modes				
Raman	IR	Raman	IR	A	B1	B2	B3	
3390	3390.	3390	3402.	3402.	3402.	3402.	3402.	(100) O1-H
3360	3372.		3372.	3387.	3387.	3387.	3387.	(99) O3-H
3360.	3360.		3360.	3361.	3361.	3361.	3361.	(99) O2-H
3180	3175.	3200 _b	3208.	3216.	3216.	3216.	3216.	(99) O4-H
3090	3085		3138.	3136.	3136.	3136.	3136.	(100) O6-H
2973.	2980.	2980.	2974.	2964.	2965.	2964.	2965.	(98) C1-H
	2950.	2950.	2946.	2956.	2957.	2957.	2956.	(99) C5-H
2941.	2938.			2940.	2940.	2940.	2940.	(98) C2-H
2916.	2910.			2911.	2911.	2911.	2911.	(99) C4-H
				2905.	2905.	2905.	2905.	(97) C3-H

1500.	2872.	2868.	2868.	2867.	2868.	2867.	(20) C6-H6 + (80) C6-H6'
1491.	1496.	2826.	2826.	2826.	2826.	2826.	(79) C6-H6 + (20) C6-H6'
1459.	1489.	1499.	1499.	1499.	1499.	1499.	(80) SCIS C6H2 + (20) BAL C6H2
1459.	1459.	1487.	1487.	1487.	1487.	1487.	(41) CC3H + (34) SCIS C6H2
1447.	1458.	1454.	1454.	1455.	1456.	1454.	(35) C2C3H + (22) HC3O + (10) O5C1H
1424.	1446.	1445.	1445.	1446.	1446.	1445.	(31) O5C1H + (25) HC1C2 + (16) C2C3H
1407.	1421.	1424.	1424.	1424.	1425.	1423.	(22) C6C5H + (16) C5C4H + (14) HC5O5 + (13) C3C4H
1391.	1404.	1406.	1407.	1406.	1406.	1406.	(39) C4C5H + (33) HC5O5
1380.	1390.	1385.	1390.	1385.	1387.	1389.	(23) C1C2H + (16) C3C2H + (12) HC5O5 + (11) C5C4H
1361.	1376.	1374.	1372.	1374.	1374.	1374.	(22) C5C4H + (21) C6C5H + (11) C1-OH
1340.	1358.	1353.	1353.	1353.	1353.	1354.	(23) C2-OH + (22) HC4O4 + (13) C5C4H + (13) C3C2H
1327.	1336.	1340.	1337.	1340.	1340.	1337.	(29) C2-OH + (13) C1C2H + (12) HC4O4
1313.	1327.	1317.	1319.	1317.	1318.	1318.	(19) HC6O + (14) HC2O + (13) C2-O2
1304.	1313.	1309.	1312.	1309.	1308.	1309.	(60) BAL C6H2 + (13) SCIS C6H2 + (18) C6-O6
1286.	1299.	1301.	1305.	1301.	1302.	1307.	(33) C4O-H + C3C4H
1276.	1284.	1281.	1281.	1281.	1283.	1282.	(25) C1-C2 + (25) C1-O1 + (13) C1-OH + (11) HC1O
1250.	1250.	1278.	1265.	1278.	1270.	1268.	(37) C1-OH + (10) HC1O + (9) HC1C2
	1249.	1240.	1242.	1240.	1243.	1245.	(21) C5-C6 + (13) C4-C5

1234.	1240.	1235.	1229.	1226.	1223.	1228.	(17) C3-C4 + (11) C3-OH
	1188.	1184.	1184.	1196.	1183.	1195	(19) C3-O3 + (10) C5-O5 + (10) C3-C4
1160.	1156.	1152.	1153.	1149.	1157.	1151.	(17) C2-C3 + (13) C4-C5
	1141.	1140.	1142.	1142.	1140.	1142.	(33) TW C6H2 + (10) C6-OH + (17) C6-O6
1127.		1140.	1126.	1132.	1131.	1129.	(25) C1-O5 + (23) C3-O3 + (14) C5-O5 + (13) C2-C3
1112.		1112.	1109.	1114.	1108.	1114.	(21) C2-O2 + (13) HCIO + (14) C3O-H
1108.	1106.	1104.	1098.	1095.	1102.	1098.	(35) C3-OH + (11) C3-C4
1084.	1082.	1078.	1088.	1080.	1082.	1075.	(22) C6-OH + (21) TW C6H2
1067.	1070.	1069.	1071.	1074.	1073.	1066.	(41) C6-O6 + (22) C6-OH + (13) TW C6H2
1075.		1075.					
1059.	1055.	1054.	1056.	1055.	1060.	1055.	(17) C1-O1 + (12) HCIO1 + (11) C5-O5
1050.		1047.					
1044.	1046.	1043.	1036.	1022.	1032.	1030.	(17) C6-OH + (12) C5-C6 + (12) C1-O5
1000.	997.	997.	992.	993.	992.	994.	(52) RO C6H2 + (10) C1-O5
975.	977.	978.	983.	983.	982.	983.	(21) C4-O4 + (14) C1-O1 + (18) RO C6H2
960.	960.	955.	939.	948.	939.	948.	(20) RO C6H2 + (14) C2-C3
882.		880.	879.	885.	877.	888.	(40) C4-OH + (33) τ C3-O3 + (17) τ C4-O4
845.	849.	830.	859.	858.	858.	857.	(20) C4-O4 + (13) C4-C5

825.									
765.	768.	765.	766.	762.	761.	764.	763.	(20) C5-O5-C1	
705.	712.	702.	708.	704.	704.	703.	704.	(73) τ C1-O1	
677.	677.		677.	668.	680.	671.	676.	(15) C5C4O + (23) C4C5O5	
661.	664.	663.	661.	663.	666.	664.	664.	(17) τ C3-O3 + (18) τ C4-O4 + (16) C3C4O + (10) C4C3O	
640.	637.		645.	645.	626.	644.	629.	(49) τ C4-O4 + (39) τ	
616.	617.	613.	617.	611.	605.	606.	605.	(17) τ C2-O2 + (12) τ C5-C6 + (14) τ C4-O4	
588.	589.		580.	588.	580.	579.	585.	(60) τ C2-O2 + (24) τ C5-C6	
	568.		568.	562.	564.	567.	566.	(19) τ C5-C6 + (12) C2-O2 + (19) C3C4O + (11) C2C1O	
533.	535.	532.	534.	539.	545.	548.	549.	(24) τ C5-C6 + (10) O5-C1-O1	
510.	508.	510.	501.	507.	508.	501.	501.	(39) DEF C5C6O6 + (12) C2C1O5	
505.		505.							
	460.		459.	450.	446.	451.	446.	(25) C2C3O3 + (14) C3C2O2 + (13) O5C1O1	
428.	421.	418.	419.	430.	432.	428.	433.	(14) C4C3O3 + (10) C2C3C4	
417.									
			388.		381.			(15) C3C2O + C4C3O + (10) C2C3O	
364.		364.		370.		361.	375.	(15) C5C6O6 + (11) τ C6-O6 + (12) C6C5O5	
359.	355.			370.		361.	375.	(16) C1C2O2 + (10) C5C6O	

	346.	349.	345.	349.		342.	345.	(22) C1C2O2 + (13) C3C2O2
330.	337.	331.	333.	326.	329.	330.	331.	(20) C3C4O4 + (15) C2C1O1
	329.							
305.	315.		300	300.	299.	301.	302.	(27) τ C4-O4 + (20) τ C3-O3 + (11) C3C4O4
	302.							
294.	293.	294.	291.	286.	272.	288.	272.	(34) C5C4O4
261.	268.	264.	268.	264.	250.	249.	257.	(30) C4C5C6 + (19) τ C5-C6 + (13) C6C5O5
241.					234.	244.	241.	(14) τ C1-C2 + (18) τ C1-O1
			221.	223.	221.			(17) τ C1-C2 + (13) C2-C3
212.				209.		213.		(28) τ C5-C6 + (14) τ C4-O4 + (14) τ C5-O5 + (13) τ C1-O1
203.	203.	208.	198.				196.	(37) τ C4-O4 + (22) τ C3-O3 + (18) τ C3O3
191.								
176.	175.	175.	170.	176.	179.	168.	176.	(34) τ C4-C5 + (18) τ C3-C4 + (33) τ C4-O4
160.	159.	153.	150.	151.	165.	166.	153.	(25) Rb + (21) τ C5-C6 + (19) τ C6-O6
139.	130.	129.	130.	129.	136.	125.	145.	(52) Rb + (36) τ C5-C6 + (11) τ C1-O1
125.	121.				120.		117.	(72) Ra + (18) τ C3-O3
114.		115.	115.	105.		115.		(32) Ra + (21) Tz + (12) Tx + (22) τ C3-O3 + (9) τ C4-O4
107.	100.	105.		100.		112.	99.	(80) Rc + (19) Tz

89.	90.	89.	90.	87.	85.	85.	88.	(50) Ra + (23) Tz + (10) τ C3-O3
								(58) Rc + ((26) Rb
55.		50.	72.	50.	74.	76.		(43) Ra + (32) Tx + (9) Ty
43.		43.		43.	33.			(38) Ty + (39) Rb + (17) Tx

Tableau (III. 5): Fréquences calculées et observées de l' β -D-galactose

Fréquences observées		Fréquences calculées				Distribution d'énergie potentielle (%)	
IR	Température 298K		Modes				
	Raman	IR	A	B1	B2		B3
3390.		3402.	3384.	3384.	3384.	3384.	(96) O2-H
3372.		3372.	3371.	3371.	3371.	3371.	(70) O4-H + (26) O3-H
3360.		3360.	3361.	3361.	3361.	3360.	(73) O3-H + (25) O4-H
3280.		3280.	3281.	3281.	3282.	3282.	(99) O1-H
3132.			3129.	3129.	3129.	3129.	(99) O6-H
2970.			2934.	2934.	2934.	2934.	(96) C5-H
			2931.	2931.	2931.	2931.	(51) C1-H + (41) C2-H
			2928.	2928.	2928.	2928.	(99) C4-H
2930.			2920.	2920.	2920.	2920.	(50) C2-H + (44) C1-H
2880.			2902.	2902.	2902.	2902.	(92) C3-H

2855.		2865.	2865.	2865.	2865.	(50) C6-H6 +(49) C6-H6'
2842.		2843.	2843.	2843.	2843.	(48) C6-H6 + (50) C6H6'
1512.	1505.	1504.	1505.	1504.	1505.	(34) C4C3H + (15) C2C3H + (10) C3C2H + (10) C1C2H
1482.		1479.	1479.	1479.	1479.	(24) C4C5H + (26) C6C5H + (11) C1C2H
1460.	1465.	1465.	1465.	1465.	1465.	(66) SCIS C6H2 + (17) BAL C6H2
1447.	1445.	1446.	1446.	1446.	1447.	(30) HC5O + (18) C5C4H
1436.		1440.	1440.	1440.	1440.	(15) C1C2H + (15) C3C2H + (12) C4C3H + (14) C4C5H + (12) O5C1H
1424.	1421.	1426.	1426.	1426.	1426.	(19) C2C3H + (13) C3C4H +(10) C5C4H + (10) O5C1H
1412.		1413.	1414.	1413.	1413.	(35) O5C1H + (20) C2C1H + (17) C3-OH
1402.	1399.	1402.	1403.	1402.	1402.	(14) C3C4H + (10) C3-OH + (14) BAL C6H2
1385.	1385.	1382.	1382.	1382.	1382.	(13) BAL C6H2 + (12) O5C5H + (11) C3C4H (11) HC2O
1375.	1375.	1376.	1375.	1376.	1374.	(28) HC4O4 + (12) C3C4H + (12) HC2O2
		1366.	1366.	1366.	1366.	(27) HC2O2 + (14) C3C2H + (10) C2-O2
1360.	1361.	1360.	1358.	1359.	1358.	(12) HC1O1 + (11) HC1C2 + (12) HC4O4
1338.	1337.	1333.	1337.	1333.	1337.	(20) C4-OH + (14) C3-OH +(10) HC3O3
1310.	1311.	1307.	1300.	1307.	1301.	(33) C4O-H + (17) C3-OH + (11) HC3O3
1268.	1272.	1266.	1263.	1266.	1264.	(39) C2-OH + (10) C4-OH + (10) C2-C3
1250.	1251.	1245.	1244.	1244.	1245.	(24) C5-C6 + (20) C6-OH + (13) BAL C6H2

1240.	1234.	1231.	1231.	1231.	1231.	1231.	(50) TW C6H2 + (14) C6-OH
1225.	1225.	1224.	1225.	1225.	1225.	1225.	(37) C1-OH + (10) C2-OH + (10) HC1O1
1213.	1212.	1210.	1210.	1211.	1209.	1210.	(29) TW C6H2 + (33) C6-OH + (10) C5-C6
1188.	1184.	1185.	1185.	1185.	1184.	1185.	(18) C3-O3 + (19) C4-C5 + (9) C3-C4
1156.	1152.	1155.	1155.	1154.	1156.	1155.	(23) C4-OH + (19) C4-O4 + (10) C2-OH
1139.	1137.	1140.	1139.	1139.	1140.	1139.	(31) C1-O1 + (25) C1-OH
1120.	1116.	1115.	1118.	1118.	1116.	1118.	(17) C2-C3 + (17) C3-C4 + (10) C5-O5 + (10) C5-C6 + (10) C6-O6
1108.	1103.	1098.	1099.	1098.	1097.	1098.	(16) C3-O3 + (10) C1-OH + (10) C2-OH + (32) C1-O5
1095.	1080.	1091.	1091.	1091.	1091.	1091.	(36) C2-O2 + (18) C2-OH + (26) C1-O5
1083.	1053.	1076.	1077.	1077.	1076.	1077.	(59) C6-O6
1056.	1035.	1046.	1046.	1046.	1046.	1047.	(20) C4-O4 + (15) C5-O5 + (10) C1-O1
1035.	1017.	1004.	1004.	1004.	1004.	1003.	(20) C1-C2 + (19) C3-O3 + (10) C1C2O
1019.	945.	941.	941.	941.	941.	941.	(22) C5-O5 + (11) C4-C5
889.	883.	882.	882.	882.	882.	882.	(21) C4-O4 + (14) C3-C4 + (11) C2-C3
782.	780.	767.	767.	767.	768.	767.	(87) RO C6H2 + (10) t C6-O6
702.	700.	701.	702.	702.	701.	702.	(20) C5C4O + (29) C4C5O5 + (9) DEF C6H2
							(26) C3C4O + (16) C4C3O

		643.	636.	636.	636.	636.	(15) C1C2O + (19) C6C5O5 + (16) O5C1O1
617.		619.	621.	623.	621.	623.	(28) C2C3O + (16) C2C1O1 + (14) C2C1O5
555.	557.	554.	553.	552.	554.	552.	(82) τ C2-O2
534.	530.	533.	536.	536.	535.	535.	(18) O5C1O1 + (12) C5O5C1
503.		508.	507.	508.	507.	507.	(11) C3C4C5 + (19) C5C6O6 + (9) O5C1C2
490.	492.	487.	486.	490.	486.	492.	(46) τ C3-O3 + (9) DEF C6
478.	475.	470.	470.	463.	474.	463.	(56) τ C1-O1
456.		450.	456.	456.	448.	455.	(58) τ C5-C6 + (25) τ C3-O3
440.	439.	436.	438.	445.	440.	442.	(66) τ C4-O4 + (13) τ C1-O1
430.	434.	429.	427.	428.	430.	429.	(15) τ C4-O4 + (12) τ C1-O1 + (12) τ C5-C6
409.	401.	407.	409.	413.	408.	412.	(22) C3C2O + (9) C1C2O + (9) τ C1-O1
394.	394.	389.	383.	382.	380.	378.	(17) C2C3O + (8) C5C6O + (8) C3C2O
	380.						
366.		362.	357.	355.	350.	347.	(22) C1C2O + (10) O1C1O5
341.		338.	327.	325.	340.	343.	(27) C5C4O + (14) C4C5O5
321.	328.	317.	316.	321.	323.	321.	(23) C2C1O
302.		299.	290.	286.	287.	286.	(25) C3C4O + (10) C4C3O
258.		251.	255.	248.	252.	246.	(22) C6C5O5 + (10) O5C1O1

224.	224.	221.	236.	206.	219.	(27) τ C5-C6
194.	194.	193.	192.	195.	198.	(16) τ C3-C4 + (17) τ C5-C6
176.	177.	176.	173.	187.	185.	(25) C4C5C6
160.	156.	156.				
	136.	140.	148.	146.	156.	(14) Rb + (10)
		126.	126.	121.	122.	(40) Tx + (28) Ra + (10) Rb
	100.	100.	107.	103.	102.	(45) τ C5-C6 + (47) Rb
	90.	86.	81.			(44) Tz + (17) Tx + (13) Rb
				76.		(30) Tz + (23) Tx + (16) Rb + (14) Rc
	55.	56.	53.	53.	65.	(30) Rb + (23) Tx + (16) Rb + (14) Rc
			45.	41.	50.	(35) Rc + (28) Rb + (14) Rc
		30.	32.			(57) Rc + (36) Rb
		28.			32.	(61) Ty + (35) Tx
						(28) Rc + (20) Ra + (31) Tz + (20) Tx

Tableau (III. 3): Galactose 1-D

Spectre observé d'après STACEY et al. [34]

Fréq observées	Fréq calculées	Fréq observées	Fréq calculées
1498.	1495.	1110.	1121.
	1489.	1090.	1099.
1458.	1474.	1080.	1089.
1442.	1438.	1064.	1075.
1424.		1050.	1055.
1405.	1411.	1036.	1019.
1394.	1393.	995.	
1380.	1383.	976.	984.
	1366.	933.	950.
	1346.	873.	872.
1340.	1341.	864.	859.
1322.	1325.	822.	
	1312.	788.	781.
	1309.	760.	749.
1290.		695.	691.
1282.			664.
1255	1261.		664.
1240.	1235.		662.
	1232.	648.	643.
1194.			
	1176.		
	1160.		
1148.	1146.		
1132.	1142.		

Tableau (III. 2): Fréquences calculées et observées dans le α - D-galactoseO-D5

IR	Raman	Fréq. calc.	Distribution de l'énergie potentielle
	2970.	2951.	(99) C5-H
	2950.	2941.	(99) C1-H
2938	2928.	2935.	(95) C2-H
2917	2908.	2909.	(97) C4-H
		2905.	(94) C3-H
2869	2875.	2872.	(87) C6-H6' + (13) C6H6
	2816.	2822.	(12) C6-H6' + (87) C6-H6
2517.	2516.	2444.	(71) O1-D + (28) O3-D
2396.	2460 2396.	2444.	(29) O1-D + (70) O3-D
2348.	2344.	2429.	(99) O2-D
		2285.	(100) O4-D
		2251.	(100) O6-D
	1495.	1483.	(80) SCIS C6H2 + (18) BAL C6H2
	1489.	1477.	
	1463.	1469.	
1412.	1415.	1416.	
		1405.	
	1384.	1385.	
1373.	1376.	1365.	
1368.	1358.	1356.	
1337.	1335.	1332.	
	1298.	1296.	
1283.	1283.	1287.	(12) SCIS C6H2 + (55) BAL C6H2 + (22) C6-O6
1271.	1274.	1270.	(35) C1-O +.....
1239.		1238.	(30) C5-C6
	1200.	1211	
1176.	1174.	1173.	(16) C3-O3 + (11) C5-C6
1162.	1162.	1162.	(16) C3-O3
1134.		1133.	
1094.	1091.	1093.	(29) C3-O3 + (10) C6-O6
		1082.	(36) C2-O2
1067.		1078.	(40) C6-O6
1055.	1055.	1043.	(70) TW C6H2

1032.	1034.	1041.	
1003.		996.	(13) RO C6H2 + (20) C2-OD
	978.	982.	(44) RO C6H2 + (23) C4-O4
962.	962.	961.	(17) RO C6H2 + (17) C2-OD + (25) C1-O1
898.	915.	922.	(29) C2-OD + (12) RO C6H2
859.	861.	865.	(20) C2-OD + (16) C3-OD + (11) C4-O4
838.		829.	(14) C3-OD + (26) C4-OD
819.	815.	811.	(33) C1-OD + (15) C4-OD + (12) C6-OD
799.		781.	(21) C1-OD + (15) C4-OD + (25) C6-OD
762.	750.	754.	(47) C3-OD + (19) C4-OD + (13) C6-OD
715.		711.	(32) C6-OD + ...
659.	656.	658.	
608.	609.	614.	
556.		567.	
523.	524.	528.	
482.		492.	(31) DEF C6
		437.	
		431.	(48) τ C1-O1 + ...
		418.	(31) τ C1-O1 + ...
		397.	(54) τ C3-O3
		382.	(14) τ C5-C6 + (10) τ C1-O1
356.		361.	(62) τ C4-O4 + (12) τ C3-O3
		335.	(47) τ C2-O2 + (12) τ C5-C6
328.		325.	(42) τ C5-C6

III.9 - DISCUSSION

III.9.a - Validité du champ de forces :

Il est souvent admis qu'un champ de forces est performant lorsqu'il est capable de reproduire toutes les fréquences de vibrations moléculaires observées sur les spectres infrarouges et Raman avec un pourcentage d'erreur de quelques unités. C'est en effet le cas des molécules α et β -D-galactose, nous aboutissons en moyenne à des différences entre fréquences calculées et observées ne dépassant pas 3.70 cm^{-1} dans le premier cas et 4.20 cm^{-1} dans le deuxième. En fait, l'erreur est généralement de l'ordre de 2 cm^{-1} , sauf dans la partie du spectre située entre 1100 et 900 cm^{-1} , où il est très difficile d'obtenir un très bon accord car toutes les constantes de force contribuent généralement avec un jacobien très faible. Toutefois, la différence reste acceptable puisqu'elle n'excède pas 25 cm^{-1} pour la fréquence calculée à 1079 cm^{-1} et observée à 1055 cm^{-1} dans le cas du β -D-galactose et 15 cm^{-1} pour la fréquence calculée à 858 cm^{-1} et observée à 845 cm^{-1} dans le cas du α -D-galactose. Nous avons eu beaucoup de difficultés à rapprocher cette dernière, un raffinement de 6 cm^{-1} seulement a été effectué en modifiant les constantes de force relatives aux angles $\text{CC}4\text{O}$. L'utilisation de constantes d'interaction entre coordonnées de symétrie, peut être une solution à ce problème mais nous avons préféré ne pas les utiliser car il faudrait leur attribuer des valeurs très importantes pour obtenir la coïncidence avec la fréquence observée.

D'autre part, la transférabilité du champ de forces du type Urey-Bradley-Shimanouchi modifié, établi dans un premier temps pour le α -D-galactose, contribue à sa validité. En effet l'utilisation de ce champ de forces, sans aucune modification permet de retrouver toutes les fréquences observées dans le cas du galactose O-D_5 (Tableau III. 2) et dans le cas du galactose 1-D (Tableau III- 3).

En outre, sa transférabilité au β -D-galactose ne nécessite pas beaucoup de modifications, hormis les constantes de force caractérisant les groupements C_6 , C_1 et C_5 , ce qui semble logique car leur géométrie change d'une molécule à l'autre.

Certains points doivent cependant être discutés :

- Les constantes de force caractérisant les groupements C-OH diffèrent d'un groupement à l'autre et d'une molécule à l'autre (de la forme α à la forme β). Ceci est dû à la participation des groupements C-OH dans les liaisons hydrogène, qui, comme nous l'avons signalé lors de leur définition, sont différentes dans les deux formes. La prise en compte de ces liaisons hydrogène est très importante dans le calcul des fréquences attribuées aux déformations C-OH. En effet, dans ses travaux, Wells [3] n'en avait pas tenu compte et avait obtenu des fréquences caractéristiques des groupements C-OH dans le domaine $1450-1300\text{ cm}^{-1}$, ce qui est en désaccord total avec les fréquences de groupes et avec d'autres auteurs [9,10,12].

- En maintenant pour le β -D galactose, les valeurs calculées dans le cas du α -D-galactose du type H et F du groupement CCO, les fréquences calculées en dessous de 800 cm^{-1} sont très mal placées, notamment celles observées à 782 cm^{-1} calculées précédemment à 730 cm^{-1} . Ceci nous a contraint à modifier ces constantes (Tableau III.1).

- Tel que nous pouvons le constater sur les spectres infrarouges et Raman, le nombre de bandes observées est supérieur à celui des bandes calculées. La première explication consiste à dire que ceci est en partie dû à l'anharmonicité de la fonction énergie potentielle qui n'est pas prise en compte. Les bandes de faible intensité, telle que celles observées à 795 cm^{-1} et 805 cm^{-1} sur le spectre infrarouge de l' α -galactose, sont attribuées à des harmoniques ou des combinaisons de modes normaux. Dans le cas du β -galactose, une seule fréquence est calculée entre 800 et 900 cm^{-1} alors que sur le spectre infrarouge, on observe à température ambiante, deux bandes ($883, 901\text{ cm}^{-1}$) et à basse température trois bandes ($883, 901, 911\text{ cm}^{-1}$). Nous associons la fréquence calculée à 882 cm^{-1} à celle située à 883 cm^{-1} , car son intensité est relativement plus importante que celles des deux autres. L'attribution de ces deux dernières à des harmoniques ou à des combinaisons semble alors plus logique (étant donné qu'elles ont de faibles intensités). On pourrait attribuer l'une d'entre elles à une résonance de Fermi dû aux bandes situées entre 400 et 450 cm^{-1} .

Quand les bandes supplémentaires sont intenses et proches d'une fondamentale, il s'agit d'un dédoublement dû à l'effet de cristal. Ainsi, la bande observée à 1069 cm^{-1} sur le spectre infrarouge du β -galactose, se dédouble à 1068 et 1075 cm^{-1} . Il en est de même pour la bande à 1055 cm^{-1} . Ceci peut être dû au fait que les liaisons hydrogène induisent des changements de moments dipolaires des elongations C-O (ces bandes étant principalement attribuées à des vibrations de valence C-O).

Dans les espèces de symétrie B₂ et B₃ respectivement, les bandes à 1068 et 1055 cm^{-1} sont calculées avec un glissement de l'ordre de 5 cm^{-1} , ce qui explique pourquoi les dédoublements se produisent uniquement sur les spectres Raman, l'espèce A étant inactive en infrarouge. La position exacte de la bande calculée peut être déterminée grâce à une méthode décrite par Miyazawa [17].

III.9.b Attribution des modes normaux de vibration :

En général, les attributions sont en assez bon accord avec les résultats déjà établis pour d'autres types de sucres . Les spectres descomposés α et β -D-galactose sont formés de deux domaines distincts, l'un entre 3400 et 2800 cm^{-1} , l'autre situé en dessous de 1500 cm^{-1} .

Entre ces deux régions, on constate une absence totale de bandes.

Dans la première zone citée, on observe des bandes intenses en I.R; et très faibles en diffusion Raman pour les modes attribués aux liaisons O-H. Ce phénomène est inversé en ce qui concerne les liaisons C-H. Ceci caractérise généralement ces deux vibrateurs. D'autre part, il s'avère nécessaire de réaliser les spectres à basse température pour résoudre les bandes larges et raffiner les constantes de force K O-H. Les tableaux III.4 et III.5 qui reportent la distribution d'énergie potentielle montrent que ces modes sont pratiquement purs.

Le deuxième domaine situé en dessous de 1500 cm^{-1} comporte une multitude de bandes, dont les plus intenses, aussi bien sur les spectres infrarouges que Raman, sont situées entre 1100 et 1000 cm^{-1} , elle sont caractéristiques des carbohydrates. Une attribution des fréquences, basée sur les groupements fonctionnels est donc insuffisante pour identifier chaque composé. Nous allons donc discuter les résultats des tableaux(III.4)et (III.5)pour chaque type

de groupements.

Groupement CH₂

Les 4 modes caractérisant ce groupement sont situés dans les domaines attendus [32]. Dans le cas de l' α -D-galactose, les modes de cisaillement et de balancement sont couplés, ce qui est en accord avec les résultats de Synder-Zerbi [33] pour les éthers. Le mode de cisaillement est facilement observable sur le spectre Raman, puisqu'il s'agit de la bande la plus intense de la région 1500-1400 cm^{-1} . Dans le cas de l' α -D-galactose tout comme le β -mannose [3] ce mode se situe à une fréquence plus élevée que dans les autres sucres (1465 cm^{-1} pour la forme β et 1492 cm^{-1} pour la forme α).

Les modes de rotation plane sont presque des modes purs et se situent en dessous de 1000 cm^{-1} dans les deux cas, tandis que les modes de torsion angulaire et de balancement sont couplés avec d'autres modes. Les différences de position des fréquences caractérisant le groupement CH₂ dans le cas des deux anomères sont dues aux différences de géométrie et de conformation. Cael et coll. [11] ont calculé, dans le cas de l' α -glucose que le mode de torsion angulaire contribue fortement à tous les modes situés entre 1335 et 1259 cm^{-1} . Dans le cas du galactose, nous avons calculé ce mode à une fréquence plus basse mais les couplages sont moins importants.

Les déformations C-O-H

Dans notre modèle de champ de forces proposé, les modes de déformation des groupements carbone hydroxyle, contribuent aux fréquences situées entre 1375 et 880 cm^{-1} dans le cas de l' α -galactose et entre 1413 et 1098 cm^{-1} pour la forme β . Les plus fortes contributions se situent dans les deux cas entre 1340 et 1098 cm^{-1} . Ces résultats confirment les attributions déjà proposées pour le glucose [12], alors que Wells avait proposé la région 1460-1350 cm^{-1} pour ce type de vibrations.

Après deutériation, nous observons bien sûr les spectres infrarouges et Raman montrant que les élongations O-D se déplacent de la région 3400-3200

cm^{-1} vers la région 2500-2300 cm^{-1} (tableau III.2). De plus les modes de déformations C-O-D apparaissent entre 995 et 711 cm^{-1} . Ils sont moins couplés avec les groupements méthine, contrairement aux déformations C-O-H correspondantes.

Dans le cas de l' α -D-galactose, les bandes observées à 1337, 1235, 1078, 1069 et 880 cm^{-1} disparaissent presque complètement sous l'effet de l'échange isotopique. Les spectres Raman du maltose et du cellobiose en solution dans D_2O , effectués par Vasko et coll. [31] ont montré une diminution d'intensité pour les bandes à 1349, 1071, 1020 cm^{-1} communes à deux composés. Il en est de même pour les bandes à 913 cm^{-1} pour le maltose et 890 cm^{-1} pour le cellobiose. Nous observons des phénomènes analogues où les bandes à 1358, 1301, 1109 et à 1098 cm^{-1} diminuent d'intensité. En effet, les modes C-OH associés à ces bandes sont couplés à d'autres vibrateurs telles que les élongations C-O qui donnent généralement des raies très intenses sur les spectres infrarouge et Raman. Les bandes, attribuées à des modes C-O-H qui ne disparaissent pas dans le cas du galactose O-D₅ sont dues, soit à des glissements d'autres bandes attribuées à des élongations C-O et qui sont directement affectées par cette deutériation, ou alors à un échange isotopique incomplet. C'est le cas de la bande à 1278 cm^{-1} .

Groupement méthine

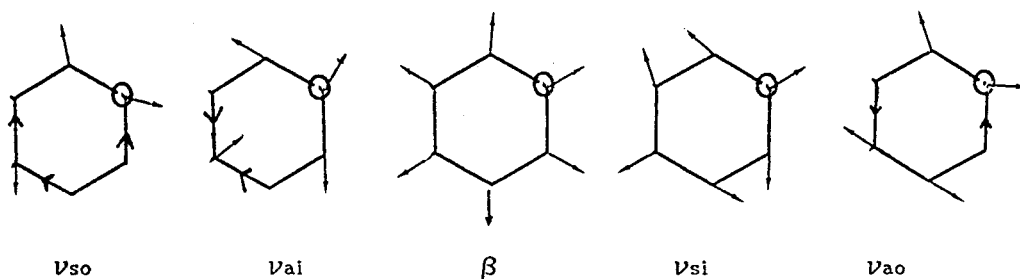
Les modes associés aux groupements méthine apparaissent dans deux régions distinctes. La première située entre 1500 et 1250 cm^{-1} met toujours en jeu un atome d'hydrogène. Ces modes sont très couplés entre eux aussi bien dans la forme α que β . On peut cependant distinguer le mode faisant intervenir le groupement C₁ à 1446 cm^{-1} dans le cas de l' α -galactose et à 1413 cm^{-1} dans le cas du β . Les autres modes de ce type concernant les autres groupements carbonés sont très difficiles à différencier à cause de l'absence de substituants isotopiques carbo-deutériés.

La deuxième région est située en dessous de 900 cm^{-1} où apparaissent les déformations d'atomes lourds du type CCO, CCC, COC et OCO.

Modes de cycles

Les deux domaines du spectre cités précédemment sont séparés par des bandes très intenses à la fois en infrarouge et en Raman, elles sont très caractéristiques des poly, oligo et mono-saccharides, elles sont attribuées en majorité à des modes d'élongation C-C et C-O. Il est à noter que les modes du cycle sont généralement situés en dessous de 1200 cm^{-1} et incluent également ces deux derniers types de vibrateurs.

Le cycle isolé a une symétrie C_2 et possède 12 modes de vibration ($7A' + 5A''$). Liang et Marchessault [36] ont identifié 5 de ces modes dans la région $1200-640\text{ cm}^{-1}$, qu'ils ont appelé ν_{so} , ν_{ai} , β , ν_{si} et ν_{ao}



A l'opposé des cycles très symétriques, tels que le benzène ou le cyclohexane, où les modes normaux sont déterminés simplement par la théorie des groupes, ceux des cycles pyraniques, tels que le galactose et le glucose, sont très difficiles à mettre en évidence, car la présence de l'oxygène enlève la symétrie et les mouvements ne peuvent plus être identifiés par comparaison au cyclohexane comme dans les travaux de Burket et Badger [37].

Alors que Ramsay [38] a identifié le mode ν_{ai} à 1124 cm^{-1} et Burket et Badger à 1097 cm^{-1} , Liang et Marchessault l'ont mis en évidence en utilisant les spectres infrarouges polarisés à 1110 cm^{-1} pour la cellulose. Le mode ν_{so} apparait, d'après les trois auteurs précédents, respectivement à 1020, 875 et 985 cm^{-1} . Le mode β , qui dans le cas du cyclohexane a été calculé à 802 cm^{-1} est obtenu par Wells dans le cas du glucose à 456 cm^{-1} alors qu'on le retrouve vers 800 cm^{-1} dans le cas de la cellulose.

Ces modes font intervenir à la fois les élongations C-C ou C-O et les angles C_1O_5 ou $C_2C_3C_4$.

Dans le cas du β -galactose, on peut supposer que les modes 1140, 1076, 767, 623 et 508 cm^{-1} sont très caractéristiques du cycle mais le type de ces mouvements ne peut être déterminé facilement. Pour l' α -D-galactose, les modes à 1152, 1126, 1056, 676, 507 et 459 cm^{-1} peuvent être des mouvements de cycle mais ils sont beaucoup plus couplés à d'autres modes.

Modes anomériques

La région $1000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$, contrairement à la région $1500\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ est caractéristique de chaque forme anomérique du galactose. Il en est de même dans le cas du glucose, excepté que pour ce dernier, les bandes qui apparaissent dans ce domaine sont totalement dues au groupement C₁, alors que pour le galactose, les tableaux (III.4 et III.5) indiquent que ces modes résultent de couplages complexes impliquant à la fois les déformations de groupements méthines, les rotations du groupement méthylène, les élongations d'atomes lourds et même les torsions C-O. Pour l'anomère α , les bandes à 997, 978, 957, 880 et 838 cm^{-1} font intervenir, en plus de la rotation C₆, surtout le groupement C₄ et les torsions C-O alors que les contributions des C₁-O sont relativement faibles. Pour l'anomère β , c'est aussi la rotation C₆ qui apparaît dans ce domaine ainsi que les élongations C₄-O et C₄-C, alors que les modes faisant intervenir le C₁ n'apparaissent pas. Nous en concluons que cette région est certainement caractéristique de chaque anomère, en raison de la différence de géométrie de groupements C₆ d'une part et des liaisons hydrogène qui ont une grande influence sur les torsions C-O. Il convient de signaler que la bande à 878 cm^{-1} dans le spectre de l' α -galactose est due en grande partie à des torsions C-O, intenses en Raman et quasi absentes sur le spectre infrarouge. Par ailleurs, la bande à 883 cm^{-1} dans le spectre du β -galactose est due à une rotation C₆ et apparaît à la fois sur les spectres infrarouges et Raman. Cette dernière est donc totalement différente de la précédente et peut être considérée comme caractéristique de la forme β .

La bande à 702 cm^{-1} est due à la torsion C₁-O₁ dans le cas de l' α -galactose, elle glisse de façon considérable sous l'effet de l'anomérisation et du changement de géométrie des liaisons hydrogène car elle apparaît à 470 cm^{-1} dans le cas de la forme β .

Modes de reseau

En dessous de 200 cm^{-1} apparaissent les modes de translation (T_x, T_y, T_z) et de rotation autour des axes d'inertie (R_a, R_b, R_c). On peut constater que ces modes sont couplés avec des vibrations intramoléculaires telles que les torsions C-O ou C5-C6. Les fréquences sont observées jusqu'à 43 cm^{-1} dans le cas de l' α -galactose, alors que dans le cas du β -galactose elles sont probablement masquées par l'effet de l'excitatrice dans le spectre Raman, car la plus basse fréquence est calculée à 28 cm^{-1} .

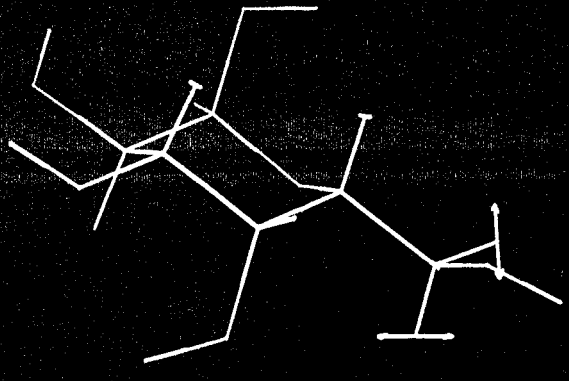
Les intensités des bandes attribuées aux modes du réseau, tel que l'on peut le constater sur les spectres I.R et Raman, sont en accord avec les critères expérimentaux, les modes de rotation (ex: 56 cm^{-1} du β -galactose) sont relativement intenses en diffusion Raman. Les modes de translation, normalement favorisés en absorption I.R, ne montrent pas beaucoup différence en intensité par rapport aux bandes observées sur les spectres Raman, ceci est dû au fait que ces modes (T_x, T_y, T_z) sont fortement couplés avec les modes de rotation.

VISUALISATION DE QUELQUES MODES
DE VIBRATION DES MOLECULES
DE α ET β GALACTOSE

Ces modes sont visualisés sur écran graphique , ils sont obtenus en utilisant la matrice des amplitudes de vibration L_x . Les mouvements des atomes sont représentés par des flèches , les longueurs de ces dernières sont proportionnelles aux amplitudes de vibration de chaque atome à une fréquence donnée.

ALPHA GALACTOSE

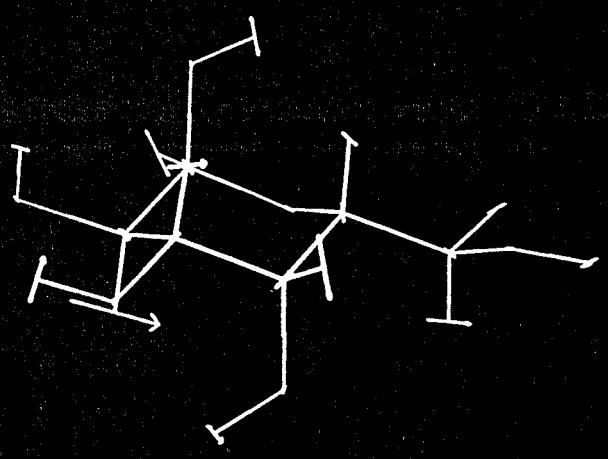
1499 ea-1



• MANOSK •

ALPHA GALACTOSE

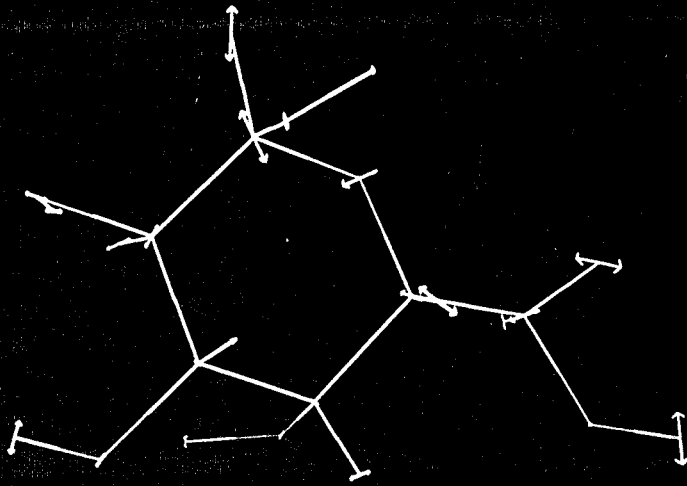
1156 ea-1



• MANOSK •

ALPHA GALACTOSE

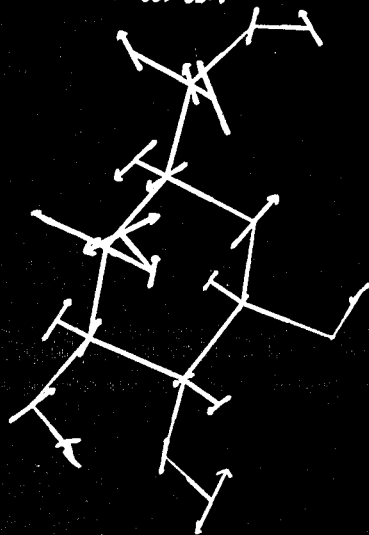
762 cm-1



• MANOSK •

BETA GALACTOSE

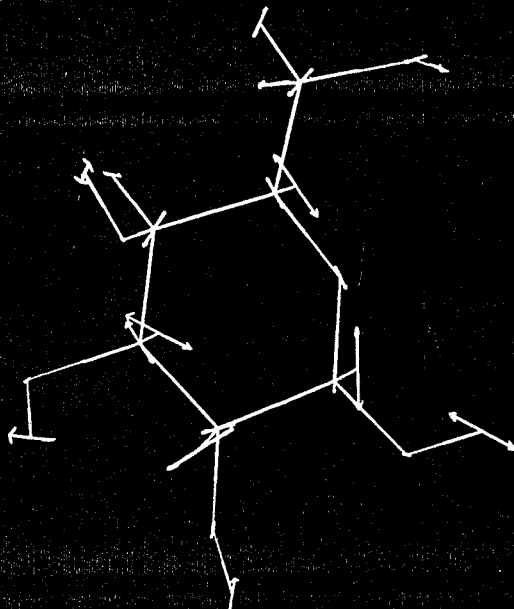
807 cm-1



• MANOSK •

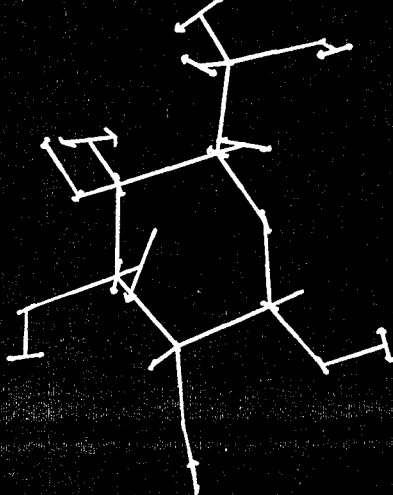
BETA GALACTOSE

1140 cm-1



BETA GALACTOSE

1077 cm-1



• MANOSK •

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE III

1. Sheldrick B., *J. chem. soc.* 3157-3158, (1961).
2. M. Hineno & H. Yoshinaga, *Bull. chem. soc. Japan* ,43, 3308 (1970).
3. H.A. Wells. Jr ,Doctor's Dissertation, Appleton,Wisconsin, (1977).
4. Barker S.A, Bourne E.J, Stacey M. and Wiffen D.H, *J. Chem. Soc.* 3468-73 (1954).
5. Barker S.A, Bourne E.J, Stacey M, and Wiffen D.H, *J. Chem. Soc.* 4211 (1954).
6. L.P. Kuhn , *Anal. Chem*, 22(2), 276-283 (1950)
7. M. Hineno and H. Yoshinago .*Spectrochim. acta* ,29A, 1575:1578 (1973).
8. M. Hineno and H. Yoshinago ,*Spectrochim. acta* ,29A, 301:305 (1973).
9. J. P. Huvenne, G. Vergoten, G. Fleury et P. Legrand, *J. mol. struct*, 74,169:180 (1980).
10. M. Hineno, *Carb. res.* 56, 219-227 (1977).
11. J. J. Cael, J.L. Koenig and J. Blackwell, *Carb. Res.* 32, 79-91 (1974).
12. P.D. Vasko, J. Blackwell and J. L. Koenig, *Carb. Res.* 407-416 (1972).
13. E. B. Wilson, J. C. Decius and P. C. Cross, *Molecular vibrations*, M_c Graw-Hill, New York(1955).
14. B. Sheldrick, *Acta. Crystall.*, B32, 1016 (1976).
15. a;J. Ohanessian et H. Gillier-Pandraud, *Acta. Crystall.*,B32, 2810 (1976).
15. b;F. Longchambon, J. Ohanessian, D. Avenel et A. Neuman, *Acta. Crystall.*, B31, 2623 (1975).
16. H. Takeuchi, PhD. Thesis, Tokyo, Japan (1973).
17. T. Miyazawa, *J. Chem. Phys*, 29, 246 (1958).
18. T. Shimanouchi, *physical chemistry*, IV,4, 233, (1970).
19. Y. Ogawa, *Programme Redundancy*, Tokyo (1977).
20. B. Fanconi, *J. Chem. Phys.* 57, 2109 (1972).
21. a;Decius J. C. and Hexter M. , *Molecular vibrations in crystal*. M_c

- Graw-Hill, New York. (1977).
21. b;Califano S. , Vibrational spectroscopy , Modern Trends, Barns and Oville-Thomas Eds. 285-304, Elsevier, Amsterdam (1977).
 22. Born M. and Huang K. , Dynamical theory of crystal lattices. Oxford University Press (1954).
 23. Dows D.A. , Dinamica dei Reticolie forze intermolecolari, 115-135, Academic, Press, New York (1975).
 24. a;A. Kitaigorodskii, J. Chim. Phis, 63, 9 (1966).
 24. b;D. E. Williams, J. Chem. Phys, 45, 3770 (1966). 47, 4680 (1967).
 24. c;B. G. Daskevskii, Zh. Strukt. Khim, 11, 912 (1970).
 25. M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy and J.J.P. Stewart, J.A.C.S. 107, 3902-3909 (1985).
 26. P. D. Vasko, PhD. Thesis, Case Western Reserve University (1971).
 27. M. Dauchez, Thèse Université des Sciences et Techniques de Lille.(1990).
 28. H. Urey & C. A. Bradley , Phy. Rev. 38, 1939.
 29. T. Shimanoushi, Pure. Appl. Chem, 7(1), 131 (1968).
 30. H.Takashi, T. Shimanoushi, K. Fukushima et T. Miyazawa, J. Mol. Spectr. 13, 43 (1964).
 31. M. Stacey, R. H. Moore, S. A. Barker, E. J. Bourne, PROC. second. U. N. Intl. Conf of Peaceful Uses of Atomic Energy. 251-256. Geneva (1958).
 32. N. Sheppard, K Simpson, Quart. rev. 7:19 (1953).
 33. R. G. Snyder, G. Zerbi, Spectroch. acta. 23A, 391-437 (1967).
 34. P. D. Vasko, J. Blackwell and J. L. Koenig, Carb. Res. 19 ,297-310 (1971).
 35. S. Califano, Vibrational states, John Wiley & son, London (1976).
 36. Liang C. Y. and Marchessault R.H. ,J Polymer sci., 39, 269-278 (1959)., 43, 71-84 (1960).
 37. S. C. Buket and R. M. Badger, J. Am. Chem. Soc., 72, 4397-4405 (1950).
 38. D. A. Ramsay, Proc. Roy. Soc. , London, A190, 562 (1947).

Chapitre IV

Etude par spectrometrie I.R.I.F de
quelques carraghenanes.

Le large domaine d'applications des colloïdes algaux, a fait que les algues rouges connues dont on extrait les carraghénanes et les agars, ne suffisent plus à la demande industrielle. Il a fallu exploiter de nouvelles espèces et mettre au point d'autres procédés d'extraction.

Les différentes méthodes spectroscopiques sont très utiles pour l'identification de ces nouveaux types de carraghénanes. Cette étape n'est pas toujours facile car elle nécessite une bonne maîtrise de la technique utilisée et une multitude de données expérimentales. L'étape essentielle consiste, dans un premier temps, à déterminer la structure primaire de ces polysaccharides.

IV. 1. LES DIFFERENTES METHODES SPECTROSCOPIQUES UTILISEES

IV. 1.a. Spectroscopie RMN du ^{13}C

Depuis quelques années, la spectroscopie la plus utilisée pour l'identification des structures de carraghénanes est la spectroscopie RMN du ^{13}C . C'est la plus fiable pour connaître la nature et la position des substituants. Les familles kappa, beta, iota, mu et nu sont chacune caractérisées par un ensemble de déplacements chimiques [1-6] et les attributions sont faites par simple comparaison des signaux. La présence de pics supplémentaires implique l'existence d'une structure nouvelle et permet d'émettre des hypothèses sur sa nature.

Les valeurs que devraient avoir les déplacements chimiques des substituants de la structure supposée sont déterminés en utilisant les données publiées sur les variations des déplacements chimiques de ces mêmes substituants ayant des structures voisines.

Si cette technique présente un grand avantage quant à sa précision, son inconvénient réside en son coût élevé et la quantité importante d'échantillon

nécessaire pour la réalisation d'un spectre. D'autre part, l'échantillonnage de ce type de composés est délicat dans la mesure où certains gélifient pendant l'enregistrement du spectre.

IV. 1.b. Spectroscopie Infrarouge

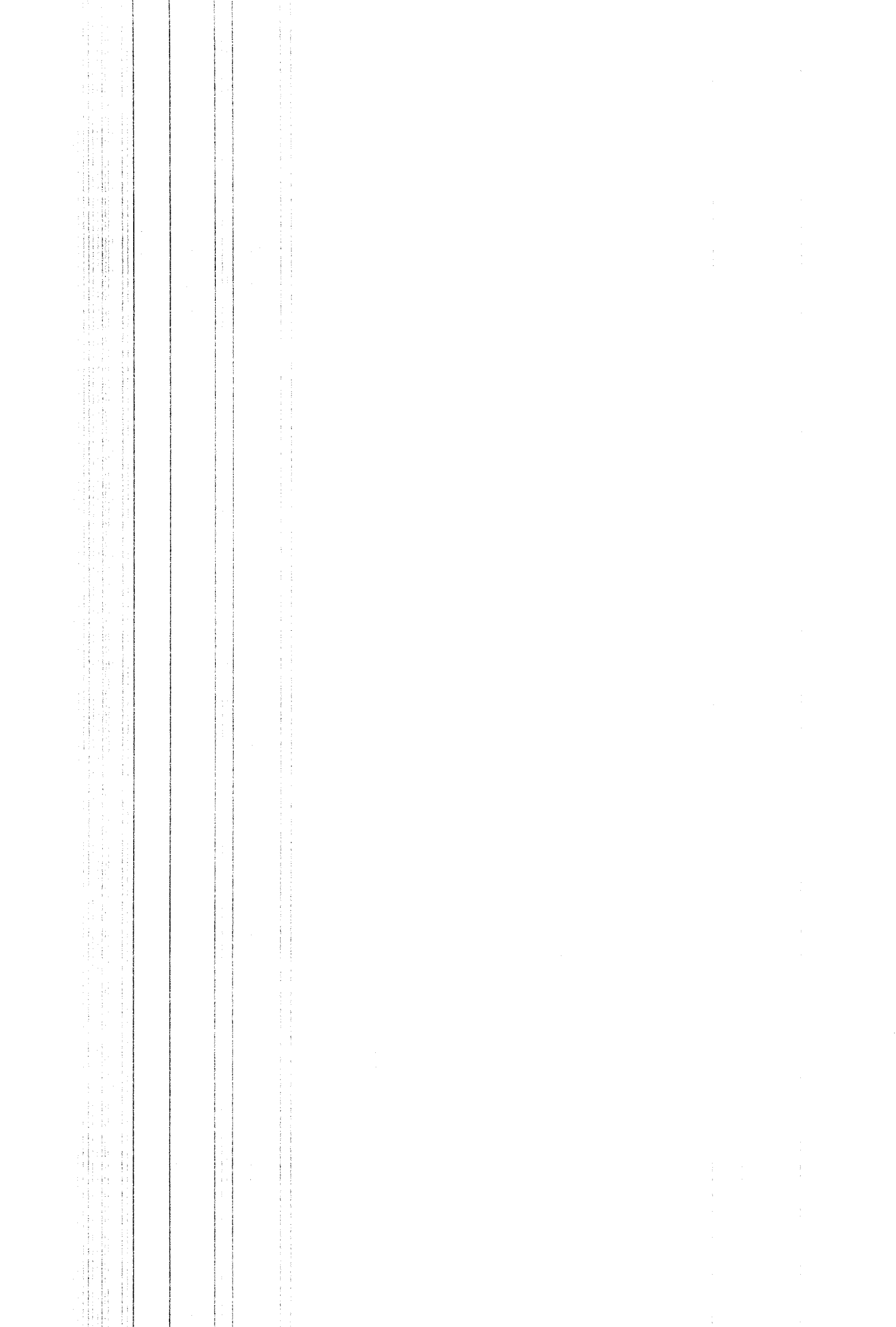
La spectroscopie infrarouge a été l'une des premières techniques utilisées dans le but de déterminer la nature du carraghénane présent dans l'algue. Mais la mauvaise performance des systèmes dispersifs a fait qu'elle ait vite été délaissée au profit de la RMN.

Les nombreux types de carraghénanes, constitués par une répétition d'unités D-galactose qui ne diffèrent entre elles que par la position des groupements sulfate, principaux substituants rencontrés chez ces polysaccharides. La spectroscopie infrarouge a été utilisée jusqu'à présent, pour déterminer la position de ce groupement sulfate. En effet, certains travaux [7] ont pu associer une vibration du groupement C-O-S présente dans la région $800-900\text{ cm}^{-1}$, qui se déplace suivant le type de substitution, elle est donc toujours utilisée afin d'identifier le carraghénane. Il est par contre très difficile d'interpréter la totalité des spectres infrarouges en raison de leur complexité. Nous nous sommes proposés d'améliorer cette interprétation en utilisant les attributions des modes de vibration obtenues dans le cas du galactose. Jusqu'à présent, ces interprétations se sont basées sur les travaux de Vasko [8] sur le glucose, ce qui ne correspond pas toujours à la réalité, même si le glucose et le galactose présentent de grandes similitudes.

IV . 1. c. Spectroscopie Raman

La spectrométrie Raman, complémentaire de l'infrarouge est utilisée depuis peu pour l'étude des oligomères du kappa-carraghénane [9]. Les spectres sont assez analogues aux spectres infrarouges, mais certaines bandes interdites ou faibles en infrarouge apparaissent en diffusion Raman, ce qui augmente les informations nécessaires à l'interprétation des spectres de vibration.

Dans leurs travaux, Malfait et coll. ont utilisé des composés commercialisés purifiés. Ils n'ont donc pas été confrontés aux problèmes de



fluorescence qui peuvent perturber, voire même rendre inexploitable le spectre Raman.

L'utilisation de cette technique devient beaucoup plus difficile quand il s'agit d'étudier des carraghénanes extraits à l'aide de traitements complexes qui entraînent la contamination par des impuretés fluorescentes que nous n'avons pas réussi à éliminer même après une irradiation prolongée sous le faisceau laser.

Les progrès réalisés depuis quelques années par la spectrométrie I.R.T.F, en particulier sa grande sensibilité et sa parfaite calibration par rapport à l'I.R. conventionnel, nous ont conduit à appliquer cette technique dans le but de la rendre concurrentielle de la RMN ^{13}C . De plus, l'analyse nécessite de faibles quantités d'échantillons et s'avère plus facile à mettre en oeuvre.

IV.2. CARACTERISATION DES CARRAGHENANES PA SPECTROSCOPIE I.R.T.F.

Tous les spectres des polysaccharides ou oligomères que nous avons effectués, sont enregistrés en moyen infrarouge entre 4000 et 500 cm^{-1} . Ces échantillons sont préparés sous forme de pastilles dans une matrice KBr. Les spectres sont tous représentés en unité d'absorbance.

IV.2.1 Discussion générale des spectres infrarouges

Les carraghénanes kappa provenant de l'*Eucheuma cottonii*, iota de l'*Eucheuma spinosum* et le lambda du *Gigartina* sont des produits SIGMA. Leurs spectres sont respectivement représentés sur les figures (1.a, 1.b, 1.c). Sur ces trois spectres, il existe une bande large entre 3000 et 3600 cm^{-1} , caractéristique des vibrations d'élongation O-H, y compris celles de l'eau adsorbée sur les molécules de carraghénanes. L'élargissement de cette bande non résolue est dû au fait que plusieurs unités galactose sont présentes.

Entre 3050 et 2800 CM^{-1} , une bande également large mais d'intensité plus faible est attribuée aux modes d'élongation des liaisons C-H.

De plus, une bande à 1645 cm^{-1} caractérise le mode de déformation angulaire HOH des molécules d'eau adsorbées. En dessous de 1500 cm^{-1} , l'ensemble des nombres d'onde ($\bar{\nu}$ en cm^{-1}) est représenté dans le tableau suivant :

Type kappa	Type iota	Type lambda
1439.	1441.	1439.
1428.	1428.	1428.
1380.	1380.	1380.
1372.	1372.	
1350.	1350.	1350.
1268.	1268.	1268.
1254.	1255.	1255.
1226.	1230.	1230.
	1210.	
1162.	1162. d	1155.
1128.	1131. d	1125.
1076.	1072.	1072.
1047.	1041.	1040.
	1030.	1025.
		1010.
1006.	1003.	1005.
931.	933.	933.
	902.	902.
891.	890.	890.
846.	846.	828.
	802.	786.
770.	770.	771.
737.	726.	725.
702.	702.	702.
669.	669.	
608.	608.	608.
582.	582.	582.

FIGURE 1:- a - KAPPA CARRAGHÉNANE [4000-500 cm^{-1}]
 - b - IOTA CARRAGHÉNANE [4000-500 cm^{-1}]
 - c - LAMBDA CARRAGHÉNANE [4000-500 cm^{-1}]

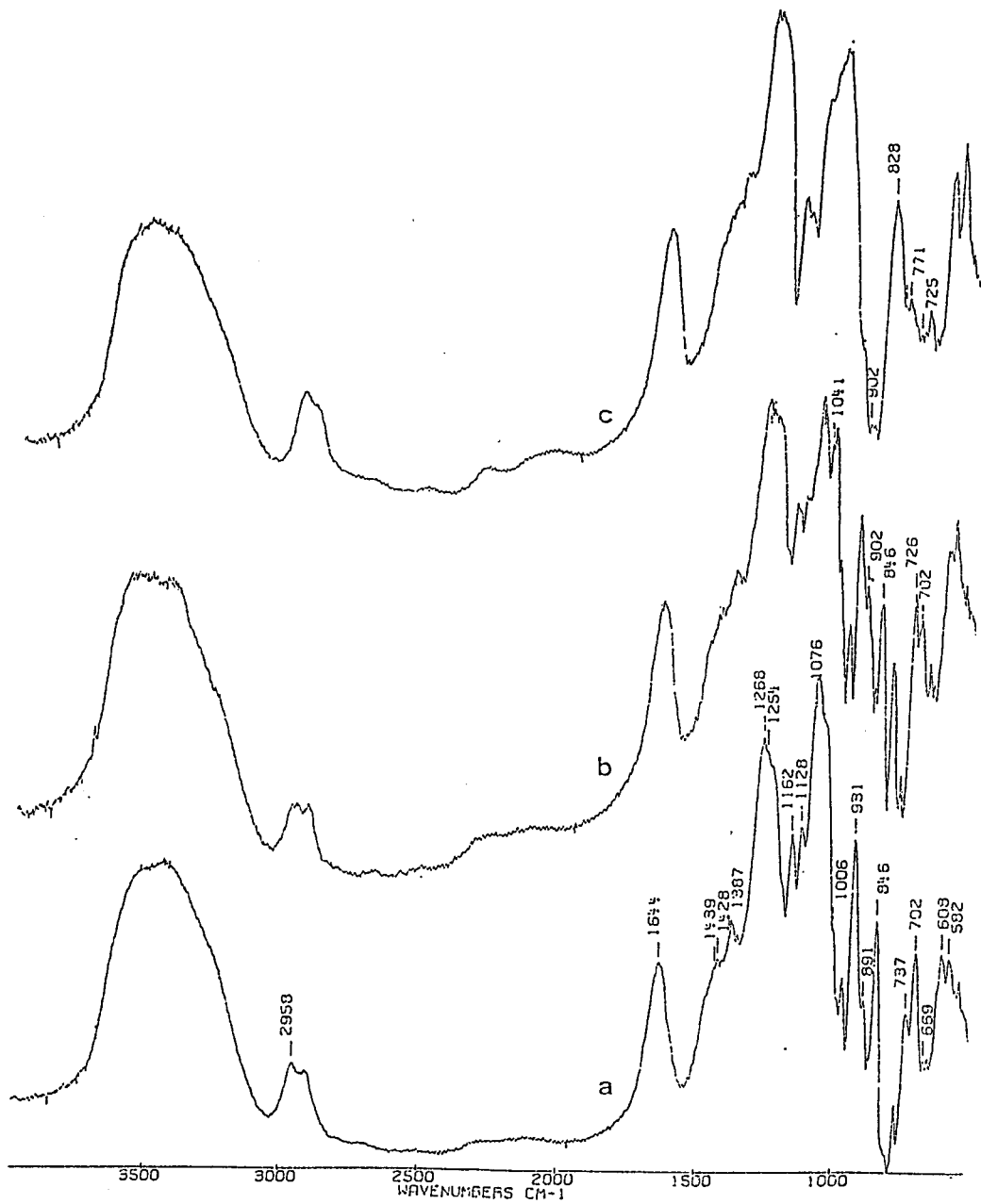
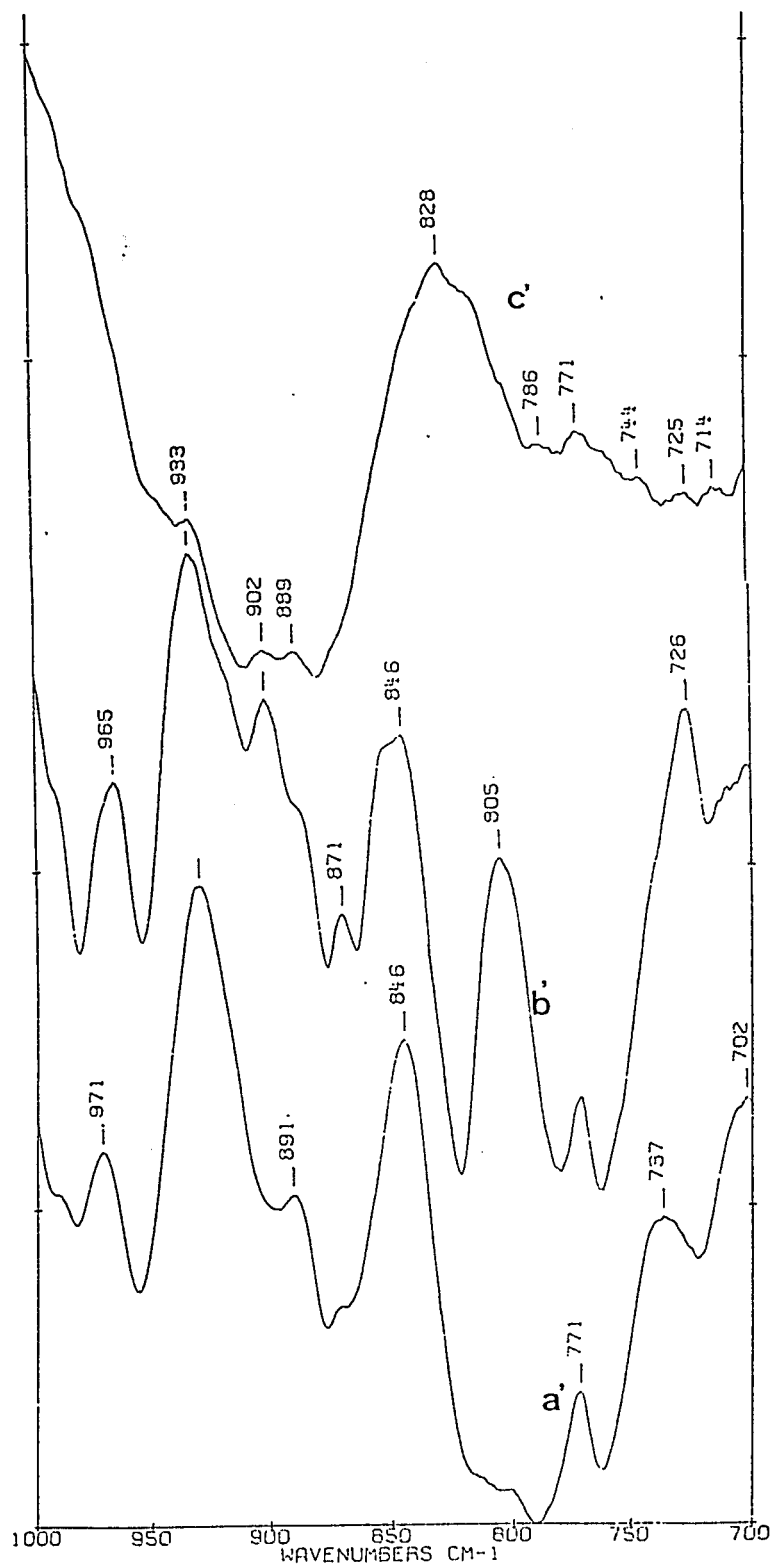


FIGURE 1: - a'- KAPPA CARRAGHÉNANE [1000-700 cm^{-1}]
 - b'- IOTA CARRAGHÉNANE [1000-700 cm^{-1}]
 - c'- LAMBDA CARRAGHÉNANE [1000-700 cm^{-1}]



Les trois spectres présentent des analogies avec ceux de l' α et du β -D-galactose, ce qui va nous permettre de préciser certaines attributions.

- Région 1450-1350 cm^{-1}

Les bandes situées dans cette région ont des intensités très faibles. Elles sont attribuées d'après le tableau (III.4) essentiellement à des modes de déformation angulaire CCH. Les résidus α -D-galactose, qui se présentent généralement dans le cas des carraghénanes sous forme de 3,6 anhydro, ont une structure conformationnelle inversée et tous les groupements qui devraient avoir une configuration axiale, se trouvent dans ce dernier cas en position équatoriale. Nous constatons cependant que les spectres I.R. ne permettent pas de différencier clairement, dans cette région, ces changements (spectre du λ -carraghénane, (figure 1.c) par rapport aux spectres des espèces κ et ι . Dans ces deux derniers, il existe un résidu 3,6 anhydro- α -D-galactose, alors que dans le premier c'est une unité α -D-galactose 6-sulfate qui le remplace).

Vers 1460 cm^{-1} on devrait mettre en évidence le cisaillement C_6H_2 (forme β). Cependant, il est généralement très faible en infrarouge et nous supposons qu'il est compris dans le massif 1450-1350 cm^{-1} . Ce mode est par contre caractérisé en spectrométrie Raman vers 1460 cm^{-1} , comme l'ont montré Malfait et coll. [10]. Les calculs des modes normaux de vibration du β -D-galactose confirment cette hypothèse.

- Région entre 1200 et 1100 cm^{-1}

Deux bandes situées à 1162 et à 1128 cm^{-1} sont communes aux trois polysaccharides. La première est présente aussi sur les spectres du β -D-galactose (1140 cm^{-1}), de l' α -galactose (1153 cm^{-1}), du β -neocarrabiose (Figure 4c) à 1160 cm^{-1} , du 4-O- α -D-galactopyranosyl-D-galactopyranose (Figure 4b) à 1150 cm^{-1} , du méthyl 3-O- α -D-galactopyranosyl- α -D-galactopyranoside (1143 cm^{-1} , figure 4a) et du galactose 6-sulfate, (Figure 5) à 1152 cm^{-1} . Ce mode est en fait présent dans tous les sucres pyraniques et a été attribué à un mode du cycle [11].

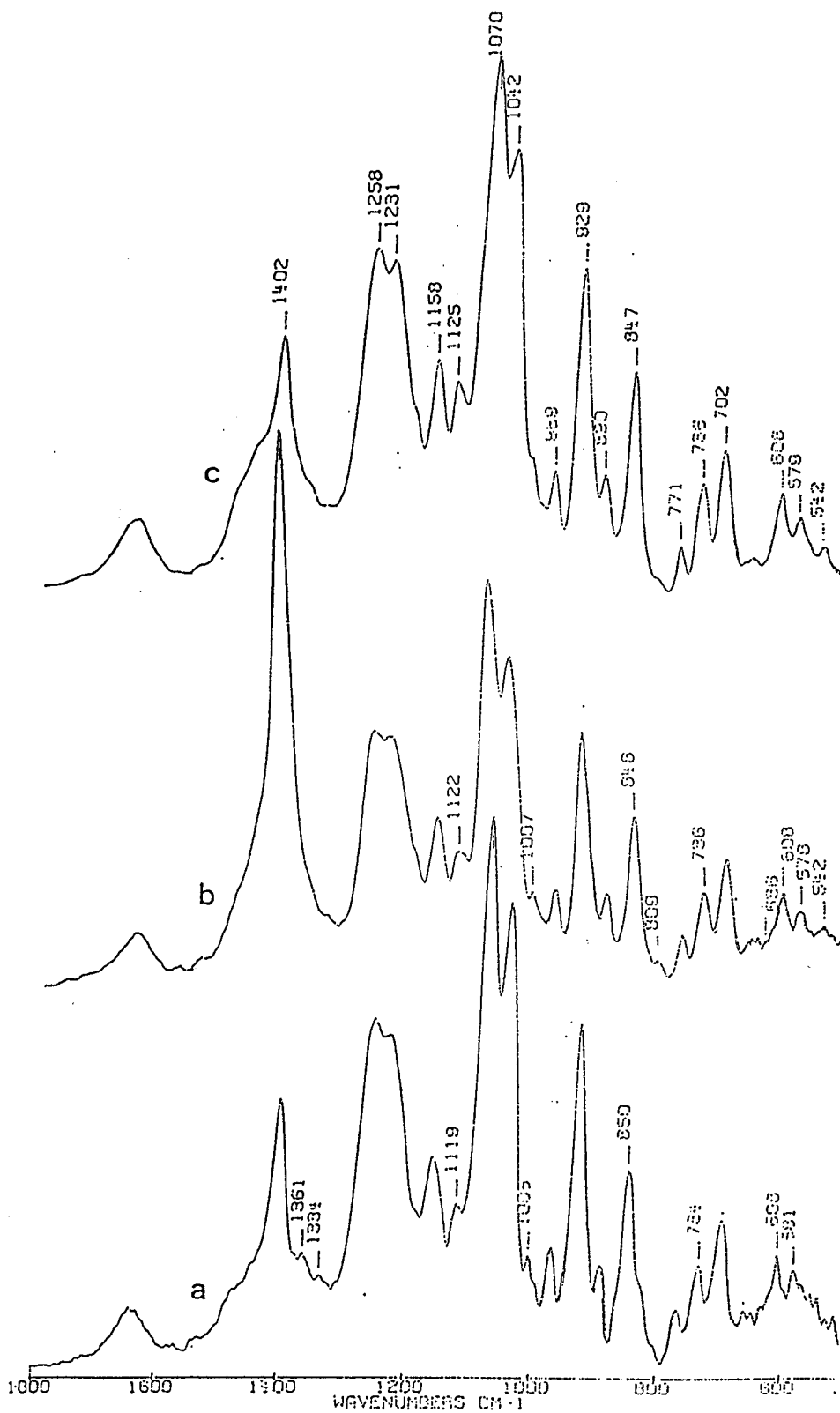


FIGURE 2: SPECTRES D'OLIGOMÈRES DE KAPPA-CARRAGHÉNANE
 a/ DP1, b/ DP2, c/ DP3

Les tableaux (III.3 et III.4) nous indiquent que ce mode fait intervenir des élongations C-C et C-O du cycle. Cependant nous avons fait correspondre le nombre d'onde à 1140 cm^{-1} du β -D-galactose à celui situé à 1162 cm^{-1} dans les carraghénanes, plutôt que ceux à 1160 ou 1152 car ces dernières sont visibles seulement à basse température dans le cas du β -D-galactose.

Nous l'attribuons également à un mode de déformation du cycle.

La bande vers 1125 cm^{-1} , absente du spectre du galactose 6-sulfate, apparait dans le kappa-carraghénane et augmente en intensité avec la longueur de la chaîne tout en se déplaçant vers les hautes fréquences (Figure 2). Elle a été attribuée à un couplage entre les modes de plusieurs résidus galactose [10]. Etant donné que dans cette région vibrent généralement les élongations C-O, nous supposons qu'il s'agit d'un mode dû à la liaison glycosidique. Belton et coll. [12] ont associé la bande à 1155 cm^{-1} à une valence asymétrique de la liaison glycosidique en utilisant les attributions préalablement faites dans le cas du dextran [13] et de la cellulose [14]. Cependant, dans ces deux derniers polysaccharides, l'unité de répétition est le glucose et la liaison glycosidique fait intervenir les groupements 1 et 4, alors que le groupement C4 différencie le glucose et le galactose. Nous ne pouvons donc confirmer cette attribution.

- Région entre 1100 et 1000 cm^{-1}

Dans ce domaine, tout comme dans le cas des deux anomères du galactose, des bandes de très forte intensité apparaissent sur les spectres infrarouges de tous les polysaccharides. Alors que les résultats antérieurs ne mettaient en évidence qu'une bande large nous distinguons, pour notre part en IRTF, en plus des bandes situées à 1076 et à 1041 cm^{-1} , présentes sur les trois spectres, une raie à 1030 cm^{-1} sur le spectre du iota-carraghénane et sur celui du lambda. Dans ce dernier cas, la coexistence de plusieurs bandes très proches ne permet pas de résoudre chacune d'elles (Figure 1.c). Il existe également dans cette région une bande à 1006 cm^{-1} que Malfait et coll. ont observé sur le spectre Raman du kappa-carraghénane à 1010 cm^{-1} . Ils l'ont attribué à une liaison glycosidique β C1-O-C4 (β 1,4). Elle est cependant présente dans le spectre du méthyl 3-O- α -galactose- α -D-galactoside, (Figure 4a), où seul un lien glycosidique du type α 1,3 est présent, de même qu'elle

FIGURE 3: SPECTRES DE REFLEXION DIFFUSE IRTF DU PORPHYRANE (b)
ET DU PORPHYRANE ALCALI-MODIFIÉ (a)

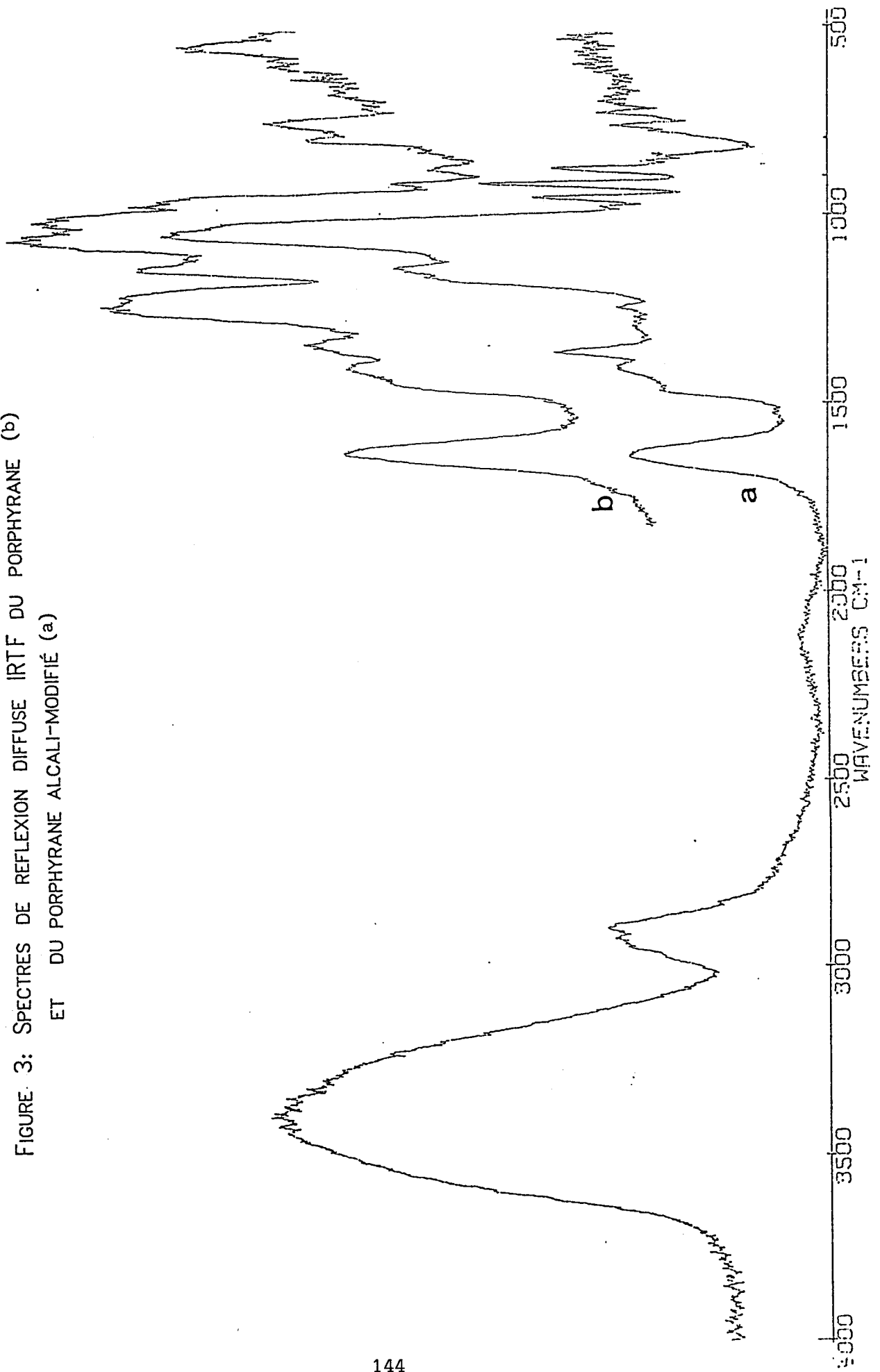
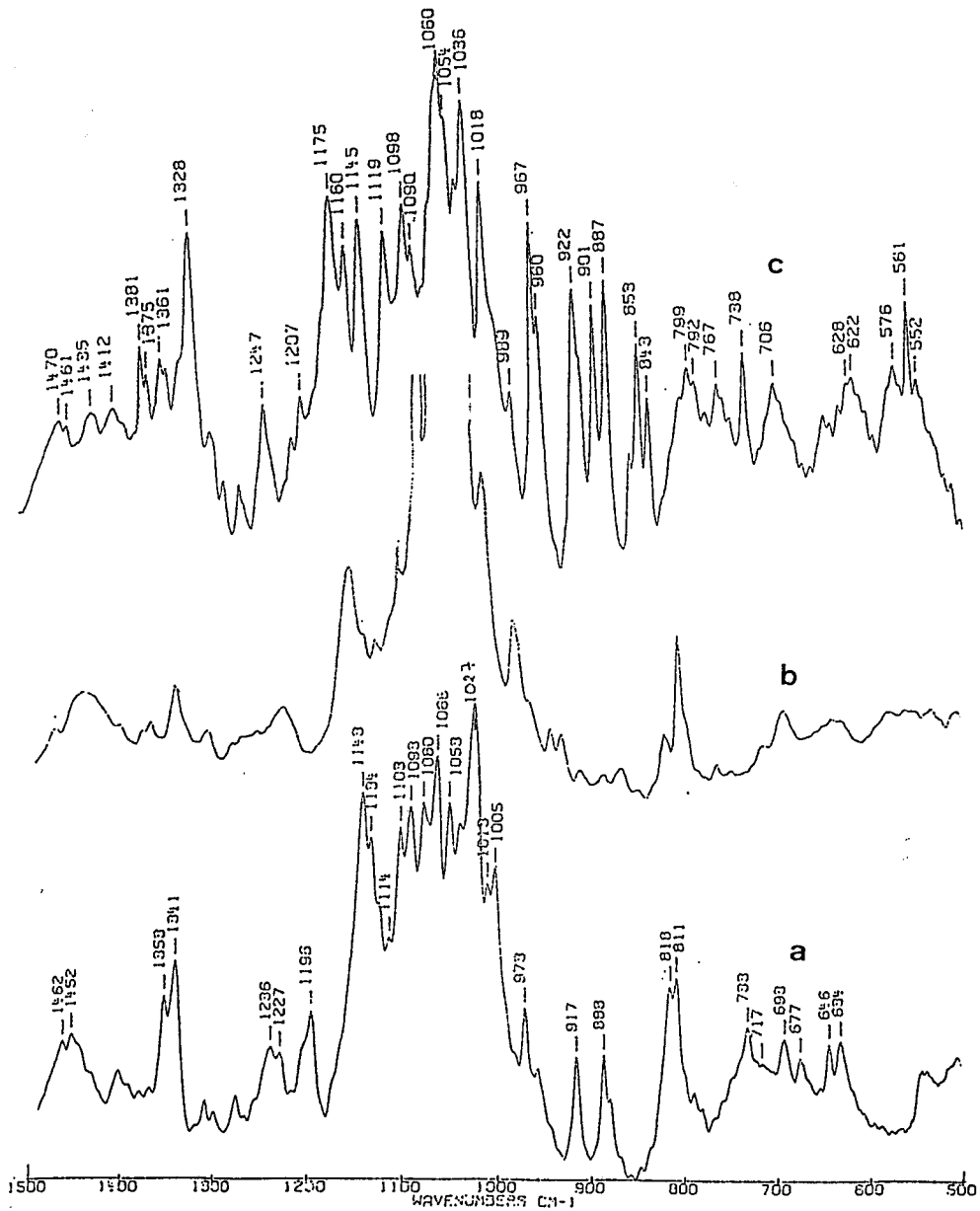


FIGURE 4: SPECTRES DE DISACCHARIDES

- a: Methyl-3-O- α -D-galactopyranosyl- α -D-galactopyranoside
- b: 4-O- α -D-galactopyranosyl-D-galactopyranose
- c: β -Néocarrabiose



apparaît très faible (épaulement) dans le spectre du β -neocarrabiose (α 1,3). Nous pensons plutôt que cette fréquence caractérise un mode faisant intervenir la liaison α 1,3.

Les bandes à 1076 et à 1041 cm^{-1} appartiennent au squelette galactose. D'après les tableaux (III.4) et (III.5), elles sont dues essentiellement à des élongations C-O, légèrement couplées à des déformations C-OH.

L'augmentation du nombre de groupements sulfate fait apparaître une bande à 1030 cm^{-1} dans le spectre du iota-carraghénane qui s'élargit dans le spectre de l'espèce lambda. Bien que très peu intense en Raman, elle a été attribuée à des élongations symétriques O=S=O. Cette bande existe aussi dans le spectre du porphyrane sulfaté (Figure 3b), elle disparaît après désulfatation par traitement alcalin.

- Région 600-800 cm^{-1}

Les bandes situées dans cette région sont toutes caractéristiques d'un squelette galactose, elles correspondent aux attributions données dans les tableaux (III.4) et (III.5). Seule la bande située à 730 cm^{-1} est absente des spectres des deux anomères α et β -D-galactose. Comme elle apparaît aussi dans le cas du néocarrabiose et dans celui du méthyl α -galactose (1 \rightarrow 3) α -galactoside, elle peut être associée à un mode de déformation de la liaison C-O-C.

IV.2.b - Bandes caractéristiques des groupements sulfate

- Region 1270-1230 cm^{-1}

De très fortes absorptions ont été observées dans ce domaine, sur les spectres I.R. d'un grand nombre de polysaccharides sulfatés. Ces bandes ont, par contre, des intensités très faibles en diffusion Raman [10].

Dans la chondroïne sulfatée et dans l'acide hyaluronique sulfaté [19], la bande large et intense située vers 1240 cm^{-1} a été caractérisée comme étant propre aux groupements sulfate. Son attribution à un mode d'élongation asymétrique O=S=O a été faite simplement par analogie avec la bande qui apparaît sur les spectres des acétates à 1735 cm^{-1} [16], caractéristique des

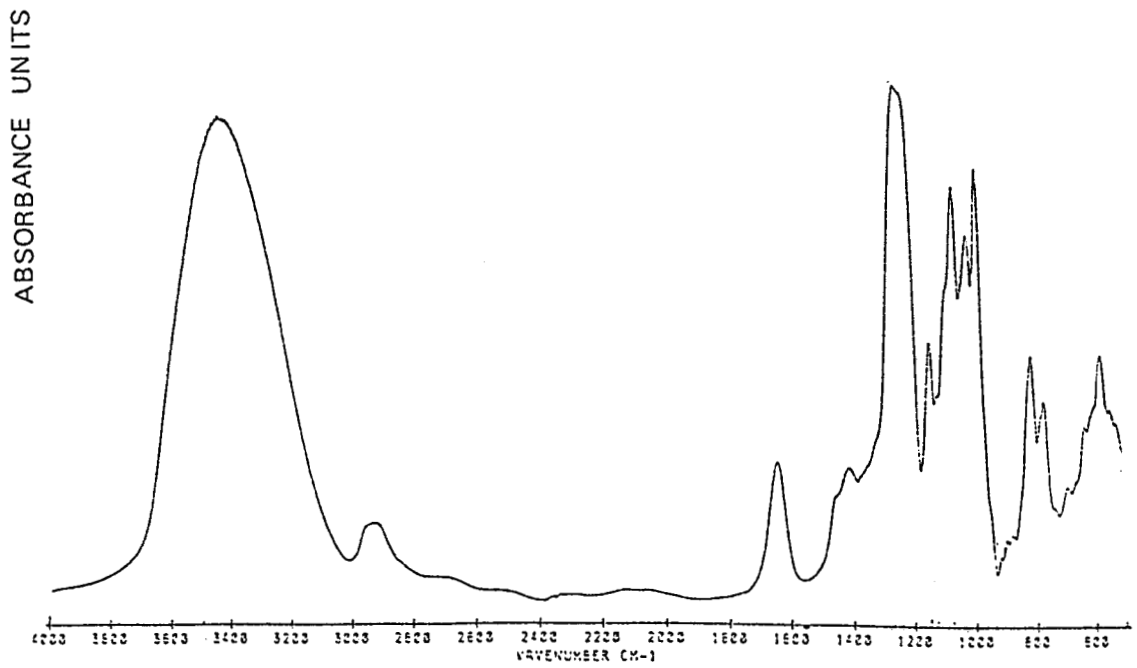
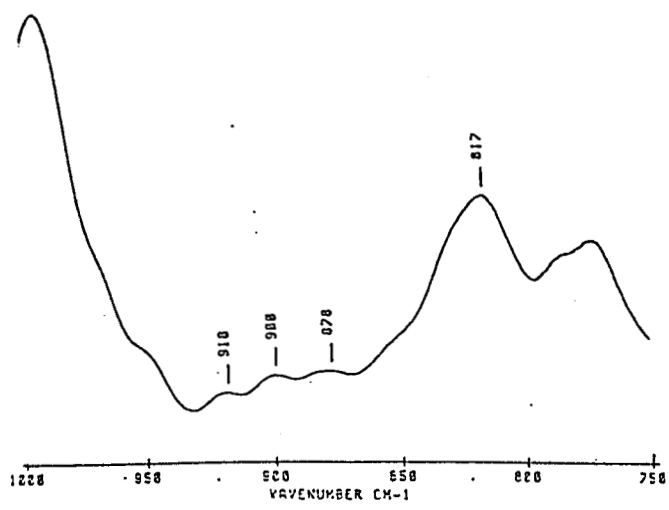


FIGURE 5: SPECTRE IRTF DU D-GALACTOSE 6-SULFATE

élongations C=O.

La même observation a été faite sur les spectres de polysaccharides sulfatés provenant de cartilage de poissons et de mammifères. Des traitements chimiques conduisant à des dérivés désulfatés confirment sans ambiguïté cette attribution [17].

La bande à 1240 cm^{-1} est également présente sur les spectres du glucose 2-sulfate, du galactose 2 et 3-sulfate et du galactose 2,3 disulfate [15, 18, 20].

Dans le but de confirmer cette attribution, nous avons réalisé d'une part, deux spectres de porphyran, le premier provenant du composé natif, (Figure 3.b), qui est essentiellement formé d'unités α -L-galactose 6-sulfate et β -D-galactose, le second de ce même composé ayant subi un traitement alcalin, qui transforme tous les résidus α -L-galactose 6-sulfate en des unités 3,6 anhydro α -L-galactose (Figure 3.a). Nous constatons clairement que la bande large et intense ayant un maximum à 1250 cm^{-1} disparaît complètement après le traitement alcalin. D'autre part, le spectre du galactose 6-sulfate présente aussi une forte absorption entre 1265 et 1240 cm^{-1} qui est absente dans le spectre du galactose dans lequel des bandes de très faibles intensité apparaissent dans cette région. Il est à noter que cette bande s'élargit de plus en plus, lorsque le nombre de groupements sulfate augmente, comme nous le constatons dans le cas du λ -carraghénane qui possède 3 groupements esters-sulfate par rapport au ι -carraghénane qui en possède 2 et au κ qui n'en a qu'un par dissaccharide, (Figures 1.a, 1.b, 1.c). L'existence de deux bandes, l'une vers 1260 cm^{-1} , l'autre vers 1240 cm^{-1} même dans le cas de composés possédant un seul sulfate, est certainement due au fait qu'il existe deux liaisons S=O dans le groupement et qu'elles n'ont pas tout à fait le même environnement.

Cependant, bien que très caractéristique de la présence d'un groupement sulfate, ces bandes ne sont pas très révélatrices du type de carraghénane. Elles ne peuvent donc pas servir à leur identification.

- Region $1000-800\text{ cm}^{-1}$

Conjointement avec la bande précédente, une autre absorption apparaît chaque fois qu'un groupement sulfate est présent et se situe entre 800 et 900

cm^{-1} . Orr [16] l'a attribuée, toujours par analogie avec les acétates, à une vibration pseudo-symétrique C-O-S (il s'agit des élongations C-O et O-S). Cependant, tel que nous pouvons le constater sur les spectres 1.a', 1.b' et 1.c', dans cette région, les spectres des κ , ι et λ présentent de grandes différences. En effet, dans le premier composé on voit nettement une bande à 846 cm^{-1} , caractéristique d'une sulfatation en C₄, que l'on retrouve dans le spectre du galactose 4-sulfate [6] et dans celui du β -neocarrabiose 4-sulfate [9, 10] ainsi que dans l'agar provenant de *Gracillaria Verrucosa*. Dans le cas ι -carraghénane, cette bande est aussi présente puisque ce polysaccharide est sulfaté en C₄ mais aussi en C₂ pour l'unité α -D-galactose. Cette dernière donne en plus une absorption due à la vibration C-O-S à 805 cm^{-1} . Il faut préciser que dans ce cas, la conformation de l'unité α -D-galactose est inversée, la substitution par un sulfate en C₂ est portée par une liaison CO ayant une configuration axiale.

Dans le cas du porphyran sulfaté, on voit que la bande caractéristique de la sulfatation en C₆ de l'unité α -D-galactose (Figure 3.b) apparaît à 820 cm^{-1} . Sur le spectre du galactose 6-sulfate (Figure 5), elle se trouve à 817 cm^{-1} et elle est présente dans les spectres de tous les précurseurs de carraghénanes [21].

Cette bande est visible sur le spectre du λ -carraghénane, masquée dans une bande large, ayant un maximum à 828 cm^{-1} . Ce carraghénane possède deux sulfatations en C₂. La première sur l'unité α à 805 cm^{-1} , la seconde sur l'unité β -galactose où la liaison C-O a une configuration équatoriale. La vibration C-O-S apparaît à 828 cm^{-1} . Il n'est pas possible de distinguer les trois bandes car elles sont très proches les unes des autres et forment un large massif. Les absorptions dans cette région sont très représentatives de l'espèce de carraghénanes et des règles sont jusqu'à présent adoptées par les biologistes pour l'identification de polysaccharides algaux. On s'accorde généralement pour affirmer que dans les résidus de β -D-galactose, l'apparition de bandes à 820 , 830 et 845 cm^{-1} implique l'existence respective d'un ester-sulfate attaché en O-6, pour une liaison C₅-C₆ équatoriale, en position O₂ pour une liaison C₂-O₂ équatoriale et enfin en position O₄ telle que C₄-O₄ soit en configuration axiale. La bande située à 805 cm^{-1} caractérise un groupement sulfate attaché à un résidu 3,6 anhydro α -D-galactose en C₂.

Cependant un mélange contenant du ι -carraghénane déviant, a un spectre

très proche de celui du ι -carraghénane. Bien que dans ce composé le groupement sulfate en C2 se trouve en position équatoriale, on observe en plus de la bande à 850 cm^{-1} caractéristique de la sulfatation en C4, une bande vers 810 cm^{-1} (Figure 6b), alors qu'aucune absorption n'apparaît à 830 cm^{-1} .

La même constatation a été faite pour ce carraghénane par Whyte et coll. [22]. L'inversion de configuration d'axiale en équatoriale fait déplacer la bande attribuée à une vibration asymétrique C-O-S d'un groupement sulfaté en C2 de quelques cm^{-1} (5 cm^{-1}). Cependant, suivant que ce résidu est un α -D-galactose ou un β -D-galactose, cette bande se trouve soit à 805 cm^{-1} , soit à 830 cm^{-1} . Nous pouvons supposer que l'influence de la configuration (α ou β) de la liaison glycosidique qui est très proche du carbone substitué par le groupement sulfate explique cette différence.

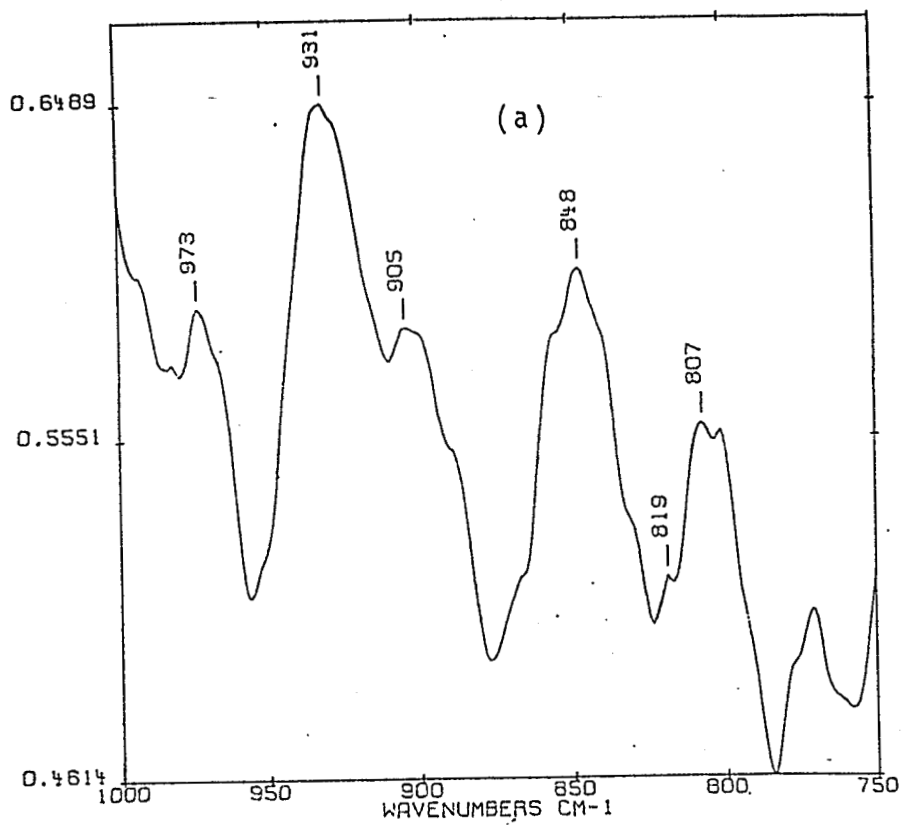
Une autre raie, souvent présente dans les spectres de carraghénanes, se trouve à 930 cm^{-1} , elle est caractéristique de la présence d'un pont 3,6 anhydro-galactose et a été attribuée à la vibration C-O-C [21]. En effet cette bande n'existe pas sur le galactose 4-sulfate [9], ni sur le porphyran natif (sulfaté en C6 sur les unités α -galactose), elle apparaît par contre après désulfatation de ce dernier (Figure 3.a).

Après l'examen de la région située entre 1000 et 800 cm^{-1} pour différents types de carraghénanes, nous en concluons qu'à la différence des autres domaines du spectre infrarouge, elle possède de très riches informations qui conduisent à l'identification du type de carraghénane. Par conséquent nous allons nous en servir, d'une part pour mettre en évidence la nature du polysaccharide présent dans l'algue, et d'autre part pour déterminer la bande caractéristique de nouvelles espèces.

IV.3. IDENTIFICATION DES POLYSACCHARIDES CONTENUS DANS CERTAINES ALGUES ROUGES

IV.3.a. L'algue *Euचेuma Muricatum*

Cette algue rouge pousse abondamment sur les récifs de corail dans les côtes de Tulear (Madagascar). Nous avons effectué le spectre I.R.T.F. de l'extrait total provenant de cette algue. La figure 6.a. montre qu'il s'agit d'un composé très similaire au ι -carraghénane provenant de *Euचेuma*



(a): fraction provenant de l'E. Muricatum.
 (b): iota - Deviant

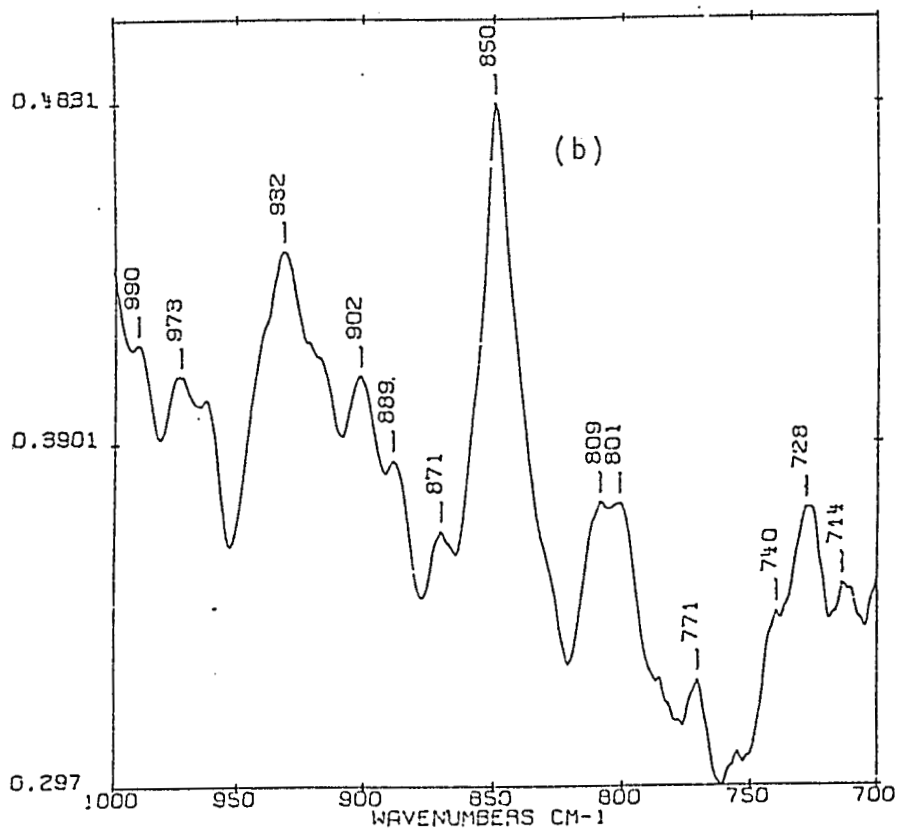


FIGURE 6

Spinosum. La présence d'une quantité minoritaire de carraghénane ι déviant est suspectée d'après les rapports molaires sulfate-galactose [25], par contre aucune trace de nu-carraghénane (précurseur du ι) n'est mise en évidence. En effet le spectre I.R.T.F. ne présente aucune absorption à 820 cm^{-1} . Il apparait une bande à 806 cm^{-1} caractéristique de la vibration asymétrique C-O-S d'un ester-sulfate en C2, ainsi qu'une bande à 847 cm^{-1} pour la sulfatation en C4 et un pic à 932 cm^{-1} indiquant la présence d'un pont 3,6 anhydro. Par contre, la bande à 890 cm^{-1} est masquée par une autre située à 902 cm^{-1} . Cette dernière n'a jamais été décrite dans la littérature, mais grâce à la meilleure résolution de l'appareil I.R.T.F., nous pouvons la mettre en évidence chaque fois qu'un carraghénane du type ι (sulfatation en C2 du résidu lié en 1,4) est présent.

Ceci se confirme sur la figure 7 où sont représentés les spectres de différentes fractions provenant de l'algue *Hypnèa musciformis*. On sait d'après la spectroscopie RMN ^{13}C qu'elles contiennent respectivement, du κ -carraghénane majoritaire par rapport à du ι et du μ (κ xxx, ι x, μ x) (Figure 7.a), du κ et du ι -carraghénane majoritaires par rapport au μ (κ ***, ι **, μ *) (Figure 7.b) et enfin du ι -carraghénane majoritaire par rapport au κ (ι ***, κ *) (Figure 7.c). On constate en effet que la bande située à 905 cm^{-1} , caractéristique du ι -carraghénane puisque son intensité devient plus importante avec l'augmentation de la proportion de ce dernier dans la fraction. Toutefois elle est relativement plus faible que la bande à 800 cm^{-1} .

Etant donné la complexité de ces composés, nous ne pouvons pas l'attribuer à une vibration donnée avec exactitude mais puisqu'elle apparait uniquement lorsqu'il y a une sulfatation en C2, nous supposons qu'elle est due à la vibration "symétrique C-O-S" et que l'existence de la liaison glycosidique sur le C1 (carbone le plus proche) a une influence sur le moment dipolaire du groupement et fait que dans ce cas la vibration symétrique devienne active en I.R. Nous en déduisons que le ι -carraghénane peut être mis en évidence non seulement à l'aide de la bande située à $800\text{-}805\text{ cm}^{-1}$ mais aussi à l'aide de celle située à $900\text{-}905\text{ cm}^{-1}$.

*** : quantité majoritaire

** : quantité moyenne

* : quantité minoritaire

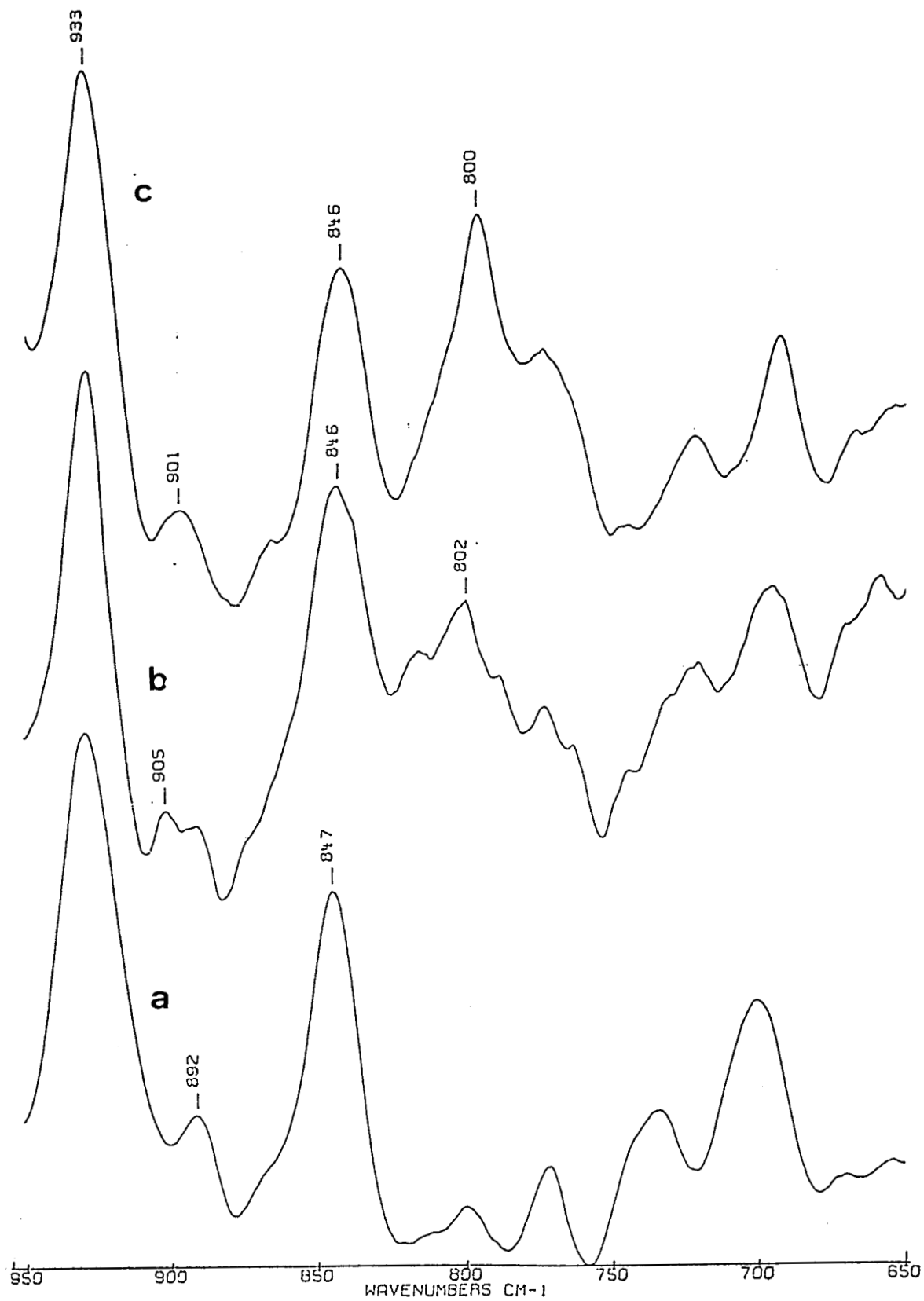
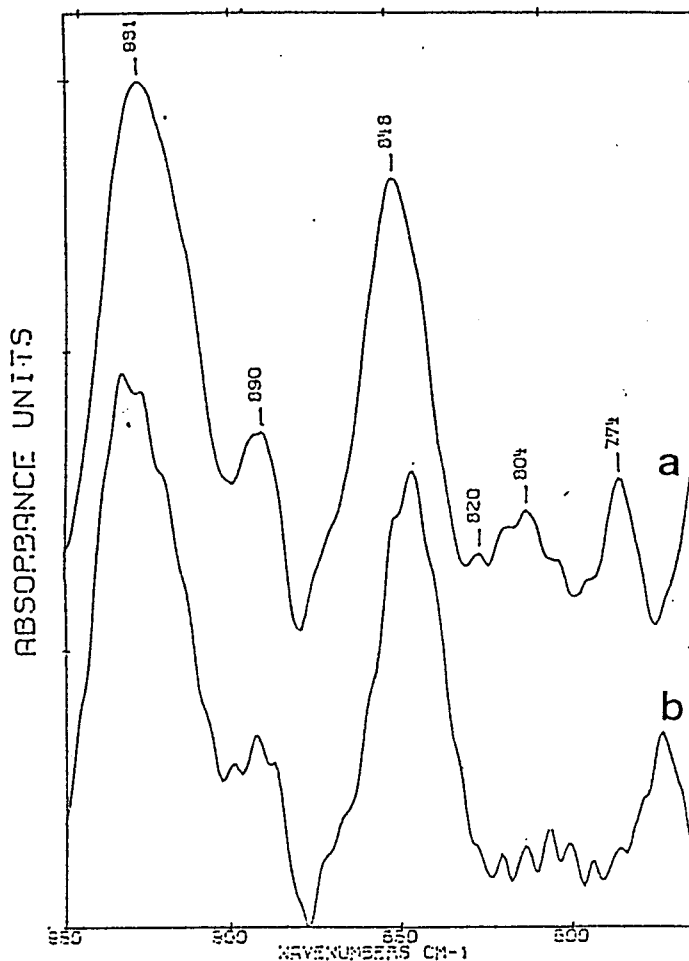


FIGURE 7: FRACTIONS PROVENANT DE L'ALGUE *HYPNEA MUSIFORMIS*

a: (κ^{***} , τ^* , μ^*), b: (κ^{***} , τ^{**} , μ^{**}), c: (τ^{***} , κ^*)

IV.3.b - L'algue *Eucheuma striatum*

Quand plusieurs carraghénanes coexistent dans une même algue, il est possible de les séparer en les solubilisant à différentes températures. On effectue ici les spectres I.R.T.F. des fractions extraites à chaud et à froid à partir de l'algue *Eucheuma striatum*. Les deux spectres sont très similaires entre eux : bandes à 932, 890, 847, 804 cm^{-1} , cette dernière est très faible, ce qui laisse conclure qu'il existe des traces de ι -carraghénane dans cette algue. Une bande très faible apparaît aussi à 820 cm^{-1} qui démontre l'existence d'une minorité de précurseur dans la fraction extraite à chaud. Les trois bandes de plus forte intensité sont très caractéristiques d'un κ -carraghénane. Nous en concluons que, puisque dans les deux fractions le composé majoritaire est le κ -carraghénane, il est alors le seul polysaccharide présent dans cette algue avec quelques traces de ι et de μ .

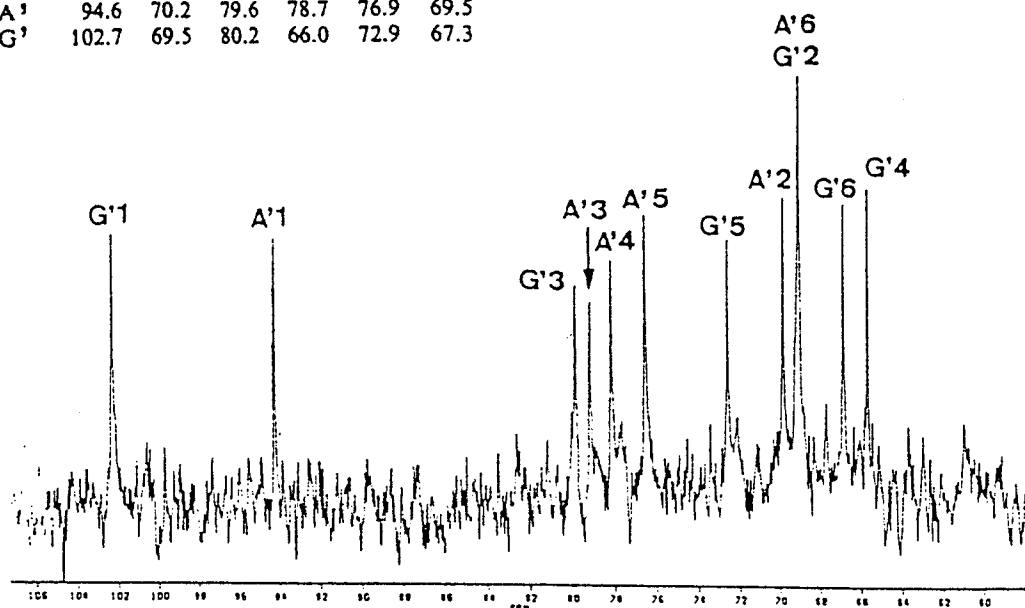


a: fraction extraite à chaud, b: fraction extraite à froid

IV.3.c. - Identification des bandes caractéristiques de l'omega et du beta-carraghénane provenant de l'algue *Rissoella verruculosa*

L'algue *Rissoella verruculosa* pousse en méditerranée au bord des côtes corses, la paroi est riche en carraghénane, les spectres RMN¹³C et le traitement alcalin ont montré qu'elle contient un nouveau type de carraghénane le oméga [27].

	C1	C2	C3	C4	C5	C6
A'	94.6	70.2	79.6	78.7	76.9	69.5
G'	102.7	69.5	80.2	66.0	72.9	67.3



Spectre RMN de ¹³C du dissaccharide d'une fraction de *R. Verruculosa* contenant du omega carraghénane, G et A se rapportent respectivement aux unités galactose et 3,6 anhydrogalactose (Thèse J. Mollion, 1988).

Le spectre RMN de cette espèce présente un déplacement chimique du carbone C6 de l'unité galactose vers les bas champs, ce qui a permis la mise en évidence d'une sulfatation de cette unité en C6. D'autre part, les déplacements chimiques sont très similaires à ceux donnés pour le beta carraghénane sauf pour les atomes C6, C5 et C4, ces deux derniers présentent des pics à des champs plus hauts. La similitude des spectres RMN du oméga et du beta carraghénane, ainsi que la mauvaise résolution des spectromètres dispersifs a entraîné des confusions [28]. En effet, Combaut et coll. ont identifié le polysaccharide provenant de *R. Verruculosa* comme étant un mélange de μ et de κ carraghénane.

Afin de mettre en évidence les bandes caractéristiques de l'oméga-carraghénane, nous avons analysé une série de fractions extraites de l'algue *Rissoella verruculosa*. Elles ont été préalablement identifiées par spectroscopie de RMN ^{13}C qui nous a renseigné sur les proportions approximatives en ω , κ et β carraghénanes dans chaque fraction. En parallèle, nous avons aussi réussi à mettre en évidence les bandes caractéristiques de l'espèce β . Nous présentons ici les spectres les plus significatifs des fractions suivantes :

<i>Numéro de la fraction</i>	<i>Spectre</i>	<i>Proportions approximatives des différentes espèces</i>
1	a	$\kappa_{***}, \omega_*, \beta_*$
2	b	$\kappa_{***}, \omega_{**}, \beta_*$
3	c	$\omega_{**}, \kappa_*, \beta_*$
4	d	ω_{**}, κ_*
5	e	ω_{**}
6	f	β_{**}, ω_*
7	g	β_{**}, κ_*
8	h	κ_{**}, β_*

- *** quantité importante
- ** quantité moyenne
- * quantité minoritaire

En comparant les spectres représentés sur la figure 9, on remarque que sur le spectre 9.a, il apparait des épaulements vers 870 cm^{-1} et vers 860 cm^{-1} ainsi qu'une bande faible et relativement large à 812 cm^{-1} , en plus des bandes caractéristiques du κ -carraghénane.

Lorsque la teneur en ω -carraghénane augmente dans les fractions 2,3 et 4, des bandes situées à 862 cm^{-1} et à 825 cm^{-1} augmentent d'intensité (spectres 9.b,c,d). De plus sur la fraction 5, très enrichie en cette espèce, on ne peut observer que ces deux bandes à côté de celles situées à 890 cm^{-1} et à 930 cm^{-1} que nous avons préalablement discutées. Les absorptions à 815 cm^{-1} et à 845 cm^{-1} disparaissent complètement ainsi que l'épaulement à 870 cm^{-1} . Nous serons donc amenés à attribuer ces deux bandes à l'oméga-carraghénane. En effet , elles

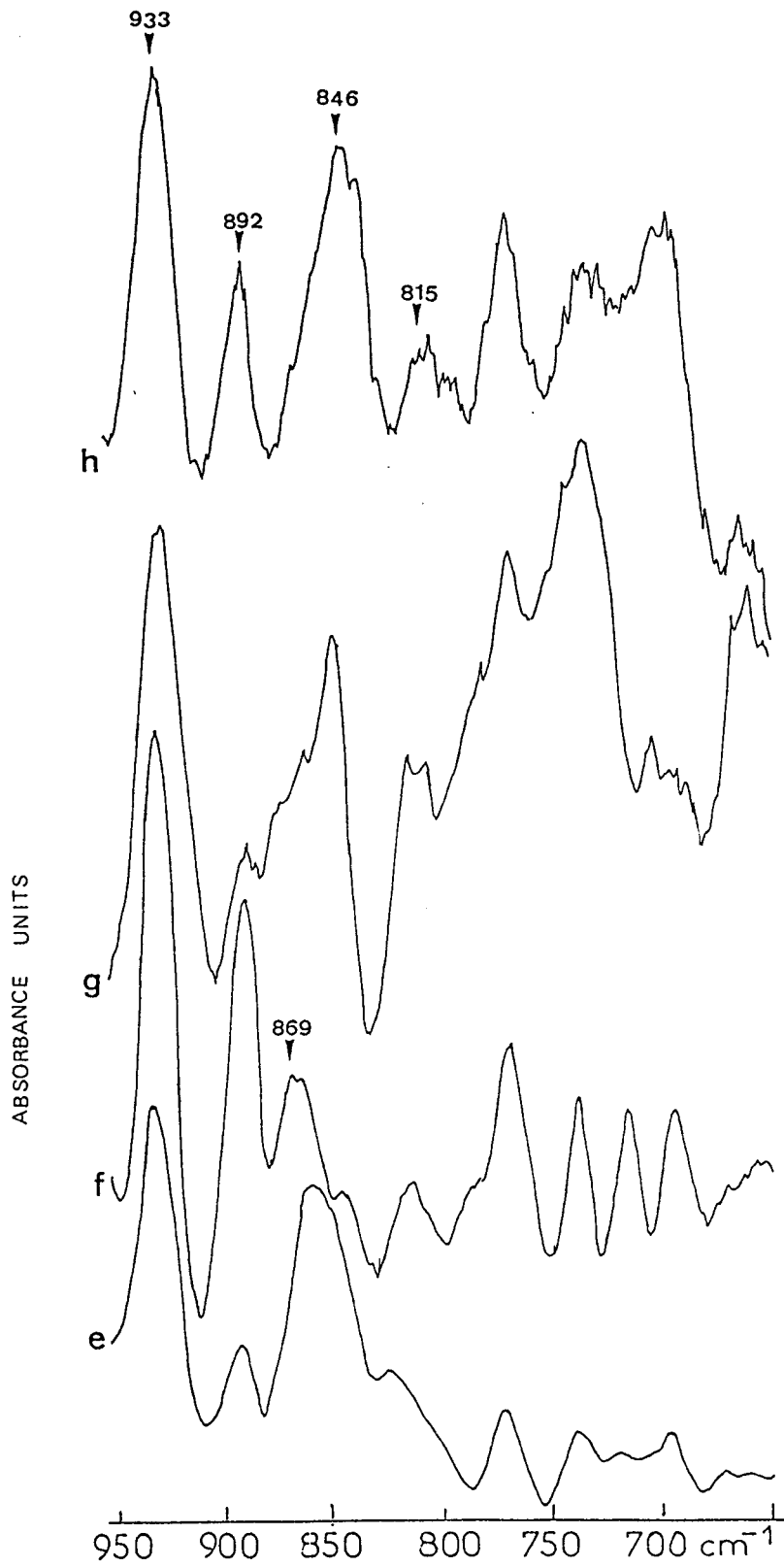


FIGURE 9: FRACTIONS PROVENANT DE L'ALGUE *RISOELLA VERRUCULOSA*

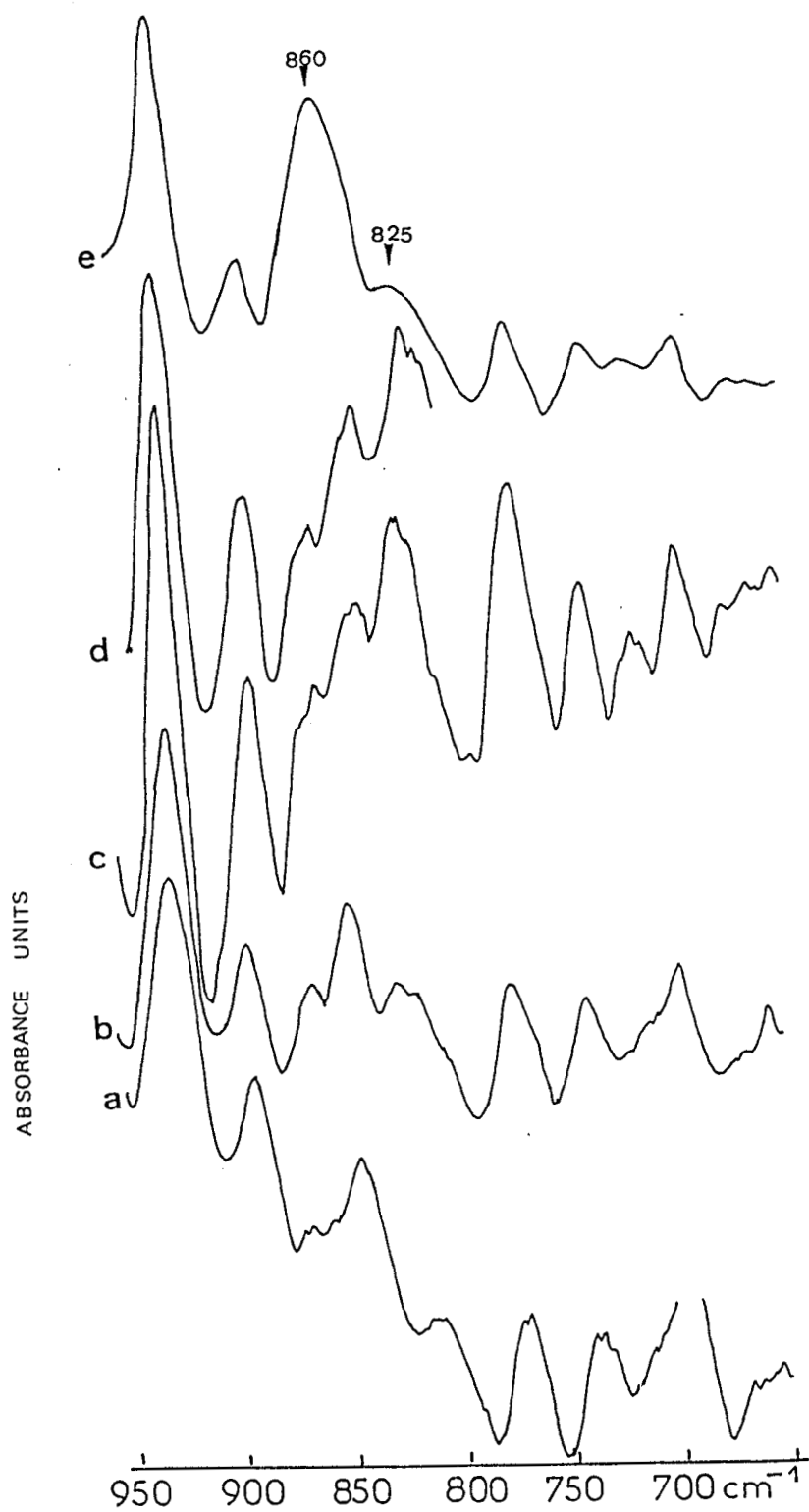


FIGURE 9: FRACTIONS PROVENANT DE L'ALGUE *RISOELLA VERRUCULOSA*

disparaissent lorsque les fractions en sont exemptées ou n'en contiennent que des traces (Figures 9.f,g,h). La bande à 825 cm^{-1} a déjà été attribuée, dans le cas de précurseurs de carraghénanes à la vibration asymétrique C-O-S d'un ester sulfate en C6 de l'unité α , alors que la bande à 862 cm^{-1} n'a jamais fait l'objet d'aucune mention dans la littérature. Nous ne pouvons donc pas l'attribuer à un mode bien précis mais seulement émettre des hypothèses. Elle peut être due à la même vibration C-O-S d'un ester sulfate en C6, mais sur l'unité β , la configuration de ce groupement étant différente dans ce cas par rapport au cas de l'unité α . Si l'hypothèse est juste, la bande à 825 cm^{-1} serait donc due à la présence d'un précurseur, soit celui de l'oméga ou celui des espèces contaminantes. On peut supposer encore qu'elle est due, soit à la vibration symétrique du groupement sulfate en C6 ou bien à une autre vibration, telle que le "rocking CH₂" qui est situé, dans le cas de non substitution, à 890 cm^{-1} et que la présence de l'ester-sulfate le fait glisser de 30 cm^{-1} .

Dans ce cas la bande qui apparaît à 890 cm^{-1} serait due à la présence de κ et de β carraghénane.

Le carraghénane de type β est caractérisé par une bande à 815 cm^{-1} . En effet toutes les fractions contenant cette espèce présentent une absorption dans cette région, essentiellement la fraction 6 qui est très enrichie en β -carraghénane (Figure 9.f). Cette bande apparaît aussi sur le spectre du β -neocarrabiose, elle est donc due au squelette carrabiose. Elle est absente dans le cas des composés sulfatés et les biologistes l'ont toujours attribuée à une "non-sulfatation" ceci implique que la substitution par un sulfate interdit l'apparition de cette bande qui est, même dans le cas du β -carraghénane, de très faible intensité.

IV.4 - CONCLUSION

Les carraghénanes de type κ , ι , λ , ω et β peuvent facilement être identifiés en utilisant la région $800\text{-}900\text{ cm}^{-1}$. Nous venons en effet de déterminer pour ces cinq espèces une ou plusieurs absorptions dans ce domaine qui caractérisent chacune d'entre-elles. La coexistence de plusieurs types de carraghénanes dans une même fraction entraîne la présence de plusieurs bandes

très proches les unes des autres, ce problème est résolu lorsqu'on utilise des appareils IRTF, qui en plus de leur bonne résolution ont une parfaite calibration, ce qui évite les confusions entre bandes très rapprochées, telles que par exemple, la bande à 815 cm^{-1} et la bande à 825 cm^{-1} , respectivement caractéristiques des espèces β et de précurseurs.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE IV

1. Usov, A.I., Yarotsky S.V. and A.S. Shashkov, *Biopolymers*, 19 : 977-990 (1980).
2. Greer C.W. and W. Yaphe, *Bot, Mar.* 27 : 473-478 (1984)
3. Usov, A.I., *Bot, Mar.* 27 : 189-202 (1984)
4. Greer C.W. and Yaphe W. *Bot. Mar.* 27 : 479-484 (1984)
5. Bellion C., Brigand G., Prome J.C., Welti D. and S. Bociek, *Carbohydr. res.* 119 : 31-48 (1983)
6. Rochas C., Rinaudo M., Vincendon M., *Int. J. Biol. Macromol.* 5 : 111-115 (1983)
7. N.S. Anderson and al. *J. Chem. Soc. (C)*, 602-606 (1968)
8. P.D. Vasko, *Ph.D. Thesis (1971) Cleveland OH - USA*
9. T. Malfait, H. Van Dael and F. Van Cauwelaert, *Carbohydr. Res.* 163 : 9-14 (1987)
10. T. Malfait, H. Van Dael and F. Van Cauwelaert, *Int. J. Biol. Macromol.* 11 : 259-264 (1989)
11. Wilson, R.H., Kakichevsky, M.T., Ring, S.G. and Belton, P.S., *Carbohydr. res.*, 166, 162 (1987).
12. P.S. Belton, R.H. Wilson, D.H. Chenery, *Int. J. Biol. Macromol.* 8 : 247-251 (1986)
13. Heyn, A.N., *J. Biopolymers*, 13, 475 (1974)
14. C.Y. Liang and R.M. Marchessault, *J. Polym. Sci.* 39, 269 (1959)
15. M.J. Harris and J.R. Turvey, *Carbohydr. res.*, 15, 51-56 (1970)
16. S.F. Orr, *Biochim. Biophys. Acta*, 14, 173-181 (1954)
17. A.G. Lhoyd, K.S. Dodgson, R.G. Price and F.A. Rose, *Biochim. Biophys. Acta*, 46, 108-115 (1961)
18. A.G. Lhoyd, K.S. Dodgson, R.G. Price and F.A. Rose, *Biochim. Biophys. Acta*, 46, 116-120 (1961)
19. S.F.D. Orr, R.J.C. Harris and B. Sylven, *Nature*, 169, 544 (1952)
20. Stanley Peat, D.M. Bowker and J.R. Turvey, *Carbohydr. res.* 7, 225-231 (1968)
21. D.J. Stancioff and N.F. Stanley, *Proc. Intl. Seaweed symp.* 6, 595-609, (1969)
22. John. N.C. Whyte, S.P.C. Hosford and J.R. Englar, *Carbohydr. res.* 140, 336-334 ,(1985)

23. T. Akahane et S. Izumi, *Agr. Biol. Chem.* 40 (2), 285-289 (1976)
24. F. Cabassi, B. Casu and A.S. Perlin, *Carbohydr. res.*, 63, 1-11 (1978)
25. Mollion J, Andriantsiferana and M. Sekkal, *Hydrocolloid*, 1990, *soumise à publication*
26. M. Sekkal, J. Mollion, P. Legrand, et G. Vergoten, *Spectroscopy of biological molecules state of the ART*, edit. A. Bertoluzza, G. Fagnano, P. Monti, 261, 1989
27. J. Mollion, H. Morvan, F. Bellanger et S. Moreau, *Phytochem.*, 27, 7, 2023-2026 (1988)
28. G. Combaut, L. Piovetti, G. Canal and A. Sancho, *Phytochem.*, 24, A, 1597, (1985)

Conclusion

L'étude structurale des carraghénanes a été notre but principal dans ce travail. Dans un premier temps, nous avons vérifié par minimisation d'énergie si l'arrangement spatial en double hélice proposé préalablement par plusieurs auteurs pour le carraghénane de type iota, se reproduit quand la sulfatation change de position.

Nous avons alors, réalisé un calcul aboutissant à une énergie minimale pour les carraghénanes de type kappa et oméga et nous en avons conclu que les structures secondaires ne sont pas vraiment affectées par la position du groupement sulfate, contrairement à son orientation ce qui est peut être à l'origine d'une structure tertiaire en "filet" différente d'un cas à un autre et par conséquent de la variation de la force de gel.

Au contraire, lorsqu'il s'agit d'un carraghénane du type précurseur tel que le lambda, la minimisation d'énergie montre que la double hélice n'a aucun moyen de se former. La connaissance de la structure primaire reste l'étape la plus importante dans l'analyse structurale.

Le calcul des modes normaux de vibrations dans le champ d'Urey-Bradley-Shimanoushi modifié de l' α et du β - D- galactose, unité de base dans les polysaccharides algaux, complète l'étude spectroscopique de molécules aussi complexes que les carraghénanes. En effet, la distribution de l'énergie potentielle obtenue lors de ce calcul montre que les modes sont fortement couplés, notamment dans la région située entre 1200 cm^{-1} et 900 cm^{-1} , très caractéristiques des sucres. L'attribution des bandes observées sur les spectres I.R et Raman par fréquences de groupes ou par séries homologues serait très imprécise.

L'étude spectroscopique de polysaccharides extraits d'algues rouges de diverses origines, a montré que la région révélant le nombre et la position du sulfate (donc le type du carraghénane) se trouve entre 900 et 800 cm^{-1} ,

elle est associée à la vibration asymétrique C-O-S qui peut à elle seule identifier le type de composé.

En conclusion, l'obtention du champ de forces du galactose nous renseigne sur la nature des vibrations de l'ensemble du spectre, mais afin d'aboutir à une meilleure compréhension des spectres I.R des carraghénanes, il serait nécessaire de l'étendre, d'une part aux substituants sulfatés du galactose pour avoir une attribution plus précise des mouvements des groupements sulfates mais aussi au disaccharide, afin d'étudier les liaisons glycosidiques.

Anneyes

ANNEXE 1 : COORDONNEES CARTESIENNES DES ATOMES CONSTITUANTS

LA DOUBLE HELICE DU ι - CARRAGHENANE (référence II,12)

1	C1	G4S	A	1	.323	1.659	2.117
2	C2	G4S	A	1	.323	2.044	.640
3	C3	G4S	A	1	1.581	1.530	-.045
4	C4	G4S	A	1	2.821	1.987	.712
5	C5	G4S	A	1	2.701	1.621	2.186
6	C6	G4S	A	1	3.853	2.149	3.015
7	O1	G4S	A	1	-.768	2.260	2.728
8	O2	G4S	A	1	-.844	1.521	.019
9	O4	G4S	A	1	2.975	3.401	.606
10	O5	G4S	A	1	1.500	2.177	2.741
11	O6	G4S	A	1	3.663	1.864	4.401
12	S	G4S	A	1	4.377	3.912	.027
13	O7	G4S	A	1	4.597	5.285	.433
14	O8	G4S	A	1	4.359	3.834	-1.421
15	O9	G4S	A	1	5.446	3.078	.542
16	C1	AGS	A	2	-2.362	1.441	6.590
17	C2	AGS	A	2	-3.253	1.205	5.362
18	C3	AGS	A	2	-2.719	2.038	4.191
19	C4	AGS	A	2	-1.272	1.625	3.899
20	C5	AGS	A	2	-.623	2.281	5.115
21	C6	AGS	A	2	-1.311	3.635	5.147
22	O1	AGS	A	2	-2.562	.402	7.463
23	O2	AGS	A	2	-3.240	-.168	4.953
24	O3	AGS	A	2	-2.635	3.403	4.608
25	O5	AGS	A	2	-.950	1.458	6.263
26	S	AGS	A	2	-4.503	-1.044	5.394
27	O7	AGS	A	2	-4.197	-2.452	5.235
28	O8	AGS	A	2	-5.642	-.700	4.566
29	O9	AGS	A	2	-4.956	-.774	6.783
30	C1	G4S	A	3	-1.598	-.549	10.970
31	C2	G4S	A	3	-1.932	-.742	9.493
32	C3	G4S	A	3	-2.116	.604	8.808
33	C4	G4S	A	3	-3.131	1.449	9.565
34	C5	G4S	A	3	-2.754	1.529	11.039
35	C6	G4S	A	3	-3.767	2.263	11.868
36	O1	G4S	A	3	-1.573	-1.795	11.581
37	O2	G4S	A	3	-.895	-1.491	8.872
38	O4	G4S	A	3	-4.433	.876	9.459
39	O5	G4S	A	3	-2.635	.210	11.594
40	O6	G4S	A	3	-3.446	2.240	13.254
41	S	G4S	A	3	-5.576	1.835	8.880
42	O7	G4S	A	3	-6.876	1.339	9.286
43	O8	G4S	A	3	-5.500	1.858	7.432
44	O9	G4S	A	3	-5.389	3.177	9.395
45	C1	AGS	A	4	-.067	-2.766	15.443
46	C2	AGS	A	4	.584	-3.420	14.216
47	C3	AGS	A	4	-.406	-3.373	13.044
48	C4	AGS	A	4	-.772	-1.914	12.752
49	C5	AGS	A	4	-1.663	-1.680	13.969
50	C6	AGS	A	4	-2.493	-2.952	14.001
51	O1	AGS	A	4	.933	-2.420	16.317
52	O2	AGS	A	4	1.765	-2.722	13.807
53	O3	AGS	A	4	-1.630	-3.983	13.461
54	O5	AGS	A	4	-.787	-1.552	15.116
55	S	AGS	A	4	3.156	-3.378	14.248
56	O7	AGS	A	4	4.222	-2.409	14.088
57	O8	AGS	A	4	3.428	-4.536	13.419
58	O9	AGS	A	4	3.148	-3.905	15.637

59	C1	G4S	A	5	1.275	-1.109	19.824
60	C2	G4S	A	5	1.608	-1.302	18.347
61	C3	G4S	A	5	.535	-2.134	17.662
62	C4	G4S	A	5	.310	-3.436	18.419
63	C5	G4S	A	5	.053	-3.150	19.893
64	C6	G4S	A	5	-.066	-4.411	20.721
65	01	G4S	A	5	2.342	-.465	20.434
66	02	G4S	A	5	1.739	-.030	17.725
67	04	G4S	A	5	1.457	-4.277	18.312
68	05	G4S	A	5	1.135	-2.388	20.448
69	06	G4S	A	5	-.217	-4.105	22.108
70	S	G4S	A	5	1.199	-5.747	17.733
71	07	G4S	A	5	2.278	-6.624	18.140
72	08	G4S	A	5	1.140	-5.692	16.286
73	09	G4S	A	5	-.057	-6.256	18.249
74	C1	AGS	A	6	2.429	1.325	24.296
75	C2	AGS	A	6	2.670	2.215	23.069
76	C3	AGS	A	6	3.124	1.335	21.898
77	C4	AGS	A	6	2.044	.289	21.606
78	C5	AGS	A	6	2.287	-.600	22.822
79	C6	AGS	A	6	3.803	-.683	22.854
80	01	AGS	A	6	1.629	2.018	25.170
81	02	AGS	A	6	1.475	2.889	22.660
82	03	AGS	A	6	4.265	.580	22.315
83	05	AGS	A	6	1.738	.094	23.970
84	S	AGS	A	6	1.348	4.422	23.101
85	07	AGS	A	6	-.025	4.861	22.942
86	08	AGS	A	6	2.215	5.237	22.272
87	09	AGS	A	6	1.808	4.679	24.490
88	C1	G4S	B	1	1.275	-1.109	6.463
89	C2	G4S	B	1	1.608	-1.302	4.987
90	C3	G4S	B	1	.535	-2.134	4.301
91	C4	G4S	B	1	.310	-3.436	5.058
92	C5	G4S	B	1	.053	-3.150	6.532
93	C6	G4S	B	1	-.066	-4.411	7.361
94	01	G4S	B	1	2.342	-.465	7.074
95	02	G4S	B	1	1.739	-.030	4.365
96	04	G4S	B	1	1.457	-4.277	4.952
97	05	G4S	B	1	1.135	-2.388	7.088
98	06	G4S	B	1	-.217	-4.105	8.748
99	S	G4S	B	1	1.199	-5.747	4.373
100	07	G4S	B	1	2.278	-6.624	4.779
101	08	G4S	B	1	1.140	-5.692	2.926
102	09	G4S	B	1	-.057	-6.256	4.888
103	C1	AGS	B	2	2.429	1.325	10.936
104	C2	AGS	B	2	2.670	2.215	9.709
105	C3	AGS	B	2	3.124	1.335	8.538
106	C4	AGS	B	2	2.044	.289	8.246
107	C5	AGS	B	2	2.287	-.600	9.462
108	C6	AGS	B	2	3.803	-.683	9.494
109	01	AGS	B	2	1.629	2.018	11.810
110	02	AGS	B	2	1.475	2.889	9.300
111	03	AGS	B	2	4.265	.580	8.955
112	05	AGS	B	2	1.738	.094	10.609
113	S	AGS	B	2	1.348	4.422	9.741
114	07	AGS	B	2	-.025	4.861	9.582
115	08	AGS	B	2	2.215	5.237	8.912
116	09	AGS	B	2	1.808	4.679	11.130

117	C1	G4S	E	3	.323	1.659	15.317
118	C2	G4S	E	3	.323	2.044	13.840
119	C3	G4S	E	3	1.581	1.530	13.155
120	C4	G4S	E	3	2.821	1.987	13.912
121	C5	G4S	E	3	2.701	1.621	15.386
122	C6	G4S	E	3	3.853	2.149	16.215
123	01	G4S	E	3	-.768	2.260	15.928
124	02	G4S	E	3	-.844	1.521	13.219
125	04	G4S	E	3	2.975	3.401	13.806
126	05	G4S	E	3	1.500	2.177	15.941
127	06	G4S	E	3	3.663	1.864	17.601
128	S	G4S	E	3	4.377	3.912	13.227
129	07	G4S	E	3	4.597	5.285	13.633
130	08	G4S	E	3	4.359	3.834	11.779
131	09	G4S	E	3	5.446	3.078	13.742
132	C1	AGS	E	4	-2.362	1.441	19.790
133	C2	AGS	E	4	-3.253	1.205	18.563
134	C3	AGS	E	4	-2.719	2.038	17.391
135	C4	AGS	E	4	-1.272	1.625	17.099
136	C5	AGS	E	4	-.623	2.281	18.316
137	C6	AGS	E	4	-1.311	3.635	18.347
138	01	AGS	E	4	-2.562	.402	20.663
139	02	AGS	E	4	-3.240	-.168	18.153
140	03	AGS	E	4	-2.635	3.403	17.808
141	05	AGS	E	4	-.950	1.458	19.463
142	S	AGS	E	4	-4.503	-1.044	18.594
143	07	AGS	E	4	-4.197	-2.452	18.435
144	08	AGS	E	4	-5.642	-.700	17.766
145	09	AGS	E	4	-4.956	-.774	19.983
146	C1	G4S	E	5	-1.598	-.549	24.170
147	C2	G4S	E	5	-1.932	-.742	22.693
148	C3	G4S	E	5	-2.116	.604	22.008
149	C4	G4S	E	5	-3.131	1.449	22.765
150	C5	G4S	E	5	-2.754	1.529	24.239
151	C6	G4S	E	5	-3.787	2.263	25.068
152	01	G4S	E	5	-1.573	-1.795	24.781
153	02	G4S	E	5	-.895	-1.491	22.072
154	04	G4S	E	5	-4.433	.876	22.659
155	05	G4S	E	5	-2.635	.210	24.794
156	06	G4S	E	5	-3.446	2.240	26.454
157	S	G4S	E	5	-5.576	1.835	22.080
158	07	G4S	E	5	-6.876	1.339	22.486
159	08	G4S	E	5	-5.500	1.858	20.632
160	09	G4S	E	5	-5.389	3.177	22.595
161	C1	AGS	E	6	-.067	-2.766	28.643
162	C2	AGS	E	6	.584	-3.420	27.416
163	C3	AGS	E	6	-.406	-3.373	26.244
164	C4	AGS	E	6	-.772	-1.914	25.952
165	C5	AGS	E	6	-1.663	-1.680	27.169
166	C6	AGS	E	6	-2.493	-2.952	27.201
167	01	AGS	E	6	.933	-2.420	29.517
168	02	AGS	E	6	1.765	-2.722	27.007
169	03	AGS	E	6	-1.630	-3.983	26.661
170	05	AGS	E	6	-.787	-1.552	28.316
171	S	AGS	E	6	3.156	-3.378	27.448
172	07	AGS	E	6	4.222	-2.409	27.288
173	08	AGS	E	6	3.428	-4.536	26.619
174	09	AGS	E	6	3.148	-3.905	28.837

ANNEXE2: COORDONNEES DES 125 MAILLES PRISES EN COMPTE

DANS LE CALCUL CVOA

0.	0.	0.
1.	-1.	0.
1.	1.	0.
-1.	1.	0.
-1.	-1.	0.
0.	-1.	1.
1.	0.	1.
0.	1.	1.
-1.	0.	1.
0.	0.	-1.
1.	-1.	-1.
1.	1.	-1.
-1.	1.	-1.
-1.	-1.	-1.
2.	2.	1.
2.	2.	-1.
2.	1.	2.
2.	1.	0.
2.	1.	-2.
2.	0.	1.
2.	0.	-1.
2.	-1.	2.
2.	-1.	0.
2.	-1.	-2.
2.	-2.	1.
2.	-2.	-1.
1.	2.	2.
1.	2.	0.
1.	2.	-2.
1.	1.	-2.
1.	0.	-2.
1.	-1.	-2.
1.	-2.	-2.
1.	-2.	1.
0.	2.	1.
0.	2.	-1.
0.	1.	2.
0.	0.	2.
0.	-1.	2.
0.	-2.	2.
0.	-2.	-1.
0.	-2.	1.
-1.	2.	2.
-1.	2.	0.
-1.	2.	-2.
-1.	1.	-2.
-1.	0.	-2.
-1.	-1.	-2.
-1.	-2.	1.
-1.	-2.	-1.
-2.	2.	2.
-2.	2.	0.
-2.	2.	-2.
-2.	1.	1.
-2.	1.	-1.
-2.	0.	2.
-2.	0.	0.
-2.	0.	-2.
-2.	-1.	1.
-2.	-1.	-1.
-2.	-2.	2.

-2.	-2.	0.
-2.	-2.	-2.
0.	-1.	0.
1.	0.	0.
0.	1.	0.
-1.	0.	0.
0.	0.	1.
1.	-1.	1.
1.	1.	1.
-1.	1.	1.
-1.	-1.	1.
0.	-1.	-1.
1.	0.	-1.
0.	1.	-1.
-1.	0.	-1.
2.	2.	2.
2.	2.	0.
2.	2.	-2.
2.	1.	1.
2.	1.	-1.
2.	0.	2.
2.	0.	0.
2.	0.	-2.
2.	-1.	1.
2.	-1.	-1.
2.	-2.	2.
2.	-2.	0.
2.	-2.	-2.
1.	2.	1.
1.	2.	-1.
1.	1.	2.
1.	0.	2.
1.	-1.	2.
1.	-2.	2.
0.	2.	2.
1.	-2.	0.
0.	2.	0.
0.	2.	-2.
0.	1.	-2.
0.	0.	-2.
0.	-1.	-2.
0.	-2.	-2.
0.	-2.	0.
1.	-2.	-1.
-1.	2.	1.
-1.	2.	-1.
-1.	1.	2.
-1.	0.	2.
-1.	-1.	2.
-1.	-2.	2.
-1.	-2.	0.
-1.	-2.	-2.
-2.	2.	1.
-2.	2.	-1.
-2.	1.	2.
-2.	1.	0.
-2.	1.	-2.
-2.	0.	1.
-2.	0.	-1.
-2.	-1.	2.
-2.	-1.	0.
-2.	-1.	-2.
-2.	-2.	1.
-2.	-2.	-1.

ANNEXE 3 :

AJUSTEMENT DES CONSTANTES DE FORCE

La matrice distribution de l'énergie potentielle (PED) nous donne la contribution de chaque coordonnée de symétrie à un mode de vibration donné. Chaque élément (PED)_{ij} appartenant à la matrice PED s'écrit dans la base S

$$(PED)_{ijS} = \frac{(Ls)_{ji} (Ls)_{ki} (Fs)_{jk}}{\lambda_i} (2 - \delta_{jk})$$

δ_{jk} = symbole de Kronecker

$i, j, k = 1, 2, \dots, 3N-6$

Pour l'obtention d'un champ de forces convenable, on procède à un ajustement afin de rapprocher les fréquences calculées avec les fréquences observées. Il est alors nécessaire de connaître la contribution des constantes de force à chaque mode vibrationnel. Ces indications sont fournies par la matrice (PED)F. On introduit alors la matrice Jacobien dont les éléments (J)_{ij} sont les dérivées partielles de λ_i par rapport à la constante de force F_j .

$$(J)_{ij} = \frac{\delta \lambda_i}{\delta F_j} = \sum_{k=1}^{3N-6} (Ls)_{ki} (Ls)_{li} (Zr)_{kl} J (2 - \delta_{kl})$$

L'ajustement des constantes de force est basé sur la minimisation de

$$W = \sum_{i=1}^{3N-6} P_i (\nu_i \text{ obs} - \nu_i \text{ cal})^2$$

P_i étant le poids statistique attribué à la fréquence ν_i . La constante de force obtenue après la minimisation est :

$$F = F_0 + \Delta F$$

Pour de faibles variations, on suppose que :

$$\Delta\nu = J \Delta F$$

L'équation séculaire montre que nous pouvons faire varier la matrice des valeurs propres (ν) en faisant varier la matrice des constantes de force.

MOTS-CLES

CARRAGHENANES
STRUCTURE
D-GALACTOSE
MODELISATION
CHAMP DE FORCES
SPECTROMETRIE I.R.T.F.

RESUME

Dans ce travail, nous nous sommes proposés d'étudier d'un point de vue structural, des polysaccharides sulfatés provenant de diverses algues rouges; les carraghénanes.

La structure de quelques polygalactanes appartenant à la famille des carraghénanes, est abordée par une méthode empirique de modélisation moléculaire par minimisation d'énergie. Les conformations ainsi obtenues révèlent que la connaissance des structures primaires de ces composés reste une étape importante, car ces dernières sont plus ou moins liées à leurs propriétés physiques telle que la gélification.

Afin d'appréhender au mieux, l'analyse par spectrométrie I.R.T.F., nous avons effectué d'abord, un calcul des modes normaux de vibration des unités de base qui sont l'alpha et le bêta D-galactose. Le champ de forces considéré est du type UREY-BRADLEY-SHIMANOUCI modifié. L'obtention d'écart cohérents entre fréquences observées et calculées nous conduit à attribuer chaque bande du spectre, suivant la distribution de l'énergie potentielle finale. Il s'est avéré ensuite, après examen de fractions provenant d'une grande variété d'algues rouges, que la région située entre 800 et 900 cm^{-1} permet de distinguer chaque type de la sulfatation, donc chaque élément de la famille des carraghénanes.