

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministre de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**



**Mémoire de Master**

**Spécialité : Chimie  
Option : Chimie Pharmaceutique**

**Présenté par**

**M<sup>lle</sup> ADJIOUA Rezika**

**M<sup>lle</sup> AIT BRAHAM Milad**

*Intitulé*

**Synthèse chimique du lactulose par isomérisation du lactose.**

**Soutenu publiquement le 29 / 09 / 2016 devant le jury composé de :**

<b>M<sup>me</sup> DERMECHE Leila</b>	<b>M.C.B à l'UMMTO</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>me</sup> TOUZOUIRT Saida</b>	<b>M.A.A à l'UMMTO</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup> IGHIL AHRIZ Karima</b>	<b>M.A.A à l'UMMTO</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup> ABERBACHE Nefissa</b>	<b>Gérante EURL TSSPA</b>	<b>Promotrice</b>
<b>M<sup>me</sup> KICHOU Noura</b>	<b>M.C.B à l'UMMTO</b>	<b>Co-promotrice</b>

**Promotion 2015/2016**

## Résumé

Dans notre étude, nous nous sommes intéressées à la synthèse du lactulose qui est un disaccharide utilisé dans l'industrie pharmaceutique comme laxatif. Ce dernier, est synthétisé chimiquement à partir du lactose monohydrate par isomérisation alcaline. Une étude préliminaire a été réalisée avec quatre différents catalyseurs, notamment ; l'hydroxyde de sodium et l'hydroxyde de calcium appartenant à la classe des catalyseurs alcalins d'une part ; et la triéthylamine couplée à l'acide borique et les aluminates de sodium comme agent complexant d'autre part. Le dosage du lactulose a été réalisé par spectrophotométrie UV/Vis. Des rendements intéressants ont été obtenus avec la triéthylamine (63,07%) et les aluminates de sodium (27,42%). Cependant, ces catalyseurs présentent un grand problème de purification d'où le choix d'étudier le procédé d'isomérisation par NaOH et Ca(OH)<sub>2</sub> dont les techniques sont simples, faciles, non couteuses et rapides. Les résultats obtenus s'avèrent intéressants, pour la synthèse avec le NaOH (27% en lactose et 1,37% de NaOH comme catalyseur). De même, nous avons observé une augmentation du rendement avec l'augmentation de la quantité du lactose initiale.

**Mots clés :** lactose, lactulose, catalyseur, isomérisation, spectroscopie UV/Vis.

## Abstract

Our work aimed to study the lactulose a disaccharide commonly used in the pharmaceutical industry as a laxative. This latter is chemically synthesized from lactose monohydrate by alkaline isomerization. A preliminary study was performed with four different catalysts namely: sodium hydroxide and calcium hydroxide that belong to the class of alkali metal catalysts and triethylamine combined with boric acid and sodium aluminate as the other complexing agent. The dosage of lactulose was performed by UV/Vis spectroscopy. Good yields were obtained with triethylamine (63.07%) and sodium aluminate (27.42%). However, these catalysts have a large purification problem, hence the choice of studying the isomerization process using NaOH and Ca(OH)<sub>2</sub> where are simple, easy, fast, low cost technique. The obtained results were attractive for the synthesis using NaOH (27% lactose and 1.375% NaOH as catalyst). Also, an increase in the yield with the increase in the lactose amount was observed.

**Keywords:** lactose, lactulose, catalyst, isomerization, UV/Vis.

## ***Dédicaces***

*A mes parents*

*Pour leur soutien infailible, leur patience exemplaire et pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis. J'espère qu'ils seront toujours fiers de moi.*

*Que dieu me les protèges et me les gardes*

*A ma chère sœur Lynda et mes frères Hassan et Massi.*

*A tous mes oncles et tantes et à chaque cousins et cousine pour le soutien indéfectible et leurs encouragements, je les témoigne mon grand amour*

*A la mémoire de dada Arezki, nana Drifa, et vava Mohand que dieu les accueille dans son vaste paradis.*

*A M<sup>elle</sup> IDRIS Imene pour son aide et tous les conseils constructifs, je lui souhaite un plein succès dans sa vie personnelle et professionnelle*

*A toutes mes amies ; Milad, Amel, Lynda, Anissa, Lamia, Yasmina, Sarah, Samia, Katia, pour leur soutien leur patience et leur meilleure amitié et leurs fraternité infinie*

*A ma chère sœur et meilleure amie Tinhinane pour son amitié et tous les beaux souvenirs que nous avons passé ensemble.*

*A tous ce qui m'a enseigné tout au long de ma vie scolaire*

*A tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail et à tous ce que j'aime et tous ce qui m'aime*

*En témoignage de ma grande reconnaissance et mon profond respect*

*Rezika*

## Dédicaces

A mes très chers parents Rachid et Tassadit.

Merci pour tous vos sacrifices votre soutien et vos prières vous êtes la  
lumière qui éclaire ma vie.

Que dieu vous garde et vous protège pour moi .

A ma grand-mère maternelle Fatima.

Mon ange gardien que dieu te guérisse.

A ma sœur Zina, mes frères Farid, Rabah et Brahim.

Ma planche de salut vous étiez toujours là pour moi inconditionnellement, vous  
avez donné un sens à ma vie.

A ma tante maternelle Mariama.

Tu as toujours été l'école qui m'a appris, tes encouragements qui me poussent en  
avant.

A mes meilleurs amis au monde Maya, Karima, Rezika, Amel, Nawel.

Je vous remercie pour votre patience et amour.

A toute la promotion chimie pharmaceutique 2015/2016.

J'ai vécu avec vous les plus beaux moments de ma vie, merci.

Milad

## **Remerciements**

*Toute la gratitude et le merci à Dieu qui nous a aidés à réaliser ce travail.*

*Au terme de ce mémoire, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice madame ABERBACHE Nefissa de nous avoir encadré, orienté, aidé et conseillé tout au long de ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier vivement notre Co-promotrice madame KICHOU Noura pour son précieux soutien, pour ces conseils et surtout pour sa disponibilité et ces encouragements qui ont été la source de notre motivation.*

*Veillez trouver ici mesdames le témoignage de notre profonde reconnaissance.*

*Nos sincères remerciements vont à Madame DERMECHE Leila d'avoir présidé le jury de thèse*

*Nos remerciements vont également à Madame TOUZOUIRT Saida d'avoir accepté d'examiner ce travail*

*Nous remercions également Madame IGHIL AHRIZ Karima d'avoir accepté d'évaluer ce modeste travail*

*Nous tenons à remercier chaleureusement Madame BEGGAZ Dehbia ingénieur du laboratoire chimie pharmaceutique d'avoir mis à notre disposition tout les moyens nécessaires, et surtout pour son soutien moral.*

*Merci à toutes les personnes qui ont contribué de prêt et de loin à la réalisation de ce travail*

# SOMMAIRE

**Dédicaces**

**Remerciements**

**Liste des abréviations**

**Glossaire**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**INTRODUCTION GENERALE.....1**

## **PARTIE THEORIQUE**

### **Chapitre I : Généralités sur le lactulose**

I.1. Définitions .....	3
I.2. Données pharmacocinétiques .....	4
I.3. Données toxicologiques.....	4
I.4. Propriétés du lactulose .....	4
I.5. Formes cristallines du lactulose .....	5
I.6. Mécanisme d'action du lactulose.....	6
I.7. Application du lactulose.....	6
I.7.1. Applications dans l'industrie pharmaceutique.....	6
I.7.2. Applications dans l'industrie alimentaire.....	7
I.8. Caractérisation du lactulose .....	7
I.9. Méthode du dosage du lactulose par UV/Vis.....	8

## **Chapitre II : Production du lactulose**

Introduction.....	10
II.1. Mécanisme de base de la réaction d'isomérisation.....	10
II.2. Synthèse chimique du lactulose.....	11
II.2.1 Isomérisation alcaline.....	12
II.2.2 Isomérisation par les sépiolites.....	12
II.2.3 Isomérisation du lactulose par les sulfites.....	13
II.2.4 Isomérisation du lactulose en utilisant les agents complexant.....	14
II.2.5 Isomérisation du lactulose par une résine d'échange ionique.....	14
II.2.6 Isomérisation du lactulose par electroactivation.....	15
II.3 Synthèse enzymatique.....	15

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE III: Matériels, matières et méthodes**

Introduction.....	19
III.1 Matériel, réactifs et matières premières utilisés.....	19
III.1.1 Produits et matière première .....	19
III.1.2 Réactifs .....	20
III.1.3 Matériels .....	20
III.1.3.1 Matériels de préparation.....	20
III.1.3.2 Matériels de caractérisation .....	20
III.1.4 Verrerie .....	21
III.2. Méthodes.....	21
III.2.1 Présentation des produits à base du lactulose.....	21

III.2.2 Démarche de synthèse du lactulose.....	21
III.2.3 Essais préliminaire .....	22
III.2.3.1 Dosage du lactulose.....	22
III.2.3.2 Principe du dosage du lactulose par la spectrophotométrie UV/Vis.....	23
III.2.3.2.1 Préparations des solutions .....	23
III.2.3.2.2 Préparations de la solution standards.....	23
III.3 Calcul des concentrations du lactulose .....	24
III.4 Essais préliminaires de synthèse du lactulose .....	25
III.4.1 Isomérisation du lactose en lactulose par l'hydroxyde de calcium $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .....	25
III.4.2 Isomérisation du lactose en lactulose par l'hydroxyde de sodium $\text{NaOH}$ .....	26
III.4.3 Isomérisation du lactose en lactulose par l'acide borique la triéthylamine .....	26
III.4.4 Isomérisation du lactose en lactulose par les aluminates de sodium $\text{NaAlO}_2$ .....	27
III .5 Tests de caractérisation effectués sur les essais préliminaires.....	27
III.5.1 Aspect .....	28
III.5.2 Densité .....	28
III.5.3 pH .....	28
III.5.4 Test d'identification du lactulose .....	28
III.5.5 Méthode de dosage du lactulose.....	28
III.6 Synthèse du lactulose par isomérisation du lactose en utilisant le $\text{Na}(\text{OH})$ : .....	30
III.7 Synthèse du lactulose par isomérisation du lactose en utilisant par le $\text{Ca}(\text{OH})_2$ : .....	32

## CHAPITRE IV: Résultats et discussion

IV.1	Verification de la fiabilité de la méthode du dosage .....	34
IV.2	Résultats de caractérisation du lactulose dans les essais préliminaires.....	35
IV.2.1	Résultats de l'aspect .....	35
IV.2.2	Test d'identification des essais préliminaires.....	37
IV.2.3	Mesur du pH des essais préliminaires.....	37
IV.2.4	Densité des essais préliminaires .....	38
IV.2.5	Dosage par la spectroscopie UV/Vis .....	38
IV.3	Synthèse du lactulose en utilisant le catalyseur NaOH .....	39
IV.3.1	Aspect des solutions du lactulose préparées par la méthode de NaOH.....	39
IV.3.2	Identification des solutions du lactulose .....	40
IV.3.3	pH des solutions du lactulose .....	40
IV.3.4	Densités des solutions du lactulose préparés par la méthode de NaOH.....	41
IV.3.5	Résultats de dosage des solutions du lactulose .....	41
IV.3.5.1	Calcul des concentrations en lactulose.....	42
IV.3.5.2	Rendement de la synthèse du lactulose .....	44
IV.4	Les résultats et discussions relatives aux essais de synthèse du lactulose par la méthode chimique au $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .....	45
IV.4.1	Aspect des solutions du lactulose .....	45
IV.4.2	Test d'identification des solutions du lactulose .....	45
IV.4.3	pH des solutions du lactulose .....	46
IV.4.4	Mesure de densité des solutions du lactulose .....	47
IV.4.5	Dosage des solutions du lactulose préparées par la méthode de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .....	47

IV.4.5.1 Calcul de concentration en lactulose des solutions préparées par la  
méthode de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  .....48

IV.4.5.2 Rendement des solutions du lactulose.....49

**CONCLUSION GENERALE.....51**

**Références bibliographiques.....53**

**Annexe**

## LISTE DES ABREVIATIONS

$\lambda$  : longueur d'onde

°C: degré Celsius

**D**: dextrogyre

**EH** : encéphalopathie hépatique

**Fig**: figure

**HPLC** : chromatographie liquide haute performance

**L**: lévogyre

**mA** : milliampère

**min** : minute

**ml** : millilitre

**mm Hg** : millimètre de mercure

**Mol** : mole

**MP** : matière première

**nm** : nanomètre

**N°** : numéro

**T°**: température

**pH**: potentiel en hydrogène

**PF** : produit fini

**UV** : ultraviolet

**V** : visible

## GLOSSAIRE

**Pré-biotiques** : sont généralement des oligosaccharides ou des polysaccharides de courte chaîne constitués approximativement de deux à vingt unités de sucre. Ils échappent à la digestion dans l'intestin grêle et sont des substrats potentiels pour l'hydrolyse et la fermentation par les bactéries intestinales. Les pré-biotiques doivent agir comme substrat sélectif d'une ou d'un nombre restreint de souches bactériennes bénéfiques qui résident dans le côlon et en stimuler la croissance. Les bifidobactéries et les lactobacilles sont les microorganismes du microbiote intestinal (flore intestinale) les plus fréquemment ciblés.

**Bifidobactérie** : est un genre d'actinobactéries bifidobactériales anaérobies à gram positif. Ces bactéries sont constituées de bacilles de forme irrégulière, anaérobies stricts, présentant un test négatif pour la catalase, immobiles. Les bifidobactéries appartiennent à la famille des bactéries lactiques. Elles participent à la fermentation du lait dans le cadre de la fabrication de fromage et de préparation similaires aux yaourts. De plus, elles produisent de grandes quantités d'acide lactique, ce qui entraîne une baisse du pH qui leur est favorable et qui inhiberait la croissance d'autres germes.

**Lactobacilles** : sont des bactéries utilisées lors de la fabrication des yaourts et de certains fromages. Elles transforment le lactose en acide lactique ce qui permet, entre autre, de faire cailler le lait et donc de fabriquer ces fromages.

Ce sont des bactéries présentes en grande quantité dans l'intestin qui ont le même rôle que les bifidus.

**Laxatifs osmotique** : sont des produits qui vont augmenter l'hydratation et donc le volume qu'occupent les aliments ingérés. Cette augmentation se fait par un phénomène d'osmose, c.-à-d. en attirant les liquides (l'eau) à l'intérieur du tube digestif et plus précisément le colon. Les laxatifs osmotiques sont donc indiqués pour lutter contre la constipation, ils sont particulièrement efficaces lorsqu'ils sont pris le matin et qu'ils sont associés à une activité physique et à une alimentation riche en fibres

**Lactose** : sucre produit d'une manière naturelle par l'organisme des mammifères et qui se trouve dans leur lait. C'est un diholoside, c'est-à-dire un sucre complexe composé de l'association de deux sucres simples, le glucose et le galactose, reliés par une liaison

osidique particulière, (d'où le nom officiel de  $\beta$ -D-galactopyrannosyl(1→4)D-glucopyrannose).

**Encéphalopathie hépatique** : est un syndrome neuropsychiatrique complexe caractérisé par des modifications de l'état de conscience et du comportement, des changements de personnalité, des signes neurologiques et des changements à l'électroencéphalogramme (EEG). Il peut être aigu et réversible (insuffisance hépatique aiguë, facteurs précipitant en situation de dommage hépatique chronique) ou chronique et irréversible.

**Isomérisation** : En chimie organique, on parle d'isomérisation lorsque deux molécules possèdent la même formule brute mais ont des formules semi développées différentes. Ces molécules appelées isomères, ont des propriétés physiques, chimiques, et biologiques différentes.

**Écotoxicité** : L'écotoxicité désigne l'effet néfaste d'une substance chimique sur les organismes vivants et leur organisation fonctionnelle (écosystème). C'est une discipline scientifique récente située à l'interface entre l'écologie et la toxicologie.

**Eco-responsable** : Qui s'efforce de respecter la nature et l'environnement au maximum.

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure chimique du lactulose.....	3
Figure 2 : Conversion du lactose en lactulose par le réarrangement de Lobry de Bruyn-van Ekenstein .....	10
Figure 3 : Protocole expérimentale pour le dosage du lactulose standards.....	23
Figure 4 : Dilutions effectuées pour le dosage des essais préliminaires.....	28
Figure 5: Différentes dilutions pour le dosage des essais de synthèse du lactulose par la méthode d'isomérisation par le NaOH .....	31
Figure 6 : Schéma des différentes dilutions pour le dosage des essais de synthèse du lactulose par la méthode d'isomérisation par le Ca(OH) <sub>2</sub> .....	33
Figure 7 : courbe linéaire d'étalonnage du standard du lactulose .....	34
Figure 8 : Aspect du sirop du commerce du lactulose EZILAX® .....	35
Figure 9 : Aspect de la solution de lactulose synthétisé par le NaOH.....	35
Figure 10 : Aspect de la solution de lactulose synthétisé par la triéthylamine et l'acide borique.....	36
Figure 11 : Aspect de la solution de lactulose synthétise par les aluminates de sodium....	36
Figure 12 : Aspect de la solution de lactulose synthétisé par l'hydroxyde de calcium.....	36
Figure 13 : Test d'identification des essais préliminaires de synthèse de lactulose.....	37
Figure 14 : Rendement (en %)de synthèse de lactulose par le (1) NaOH ; (2) Ca(OH) <sub>2</sub> ; (3) la triéthylamine et (4) les aluminates de sodium (respectivement).....	39
Figure 15 : Résultat de test d'identification de lactulose dans les essais de synthèse avec le NaOH.....	40
Figure 16: Concentrations des essais en lactulose (µg/ml) en fonction des concentrations initiales en lactose (%) obtenues par la méthode de NaOH.....	43
Figure 17 : Rendement (en %)de lactulose synthétisé par la méthode d'hydroxyde de sodium.....	44

Figure 18 : Aspect des essais réalisés avec l'hydroxyde de calcium.....	45
Figure 19 : Test d'identification du lactulose à partir des solutions préparées par l'hydroxyde de calcium.....	46
Figure 20 : Concentrations des essais en lactulose ( $\mu\text{g/ml}$ ) en fonction des concentrations initiales en lactose (%) obtenues par la méthode de $\text{Ca(OH)}_2$ .....	49
Figure 21 : rendements en lactulose des solutions obtenues par l'isomérisation de lactose par l'hydroxyde de calcium.....	50

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Les propriétés physico-chimiques du lactulose.....	3
Tableau 2. Propriétés du lactulose solide (MP) et liquide (PF).....	5
Tableau 3. Propriétés physico-chimiques des deux formes cristallines du lactulose.....	6
Tableau 4 : Différentes méthodes détermination du lactulose.....	7
Tableau 5 : Comparaison entre le lactose et le lactulose.....	11
Tableau 6 : Tableau récapitulatif des principales méthodes d'isomérisation de lactose.....	16
Tableau 7 : Différents pourcentages préparés avec le Na(OH) :.....	29
Tableau 8: Différents pourcentages préparés avec le Ca(OH) <sub>2</sub> .....	32
Tableau 9 : Aspect des solutions des essais préliminaires de synthèse du lactulose.....	35
Tableau 10 : pH des solutions des essais préliminaires de synthèse de lactulose.....	37
Tableau 11: valeurs de densité pour les essais préliminaires du lactulose.....	38
Tableau 12: valeurs des absorbances et concentrations en lactulose à partir des essais préliminaires.....	38
Tableau 13: pH des essais de synthèse du lactulose réalisés avec le NaOH après neutralisation.....	40
Tableau 14: les valeurs de densités pour les essais réalisé avec l'hydroxyde de sodium.....	41
Tableau 15 : valeurs des absorbances des solutions du lactulose préparées par la méthode de NaOH.....	41
Tableau 16: Concentrations de la solution du lactulose préparées par la méthode de NaOH.....	42
Tableau 17 : Valeurs de pH des essais préparés par l'hydroxyde calcium.....	46
Tableau 18 : densité des solutions issues de la synthèse de lactulose par Ca(OH) <sub>2</sub> .....	47
Tableau 19 : Absorbances des solutions de lactulose préparées avec la méthode de Ca(OH) <sub>2</sub> .....	47
Tableau 20 : Concentrations des solutions de lactulose préparées par la méthode de Ca(OH) <sub>2</sub> .....	48

---

# **INTRODUCTION GENERALE**

---

## ***INTRODUCTION GENERALE***

---

Un pourcentage élevé de la population mondiale souffre des maladies gastro-intestinales de plusieurs types. Beaucoup d'entre elles sont causées par des bactéries pathogènes qui envahissent l'intestin humain [1].

Le phénomène de la constipation est très courant et affecte un nombre considérable d'individus sans distinction absolue de sexe ni d'âge. Ses causes et ses conséquences sont d'importances variables.

Les substances laxatives sont nombreuses et pour certaines d'entre elles connues depuis fort longtemps. Elles peuvent être d'origine végétale, minérale ou de synthèse. Leur utilisation a pour conséquences des effets désagréables bien connus qu'il est utile d'éliminer. A cet effet, l'utilisation relativement récente comme substances laxatives de disaccharides hydrosolubles non assimilables, comme le lactulose, a amené un progrès indiscutable.

Préparé en 1930, le lactulose (4-O-β-D-galactopyranosyl-D-fructofuranose) est un diholoside synthétique, a été proposé vers 1960, sous forme de soluté, pour le traitement de la constipation. De nombreuses études toxicologiques, pharmacologiques et cliniques ont garanti son innocuité et son efficacité. Le produit sous forme de sirop a été commercialisé dans divers pays (Duphalac® en France 1972).

Le lactulose est fabriqué industriellement par isomérisation du lactose sous l'influence de divers agents alcalins. Quel que soit cet agent, le lactulose obtenu est accompagné de sucres apparentés dont les plus importants sont le galactose et le lactose. Le produit obtenu se présente sous forme de solution concentrée directement utilisable, avec ou sans adjuvants, pour la préparation de sirops.

La production annuelle du lactulose augmente chaque année pour satisfaire sa demande croissante. En 1994/1995 la production de lactulose estimée était de 20,000 tonnes, en 2004 elle a augmenté jusqu'à 40,000 tonnes et en 2009 les estimations étaient de 45,000 à 50,000 tonnes [2].

La synthèse des matières premières est indispensable pour avoir une certaine indépendance de l'importation de l'étranger. A noter que même si l'Algérie a atteint une satisfaction du marché national en produits finis par la production locale en produits finis à 60 % en volume, mais elle est dépendante à 100% de l'importation des intrants à ces produits (matières premières et articles de conditionnement primaires). A cet effet, l'Algérie est sujette à des risques d'approvisionnement (disponibilité et fluctuation des

prix) liés aux crises économiques dans le monde, aux conflits territoriaux d'ordre politique ou militaire, au monopole des lobbys ...

Le but de ce travail est la synthèse chimique du lactulose par isomérisation du lactose monohydrate, en présence de différents catalyseurs, et ensuite sélectionner le catalyseur le plus disponible et ayant une bonne innocuité et qui donne les meilleurs résultats en terme de rendement et d'exploiter les résultats de dosage par spectrophotométrie UV/Vis.

A cet effet, le présent mémoire s'articule autour de deux parties :

Une partie bibliographique subdivisée en deux chapitres ; le premier regroupe des généralités sur le lactulose et ses principales caractéristiques, et le deuxième aborde les méthodes classiques et novatrices de synthèse.

Dans la partie expérimentale, nous parlerons des différents matériels et méthodes utilisés pour la synthèse du sirop de lactulose et l'interprétation des résultats obtenus.

Nous dégageons, en conclusion, les résultats les plus marquants de cette étude et les perspectives à développer dans le futur.

# **Chapitre I**

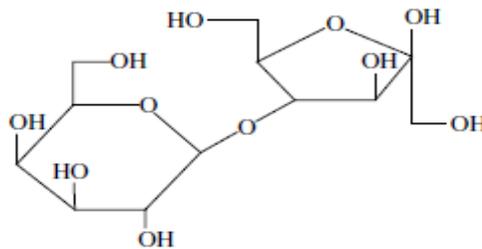
Généralités sur le lactulose

### I.1. Définitions

Lactulose (4-O-β-D-galactopyranosyl-D-fructofuranose) est un diholoside synthétique composé de deux molécule de sucre ; le galactose et le fructose lié par une liaison β-1,4-glycosidique [3]. Il est plus sucré et plus soluble que le lactose [4]. Le lactulose est un prébiotique typique [5], et possède un grand intérêt médical dans le traitement de l'encéphalopathie hépatique et la constipation chronique [3].

Le lactulose est aussi utilisé dans le lait commercial des nourrissons et d'autre variété du lait. On obtient dans ces conditions un mélange de saveur et de texture améliorée, qui se conserve mieux, ne s'évente pas et ne présente pas le goût crayeux qu'on reproche parfois à ces produits, enfin la saveur des laits ainsi modifiés serait supérieure à celle des laits ne contenant pas du lactulose [6].

La structure chimique du lactulose est représentée dans la figure N°1 ci-dessous :



**Figure 1** : Structure chimique du lactulose [7].

Les propriétés physico-chimiques du lactulose sont représentées dans le tableau N°1 Ci-dessous :

**Tableau 1** : Les propriétés physico-chimiques du lactulose [8]

Lactulose en poudre	Propriétés physiques, chimiques
Nomenclature	4-O-β-D-Galactopyranosyl-β-D- fructofuranose Ou (2S, 3R, 4S,5R,6R)-2-((2R,3S,4S,5R)-4,5-dihydroxy-2,5-bis(hydroxyméthyl)tetrahydrofuran-3- yloxy)-6-(hydroxyméthyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triol
Formule générale	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>

Masse molaire (g/mol)	342,3
Point de fusion	169°C
Point d'ébullition	680,5°C à 760 mm Hg
Point éclair	364,4°C
Solubilité	Soluble dans l'eau, assez soluble dans le méthanol et insoluble dans l'éther et le toluène
Apparence	Poudre (MP) : Poudre blanche Sirop(PF) : Couleur brune transparente

## I.2. Données pharmacocinétiques

Les données pharmacocinétiques du lactulose sont les suivantes :

- Biodisponibilité : mal absorbé (action locale).
- Métabolisme : 100% dans le colon par les bactéries entériques [9].
- Début d'action : 8 à 48 h.
- Demi-vie biologique : 1,7 à 2 h.
- Excrétion : fécale [10].

## I.3. Données toxicologiques

Des tests de toxicités et d'écotoxicités ont révélé que le concentré du lactulose ne présente aucun danger dans des conditions normales d'utilisation et de manipulation, que ça soit pour l'homme ou l'environnement, mais aussi pour le milieu aquatique [11].

## I.4. Propriétés du lactulose

Le lactulose existe sous la forme solide (poudre) comme matière première et sous forme liquide comme produit fini, Lactulose MP et PF :

Les applications industrielles en pharmacie sont :

- Industrie de la matière première : émanant de la chimie fine (méthodes chimiques) ou biologique (méthodes enzymatiques) qui mets sur le marché le lactulose MP en poudre cristalline blanche, ou liquide plus ou moins dense.

- Industrie de Produit fini: lactulose en sirop dans des flacons en verre ou en plastiques multi doses, munies de cuillères de mesures en plastique graduées (2,5 ml, 5 ml) ou en sirop dans des sachets uni doses de 5ml.

Les principales propriétés des deux formes sont résumées dans le tableau N°2 ci-dessous :

**Tableau 2 :** Propriétés du lactulose solide (MP) et liquide (PF) [12]

	Lactulose liquide	lactulose en poudre
Nom	4-O-β-D-Galactopyranosyl-β-D-fructofuranose	
Formule générale	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	
Masse molaire (g/mol)	95,0 - 105,0	95,0 - 102,0
Aspect	liquide limpide, visqueux incolore à jaune brun-pâle	poudre cristalline blanche
solubilité	Miscible à l'eau	soluble dans l'eau

### I.5. Les formes cristallines du lactulose

Bien que le lactulose soit distribué principalement sous forme de sirop, le lactulose pur prend la forme de cristaux blancs anhydride ou tri hydrates [13]. Presque tous les cristaux du lactulose commercialement disponibles sont de forme d'anhydre [14]. Les principales propriétés physico-chimiques des deux formes cristallines sont données dans le tableau N°3 ci-dessous :

**Tableau 3.** Les propriétés physico-chimiques des deux formes cristallines du lactulose [5].

Paramètres	Trihydrate	Anhydre
Formule	$C_{12}H_{22}O_{11} \cdot 3H_2O$	$C_{12}H_{22}O_{11}$
Poids moléculaire	396	342
Lactulose	86,4%	100%
Eau cristallisation	13,6%	0%
Température de fusion	58-60°C	169°C

## I.6. Mécanisme d'action du lactulose

Le lien  $\beta$ -glucosidique du lactulose ne peut pas être hydrolysé par les enzymes digestives des mammifères [15], et donc le lactulose ingéré passe à l'estomac et l'intestin grêle sans être dégradé. Ce sucre est principalement utilisé par des bactéries bénéfiques dans le tracte gastro-intestinal, comme les bifido-bactéries et les lactobacilles, son utilisation comme source d'énergie par ces bactéries comporte la production d'acide lactique, acétique et formique et aussi de dioxyde de carbone. Ces composés reconduisent les fluides à l'intérieur de l'intestin et permettent de ramollir les excréments [16].

Pour le traitement de l'encéphalopathie hépatique, le lactulose permet de « dégager » l'ammonium du corps [17]. Le lactulose est métabolisé dans le colon par les bactéries qui libéreront des acides gras, ce qui comporte l'acidification du colon [18]. Ceci favorise la formation de  $NH_4^+$  non absorbable à partir du  $NH_3$ . Le  $NH_3$  restera donc piégé (sous forme de  $NH_4^+$  dans le colon) et il y aura réduction de la concentration de  $NH_3$  dans le plasma sanguin.

## I.7. Application du lactulose

### I.7.1 Applications dans l'industrie pharmaceutique

Dans le domaine pharmaceutique, le lactulose est principalement utilisé pour le traitement de la constipation, de l'encéphalopathie hépatique, des complications de la maladie du foie et du syndrome du transport de *salmonella* ainsi que pour la prévention des tumeurs et pour stimuler le système immunologique. Egalement, le lactulose a des

effets anti-endotoxines ; il permet de maintenir des niveaux optimaux de la glycémie et du taux d'insuline dans le sang [16].

### I.7.2 Applications dans l'industrie alimentaire

Les applications du lactulose dans l'industrie alimentaire sont :

- Il a été ajouté aux préparations pour nourrissons en tant que facteur « bifidus ».
- Le lactulose peut être utilisé comme édulcorants pour les diabétiques.
- Sa haute thermo stabilité dans des conditions acides est considérée comme une des plus avantageuses caractéristiques et lui permet d'être utilisé dans les aliments acides tels que les jus de fruits.
- Il fournit des modifications utiles pour aromatiser des aliments et modifie les caractéristiques physico-chimiques. Ce sucre possède des propriétés qui sont bénéfiques pour la santé des consommateurs, notamment la capacité à améliorer la santé intestinale.
- Le lactulose a aussi des propriétés avec des effets souhaitables dans les produits alimentaires tels que les propriétés améliorant la saveur [11, 19,14].
- Le lactulose a été utilisé pour augmenter la survie des souches pro-biotiques dans le yaourt [20].

### I.8. Caractérisation du lactulose

Le tableau suivant illustre les différentes méthodes utilisées pour la détermination du lactulose.

**Tableau 4 :** différentes méthodes caractérisation du lactulose

Méthodes	références
Electrophorèse capillaire (EC)	[21, 22]
Méthode d'analyse du flux	[23, 24]
Chromatographie en phase gazeuse(CG)	[25-30]
Chromatographie gazeuse –spectroscopie de masse (CG-SM)	[31]

Chromatographie liquide a haute performance (HPLC)	[32 - 38]
Chromatographie liquide –spectroscopie de masse (CL-SM)	[39-41]
Résonance magnétique nucléaire (RMN)	[42, 43]
Méthodes spectroscopie (UV/V)	[44 - 49]
Chromatographie sur couche mince (CCM)	[50,51]

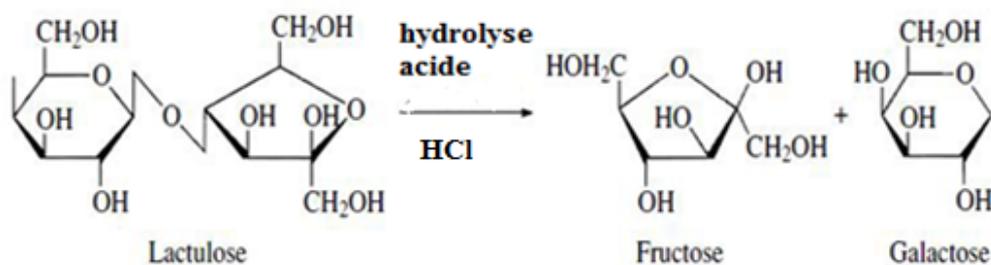
### I.9. Dosage du lactulose par spectrophotométrie UV/Vis

La méthode étudiée est basée sur le fait que les autres oses présents dans le lactulose liquide (glucose, galactose, tagatose) sont des aldohexoses, tandis que le fructose, le produit de l'hydrolyse du lactulose, est une cétohexose, et cette différence dans les groupements fonctionnels a été exploitée pour la détermination du lactulose dans les produits pharmaceutiques.

Le procédé est basé sur l'hydrolyse du lactulose dans des conditions acides, le produit de l'hydrolyse réagit avec le résorcinol ce qui donne des pics d'absorption dans l'UV visible.

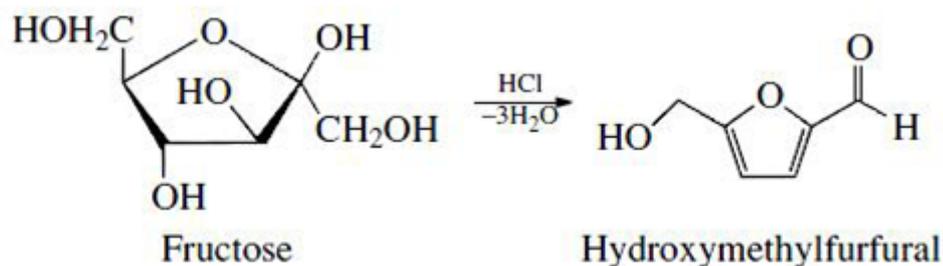
La méthode proposée est ponctuée en 3 étapes :

#### Étape 1



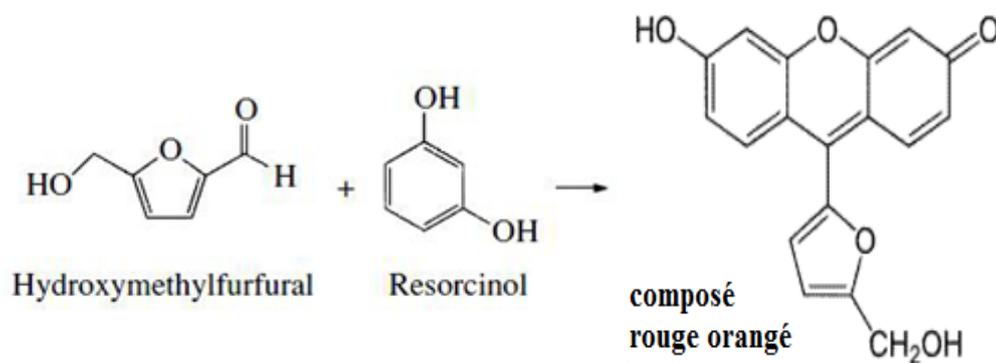
Dans la première étape, l'acide chlorhydrique hydrolyse le lactulose en fructose et Galactose ;

### Étape 2



Dans la deuxième étape, le lactulose se dégrade en hydroxyméthylfurfural, parce que durant la réaction de déshydratation des hexoses par l'acide concentré, les cétooses (fructose) sont transformées en hydroxyméthylfurfural plus rapidement que les aldoses (glucose, galactose, tagatose).

### Étape 3



Dans la dernière étape, l'hydroxyméthylfurfural réagit avec le résorcinol donnant un composé de couleur rouge-orange [6].

# **Chapitre II**

Production du lactulose

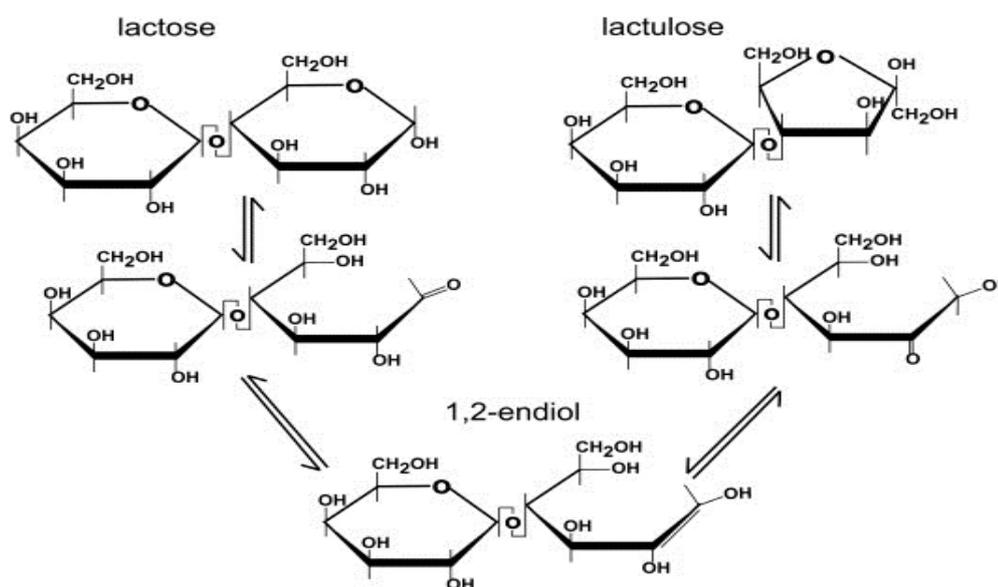
## Introduction

Depuis la première synthèse du lactulose, les recherches se sont multipliées pour comprendre les mécanismes de la réaction, optimiser les conditions opératoires et améliorer le rendement de la réaction et la qualité (pureté), Cependant, il est nécessaire de contrôler les conditions opératoires; notamment la concentration du substrat, le pH du milieu réactionnaire, la température et le temps de la réaction et ce pour avoir un taux optimale de conversion de l'aldose à une cétose [52].

### II.1. Mécanisme de base de la réaction d'isomérisation

Le processus est principalement basé sur l'énolisation des composés carbonylés connus en milieu basique comme la transformation de Lobry de Bruyn-Alberda Van Ekenstein. Il s'agit de la migration d'un ion d'hydrogène accompagnée du changement d'une double liaison (**Figure 2**). La réaction atteint une phase quasi stationnaire (réaction intermédiaire, forme enediol) en finissant sous forme d'une cétose. Les réactions sont possibles par la présence d'un catalyseur chimique ou enzymatique [53].

Le lactulose est obtenu uniquement par l'isomérisation du lactose selon le mécanisme de **Lobry de Bruyn-van Ekenstein** comme il est expliqué dans la figure suivante :



**Figure 1** : Conversion du lactose en lactulose par le réarrangement de Lobry de Bruyn-van Ekenstein [54]

Les méthodes employées pour la synthèse de lactulose peuvent être divisées en deux principales voies chimiques et enzymatiques

## II.2. Synthèse chimique du lactulose

La technologie de production du lactulose est principalement basée sur la réaction d'isomérisation du lactose dans les milieux alcalins. Le processus comprend la séparation coûteuse et étapes de purification pour éliminer les sous-produits. Un grand nombre de catalyseur chimiques tels que l'hydroxyde de calcium, l'hydroxyde de sodium, des amines tertiaires, de l'aluminate, borate, *etc.* a été utilisé pour l'isomérisation du lactose en lactulose. Le catalyseur utilisé pour la synthèse du lactulose doit avoir des caractéristiques attrayantes comme niveau maximum d'isomérisation avec une faible quantité de sous-produits, être sans danger pour l'environnement et non toxique, le coût du catalyseur doit être aussi bas possible, mais disponible, doit être facile à enlever à partir du milieu [1].

Les catalyseurs pour la synthèse chimique de lactulose peuvent être divisés en trois groupes principaux, les catalyseurs d'alcalinisation, des agents complexant et le processus employant des catalyseurs ionique [52].

Le lactose et le lactulose sont deux isomères (isomère de fonction), le tableau N°5 suivant regroupe leurs principales propriétés.

**Tableau 1 :** Comparaison entre le lactose et le lactulose [55]

	<b>Lactulose</b>	<b>Lactose</b>
<b>Nom UICPA</b>	4-O-β-D-Galactopyranosyl-D-fructofuranose	β-D-galactopyranosyl (1→4) β-D-glucopyranose
<b>Synonymes</b>	isolactose D-lactulose galactofructose	Aletobiose Galactinum Lactobiose Tabletose Gal β (1→4) Glc
<b>Apparence</b>	Solide blanc au goût sucré	Poudre blanche cristalline
<b>Formule brute</b>	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>
<b>Masse molaire</b>	342,2965 ± 0,0144 g/mol	342,2965 ± 0,0144 g/mol

<b>T° fusion</b>	163 à 165 °C	223 °C
<b>Solubilité</b>	Soluble dans l'eau	Assez soluble dans l'eau

### II.2.1. Isomérisation alcaline

Il est important de mentionner que la transformation du lactose en lactulose implique la participation d'un accepteur de protons et que celui-ci est essentiel à la réaction. Les méthodes conventionnelles usent des catalyseurs forts comme le  $\text{Ca(OH)}_2$ , NaOH, KOH [1].

Une méthode utilisant le NaOH comme catalyseur a été décrite ; 10 % de lactose était mélangé avec 0.5% d'hydroxyde de sodium pour avoir un pH de 11, à une température égale à 70°C pendant 20 min. Le maximum de conversion atteint est de 20% [03].

Une autre méthode a été développée, pour laquelle, une solution de lactose à 15-20% était mélangée avec 0,35-0,45% d'hydroxyde de calcium pour atteindre un pH de 11. Le mélange était alors chauffé à 68-72°C pendant 15-20 minutes. La solution finale obtenue avait un pH entre 8,8 et 9. Par la suite, la solution était neutralisée avec de l'acide citrique (jusqu'à un pH entre 5,5 et 6,5).

La diminution de pH s'effectuait pour éviter une dégradation auto-catalytique du lactulose et pour faciliter une déminéralisation partielle de la solution finale au moyen de la formation de citrate de calcium, facilement éliminé par une centrifugation postérieure. Une opération additionnelle de déminéralisation avec des résines d'échange ionique était aussi nécessaire [56].

### II.2.2. Isomérisation par les sépiolites

La sépiolite est un minéral du groupe des argiles à structure fibreuse, sa formule générale retenue dans la littérature est  $\text{Mg}_4 \text{Si}_6 \text{O}_{15} (\text{OH})_2 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$ .

Des taux de 20% de conversion de lactose en lactulose ont été obtenus à 90°C avec une charge de catalyseur de 15g/L, en utilisant des bases fortes obtenues à partir de la substitution du  $\text{Mg}^{2+}$  des sépiolites par des ions alcalins ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Cs}^+$ ) [57].

En général, l'activité de la sépiolite de sodium est plus importante que celle de la forme de potassium. Un 20% de formation de lactulose (1000 mg/100 ml), par rapport à la

concentration initiale de lactose, a été obtenu après 150 minutes de réaction en utilisant les sépiolites de sodium. Dans ces conditions, 25% de dégradation de lactose ont été détecté alors que des petites quantités d'épi-lactose et galactose étaient formées. Cette méthode permet l'obtention de lactulose à partir du perméat du lait avec un rendement acceptable et purification non compliquée [58].

### **II.2.3. Isomérisation du lactose par les sulfites**

La raison pour laquelle les sulfites et phosphates on été utilisés pour l'isomérisation du lactose est leurs caractéristique de prévenir l'oxydation des saccharides, et cela à des hautes températures et à des fortes concentrations en lactose pour éviter la génération des sous produits.

Des solutions de lactose à 60-65% et à des températures de 80-100°C peuvent être utilisées sous ces conditions. Les sulfites doivent être ajoutés en proportion de 0,05-0,5M par kg de lactose monohydrate. Par la suite, le mélange (solution de lactose et catalyseur) est chauffé à la température de réaction. Quand la réaction arrive à la fin, la solution est refroidie pour que le lactose résiduel soit cristallisé. Après la cristallisation, la solution de lactose/lactulose est traitée dans une résine d'échange ionique pour séparer le catalyseur (sulfites) et les acides organiques. Après cette opération, une autre partie du lactose est cristallisée par refroidissement. Le produit final est un sirop avec 38,7% de lactulose. La teneur finale en galactose et lactose est aux alentours de 8,2% et 3,8%, respectivement [59].

D'autres méthodes sont aussi proposées, le catalyseur utilisé dans ces cas est un mélange d'hydroxyde de sodium et de sulfite de sodium de 0,3-1% avec une concentration de lactose de 60%. La réaction se fait à des températures de 75-80°C pendant 15 minutes. Le taux d'isomérisation observé atteint 30%. D'autre part, le taux d'isomérisation peut atteindre 40% en utilisant 0,7% de sulfite de sodium comme catalyseur. On cite aussi, l'utilisation d'hydroxyde de magnésium mélangé avec de l'hydro-sulphite de sodium dans des solutions à 60-70%. La concentration de catalyseur dans ces cas est de 0,05-0,2% et les températures de réaction sont de 90-100°C [60].

**II.2.4. Isomérisation du lactose en utilisant les agents complexant**

Un autre groupe de procédés utilise des réactifs de complexation tels que des aluminates, ce qui facilite la réaction avec un minimum de réactions secondaires et conduisent à un rendement élevé du lactulose en éliminant lactulose à partir du mélange réactionnel à l'équilibre dans la forme d'un complexe. Cependant, ces catalyseurs ne sont pas satisfaisants du point de vue industriel en raison de la difficulté de récupérer l'aluminate. Aussi dans ces procédés un grand excès d'aluminate est nécessaire pour un rendement optimal (60 à 70%). Dans ces cas, le catalyseur doit être ajouté dans une proportion de 0,5-4M par mole de lactose [61].

Le catalyseur (aluminate) doit être ajouté à la solution de lactose et par la suite, le mélange doit être chauffé à des températures de 70°C pendant 40-60 minutes. Le catalyseur est enlevé du milieu par cristallisation lors du refroidissement. À la fin de la réaction, la solution est neutralisée avec 3-4N d'acide sulfurique pour maintenir le pH entre 4,5 et 8. Il y a formation d'une suspension d'hydroxyde d'aluminium qui est retirée par centrifugation puis traitée par une membrane [03].

Une autre méthode employant la triéthylamine avec l'acide borique comme catalyseurs était développée ; 5% de lactose était mélangée avec 0.89% d'acide borique dans 100 ml d'eau distillé, et le pH ajusté avec 6ml de la triéthylamine, le mélange était alors chauffé à 70°C pendant 4H, Des opérations de purification par échange ionique, cristallisation, pasteurisation sont nécessaires. Dans ces cas, des rendements d'isomérisation de 87% peuvent être obtenus [62,63].

**II.2.5. Isomérisation du lactose par une résine d'échange ionique**

La production de lactulose conventionnelle requiert l'utilisation de divers produits chimiques (hydroxyde, borates, aluminates, etc.) et des procédés de purification par des résines d'échange ionique. Des résines d'échange d'anion ont été employées pour intensifier l'isomérisation du lactose en lactulose en exploitant l'échange d'ions OH<sup>-</sup> entre les solutions en réaction et les résines. Les avantages de l'utilisation de résines d'échange ionique au lieu des réactions chimiques employées jusqu'à maintenant sont [64] :

- Le procédé d'isomérisation ne nécessite pas l'ajout d'un catalyseur.
- L'étape de déminéralisation n'est pas recommandée (annulée).

- Ne nécessite pas d'opérations de purification additionnelles pour séparer les produits de dégradation du produit final.
- Le processus est plus rentable par comparaison aux méthodes traditionnelles.

Le lactulose produit par cette technologie peut être employé dans les aliments pour enfants et dans les aliments spécialisés où les bifidus-bactéries sont introduites [65].

### **II.2.6. Isomérisation du lactose par électroactivation**

L'électro-activation est une technologie novatrice pour l'isomérisation du lactose en lactulose c'est une technique en cours de développement avec un procédé efficace pour une production rationnelle et peu coûteuse du lactulose. La technologie est basée sur des connaissances fondamentales en électrochimie et en chimie d'isomérisation du lactose en lactulose. Le réacteur d'électroactivation est composé de trois compartiments dont les deux aux extrémités sont liés à un générateur de courant continu et représentent la section anodique et cathodique, respectivement.

Les variables indépendantes sont la concentration du lactose dans le compartiment cathodique (5 et 10%), l'intensité du courant électrique appliqué au système (100 et 200 mA), et le temps d'électroactivation qui variait de 0-60 min.

Après 60 min d'électroactivation à température ambiante ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ), 25% de rendement d'électro-isomérisation ont été obtenu. En excluant le lactose, la pureté du produit final était de 96,28%. En outre, aucune formation d'epilactose n'a été observée. De façon non systématique, le galactose a été détecté dans certains échantillons (<1,5%) et seulement quelques traces de fructose ont été observées (<0,31%). La résistance électrique globale du réacteur d'électroactivation diminuait avec l'augmentation du temps d'électroactivation, indiquant une grande efficacité énergétique de cette nouvelle technologie d'isomérisation du lactose en lactulose [54].

### **II.3. Synthèse enzymatique**

Le lactulose peut être généré enzymatiquement par le réarrangement moléculaire des structures du lactose ou par la condensation du galactose et du fructose. La synthèse enzymatique du lactulose est normalement effectuée par des enzymes  $\beta$ -galactosidases et glycosidases. La  $\beta$ -galactosidase est un biocatalyseur pour la réaction de transglycosylation et aussi pour la synthèse des dérivés du lactose qui incluent les galacto-oligosaccharides.

Cette enzyme peut être obtenue à partir de plusieurs sources (microorganismes, plantes et animaux). Cependant, les propriétés diffèrent beaucoup selon la nature de l'enzyme. Les enzymes d'origine animale ou végétale possèdent une faible valeur commerciale tandis que plusieurs  $\beta$ -galactosidases microbiennes ont un intérêt technologique. De plus, les microorganismes offrent plusieurs avantages comme une facile manipulation, un taux de multiplication élevé et un haut rendement de production de cette enzyme comparé à d'autres sources. Les différentes études effectuées jusqu'à présent montrent qu'avec la synthèse enzymatique, on peut atteindre des rendements de synthèse de lactulose allant de 4 à 44 % [66].

Les principales méthodes d'isomérisation de lactose sont récapitulées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 6 : Tableau récapitulatif des principales méthodes d'isomérisation du lactose**

méthodes	catalyseurs	avantages	Inconvénients	Conditions	Purification	Références
Isomérisation du lactose par l'hydroxyde de calcium	$\text{Ca(OH)}_2$	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disponibilité du catalyseur</li> <li>• Purification non compliquée</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un faible rendement</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 15-20% de lactose</li> <li>• 68-72°C</li> <li>• 0.35-0.45% du <math>\text{Ca(OH)}_2</math></li> </ul>	Résine échangeuse d'ions	[56]
Isomérisation de lactose en lactulose utilisant les sépiolites	$\text{Mg}_4\text{Si}_6\text{O}_{15}(\text{OH})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ substitué par des ions alcalins ( $\text{Li}^+$ , $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ et $\text{Cs}^+$ )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rendement acceptable et purification non compliquée,</li> <li>• Formation de 10g/ml du lactulose</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'indisponibilité du catalyseur vu sa faible production</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 90°C</li> <li>• 15g/ml des sépiolites de sodium</li> <li>• 15min</li> </ul>	Résine échangeuses d'ions	[57]
Isomérisation du lactose en lactulose par les sulphites	Sulphites ( $\text{O}_3\text{S}$ )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les sulphites préviennent l'oxydation des disaccharides</li> <li>• Un rendement de 40 %</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• procédé de purification pénible</li> <li>• la teneur finale en galactose est de 8.2% et de lactose à 3.8%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 60% de lactose</li> <li>• 75-80°C</li> <li>• 0.7% des sulphites de sodium/kg de lactose</li> </ul>	Résine échangeuse d'ions	[59]
Isomérisation du lactose en lactulose par les aluminates de sodium	$\text{NaAl(OH)}_4$	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un rendement de 68-70%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Une grande quantité d'aluminates</li> <li>• Élimination difficile des aluminates</li> <li>• Formation du galactose et tagatose</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10% de lactose</li> <li>• 70°C</li> <li>• 40-60min</li> <li>• 1.5% du <math>\text{NaAlO}_2</math></li> </ul>	Centrifugation Résine échangeuse d'ions	[03]

methodes	catalyseurs	avantages	Inconvénients	Conditions	Purification	Referen ces
Isomérisation de lactosérum en lactulose à l'aide d'une résine échangeuse d'anion fortement basique	Résine AF0003	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La résine chasse le produit ce qui diminue sa dégradation</li> <li>• Un rendement de 36%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• formation de fructose</li> <li>• méthode complexe nécessite un passage par une déminéralisation du lactosérum</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 250g/ml du lactose</li> <li>• 250g/ml du lactosérum en poudre</li> <li>• Lactosérum liquide concentré à 18%</li> </ul>	Résine de déminéralisation acide et basique Centrifugation	[64]
Isomérisation de lactose en lactulose en employant l'hydroxyde de sodium	NaOH	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Technique très simple</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• rendement très faible 20-25%</li> <li>• Apparition des produits de dégradation tel que le galactose et acide iso saccharinique.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10%lactose</li> <li>• PH=11.6</li> <li>• 1.5%NaOH</li> <li>• 70°C</li> <li>• 1h</li> </ul>	Résine IR-120(H <sup>+</sup> ) Distillation à basse pression Résine cationique	[03]
Isomérisation de lactose en lactulose utilisant l'acide borique et l'hydroxyde de sodium	NaOH + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un rendement de 75-80%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le lactulose forme un complexe avec les borates difficilement séparable</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10%lactose</li> <li>• 25%acide borique (avec un rapport molaire =1)</li> <li>• 70°C</li> </ul>	Membrane	[03]
Isomérisation de lactose en lactulose par électroactivation	Réacteur d'électroactivation composé de trois compartiments séparés par une résine échangeuse d'ions	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Procédé efficace</li> <li>• une production rationnelle et peu coûteuse</li> <li>• une pureté de 96%</li> <li>• aucune formation d'épi-lactose</li> <li>• la purification est une étape incluse dans la synthèse (simultanées)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Technologie irréalisable industriellement</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5-10%lactose</li> <li>• 100-200mA</li> <li>• 23°C</li> <li>• 0-60min</li> </ul>	Résine échangeuse d'ions	[54]
Isomérisation de lactose par l'acide borique et la triéthylamine	N(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un rendement de 87%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Purification complexe et coûteuse</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 70°C</li> <li>• 4h</li> <li>• PH=11</li> </ul>	Résine IR-120(H <sup>+</sup> ) Distillation a basse pression Résine cationique (dawex AG50w-x8) sous forme de calcium dissoute dans l'eau Méthanol absolu	[62,63]

# **Chapitre III**

Matières, Matériels et Méthodes

## **Introduction**

Dans notre étude nous nous sommes intéressées au lactulose qui est un disaccharide utilisé dans l'industrie pharmaceutique comme laxatif et il intéresse aussi le domaine agroalimentaire puisqu'il est appliqué dans des préparations commerciales pour nourrissons et dans divers produits laitiers, car il favorise la prolifération de bactéries utiles pour la santé humaine comme les bifidus-bactéries intestinales et les bactéries lactiques. Sa décomposition bactérienne crée un milieu acide qui inhibe la croissance des bactéries indésirables ou nuisibles à la santé humaine ou animale [67]. De ce fait, sa production localement permet la diminution de l'enveloppe de l'importation et satisfaction locale d'une dizaine de produits sur le marché.

Le présent projet vise à trouver une méthode de synthèse du lactulose, simple, rentable, faisable, non toxique, non couteuse et facile à appliquer sur le terrain. Pour cela, nous avons suivi trois étapes principales :

- La recherche et synthèse bibliographique qui a pris une partie importante du travail
- Les essais préliminaires pour le choix de la méthode de synthèse du lactulose.
- Sélection de la méthode de synthèse et caractérisation des essais, selon la faisabilité technique et en se basant sur les moyens de bord de la faculté des sciences de l'UMMTO
- Traitement, discussions et interprétation des résultats.

## **III.1. Matériels, réactifs et matières premières utilisés**

### **III. 1.1. Produits et matières**

- Lactulose FK, cristallisé (utilisé comme étalon de référence)
  - Lot : 27S106113
  - Fournisseur : fresenius KABI AUSTRIA GMBH- Italie
  - Provenance : EURL TSPPA
- Lactose monohydrate (utilisé comme substance d'origine pour la synthèse du lactulose)
  - Lot : 12084
  - Fournisseur : Saidal pharml

- Provenance : EURL TSPPA
- Lactulose sirop du commerce (utilisé comme témoin : sirop de lactulose à 66,7 %)
  - EZILAX 10g/15ml
  - Fabricant : laboratoire EL KINDI
  - Lot : ES558

### **III.1.2. Réactifs**

- Résorcinol 99% PS
  - Lot : 0000202067
  - Fournisseur : PANREAC Sintesis
  - Provenance : SARL AGD Pharm
- L'acide chlorhydrique 36.5-38% (HCl)
- L'hydroxyde de sodium (NaOH)
- L'hydroxyde de calcium (Ca(OH)<sub>2</sub>)
- La triéthylamine (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)
- Acide borique (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>)
- Acide citrique (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>)
- Acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
- Aluminates de sodium (NaAlO<sub>2</sub>)

### **III.1.3. Matériel**

#### **III.1.3.1. Matériel de préparation**

- Hotte SORBONNE
- Bain marie MEMMERT
- pH mètre HANNA
- Balance analytique
- Hotte à glace
- Agitateur magnétique
- Centrifugeuse

#### **III.1.3.2. Matériel de caractérisation**

- Spectrophotomètre UV-Visible ZUZI
- pH mètre HANNA

### **III.1.4. Verreries**

- Fioles jaugées 5ml, 10ml, 25ml, 50ml, 100ml, 250ml
- Éprouvette 100ml
- Entonnoir
- Pycnomètres 5ml, 10ml
- Pipettes jaugées 5ml, 10ml, 25ml
- Micropipette
- Béchers
- Tubes à essais

### **III.2. Méthodes**

Le produit objet de notre étude est le lactulose autant que matière première et produit fini. Il est connu par son action laxative et dans le traitement de l'encéphalopathie hépatique.

#### **III.2.1. Présentation des produits à base du lactulose**

Les produits finis existants sur le marché national sont:

##### **Princeps :**

- DUPHALAC® dosé 66.7% de SOLVAY pharma qui se présente sous forme de sachet buvable,

##### **Génériques :**

- EZILAX® de EL KENDI 10g/15ml, Lactulose-AGD® 66.7%, qui se présentent sous la forme galénique sirop, INPHALAC® de INPHA MEDIS dosé à 60.6% et le LACTULOSE LPA® dosé à 66.7% qui se présentent sous forme de solution buvable.

Les résultats de caractérisation des essais de synthèse du lactulose réalisés ont été comparés aux spécifications du produit EZILAX® qui a servi comme témoin et référence.

#### **III.2.2. Démarche de synthèse du Lactulose**

La particularité qu'à le lactulose par rapport aux autres produits pharmaceutiques, c'est que sa synthèse permet l'obtention de la matière première et du produit fini sous forme de sirop.

Il existe plusieurs fournisseurs de matières premières dans le monde, et chaque fournisseur exploite un procédé de synthèse particulier (chimique, enzymatique, biologique...). La différence réside dans le rendement et les impuretés qui découlent du procédé de fabrication suivi.

Nous avons essayé de produire le lactulose avec les moyens disponibles au niveau du notre département. La démarche entreprise pour la synthèse du lactulose pour application pharmaceutique réside dans ce qui suit :

- 1) Étude préliminaire par :
  - ❖ Vérification de la méthode de dosage permettant de caractériser nos produits ; et par la suite la réalisation de plusieurs synthèses chimiques :
  - ❖ Isomérisation par l'hydroxyde de sodium NaOH [03], et l'hydroxyde de calcium  $\text{Ca(OH)}_2$  [56], comme agents alcalins ;
  - ❖ Isomérisation par les aluminates de sodium  $\text{NaAlO}_2$  [03], la triéthylamine  $\text{N(CH}_2\text{CH}_3)_3$  et l'acide borique  $\text{H}_3\text{BO}_3$  [62,63] comme agents complexant
- 2) Synthèse chimique en utilisant le NaOH (la plus utilisée mondialement) en faisant varier le taux de catalyseur et la concentration initiale du lactose;
- 3) Synthèse chimique en utilisant le  $\text{Ca(OH)}_2$  en faisant varier le taux de catalyseur et la concentration initiale du lactose;
- 4) Caractérisation des produits: Identification du lactulose par la colorimétrie, densité, pH et dosage par spectrophotométrie UV/Vis [68].

### **III.2.3. Essais préliminaires**

#### **III.2.3.1. Dosage du lactulose**

La méthode préconisée par la pharmacopée, pour le dosage du lactulose, est la chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur réfractométrique car elle est la plus recommandée pour le dosage des sucres.

Vu que l'HPLC munie d'un réfractomètre n'est pas disponible (disponible chez 2 voire 3 industries en Algérie uniquement), nous avons utilisé la méthode par spectrophotométrie UV/Vis validée dans un travail antérieur réalisé par les stagiaires de l'UMMTO promotion 2013/2014 [69].

La spectrophotométrie d'absorption dans l'UV et le visible est une méthode physique d'analyse non destructive très couramment utilisée dans les laboratoires d'analyses. Elle

est basée sur l'absorption des radiations lumineuses de longueur d'ondes déterminées. D'une manière générale, elle apporte peu d'informations structurales mais elle a en revanche beaucoup d'applications dans l'analyse quantitative.

Les calculs de concentration qui découlent de la loi de Beer et Lambert ont donné naissance à la méthode connue sous le terme de colorimétrie. Cette méthode apparaît comme un cheval de labour de tout laboratoire d'analyses. Celle-ci s'applique non seulement aux composés qui possèdent un spectre d'absorption dans le visible mais aussi à ceux qui conduisent au moyen d'un réactif à un dérivé permettant une mesure d'absorbance [70].

### **III.2.3.2 Principe du dosage du lactulose par spectrophotométrie UV/Vis**

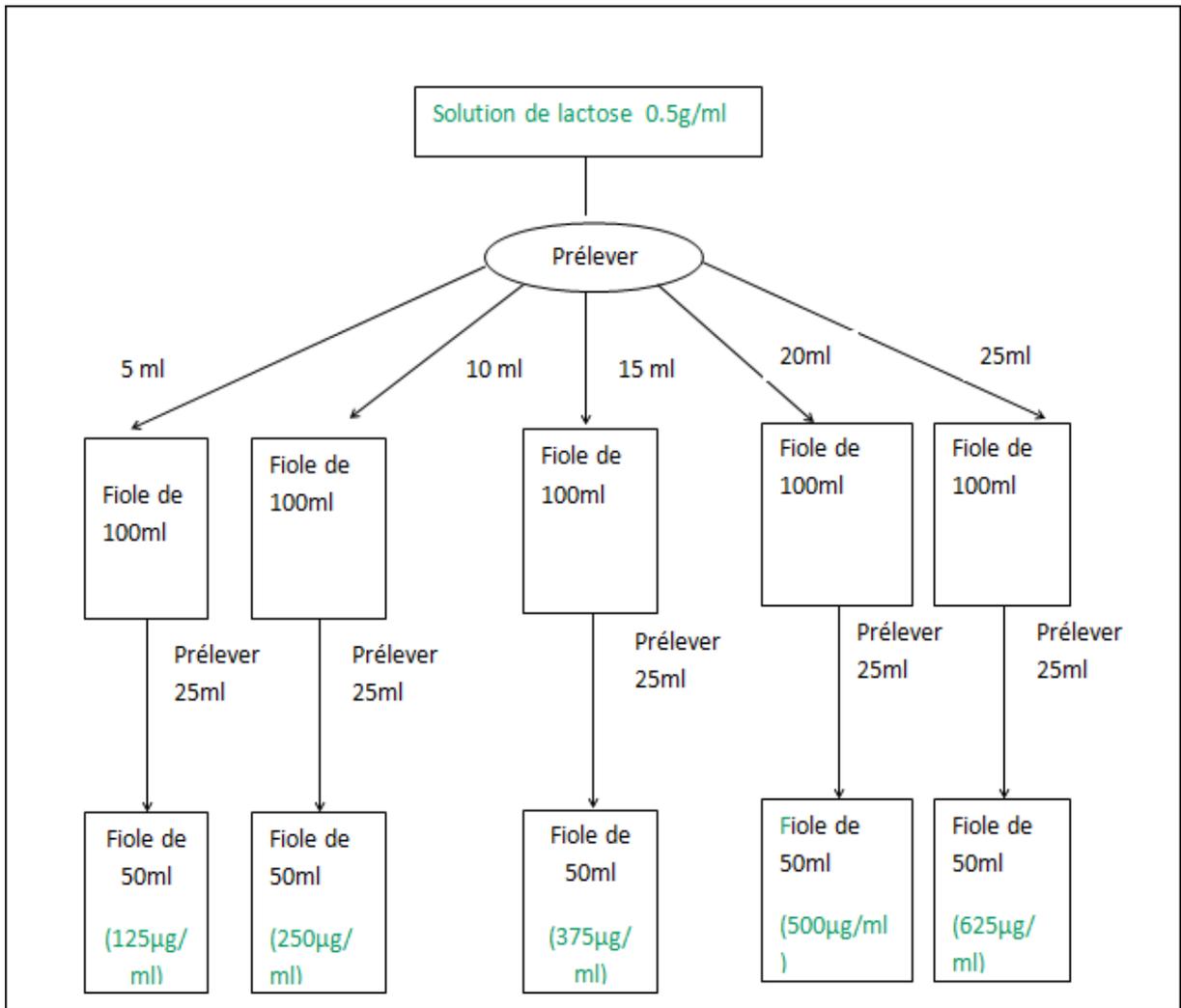
Afin de vérifier la fiabilité des résultats à obtenir par la méthode de dosage par spectrophotométrie UV/Vis, nous avons vérifié la gamme de linéarité de la méthode. Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes

#### **III.2.3.2.1 Préparations des solutions**

- Préparation de la solution du résorcinol (0,05%)
  - ✓ Peser 0,05g du résorcinol
  - ✓ Dissoudre dans 100ml du HCl concentré (38%)

#### **III.2.3.2.2 Préparation de la solution standard**

- ✓ Dissoudre 0,5 g (500mg) de lactulose en poudre dans 100 ml d'eau distillée. Pour obtenir une solution de 5000 $\mu$ g/ml.
- ✓ Préparer à partir de la solution mère 5 solutions de différentes concentrations : 125, 250, 375, 500 et 625  $\mu$ g/ml comme décrits dans la figure N°3
- ✓ Prélever 5 ml de chacune des cinq solutions ;
- ✓ Ajouter 4ml de résorcinol-HCl (38%)
- ✓ Chauffer à 70°C pendant 18 min
- ✓ Refroidir à l'air libre puis dans une eau froide à 20°C.
- ✓ Doser par la spectroscopie UV/visible à une longueur  $\lambda=480$ nm, et lire les valeurs d'absorbance.
- ✓ Les dilutions effectuées pour le dosage sont portées dans la figure N°03 suivante:



**Figure 3 :** Protocole expérimentale pour le dosage du lactulose standards

### III.3. Calcul des concentrations de lactulose

A partir des DO obtenues (standard et échantillons), nous avons procédé au calcul des concentrations en lactulose pour chaque essai, en illustrant les équations suivantes :

Concentration échantillon en  $\mu\text{g/ml}$   $C_1 = (DO_{\text{ech}}/DO_{\text{et}}) * (PE_{\text{et}}/PE_{\text{ech}})$

Concentration échantillon en  $\text{g}/100\text{ml}$   $C_2 = (C_1/ 10^6) * 100$

Concentration initiale en lactose  $C_0 \text{ g}/100\text{ml}$

Où :

- ✓  $DO_{\text{et}}$  absorbance du standard
- ✓  $DO_{\text{ech}}$ : absorbance de l'échantillon ;
- ✓  $C_0$  concentration initiale de l'échantillon ( $\text{g}/100\text{ml}$ ) ;

- ✓  $C_1$  est la concentration de lactulose avant dilution.
- ✓  $PE_{ech}$  : prise d'essai échantillon dont les dilutions effectuées sont en fonction de la méthode
- ✓  $PE_{et}$ : prise essai étalon, dont on a pris la valeur 375  $\mu\text{g/ml}$  pour une DO de 0,547.

Le rendement est calculé par la formule suivante :  $R \% = (C_2/C_0) * 100$

Les résultats de la courbe d'étalonnage dans l'intervalle de linéarité (125-625 $\mu\text{g/ml}$ ) sont présentés dans la partie résultats et discussions.

### III.4. Essais préliminaires de synthèse du lactulose

Afin de trouver le catalyseur qui donne le meilleur rendement, nous avons reproduit quatre méthodes. Ces expériences ont été réalisées avec quatre différents catalyseurs tels que l'hydroxyde de sodium (NaOH) [03], hydroxyde de calcium ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) [56], acide borique ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) avec la triéthylamine [62,63], et enfin avec les aluminates de sodium ( $\text{Al}_2\text{NaO}_2$ ) [03], telles que décrites dans la littérature, les protocoles suivis sont décrits comme suit:

#### III.4.1. Isomérisation de lactose en lactulose par l'hydroxyde de calcium $\text{Ca(OH)}_2$

La réalisation de cette synthèse est comme suit :

- ✓ Peser 15g de lactose dans une fiole de 100ml, compléter avec l'eau distillée au trait de jauge (S1).
- ✓ Peser 0,35 g du  $\text{Ca(OH)}_2$  dans une fiole de 100ml, compléter avec l'eau distillée au trait de jauge (S2).
- ✓ Ajuster le pH à 11,04 de la solution de lactose (S1) avec l'hydroxyde de calcium (S2).
- ✓ Chauffer pendant 40min sous reflux à 68°C - 72°C sous une forte agitation.
- ✓ Laisser refroidir dans un bain de glace pendant quelques minutes.
- ✓ Neutraliser le sirop obtenu avec quelques gouttes d'une solution saturée d'acide citrique et vérifier que la valeur du pH soit entre 5,5 et 6,5.
- ✓ Centrifuger pendant 1h, sous une vitesse de 3000t/min, le mélange réactionnel afin d'éliminer le complexe de citrate de calcium.

- ✓ Filtrer à l'aide d'un papier filtre.
- ✓ Contrôler le filtrat: test d'identification, dosage, densité et pH. Les résultats sont portés dans la partie résultats et discussions.

#### **II.4.2 Isomérisation de lactose en lactulose par l'hydroxyde de sodium NaOH**

Pour cette synthèse:

- ✓ Peser 10g de lactose dans une fiole de 100ml, compléter avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge (S'1).
- ✓ Peser 1,5g d' NaOH dans une fiole de 100 compléter avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge (S'2).
- ✓ Verser la solution de lactose (S'1) dans un erlenmeyer et ajuster le pH à 11,014 avec 6,7ml de la solution (S'2) de l'hydroxyde de sodium
- ✓ Chauffer sous reflux pendant 30min à  $65^{\circ}\text{C}-70^{\circ}\text{C} \pm 0,5$
- ✓ Laisser quelques minutes dans un bain de glace pour refroidir
- ✓ Neutraliser ensuite le sirop obtenu avec 4 gouttes du HCl concentré
- ✓ Contrôler le sirop obtenu : test d'identification, dosage, densité et pH.

Les résultats sont portés dans la partie résultats et discussions.

#### **III.4.3 Isomérisation de lactose en lactulose par l'acide borique et la triéthylamine**

Le protocole de cette synthèse consiste à :

- ✓ Peser 5g du lactose
- ✓ Peser 0,89g d'acide borique
- ✓ Mélanger les deux masses dans une fiole de 100ml, ajuster avec l'eau distillée au trait de jauge (S"1).
- ✓ Ajuster le pH à 11,09 de la solution (S"1) avec 6ml de la triéthylamine.
- ✓ Chauffer la solution obtenue pendant 4h sous reflux à une température de  $67,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ .
- ✓ Laisser refroidir dans un bain de glace pendant quelques minutes.
- ✓ Mesurer la valeur du pH
- ✓ Contrôler le produit obtenu : test d'identification, dosage, densité et pH.

Les résultats sont portés dans la partie résultats et discussions.

**III.4.4. Isomérisation de lactose en lactulose par les aluminates de sodium  $\text{NaAlO}_2$** 

Avec cette méthode de synthèse :

- ✓ Peser 10g du lactose dans une fiole de 100 ml, compléter avec l'eau distillée au trait de jauge (S<sup>1</sup>).
- ✓ Peser 1,5g d'aluminates de sodium dans une fiole de 100ml (S<sup>2</sup>)
- ✓ dans un erlenmeyer verser doucement la solution (S<sup>2</sup>) dans la solution (S<sup>1</sup>) jusqu'à obtention d'un pH=11
- ✓ Chauffer à 65-70°C pendant 30 min sous reflux.
- ✓ Neutraliser le sirop obtenu avec 3ml d'acide sulfurique afin d'avoir un précipité d'aluminate avec l'acide sulfurique.
- ✓ Centrifuger pendant 1h à 3000t/min.
- ✓ Filtrer ensuite à l'aide d'un papier filtre pour éliminer le complexe formé.
- ✓ Contrôler le produit obtenu : test d'identification, dosage, densité et pH. Les résultats sont portés dans la partie résultats et discussions.

**III.5. Tests de caractérisation effectués sur les essais préliminaires**

Les solutions de lactulose obtenues ont été soumises aux contrôles usuels appliqués sur les formes liquides telles que les sirops.

La liste des tests sont présentés ci-dessous :

- ✓ Aspect
- ✓ Test d'identification du lactulose
- ✓ Mesure du Ph.
- ✓ Mesure de la densité
- ✓ Dosage du lactulose par la spectroscopie UV/Vis (en se référant à la méthode de dosage validée précédemment [69])

Les protocoles des contrôles effectués sur les sirops de lactulose obtenus sont décrits comme suit:

### III.5.1 Aspect

Le contrôle de l'aspect se fait par une appréciation visuelle de la couleur et l'absence de particules en suspensions. L'aspect des solutions obtenues est comparé à l'aspect du témoin (lactulose du commerce EZILAX®) qui présente une solution limpide, transparente visqueuse de couleur jaune clair à brun.

### III.5.2 Densité

Peser un pycnomètre de volume connu  $V_{pic}$  vide ( $m_1$ ),

Peser le même pycnomètre rempli de la solution étudiée ( $m_2$ )

Le calcul de la densité se fait par la formule suivante :

$$d = (m_2 - m_1) / V_{pic}$$

### III.5.3 Mesure du pH

Commencer par étalonnage du pH mètre puis plonger l'électrode dans la solution à étudier, une fois refroidis et lire la valeur qui s'affiche.

### III.5.4 Test d'identification du lactulose

Le but du test d'identification est de s'assurer de la présence du lactulose dans nos solutions. Le protocole à suivre pour l'identification du lactulose est décrit dans la pharmacopée européenne [12]

Les principales étapes sont :

A 0,25 g de lactulose liquide, ajoutez 5 ml d'eau R et 5 ml d'ammoniaque R. Chauffez dans un bain-marie à 80 °C pendant 10 min. Il se développe une coloration rouge.

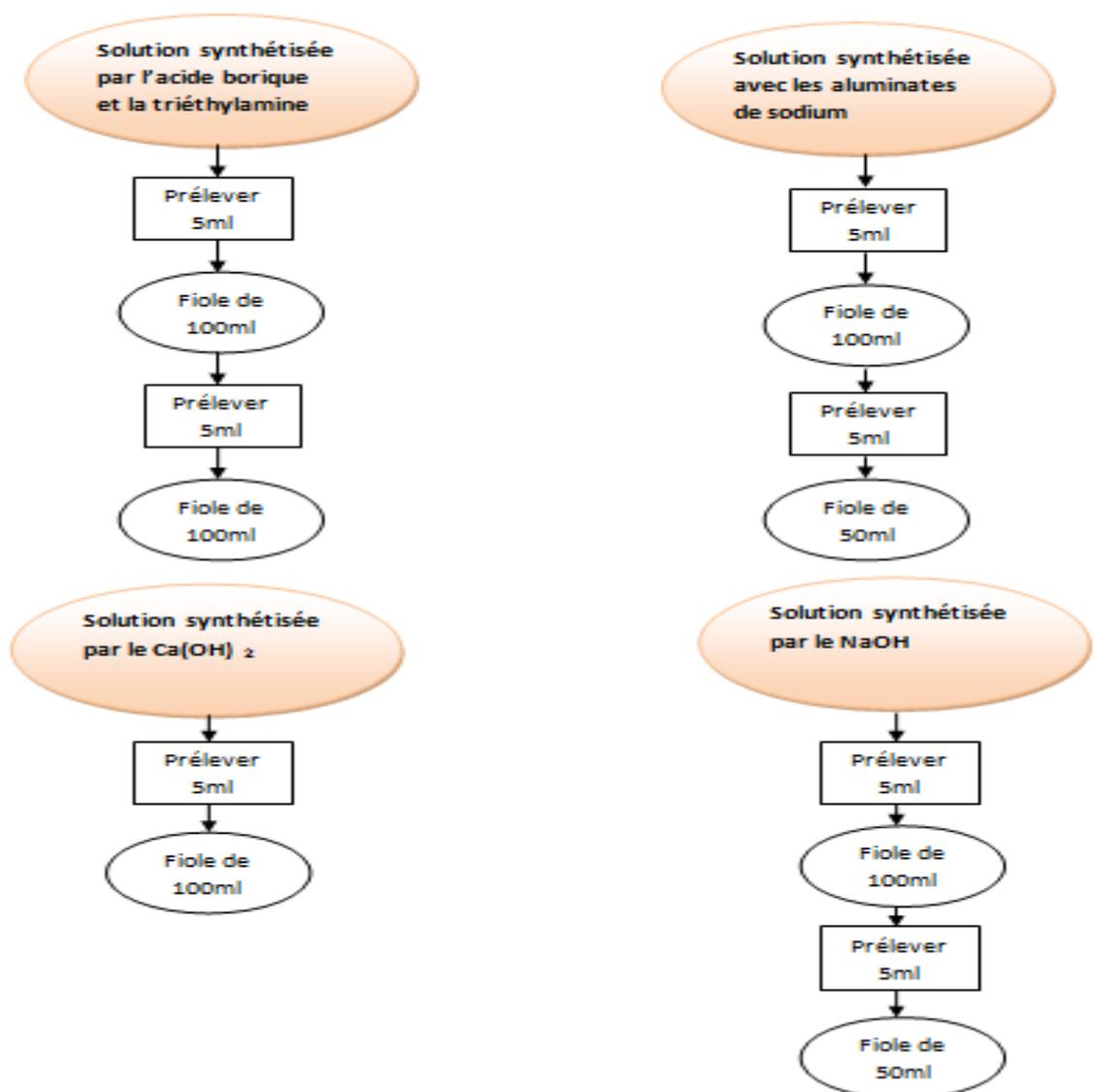
Spécifications selon la pharmacopée: la présence du lactulose est caractérisée par la coloration rouge du mélange après chauffage.

### III.5.5 Dosage du lactulose

Le protocole de dosage suivi est le même que celui appliqué pour la vérification de la gamme d'étalonnage.

Les étapes du dosage sont comme suit

- ✓ Procéder à des dilutions des solutions comme l'indique la figure 4
- ✓ Prélever 5 ml de chacune des quatre solutions ;
- ✓ Ajouter 4ml de résorcinol-HCl
- ✓ Chauffer à 70°C pendant 18 min
- ✓ Refroidir à l'aire libre puis dans une eau froide à 20°C.
- ✓ Doser par la spectrophotométrie UV/ visible à une longueur d'onde  $\lambda=480\text{nm}$ . Les dilutions pratiquées pour chaque méthode d'isomérisation sont présentées dans la figure N° 4 suivante :



**Figure 4 :** Dilutions effectuées pour le dosage des essais préliminaires de synthèse du lactulose.

D'après les résultats obtenus, que nous allons voir dans le chapitre résultats et discussions et d'après la disponibilité des réactifs et faisabilité technique de chaque méthode, nous avons opté pour l'étude de la synthèse du lactulose par la méthode d'isomérisation de lactose en lactulose en utilisant comme catalyseurs, l'hydroxyde de sodium et ce pour les raisons suivantes:

- Sa disponibilité en grande quantité
- La faisabilité technique relative à la purification du sirop obtenu qui nécessite une résine d'échange ionique,
- Le temps de réaction est minime, tel qu'il était optimisé dans la littérature " 20 min",
- La faible toxicité de NaOH quant aux autres réactifs et catalyseurs.
- Le coût faible par rapport aux autres catalyseurs

### III.6. Synthèse du lactulose par isomérisation du lactose en utilisant le NaOH

Afin d'obtenir le meilleur rendement lors de la synthèse du lactulose par le NaOH, nous avons réalisé plusieurs essais en faisant varier le taux initial du lactose (entre 5 à 30 %) et le taux du catalyseur NaOH (entre 0,125 et 1,5%). Les quantités en pourcentage massique du lactose et du NaOH utilisés sont présentées dans Le tableau N°7

**Tableau 7 :** Différents pourcentages préparés avec le Na(OH) pour la synthèse du lactulose

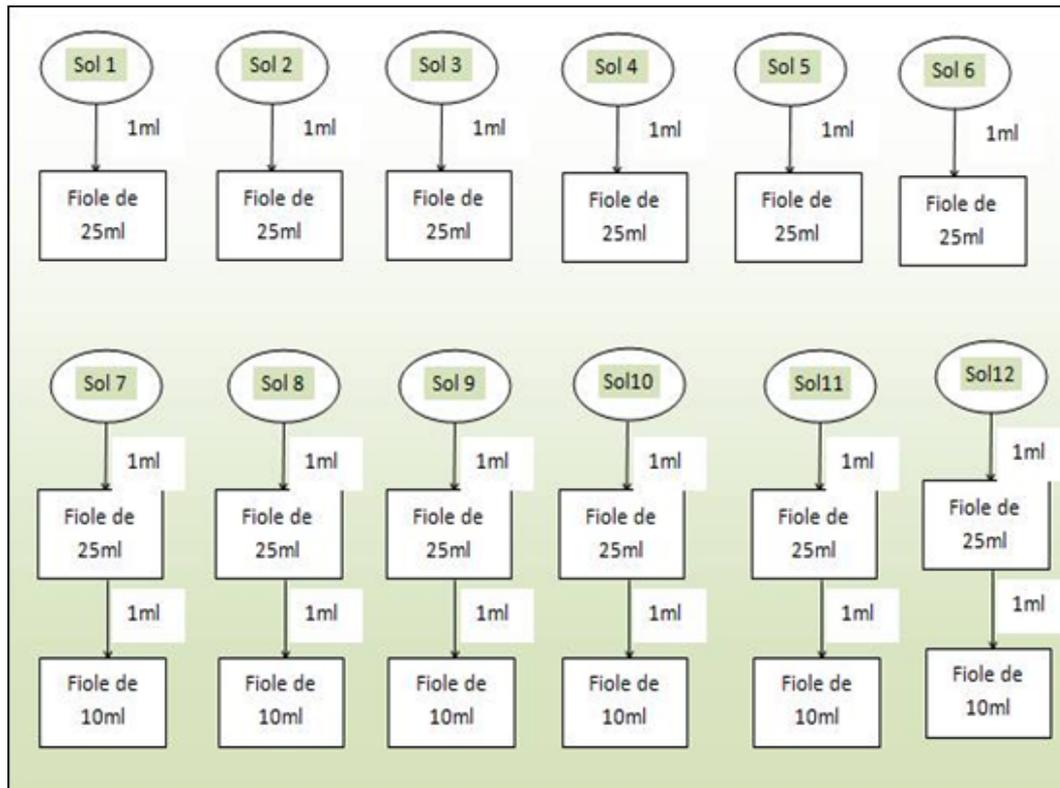
Solutions	Quantité du lactose (%)	Quantité Na(OH) (%)
1	2,5	0,125
2	5	0,25
3	7,5	0,375
4	10	0,50
5	12,5	0,625
6	15	0,75
7	17,5	0,875
8	20	1
9	22,5	1,125

10	25	1,25
11	27,5	1,375
12	30	1,50

Le protocole de synthèse suivi est donné par une explication du premier exemple avec le Na(OH):

- ✓ Peser 2,5g de lactose et 0,125g du NaOH afin d'avoir un ratio NaOH / lactose de 0,05
- ✓ Verser les masses dans une fiole de 100ml, remplir avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.
- ✓ Verser la solution dans un tube à essai en verre.
- ✓ Chauffer pendant 20min à 70°C dans le bain Marrie.
- ✓ Arrêter la réaction en plongeant le produit dans un bain de glace.
- ✓ Neutraliser avec une solution d'acide chlorhydrique.
- ✓ Contrôler le sirop obtenu : test d'identification du lactulose par la méthode colorimétrique, Mesure du pH et de la densité à l'aide d'un pycnomètre, le dosage par la spectrophotométrie UV/vis tels qu'ils sont décrits précédemment pour les essais préliminaires en suivant les dilutions expliquées dans le schéma ci- après:

Les onze autres essais ont été mené avec le NaOH dans les mêmes conditions de température et du temps et ce en gardant le même ratio lactose/ NaOH,



**Figure 5:** Les différentes dilutions pour le dosage des essais de synthèse du lactulose par la méthode d'isomérisation par le NaOH

Un autre agent alcalin (hydroxyde de calcium  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) été retenu pour la synthèse chimique du lactulose.

### III.7. Synthèse du lactulose par isomérisation du lactose en utilisant le $\text{Ca}(\text{OH})_2$

Comme pour la méthode de synthèse du lactulose par isomérisation du lactose par le NaOH, nous avons opté pour un autre catalyseur un peu plus cher que le NaOH, mais il disponible en quantité suffisante dans notre laboratoire, et permet une isomérisation rapide et sûre avec un faible risque de toxicité comparant à l'agent complexant.

Le protocole de synthèse suivi est donné par une explication du premier exemple avec le  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  :

- ✓ Peser 2,5g de lactose et 0,058g du  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  afin d'avoir un ratio lactose/  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  de 0,02

- ✓ Verser les masses dans une fiole de 100ml, remplir avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.
- ✓ Verser la solution dans un tube à essai en verre
- ✓ Chauffer pendant 20min à 70°C dans le bain Marrie
- ✓ Après isomérisation, refroidir dans un bain de glace
- ✓ Neutraliser avec la solution saturée d'acide citrique

Faire de même pour les onze autres essais, en maintenant les mêmes conditions opératoires (température et pH, et ratio lactose /  $\text{Ca(OH)}_2$  constant).

Les masses de lactose et  $\text{Ca(OH)}_2$  que nous avons pris sont représentés dans le tableau N°8 (ci-dessous) les valeurs sont données en pourcentage.

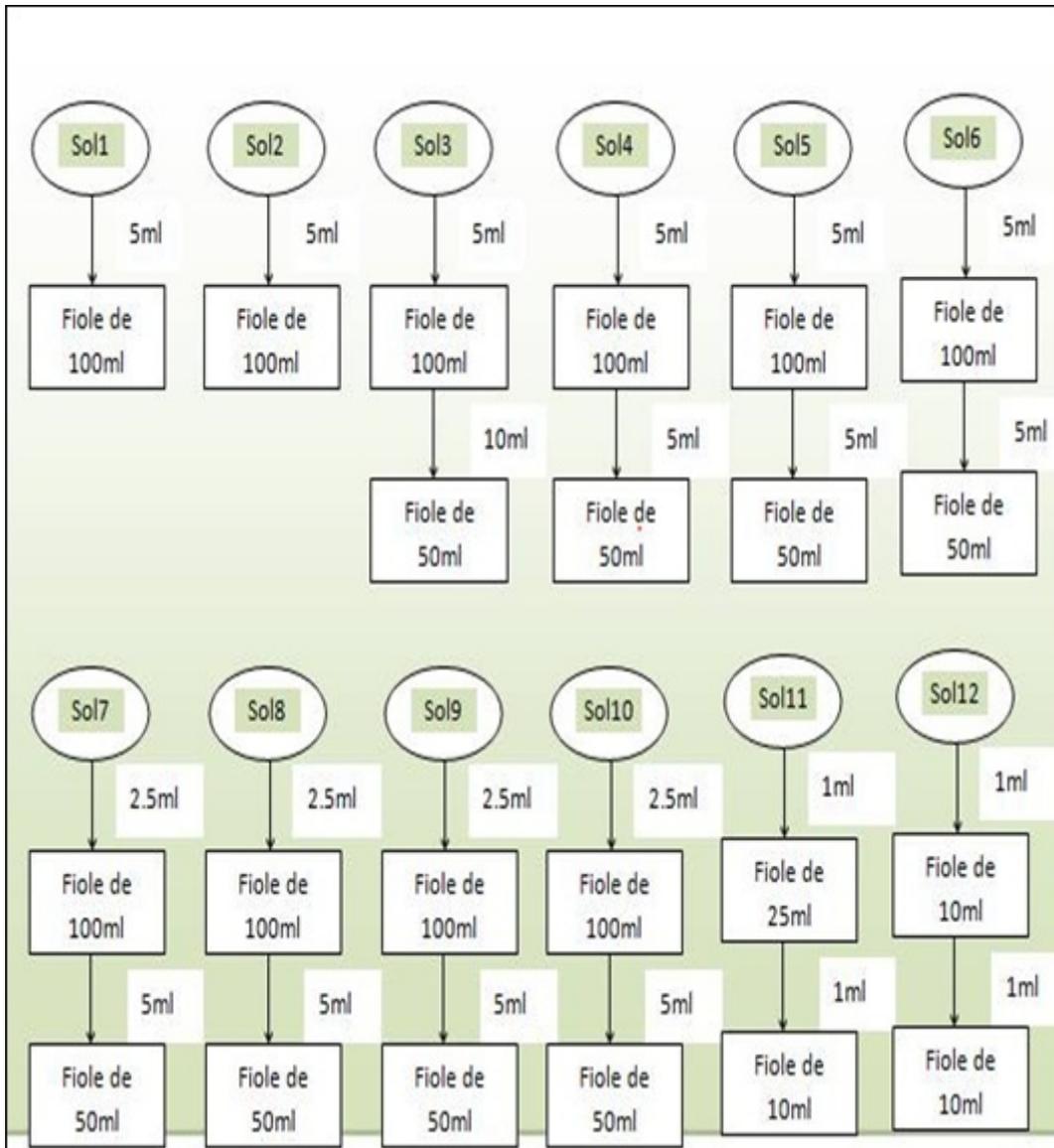
**Tableau 8** : Différents pourcentages préparés avec le  $\text{Ca(OH)}_2$  pour la synthèse du lactulose

solutions	Quantité de lactose(%)	Quantité du $\text{CaOH}_2$ (%)
1	2,5	0,058
2	5	0,116
3	7,5	0,175
4	10	0,234
5	12,5	0,292
6	15	0,35
7	17,5	0,408
8	20	0,466
9	22,5	0,525
10	25	0,584
11	27,5	0,641
12	30	0,7

Pour s'assurer de la formation de lactulose dans nos échantillons et pour le quantifier, nous avons effectué les tests cités précédemment :

- ✓ Test d'identification ;

- ✓ Mesure de pH et densité ;
- ✓ Dosage par la spectroscopie UV/vis dont les dilutions des 12 solutions sont expliquées par la figure 6 ci-contre :



**Figure 6 :** Schéma des différentes dilutions pour le dosage des essais de synthèse du lactulose par la méthode d'isomérisation par le  $\text{Ca(OH)}_2$

# **Chapitre IV**

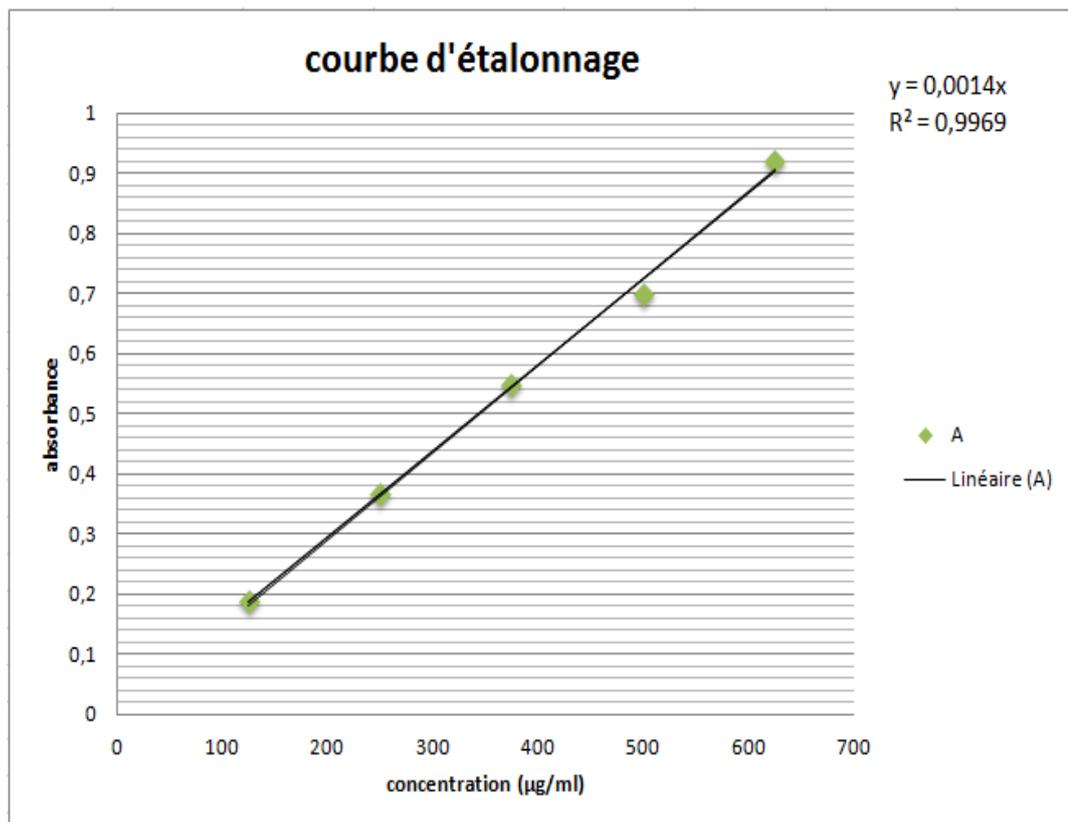
Résultats et discussions

#### IV.1 Vérification de la fiabilité de la méthode du dosage (étalonnage)

- **Courbe d'étalonnage**

Le dosage du lactulose par le spectrophotomètre UV/Vis nous a permis de réaliser une courbe d'étalonnage qu'on utilise par la suite dans la détermination de la concentration du lactulose dans chaque solution préparée.

La figure N°7 présente la courbe d'étalonnage pour les concentrations : 125, 250, 375, 500, 625  $\mu\text{g/ml}$ .



**Figure 7** : courbe linéaire d'étalonnage du standard du lactulose

L'équation de la droite  $A = f([C])$  est :  $Y = 0.0014X$ , avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0.9969$

Nous avons un coefficient de corrélation s'approchant de (1), ce qui nous permet de s'engager dans l'exploitation de la méthode par spectrophotométrie UV/Vis.

## IV.2. Les résultats de caractérisation du lactulose dans les essais préliminaire

### IV.2.1. Résultats de l'aspect

Les solutions obtenues à partir des essais préliminaires en utilisant les 4 méthodes de synthèse de lactulose présentent les résultats suivants (cf. tableau N° 9):

**Tableau 9** : Aspects des solutions issues des essais préliminaires de synthèse du lactulose

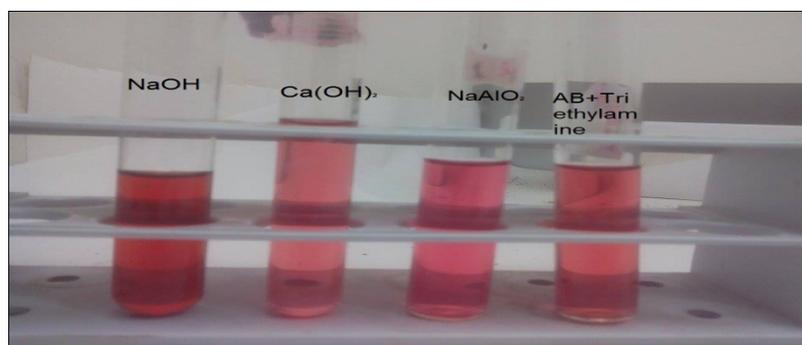
Méthode	Aspect
Normes	Solution limpide à jaune claire, visqueuse
Solution de standard de lactulose dans l'eau	Solution limpide et transparente
Solution du sirop du commerce	Solution limpide jaune claire, très visqueuse  <b>Figure 8</b> : Aspect du sirop du commerce du lactulose EZILAX®
Isomérisation du lactose en lactulose par le catalyseur(NaOH)	Solution de couleur miel, peu visqueuse  <b>Figure 9</b> : Aspect de la solution de lactulose synthétisé par le NaOH
Isomérisation par triéthylamine (N(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ) et acide borique (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	Solution brune, limpide, peu visqueuse

	 <p><b>Figure 10</b> : Aspect de la solution de lactulose synthétisée par la triéthylamine et l'acide borique.</p>
<b>Isomérisation par les aluminates (NaAlO<sub>2</sub>)</b>	Solution limpide, jaune claire et peu visqueuse  <p><b>Figure 11</b> : Aspect de la solution de lactulose synthétisée par les aluminates de sodium.</p>
<b>Isomérisation avec l'hydroxyde de calcium (CaOH<sub>2</sub>)</b>	Solution limpide de couleur miel, peu visqueuse  <p><b>Figure 12</b> : Aspect de la solution de lactulose synthétisée par l'hydroxyde de calcium.</p>

Toutes les solutions obtenues sont limpides, peu visqueuses et colorées. La coloration varie du jaune clair au brun foncé et ce en fonction de la méthode de synthèse du lactulose utilisée.

### IV.2.2 Test d'identification du lactulose dans essais préliminaires

Toutes les solutions soumises à une hydrolyse dans l'ammoniaque, selon le protocole décrit dans la pharmacopée européenne [12], ont donné une coloration rouge, comme le montre la Figure N° 13 suivante:



**Figure 13** : test d'identification des essais préliminaires de synthèse de lactulose.

La coloration rouge résultant du test d'identification est caractéristique du lactulose et sa quantité diffère selon l'intensité de la couleur. De ce fait, la synthèse du lactulose, à partir des 4 méthodes d'isomérisation du lactose, a eu lieu avec des taux différents. En perspective, nous proposons d'étudier la stabilité chimique quant au pH des solutions de synthèse du lactulose

### IV.2.3 Mesure du pH des essais préliminaires

Le pH des solutions est mesuré à l'aide d'un pH mètre. Les résultats sont portés dans le tableau 10 suivant.

**Tableau 10**: pH des solutions des essais préliminaires de synthèse de lactulose

Solutions	Avec le NaOH	Avec le $\text{Ca(OH)}_2$	Avec la triéthylamine et acide borique	Avec les aluminates de sodium
pH	6,98	5,6	5,9	6,5

Les valeurs du pH pour les essais préliminaires varient au voisinage d'un pH neutre. A noter que le pH après synthèse est un paramètre dépendant du manipulateur par ajustement du pH à l'aide d'un acide.

#### IV.2.4. Densité des essais préliminaires

Les valeurs de densité sont portées dans le tableau N°11. Généralement les sirops sont denses et présentent une densité  $>$  à 1.

**Tableau 11** : valeurs de densité pour les essais préliminaires du lactulose.

Solutions	Avec le NaOH	Avec le $\text{Ca(OH)}_2$	Avec la triéthylamine et l'acide borique	Avec les aluminates de sodium	Solution standard (66.7%)	Solution commerciale (10mg/15ml) (ESILAX)
Densité	1,04	1,02	1,01	1,01	1,17	1,32

Les valeurs de densité des solutions issues de l'isomérisation par les différents catalyseurs sont légèrement supérieures à 1, ceci étant, ces valeurs restent faibles par rapport à la solution commerciale et à la solution standard du lactulose. Cela est peut-être dû : au faible pourcentage du sucre lactulose contenu dans les essais.

#### IV.2.5. Dosage du lactulose par UV/ Vis

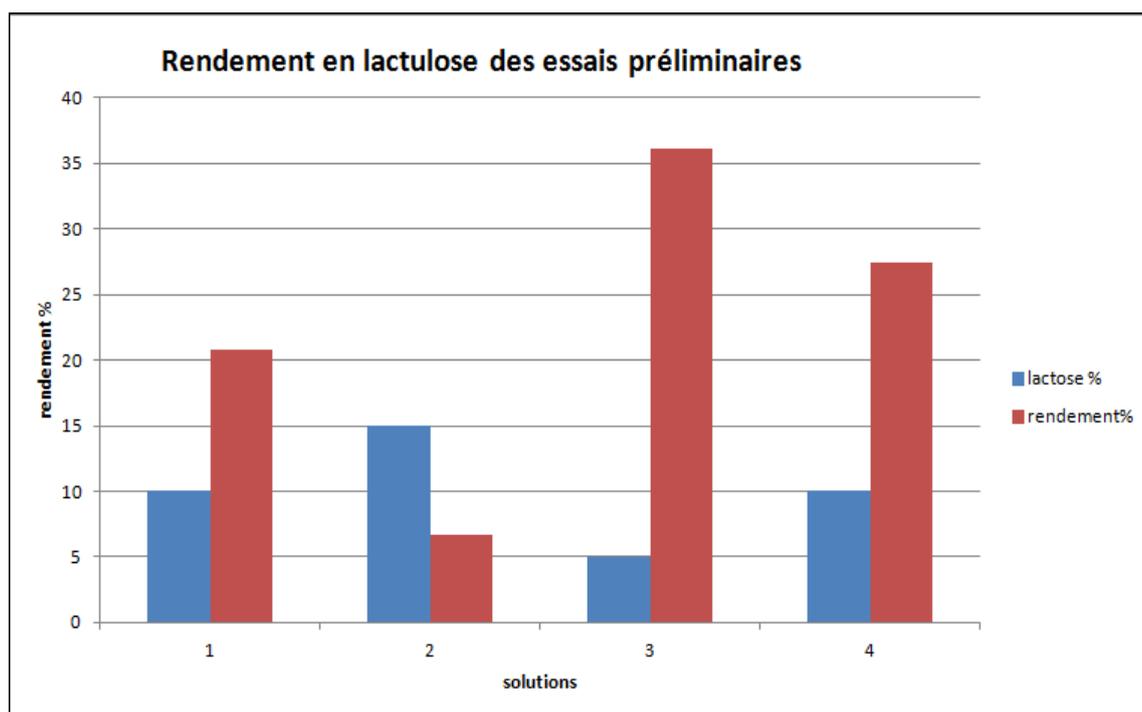
Le tableau suivant représente les valeurs d'absorbance obtenues pour les essais préliminaires

**Tableau 12** : Valeurs des absorbances et concentrations en lactulose à partir des essais préliminaires

Solutions	Avec le NaOH	Avec le $\text{Ca(OH)}_2$	Avec la triéthylamine et l'acide borique	Avec les aluminates de sodium
Absorbances	0,15	0,72	0,23	0,20
Facteur de Dilution	25/5000	5/100	25/10000	25/5000
$C_i$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	20841,95	9858,32	31535,65	27932,96

#### Rendement

Le rendement du lactulose obtenus par les essais préliminaires est illustré dans la figure N°14 qui suit



**Figure 14 :** Rendement (en %)de synthèse de lactulose par le (1) NaOH ; (2)  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  ; (3) la triéthylamine et (4) les aluminates de sodium (respectivement).

Comme le montre l'histogramme, la triéthylamine associé à l'acide borique donne le meilleur rendement (63,07%), comme il est cité dans la littérature. Vient par la suite les aluminates de sodium avec un rendement de 27,42 % mais ces deux catalyseurs présentent un inconvénient majeur qui est leur grande toxicité donc une étape de purification assez pénible, chère et insatisfaisante de point de vue industriel.

Le rendement avec NaOH est satisfaisant et mérite d'être étudié et évalué. Les résultats de synthèse du lactulose par isomérisation du lactose en présence du catalyseur NaOH est présenté ci-dessous.

### IV.3. Synthèse du lactulose en utilisant le catalyseur NaOH

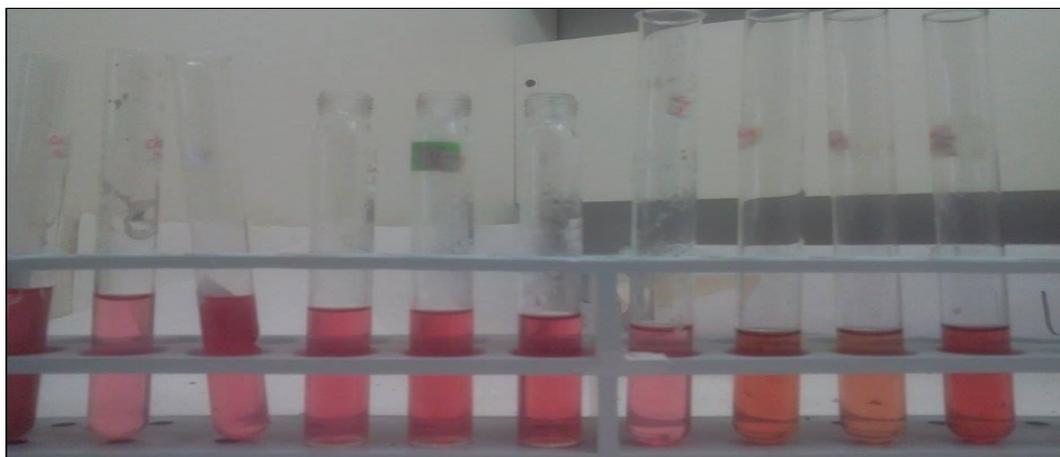
#### IV.3.1 Aspect des solutions du lactulose

Après isomérisation nous avons neutralisé les solutions avec l'acide chlorhydrique.

Toutes les solutions obtenues sont limpides et colorées. La coloration varie du jaune au rouge brun en fonction de la concentration initiale en lactose. Plus la concentration en lactose augmente plus le résultat de synthèse donne des solutions avec des couleurs plus prononcées.

### IV.3.2. Identification des solutions du lactulose

Nous avons effectués le test d'identification sur tous les essais, et nous avons obtenu une coloration rouge comme exigé par la pharmacopée européenne. Le résultat du test d'identification est illustré dans la figure qui suit N°15



**Figure 15** : résultat de test d'identification de lactulose dans les essais de synthèse avec le NaOH

La coloration rouge résultant du test d'identification est caractéristique du lactulose et sa qualité diffère selon l'intensité de la couleur. De ce fait, la synthèse du lactulose, à partir des 12 essais d'isomérisation de lactose, a eu lieu mais à des pourcentages différents.

### IV.3.3. pH des solutions du lactulose

Le pH des solutions a été mesuré après neutralisation avec HCl, et les valeurs sont portées dans le tableau N°13 qui suit

**Tableau 13** : pH des essais de synthèse du lactulose réalisés avec le NaOH après neutralisation

solutions	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Ph	6,54	7,24	7,04	6,76	7,06	6,97	7,00	7,01	6,87	7,05	7,02	6,91

Les valeurs du pH après neutralisation sont toutes au voisinage d'un pH neutre, ce qui est recommandé dans la littérature

#### IV.3.4. Densités des solutions du lactulose préparés par le NaOH

Les résultats de densité des solutions préparées avec l'hydroxyde sodium sont présentés dans le tableau 14.

**Tableau 14** : Valeurs de densités pour les essais réalisés avec l'hydroxyde de sodium

Solutions	1	2	3	4	5	6
Densité	1.00	1.01	1.03	1.03	1.03	1.06
Solutions	7	8	9	10	11	12
Densité	1.069	1.079	1.091	1.101	1.132	1.134

La mesure de densité pour les essais réalisés avec le catalyseur choisi (NaOH) a montré une augmentation progressive relative au pourcentage de lactose initial, ces densités restent toujours inférieures à la valeur du témoin vu que le pourcentage maximal du lactose utilisé est de 30% et que sa conversion en lactulose n'est pas totale (environ 40%). Les densités des solutions 11 et 12 sont plus proches à la densité du produit du commerce (utilisé comme référence), ce qui conclut que plus la quantité du lactulose augmente et plus la densité augmente

#### IV.3.5. Résultats de dosage des solutions du lactulose

Le dosage du lactulose par la méthode spectroscopique UV/Vis nous a permis de retrouver les valeurs d'absorbances présentées dans le tableau N°15 (ci-dessous)

**Tableau 15** : Valeurs des absorbances des solutions du lactulose préparées par la méthode de NaOH

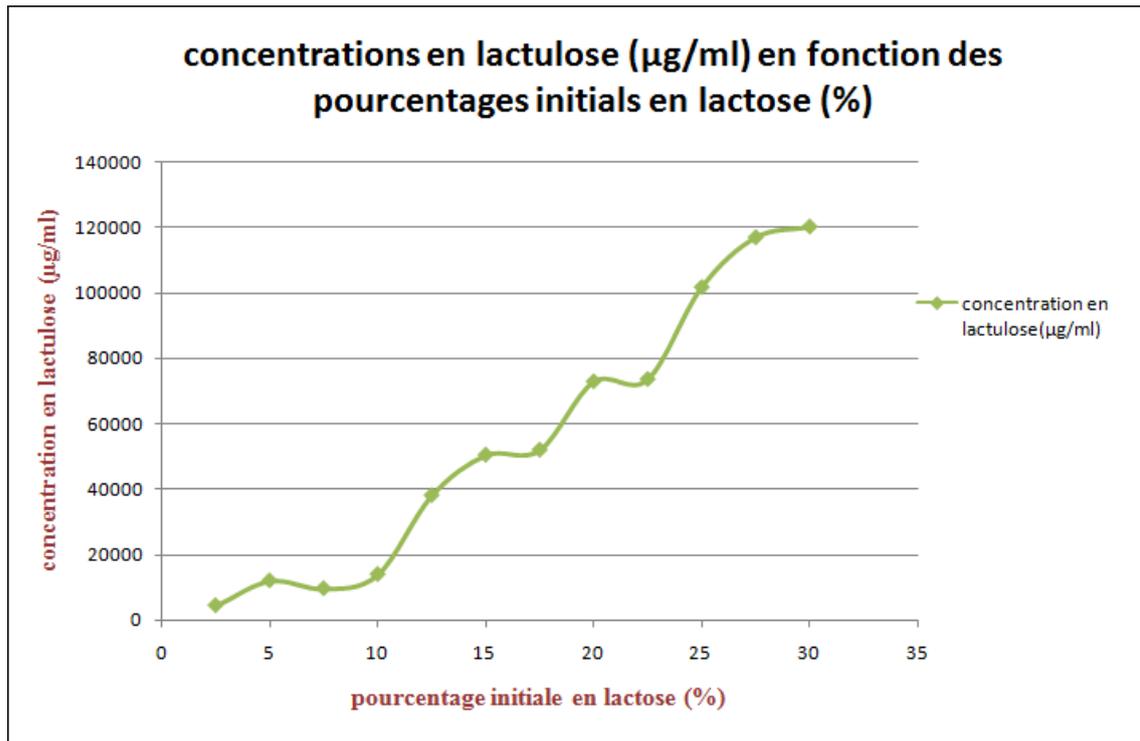
<b>Solutions</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
Absorbances	0,26	0,70	0,560	0,81	0,22	0,29
<b>Solutions</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
Absorbances	0,30	0,43	0,43	0,59	0,68	0,70

## IV.3.5.1. Calcul des concentrations en lactulose

A partir des DO, nous passons ensuite au calcul de la concentration à l'aide de l'équation citée précédemment. Les concentrations calculées sont portées dans le tableau suivant :

**Tableau 16** : Concentrations de la solution du lactulose préparées par la méthode de NaOH

<b>N° Solutions</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Concentration en lactulose (µg/ml)</b>	4387,57	11997,26	9597,81	13933,96	38048,45	50388,48
<b>C<sub>0</sub> en lactose µg/ml</b>	25000	50000	75000	100000	125000	150000
<b>Rendement</b>	17,60	23,99	12,80	13,93	30,44	33,59
<b>N° Solutions</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>Concentration en lactulose (µg/ml)</b>	51930,99	72840,49	73526,05	101633,91	116887,57	120143,97
<b>C<sub>0</sub> en lactose µg/ml</b>	175000	200000	225000	250000	275000	300000
<b>Rendement</b>	29,67	36,42	32,68	40,65	42,50	40,79



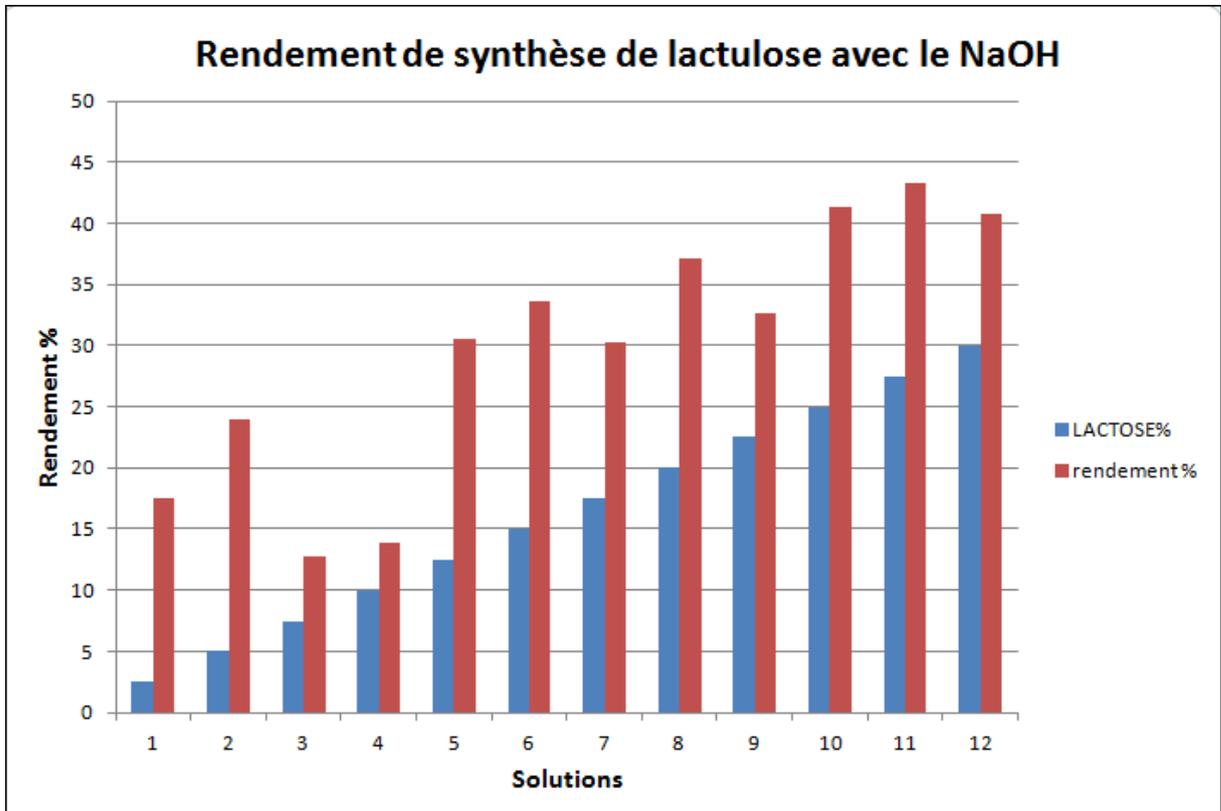
**Figure 16:** Concentrations des essais en lactulose ( $\mu\text{g/ml}$ ) en fonction des concentrations initiales en lactose (%) obtenues par la méthode de NaOH.

La figure N°16 montre que la teneur en lactulose dans les solutions finales augmente progressivement en fonction de l'augmentation de la concentration initiale en lactose. Nous remarquons 3 paliers relatifs à la teneur en lactulose dans les solutions préparées par la méthode de NaOH :

- une concentration quasi constante avoisinant une valeur de 9000  $\mu\text{g/ml}$  pour des concentrations initiales en lactose allant de 2,5 à 10%,
- une augmentation progressive en lactulose pour les valeurs de lactose initial allant de 12,5 % jusqu'au 22,5 %,
- un dernier palier, là où la teneur en lactulose maximale est quasi-constante avoisinant une concentration de 120000  $\mu\text{g/ml}$  et correspondant aux taux de lactose initial de 25 % au 30%.

#### IV.3.5.2 Rendement de la synthèse du lactulose

La figure N°17 ci-dessous illustre les valeurs du rendement de synthèse du lactulose par la méthode de NaOH



**Figure 17** : Rendement (en %)de lactulose synthétisé par la méthode d’hydroxyde de sodium.

Le rendement en lactulose obtenu par la méthode de NaOH varie entre 12 et 43%. Les rendements maximaux dépassant 40% correspondant aux essais dont les concentrations initiales en lactose comprises entre 25 et 30%, dépassant ainsi les résultats cités dans la littérature

Les rendements sont faibles au début pour des concentrations faibles en lactose initial, puis ils deviennent quasi-constants à compter de la valeur du lactose initial de 12,5%.

De ce fait, nous concluons qu'à partir d'une concentration initiale en lactose de 12,5%, le rendement de synthèse du lactulose par la méthode de NaOH reste constant.

La synthèse du lactulose par la méthode d'isomérisation du lactose par le NaOH comme catalyseur donne un meilleur résultat (taux de 42.50% pour une concentration en lactose initial de 275000 $\mu$ g/ml).

#### **IV.4 Résultats et discussions de synthèse du lactulose par le Ca(OH)<sub>2</sub>**

##### **IV.4.1 Aspect des solutions du lactulose**

Les couleurs des solutions varient avec la variation de la concentration en lactose initiale, comme nous pouvons le constater dans la figure N°18 (ci après).

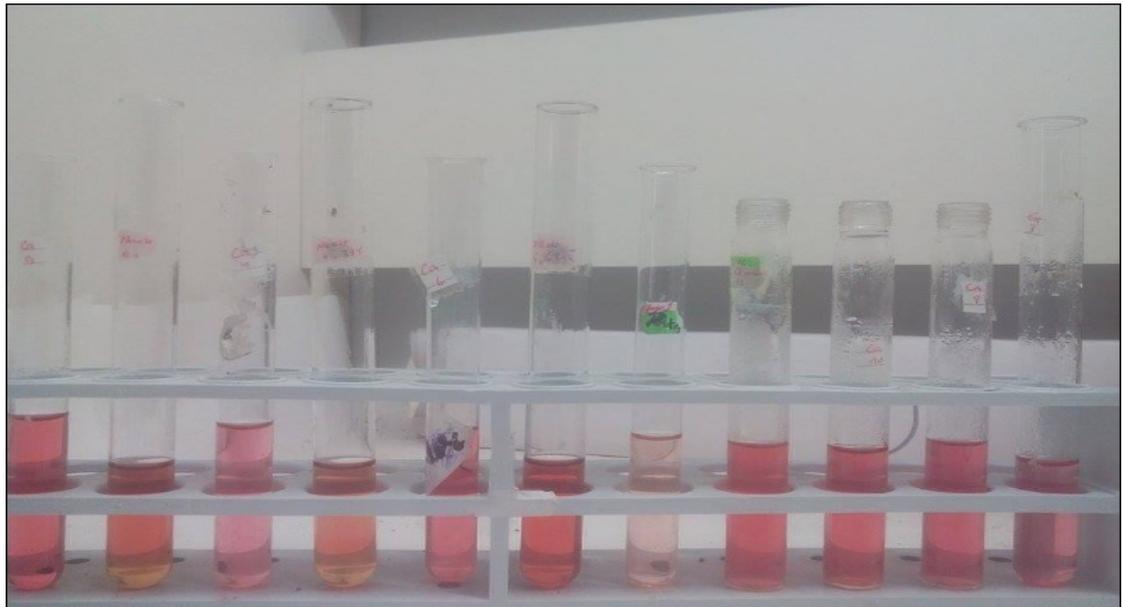


**Figure 18** : Aspect des essais réalisés avec l'hydroxyde de calcium

Cette figure représente l'aspect des solutions préparées avec un pourcentage croissant en lactose et en hydroxyde de calcium en gardant toujours le même ratio. Nous remarquons que toutes les solutions sont limpides et colorées. L'intensité de la couleur augmente avec l'augmentation de la quantité du lactose initiale.

##### **IV.4.2 Test d'identification des solutions du lactulose**

Le test d'identification a été effectué comme décrit précédemment pour les autres essais, la présentation des résultats est illustrée dans la figure N°19 (ci-dessous)



**Figure 19** : Test d'identification du lactulose à partir des solutions préparées par l'hydroxyde de calcium.

La couleur rouge indique la présence du lactulose dans les essais. L'intensité de la couleur varie selon la concentration en lactulose

#### IV.4.3 pH des solutions du lactulose

Comme pour tous les essais précédents nous avons fait de même pour les préparations avec le  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , nous avons donc neutralisé avec une solution saturée d'acide citrique, le tableau N°17 (ci après)

**Tableau 17** : Valeurs de pH des essais préparés par l'hydroxyde calcium

Solutions	1	2	3	4	5	6
pH après neutralisation	6,21	6,72	6,46	6,48	6,49	6,31
Solutions	7	8	9	10	11	12
pH après neutralisation	6,20	6,03	5,89	6,52	5,76	6,19

Le pH est dans les limites de spécifications recommandées, étant donné que ce paramètre est dépendant du manipulateur lors de l'ajustement du pH.

#### IV.4.4 Mesure de densité

Les valeurs de densité des essais effectués avec l'hydroxyde de calcium, sont représentées dans le tableau N°18 (ci-dessous);

**Tableau 18 :** Densité des solutions issues de la synthèse de lactulose par  $\text{Ca(OH)}_2$

Solutions	1	2	3	4	5	6
Densité	1,01	1,02	1,02	1,03	1,04	1,03
Solutions	7	8	9	10	11	12
Densité	1,07	1,07	1,07	1,08	1,09	1,09

La plus grande valeur de densité vaut 1,09 qui correspondent aux solutions préparées avec un pourcentage de 27,5 et 30 % en lactose initial, mais restent des valeurs inférieurs à la densité du sirop du commerce.

La densité des solutions de lactulose résultante de la synthèse chimique par l'hydroxyde de calcium augmente progressivement en fonction de la concentration en lactose initiale.

#### IV.4.5 Dosage des solutions du lactulose préparées par la méthode de $\text{Ca(OH)}_2$

Les valeurs des absorbances obtenues pour tous les essais sont représentées dans le tableau N°19 (ci-dessous).

**Tableau 19 :** Absorbances des solutions de lactulose préparées avec la méthode de  $\text{Ca(OH)}_2$

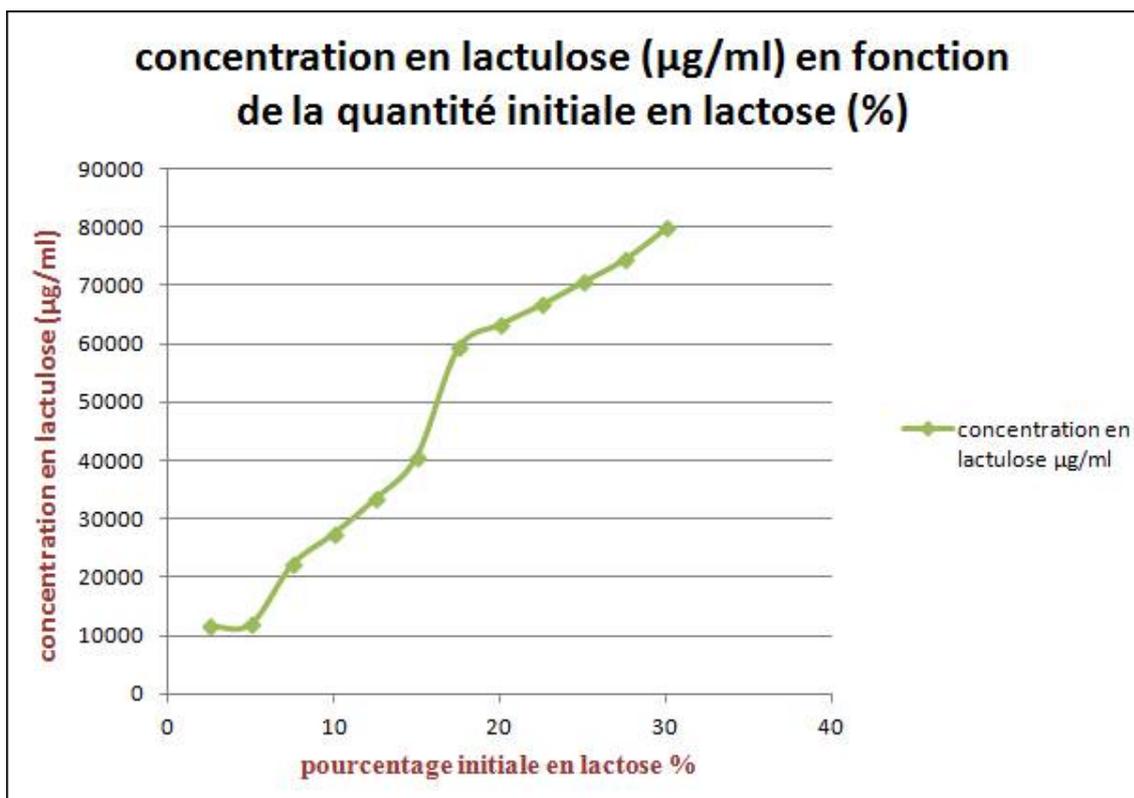
solutions	1	2	3	4	5	6
Absorbances	0,84	0,86	0,32	0,20	0,29	0,24
Solutions	7	8	9	10	11	12
Absorbances	0,21	0,23	0,24	0,25	0,43	0,46

## IV.4.5.1 Calcul de concentration en lactulose

Les concentrations en lactulose sont portées dans le tableau qui suit.

**Tableau 20** : Concentrations des solutions de lactulose préparées par la méthode de  $\text{Ca(OH)}_2$ .

Solutions	1	2	3	4	5	6
<b>Concentration en lactulose (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>	11675,98	11969,27	22206,70	27513,97	33519,55	40782,12
<b><math>C_0</math>concentration initiale en lactose (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>	25000	50000	75000	100000	125000	150000
<b>Rendement (en %)</b>	45,85	23,50	29,06	27,01	32,02	27,19
Solutions	7	8	9	10	11	12
<b>Concentration en lactulose (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>	58379,89	63407,82	66759,78	70670,39	74515,36	79870,40
<b><math>C_0</math>concentration initiale en lactose (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>	175000	200000	225000	250000	275000	300000
<b>Rendement (en %)</b>	33,36	31,70	29,67	28,27	27,10	26,62

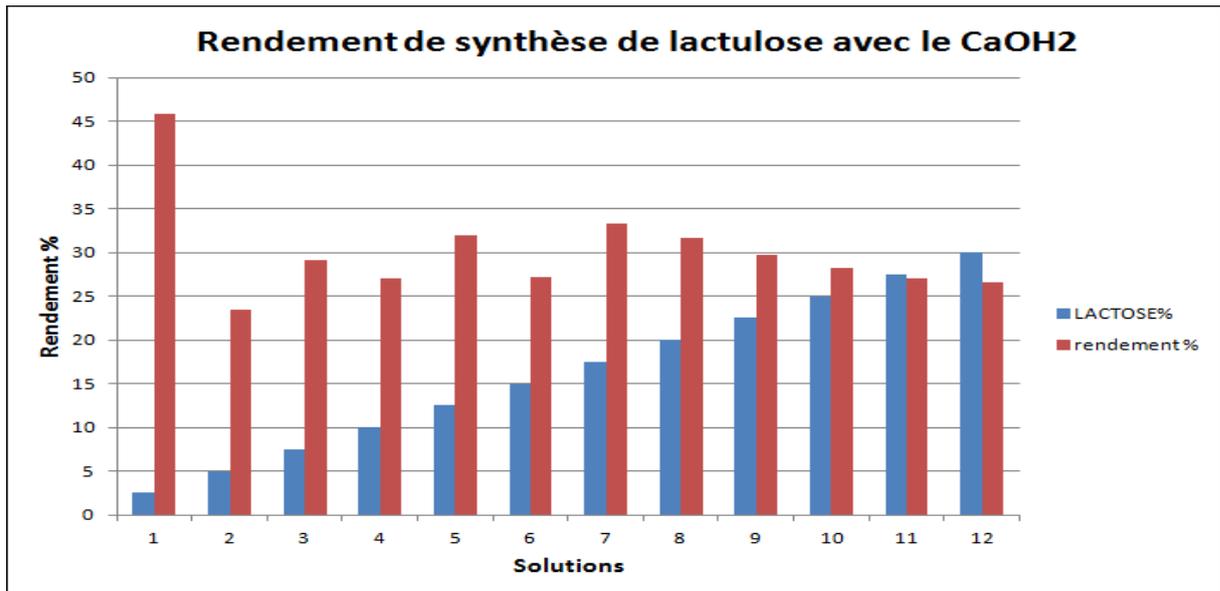


**Figure 20 :** Concentrations des essais en lactulose ( $\mu\text{g/ml}$ ) en fonction des concentrations initiales en lactose (%) obtenues par la méthode de  $\text{Ca(OH)}_2$ .

Nous pouvons constater que la concentration du lactulose augmente avec l'augmentation de la concentration initiale en lactose. Cette augmentation constante pour des valeurs du lactose de 2,5 et 5 % puis elle suit une allure progressive et continue. Le palier final n'est pas encore obtenu.

#### IV.4.5.2 Rendement des solutions du lactulose

Les rendements obtenus lors de cette synthèse sont représentés sous formes d'un histogramme illustré dans la figure N°21 (qui suit).



**Figure 21** : rendements en lactulose des solutions obtenues par l'isomérisation de lactose par l'hydroxyde de calcium.

Le rendement en lactulose est maximal (46,7%) pour la plus faible valeur de lactose (2,5%) et du catalyseur (0,058%), puis il devient presque constant (avoisinant les 30%) et ce quel que soit la teneur initiale du lactose. La variation des rendements est due peut-être à la particularité que représente la synthèse avec le  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  qui stipule que lors de synthèse par ce types de catalyseur, nous observons une augmentation des rendements puis un palier et enfin une diminution [71], ce qui a été obtenu dans notre cas.



## **CONCLUSION GENERALE**



## ***CONCLUSION GENERALE***

---

La technologie de production à échelle industrielle du lactulose est principalement basée sur la réaction d'isomérisation du lactose en milieu alcalin nécessitant des valeurs de pH supérieures à 9.

Les techniques classiques de synthèse de ce produit présentent plusieurs inconvénients, comme une purification chère et compliquée, ce qui fait que plusieurs études ont été munies pour développer de nouvelles méthodes d'obtention du lactulose. La réaction visée devrait idéalement accomplir plusieurs exigences : être une technique efficace (haut rendement de synthèse du produit), facile à manipuler, économique et éco-responsable.

Le présent projet est principalement orienté à étudier les méthodes d'isomérisation alcaline du lactose et développer une méthode efficace qui permettra de satisfaire aux critères de performance mentionnés et d'exploiter la méthode de dosage du lactulose par spectroscopie UV/V.

Pour cela, nous avons choisi d'étudier la réaction d'isomérisation du lactose en lactulose par des agents complexant (aluminates de sodium, triéthylamine et l'acide borique) et des agents alcalins( hydroxyde de sodium et l'hydroxyde de calcium) afin de choisir le meilleur catalyseur qui présente plusieurs avantages.

D'après les résultats obtenus 63.07%, 27.42%, 20%, 9% correspondants aux essais avec la méthode de la triéthylamine, aluminat de sodium, hydroxyde de sodium et hydroxyde de potassium (respectivement) nous pouvons conclure que nous avons obtenu des rendements intéressants avec la triéthylamine et les aluminates de sodium (63.07%, 27.42%) cependant, ces catalyseurs présentent un grand problème de purification, nécessitant des grandes quantités en catalyseurs. D'où le choix d'étudier le procédé d'isomérisation par le NaOH et le Ca(OH)<sub>2</sub> dont les techniques sont simples, faciles, non couteuses et rapides.

En effet, après avoir réalisé plusieurs essais nous avons choisi l'hydroxyde de sodium, qui a donné un rendement satisfaisant pour le ratio (catalyseur/ lactose) de 0.05.

À la lumière des résultats obtenus dans ce projet de master, il est possible de conclure que non seulement ce projet a permis clairement de prouver la faisabilité technique du concept d'isomérisation du lactose en lactulose, mais également nous avons contribué à l'avancement des connaissances dans le domaine de la synthèse des matières premières pharmaceutiques.

## ***CONCLUSION GENERALE***

---

Ce projet nous a permis aussi de mieux voir les éléments sur lesquels il serait pertinent de continuer la recherche afin de rendre cette synthèse encore mieux rentable dont nous citons :

- La concentration initiale du lactose et quantité du catalyseur: plus la quantité en lactose initial augmente plus ça nécessite des quantités plus grandes en catalyseur, et plus la concentration en lactose augmente plus la concentration en lactulose est meilleure, jusqu'à l'atteinte du seuil de saturation.
- le type du catalyseur : le rendement de la synthèse chimique du lactulose dépend en grande partie du type de catalyseur utilisé.
- pH initiale de la solution et la température d'isomérisation.

Pour ce nous recommandons d'utiliser les plans d'expérience afin d'optimiser les conditions opératoires et une mise en œuvre d'une méthode de purification pour séparer le lactulose synthétisé du catalyseur.

Cependant, il nous semble intéressant de signaler la présence d'autres sucres lors de la synthèse chimique du lactulose comme par exemple le fructose et le galactose à des pourcentages variables et qui peuvent être à l'origine des impuretés présentes dans le produit fini vu que l'étape de purification n'a pas été réalisée par manque de moyens et de temps.



# BIBLIOGRAPHIE



- [1] Aider, M., & Halleux, D. D. (2007). Isomerization of lactose and lactulose production: review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7)
- [2] brevet Européen NO 0189722. (1988). composition laxative à base de lactulose et procédé de préparation.
- [3] Zokaei, F., Kaghazchi, T., Zare, A., & Soleimani, M. (2002). Isomerization of lactose to lactulose—study and comparison of three catalytic systems. *Process Biochemistry*, 37(6), 629-635.
- [4] Penasar, P., S. Kumari, S. (2011). Lactulose: production, purification and potential applications. *Biotechnology advances*, 29, 940-948
- [5] Seki, N., Saito, H. (2012). Lactose as a source of lactulose and other functional lactose derivatives, 22, 110-115
- [6] Kim, Y., Park, C., Oh, D. (2006). Lactulose production from lactose and fructose by a thermostable  $\beta$ -galactosidase from *Sulfolobus solfataricus*. 39. 903-908
- [7] Liu, H., Zhang, S., Yu, A., Qu, L., Zhao, Y., Huang, H., Li, J. (2004). Studies on intestinal permeability of cirrhotic patients by analysis of lactulose and mannitol in urine with HPLC/ RID/ MS. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 14, 2339-2344.
- [8] Dendene, K., Guihard, L., Nicolas, S., & Bariou, B. (1994). Kinetics of lactose isomerisation to lactulose in an alkaline medium. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 61(1), 37-42.
- [9] Goldman, A. Hair, R. Liben, S. (2006). *Oxford manuel des soins palliatifs pour les enfants*. 2<sup>ème</sup> édition Oxford: Oxford University Press.
- [10] Helms, R. (2006). *Manuel thérapeutique : médicaments et la gestion des maladies*. 8<sup>ed</sup>. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins.
- [11] Crittenden, R.G., & Payne, M. J. (1996). Properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends Food Science Technology*, 7, 353-361
- [12] Pharmacopée Européenne 6.0
- [13] Jeffrey, G. A., Huang, D. B., Pfeffer, P. E., Dudley, R. L., Hicks, K. B., & Nitsch, E. (1992). Crystal structure and n.m.r. analysis of lactulose trihydrate. *Carbohydrate Research*, 226, 29-42.

[14] Tamura, Y., Mizota, T., Shimamura, S., Tomita, M. (1993). Lactulose and its application to the food and pharmaceutical industries. *International Dairy Federation Bulletin*, 289, 43-53

[15] Ruttloff, H., Taufel, A., Krause, W., Haenel, H., & Taufel, K. (1967). Enzymatic hydrolysis of galacto-oligosaccharides in the human and animal intestine with particular regard to *L. bifidus*. Behavior of lactulose in the intestine. *Nahrung*, 11, 39-46.

[16] Schumann, C. (2002). Medical, nutritional and technological properties of lactulose. An update. *European Journal of Nutrition*, 41, 17-25.

[17] Paik, Y.H., Lee, K.S., & Han, K.H. (2005). Comparison of Rifaximin and lactulose for the treatment of hepatic encephalopathy: a prospective randomized study. *Yonsei Medical Journal*, 46, 399-407

[18] Patil, D.H., Westaby, D., & Mahida, Y.R. (1987). Comparative modes of action of lactitol and lactulose in the treatment of hepatic encephalopathy. *Gut*, 28, 255-259.

[19] Strohmaier, W. (1998). Lactulose: status of health-related applications. *International Dairy Federation*, 9804, 262-271

[20] Tabatabaie, F., & Mortazavi, A. (2008). Influence of lactulose on the survival of probiotic strains in yogurt. *World Applied Sciences Journal*, 3, 88-90.

[21] Montero CM, Doderio MC, Sánchez DA, Barroso CG. Analysis of low molecular weight carbohydrates in food and beverages: a review. *Chromat* 2004;59:15–30

[22] Paroni R, Fermob I, Molteni L, Folini L, Pastore MR, Moscad A, Bosi E. Lactulose and mannitol intestinal permeability detected by capillary electrophoresis. *J Chromatogr B* 2006; 834:183–7.

[23] Mayer M, Genrich M, Künnecke W, Bilitewski U. Automated determination of lactulose in milk using an enzyme reactor and flow analysis with integrated dialysis. *Anal Chim Acta* 1996;324:37–45.

[24] Moscone D, Bernardo RA, Marconi E, Amine A, Palleschi G. Rapid determination of lactulose in milk by microdialysis and biosensors. *Analyst* 1999; 124:325–9.

[25] Abazia C, Ferrara R, Corsaro MM, Barone G, Coccoli P, Parrilli G. (2003) Simultaneous gaschromatographic measurement of rhamnose, lactulose and sucrose and their application in the testing gastrointestinal permeability. *Clin Chim Acta*;338: 25–32.

[26] D'Eufemia Celli M, Dommarco R, Finocchiaro R, Aprigliano D, Martino F, Cardi E,

- Giardini O. (1995). Rapid gas-chromatographic assay of lactulose and mannitol for estimating intestinal permeability. *ClinChem*;41(5):752–6.
- [27] M-Augustin O, Boza JJ, Romera JM, Gil A. (1995). A rapid gas-liquid chromatography method for the determination of lactulose and mannitol in urine. *ClinBiochem*; 28:401–5.
- [28] Montilla A, Moreno FJ, Olano A. (2005b). A reliable gas capillary chromatographic determination of lactulose in dairy samples. *Chromatography*; 62:311–4.
- [29] Shippee RL, Johnson AA, Cioffi WG, Lasko J, Levoyer TE, Jordan BS. (1992). Simultaneous determination of lactulose and mannitol in urine of burn patients by gas liquid chromatography. *ClinChem*; 38:343–5.
- [30] Ruiz-Matute AL, Sanz ML, Corzo N, Martin-Alvarez PJ, Ibanez E, Martinez-Castro I, Olano A. (2007). Purification of lactulose from mixtures with lactose using pressurized liquid extraction with ethanol–water at different temperatures. *J Agric Food Chem*; 55:3346–50.
- [31] Rodriguez H, Suchodolski JS, Berghoff N, Steiner JM. (2009) Development and analytic validation of a gas chromatography–mass spectrometry method for the measurement of sugar probes in canine serum. *Am J Vet Res*; 70:320–9.
- [32] Bao Y, Silva TMJ, Guerrant RL, Lima AAM, Fox JW. (1996). Direct analysis of mannitol, lactulose and glucose in urine samples by high-performance anion-exchange chromatography with pulse amperometric detection: clinical evaluation of intestinal permeability in human immunodeficiency virus infection. *J Chromatogr B*;685: 105–12
- [33] Brands CMJ, Boekel MAJS. (2003). Kinetic modelling of reactions in heated disaccharide casein systems. *Food Chem*;83:13–26.
- [34] Cha´vez-Servi´n JL, Castellote AI, Lo´pez-Sabater MC. (2004). Analysis of mono- and disaccharides in milk-based formulae by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. *J Chromatogr A*; 1043:211–5.
- [35] Cox MA, Iqbal TH, Cooper BT, Lewis KO. (1997). An analytical method for the quantitation of mannitol and disaccharides in serum: a potentially useful technique in measuring small intestinal permeability in vivo. *ClinChimActa*; 263:197–205.
- [36] Dendene K, Guihard L, Balannec B, Bariou B. (1995). Study of the separation of lactose, lactulose and galactose by liquid chromatography using cationic ion-exchange resin columns. *Chromatogr*; 41:561–7

- [37] Fleming SC, Kapembwa MS, Laker MF, Levin GE, Griffin GE. (1990). Rapid and simultaneous determination of lactulose and mannitol in urine, by HPLC with pulsed amperometric detection, for use in studies of intestinal permeability. *ClinChem*,; 36:797–9.
- [38] Marsilio R, D'Antiga L, Zancan L, Dussini N, Zacchello F. (1998). Simultaneous HPLC determination with light scattering detection of lactulose and mannitol in studies of intestinal permeability in pediatrics. *ClinChem*; 44:1685–91.
- [39] Nelofar A, Laghari AH, Yasmin A. (2010). Validated HPLC-RI Method for the determination of lactulose and its process related impurities in syrup. *Ind J Pharm Sci*; 72: 255–8.
- [40] Lee YJ, Kim CS, Oh DK. (2004). Lactulose production by  $\beta$ -galactosidase in permeabilized cells of *Kluyveromyceslactis*. *ApplMicrobiolBiotechnol*; 64:787–93.
- [41] Lostia AM, Lionetto L, Principessa L, Evangelisti M, Gamba A, Piavilla M, Simmaco M. (2008). A liquid chromatography/mass spectrometry method for the evaluation of intestinal permeability. *ClinBiochem*;41:887–92.
- [42] Thanawiroon C, Rice KG, Toida T, Linhard RJ. (2004). Liquid chromatography/mass spectrometry sequencing approach for highly sulfated heparin-derived oligosaccharides. *J BiolChem*; 279:2608–15.
- [43] Jayalakshmi K, Ghoshal UC, Kumar S, Misra A, Roy R, Khetrpal CL. (2009). Assessment of small intestinal permeability using <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy. *J Gastrointest Liver Dis* ; 18:27–32.
- [44] Mayer J, Conrad J, Klaiber I, Lutz-Wahl S, Beifuss U, Fischer L. (2004). Enzymatic production and complete nuclear magnetic resonance assignment of the sugar lactulose. *J Agric Food Chem*;52:6983–90.
- [45] Amine A, Moscone D, Palleschi G. (2000a). Rapid determination of lactulose in milk using Seliwanoff's reaction. *Anal Lett*; 33:125–35.
- [46] Khan MA, Iqbal Z, Jan MR, Shah J, Ahmad W, Haq ZU, Obaidullah. (2006). A spectrophotometric method for quantitative determination of lactulose in pharmaceutical preparations. *Journal of analytical chemistry*. 61, 1, Vol. 61, pp. 32-36.
- [47] MarconiE, MessiaMC, AmineA, MosconeD, Vernazzad F, Stocchi F, PalleschiG. (2004). Heat-treated milk differentiation by a sensitive lactulose assay. *Food Chem*;84:447–50.
- [48] Nagendra R, Rao SV. (1992). An improved colorimetric method for the estimation of lactulose in lactose–lactulose mixtures. *Food Chem*;43:399–402.

- [49] Zhang Z, Wang H, Yang R, Jiang X. (2010) A novel spectrophotometric method for quantitative determination of lactulose in food industries. *Int J Food Sci Technol*;45: 258–64.
- [50] Flick JA, Schnaar RL, Perman JA. (1987). Thin-layer chromatographic determination of urinary excretion of lactulose, simplified and applied to cystic fibrosis patients. *Clin Chem*; 33:1211–2
- [51] Martinez-Castro I, Olano A. (1981). Ready detection of small amount of lactulose in dairy products by thin-layer chromatography. *Chromatographia*;14:11–2 A
- [52] Lenny Maritza Quiroga Espitia. (2016). Isomérisation du lactose en lactulose en solution modèle de lactose dans un perméat de lactosérum par électroactivation supporté par échange ionique sur résine. *Maitrise en génie agroalimentaire : université Laval, Quebec, CANADA.*
- [53] Fonseca, E. (2009). Métodos no enzimáticos de isomerización de aldosas a cetosas. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. Vol 12 66-74*
- [54] Gimenez-Vidal, M. (2013). Isomérisation du Lactose en Lactulose par électroactivation. *Mémoire de Maître en sciences. Université Laval. Québec, Canada. Chapitre 1-3, 2-103.*
- [55] <http://www.sciences-en-ligne.com/DIST/Data/Ressources/lic2/chimie/chimie-exp/absorptionmetrie/sommaire.htm>. Consulté le 28 Juillet 2016.
- [56] Russian patent No 73744626 (1980). Method for lactose/lactulose syrup production.
- [57] De la Fuente, M., Juárez, M., de Rafael, D., Villamiel, M., & Olano, A. N. (1999). Isomerization of lactose catalyzed by alkaline-substituted sepiolites. *Food Chemistry*, 66(3), 301-306.
- [58] Villamiel, M., Corzo, N., Foda, M.I., Montes, F., & Olano, A. (2002). Lactulose formation catalysed by alkaline-substituted sepiolites in milk permeate. *Food Chemistry*, 76(1), 7-11.
- [59] Patent of Austria No 288595 (1971). Method for lactulose concentrates production.
- [60] U.S. Patent No 4536221 (1985). Process for preparing lactulose from lactose, in the form of syrup or a crystalline product.
- [61] U.S. Patent No 4957564 (1990). Process for preparing lactulose from lactose by epimerization with sodium aluminate.
- [62] US patent No 4273922 Ketoses sugars from aldoses sugars 1981.

- [63] Mizota, T., Tamura, Y., Tomita, M., & Okonogi, S. (1987). Lactulose as sugar with physiological significance. *International Dairy Federation Bulletin*, 212, 69-76.
- [64] Russian Patent No 2101358 (1998). Method for lactulose syrup production.
- [65] Hramstov, A. G., Sinelnokov, B. M., Evdokimov, I. A, Piabtsova, S. A., & Serov, A. V. (2004). Scientific fundamentals of lactulose technology (pp. 637.147e637.247). UDK: VestnikSevero-Kavkazsky State University.
- [66] Panesar, P.S., Panesar R, Singh, R.S., Kennedy, J.F, & Kumar, H. (2006). Microbial production, immobilization and applications of  $\beta$ -D-galactosidase. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 81, 530-543.
- [67] ] Seo, Y. H., Sung, M., Han I. J. (2016). Lactulose Production from Cheese Whey Using Recyclable Catalyst Ammonium Carbonate. *Food Chemistry*, 197, 664–669.
- [68] Idris I, Medjene I. 2003. dosage d'un Sucre compose par UV visible comparé méthodes. Faculté des sciences .université MOULOUD MAMMERI. TIZI OUZOU
- [69] Cherifi C. Ould Mahamed A. 2014. Mise au point et validation d'une méthode de dosage du lactulose dans un produit fini sirop par spectrophométrie UV/Visible. Faculté des sciences. Tizi-Ouzou.
- [70] Rouessac , F. Rouessac, A. (2009). *Analyse chimique méthodes et techniques expérimentale*. 7<sup>eme</sup> édition. Paris. DUNOD.
- [71] Ryabtsova, S.A. (1992). Improvement of lactulose technology. Master of Science thesis. Stavropol University (Russia).



# ANNEXE



## Annexe1 : Classification des sucres

Les glucides sont habituellement répartis entre :

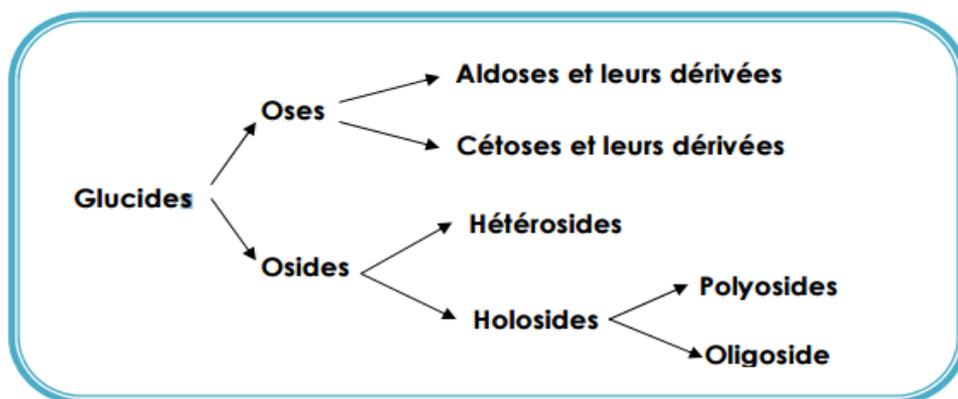
**Ose** : appelé aussi sucre simple ou monosaccharides

- Il est non hydrolysable et porte la plupart du temps, de 3 à 7 carbone.
- C'est un polyol qui porte au moins 2 fonctions alcools dont l'une au moins est une fonction alcool primaire, et une fonction réductrice carbonylée, soit :
  - Aldéhyde (-CHO) dans ce cas l'ose est un aldose
  - Ou cétone (C=O) dans ce cas l'ose est une cétose

**Osides** : sucre hydrolysable, il peut être :

- **Holoside** : son hydrolyse ne libère que des oses. On distingue les :
  - **Oligoside** (oligosaccharides) : association de 2 à 10 oses par des liaisons osidiques
  - **Polyoside** (polysaccharides) : polymères formés de 10 à plusieurs milliers d'oses
- **Hétéroside** : son hydrolyse libère des oses et des composés non glucidiques (aglycone).

Des chaînes glucidiques peuvent être fixées, par voie chimique ou enzymatique sur des lipides ou des protéines : ces dérivés sont regroupés sous le terme de glycoconjugués.



**Figure 1** : classification des glucides.

## 1. Les oses

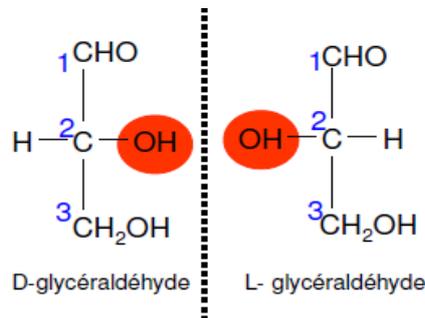
Ce sont les unités structurales entrant dans la composition de glucides plus complexes les (osides) . Les oses les plus simples ont trois carbones et l'on distingue un aldotrioses (le glycéraldéhyde) Et une cétotriose (la dihydroxyacétone)

### 1.1 Nomenclatures des oses

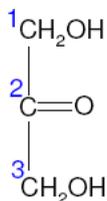
La nomenclature des oses s'effectuent en précisant la nature de l'anomère ( $\alpha$  et  $\beta$ ) l'appartenance à la série D ou L, le pouvoir rotatoire suivi du nom de l'ose.

### 1.2 Isomérisation des oses

Tous les oses à l'exception du dihydroxyacétone possèdent dans leurs structures un ou plusieurs carbones asymétriques C\*, Ils peuvent ainsi avoir un ou plusieurs stéréo-isomères possibles, dont le nombre est égale



**Figure 2** : représentation de Fisher de D-glycéraldéhyde et L-glycéraldéhyde



**Figure 3** : représentation de Fisher de la dihydroxyacétone

Le carbone 2 du glycéraldéhyde est un carbone asymétrique puisqu'il porte quatre substituant différents .il existe donc deux stéréo-isomères de configurations le D-glycéraldéhyde et le L-glycéraldéhyde

Tous les oses dérivant du glycéraldéhyde dextrogyre ont été dits appartenir à la série D et tous ceux provenant du glycéraldéhyde lévogyre ont été dits appartenir à la série L

Deux épimères sont deux isomères ne différant que par la configuration absolue d'un seul C\* (image non superposable dans un miroir).

**Exemple** : D-glucose et D-galactose, D-glucose et D-mannose

## 2. Osides

Les osides sont des polymères d'oses parmi lesquels on distingue les hétérosides dont l'hydrolyse libère des oses et des composés non glucidiques (aglycone), les holosides dont l'hydrolyse ne libère que des oses.

### 2.1 Holosides

Selon le nombre de molécules d'oses libérées lors de l'hydrolyse, on distingue des diholosides, tri holosides, polyholosides, etc.

On distingue deux types de diholosides naturels, selon la façon dont sont liées les deux molécules d'oses :

- Les diholosides réducteurs (maltose, lactose)
- Les diholosides non réducteurs (saccharose)

#### 2.1.1 Oligosides

Oligosides ou oligoholosides sont des holosides qui résultent de la condensation de deux à dix molécules d'oses par formation entre chacune d'elles d'une liaison appelée liaison osidique ou liaison glycosidique.

#### 2.1.2 Polyholosides

Les polyholosides, ou polyosides, ou polysaccharides, sont formés par condensation d'un grand nombre de molécules d'oses, le nombre d'oses est compris entre quelque dizaine et plusieurs centaines de milliers

### 2.2 Hétérosides

La fonction semi-acétique d'un ose peut réagir avec un composé qui n'est pas de nature glucidique, on obtient alors un hétéroside.

## Annexe2 : Représentation en projection de Fisher

La molécule est représentée dans un plan, par projection en respectant les règles suivantes :

- le carbone asymétrique est placé dans le plan de projection (la feuille)
- la chaîne carbonée la plus longue est verticale et en arrière du plan de projection.
- le carbone en haut de la chaîne est celui qui est à l'état d'oxydation le plus élevé, si les carbones aux extrémités sont dans le même état d'oxydation, celui qui porte le numéro 1 est placé en haut.
- les deux autres substituant non carbonés du carbone asymétrique sont en avant du plan de projection

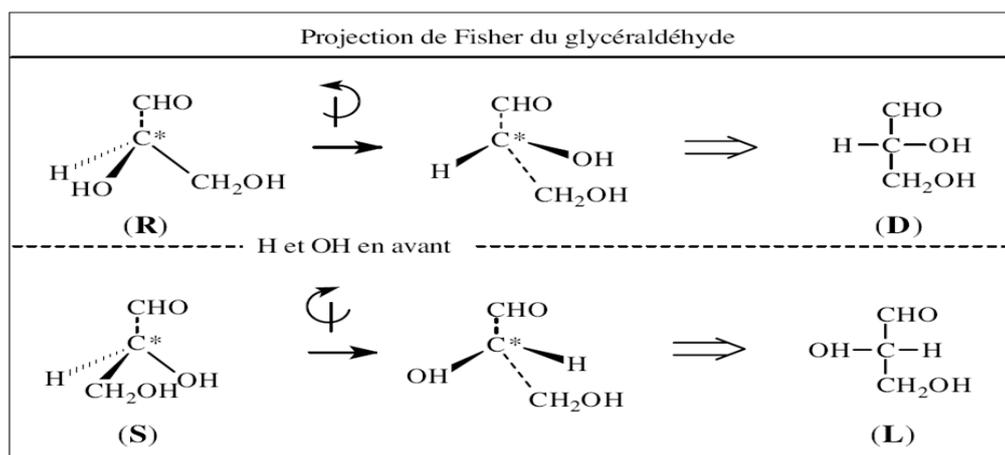


Figure 4 : Projection de Fisher des glycéraldéhydes

## Annexe 3 : Pouvoir optique

En solution les énantiomères d'une molécule portant un carbone asymétrique présentent des propriétés optiques différentes

- Si la substance dévie le plan de polarisation vers la droite elle est dite dextrogyre, et le pouvoir est affecté du signe (+)
- Si la substance dévie le plan de polarisation vers la gauche elle est dite lévogyre, et le pouvoir est affecté du signe (-)

## Annexe 4 : Structure cyclique

En solution, les oses existent essentiellement sous plusieurs formes cycliques. La forme linéaire est très minoritaire par rapport aux formes cycliques.

La fonction aldéhydique ou cétonique d'un monosaccharide peut réagir avec une fonction alcool pour former un héli acétal interne conférant à la molécule une structure cyclique.

En fait, on a ainsi crée un cycle de six cotés si le pont se fait entre les carbones 1 et 5, de cinq côtés si le pont se fit entre les carbones 1 et 4.

Nous avons donc un nouveau carbone asymétrique (carbone 1 dans le cas des aldoses, carbone 2 dans le cas des cétooses) et, selon la position de l'hydroxyle porté par ce carbone, on aura l'isomère  $\alpha$  ou  $\beta$ .

- $\alpha$  : OH (du C n°1, du carbonyle) du même coté que le OH de la série
- $\beta$  : OH (du C n°1, du carbonyle) du coté opposé du OH de la série

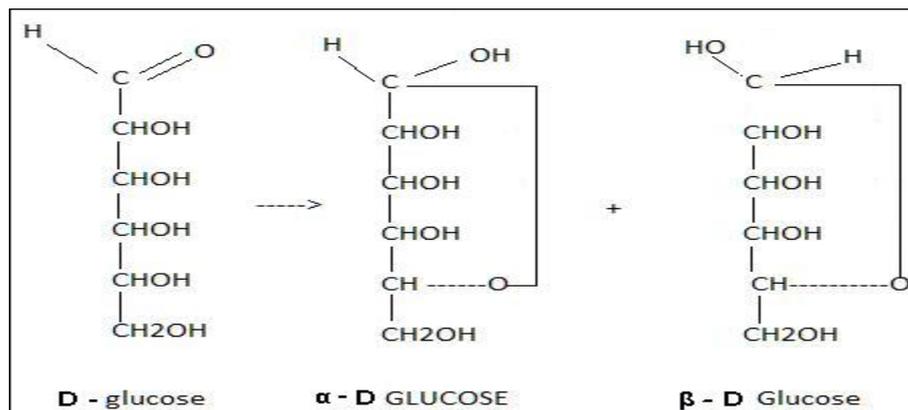


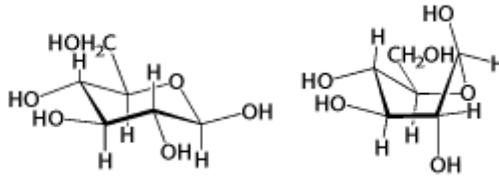
Figure 5:  $\alpha$ -D-glucose et le  $\beta$ -D-glucose sont des anomères.

Ces hétérocycles sont bien connus en chimie organique. On les appelle : pyranne (cycles hexagonal), dans le cas des aldohexoses, et furane (cycle pentagonal) dans le cas des cétohexose.



Figure 6 : formes cyclique du furane et pyranne

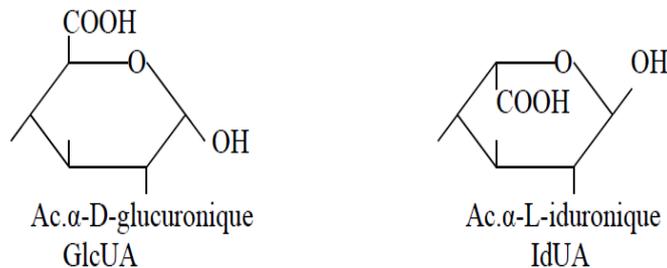
En réalité, le cycle hexagonal n'est pas plan : en raison des angles de valence de l'atome de carbone, le cycle pyranique prend une conformation en chaise ou en bateau



**Figure 7** : conformation chaise et bateau

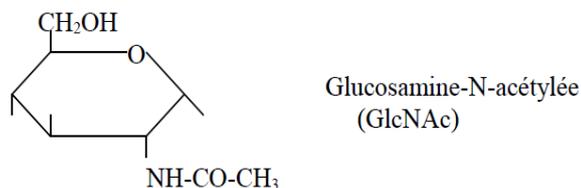
## Annexe 5 : Dérivés d'oses

- Acides uronique** : dérivent des aldoses par oxydation de la fonction alcool primaire en fonction carboxylique, l'acide D-glycuronique est l'un des acides uroniques les plus répandus.



**Figure 8** : acide uronique

- Osamines** : ces composés ressemblent aux oses, ils se différencient, par le remplacement sur le carbone 2, du radical alcool par un radical aminé :  $\text{NH}_2$  chez les aldoses et sur le carbone 1 chez les cétooses.

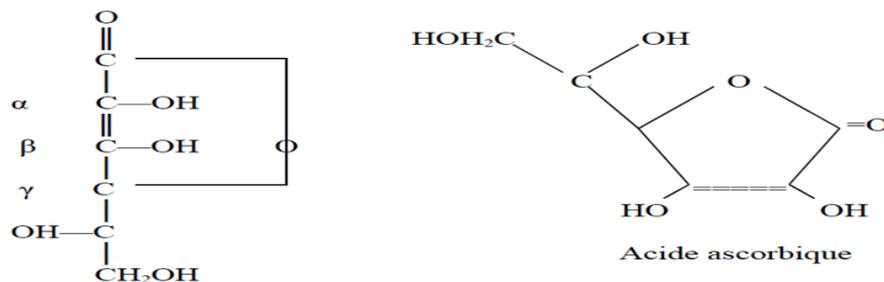


**Figure 9** : structure du Glucosamine-N- acétylée

- Les 6-désoxyhexoses** : la structure du fructose dérive de celle du L- galactose par réduction de l'alcool primaire
- Acide neuraminique** : cétoose substitué de neuf carbones il est combiné à un acyle pour former un acide sialique dont le principal est l'acide N-acétylneuraminique.

5. **Désoxyribose** : ce composé ressemble au ribose mais le carbone 2 est réduit, le désoxyribose est un constituant de l'acide désoxyribonucléique
6. **Acide ascorbique (vitamine C)** : C'est une vitamine hydrosoluble. Seule la forme L est active C'est un monoacide car elle a un seul H mobile. Sa fonction ènediol est caractéristique. Elle possède un pouvoir très réducteur. Elle est donc facilement oxydable en acide déhydroascorbique qui est aussi biologiquement actif. La vitamine C est indispensable car elle n'est pas synthétisée par l'organisme

Chez l'homme. Sa carence conduit au scorbut, Sa carence entraîne des anomalies de la synthèse du collagène et la fragilité des parois Vasculaires



## Annexe 6 : Propriété des oses

### 1. Propriétés chimiques

Leurs propriétés chimiques sont caractéristiques des groupements hydroxyles alcooliques et des groupements carbonyles.

#### 1.1 En milieu acide

Le furfural et ses dérivés se condensent avec divers molécules, tels les phénols et les amines cycliques. Pour donner des produits colorés permettant le dosage des oses parmi les composés les plus employés, on peut citer :

- l'a-naphtol donne une coloration rouge violacé : réaction de Molish.
- le résorcinol en milieu acide et à chaud donne une coloration rouge : réaction de Seliwanoff qui est une réaction spécifique aux cétoses.

- l'orcinol donne une teinte bleu violacée, en milieu acide, caractéristique des pentoses

## 1.2 En milieu alcalin

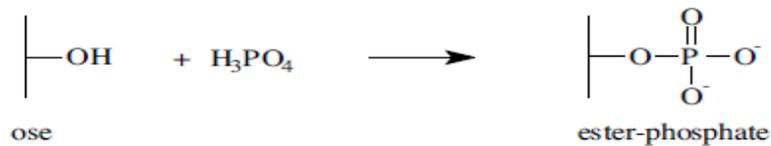
- A froid, les oses donnent une interconversion
- A chaud la dégradation de l'ose est totale

### 1.2.1 Réduction des oses

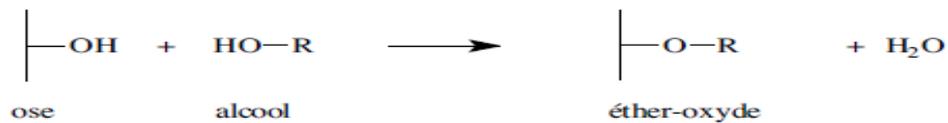
Les aldoses et les cétooses sont susceptibles de réduction catalytique sur leur groupement carbonyle par voie chimique par les borohydrures alcalins, ou par voie enzymatique,

### 1.2.2 Estérification et étherification

Les acides estérifient les fonctions alcools :



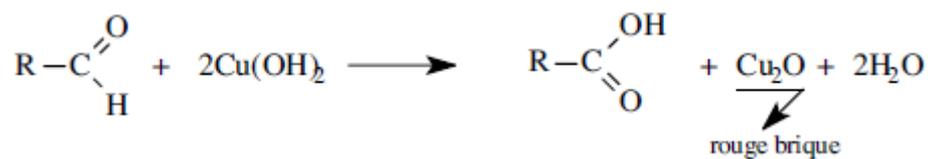
Les hydroxyles donnent avec des alcools des éthers-oxydes :



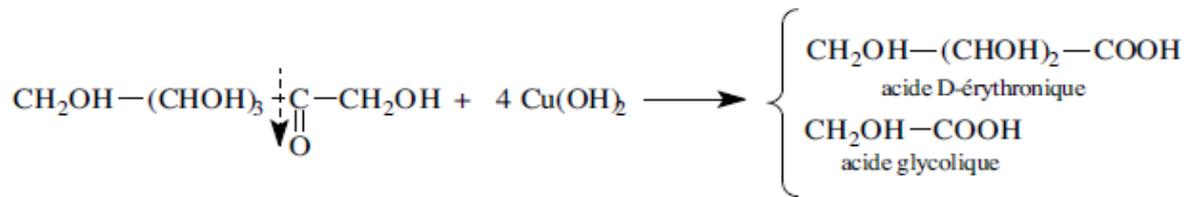
## 1.3 Oxydation des oses

- l'oxydation par l'iode en milieu basique
- réaction avec la liqueur de Fehling en milieu basique :

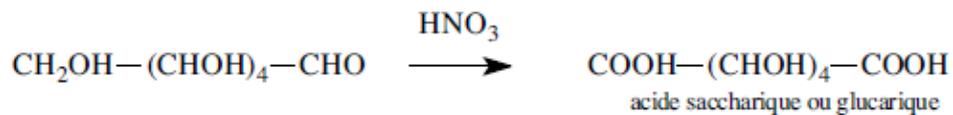
Aldose



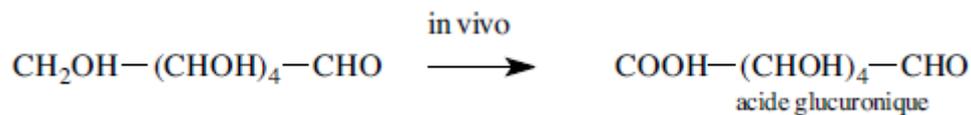
Cétose



- oxydation par l'acide nitrique : La fonction alcool primaire et la fonction aldéhyde sont oxydées en fonction acide



- oxydation in vivo de fonction alcool primaire



## 2 Propriétés physiques

### 2.2 mutarotation (cas du D-Glucose)

Le glucose (glucopyranose ou glucofuranose) peut se présenter sous 2 formes avec des pouvoirs rotatoires différents :  $\alpha$ -D-Glc,  $\beta$ -D-Glc. La modification du pouvoir rotatoire s'appelle la mutarotation.

### 2.3 Indice de réfraction

Le RI varie avec la nature du composé, la température, la longueur d'onde, et la concentration du composé. En tenant constante les trois premières variables, la concentration peut être déterminée en mesurant le RI.

-action des bases diluées : les bases diluées provoquent des inters conversions d'oses

### 2.4 Solubilité et cristallisation

Les oses sont très solubles dans l'eau .ils cristallisent difficilement en solution aqueuse, mais cette cristallisation est favorisée par la présence d'un alcool. ils n'absorbent pas dans l'ultraviolet, mais possèdent un spectre infrarouge caractéristique.