

Carences en fer et complexes de coordination

Cyprien Kutek

Rapport de TIPE - 2024

Des annexes sont disponibles en fin de rapport.

1 Introduction

Près de 20% de la population mondiale est aujourd'hui touchée par une carence en fer [1]. D'une simple fatigue passagère à un affaiblissement global du système immunitaire, les conséquences d'une carence en fer sont variables, et dépendent de nombreux facteurs : sexe, âge, alimentation, ... Ces carences touchent particulièrement les femmes, et peuvent être handicapantes au quotidien, en particulier chez les sportives de haut niveau, dont on estime que près de 15 à 35% en sont atteintes [2].

La première des solutions pour palier à une carence en fer est d'adopter une alimentation saine et équilibrée. Toutefois, dans certains cas, cela ne suffit pas: il faut prendre régulièrement des compléments alimentaires à base de fer. Dans certaines régions du globe, l'accès à ces compléments est difficile, et leur fiabilité est incertaine [3].

Dans ce rapport, nous nous intéresserons à différentes méthodes pour tester la teneur en fer de compléments alimentaires. Les complexes de coordination, généralement colorés, présentent un avantage notable pour cette analyse car la teinte d'une solution contenant un complexe peut nous renseigner sur sa concentration en fer. Nous utiliserons des complexes de coordination pour notre étude, en présentant deux approches complémentaires : une méthode quantitative et précise, ainsi qu'une méthode qualitative plus facilement reproductible à grande échelle.

2 Exploitation d'un premier complexe : la ferroïne

2.1 Présentation du complexe

La ferroïne est un complexe de géométrie ML_3 , de couleur rouge vive. Ce complexe est généralement utilisé en tant qu'indicateur coloré lors de titrages. Le métal central est Fe^{2+} , relié à trois ligands orthophénantroline. Il est important que le fer soit au degré d'oxydation +II dans notre étude car c'est sous cette forme qu'il est commercialisé dans les compléments alimentaires.

Le ligand orthophénantroline (o-phen) est un composé relativement cher (8 à 12 €/g) et toxique à la fois pour l'homme et pour l'environnement [4]. Il s'agit d'un ligand bidentate. Le Fe(II) est disponible naturellement et n'est pas toxique.

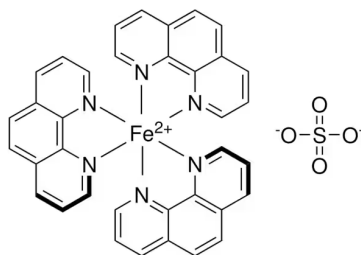


Figure 1: Ferroïne, $[[Fe(o-phen)_3]SO_4]$

2.2 Dosage par étalonnage

Une première méthode pour déterminer la teneur en fer d'un complément alimentaire consiste à réaliser un dosage par étalonnage, à partir de solutions contenant de la ferroïne pour des concentrations en Fe(II) différentes, avec un excès de ligand afin de s'assurer de la formation quantitative du complexe. L'analyse photométrique de la ferroïne est adaptée à 510nm. On utilise la loi de Beer-Lambert,

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

où A désigne l'absorbance de la solution étudiée, ϵ le coefficient d'absorption molaire, l la longueur de la cuve, et c la concentration en complexe.



Figure 2: 8 fioles jaugées utilisées

Fiole n°	1	2	3	4	5	6	7	8
Co (μM)	57,6	48,3	43,2	38,4	33,6	19,2	9,60	4,80

Figure 3: Numérotation des fioles et concentrations en complexe

Chaque fiole a été réalisée comme suit :

- 1) Introduction d'un volume connu de sel de Mohr à 2.10^{-4} mol/L.
- 2) Introduction d'un excès d'orthophénantroline de sorte à ce que tout le Fe(II) introduit soit complexé
- 3) Complétion avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

Je dispose ainsi de 8 fioles étalons dont la concentration en $[\text{Fe}(\text{o-phen})_3]\text{SO}_4$ est connue: le tracé de l'absorbance à 510nm en fonction de la concentration en complexe est ci-contre, complété par des barres d'incertitudes relatives aux concentrations. L'incertitude est évaluée à $1\mu\text{M}$, et un traitement des incertitudes de type B à l'aide de la procédure Monte-Carlo nous permet d'obtenir les z-scores correspondants. Afin d'exploiter quantitativement ces résultats, je prends 3 comprimés de Tardyferon 50mg. J'écrase ces comprimés, contenant du Fe(II), je les dissout dans de l'eau distillée et j'ajoute un excès d'orthophénantroline. On va ainsi remonter à la concentration en fer dans les solutions en mesurant leur absorbance, et donc remonter à la masse en fer dissoute pour conclure.

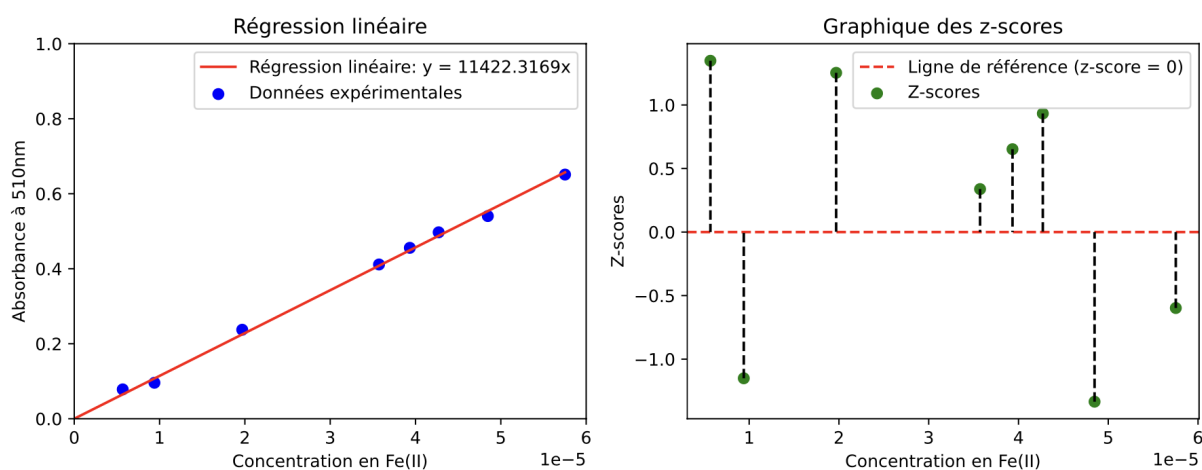


Figure 4: Résultats du dosage et z-scores.

On remarque que les points sont répartis aléatoirement autour de la droite moyenne, et que tous les z-scores sont compris entre -2 et 2: on peut donc valider ici notre modèle linéaire.

Les absorbances mesurées pour chaque comprimé étaient : $A_1=0.963$, $A_2=0.959$ et $A_3=0.966$. L'exploitation de la régression nous donne alors $m_1=49.3\text{mg}$, $m_2=49.2\text{mg}$ et $m_3=49.4\text{mg}$. La formule de propagation des incertitudes donne $u_m=0.4\text{mg}$. Le z-score est défini tel que:

$$z = \frac{\overline{m_{\text{exp}}} - m_{\text{tab}}}{u_m}$$

où $\overline{m_{\text{exp}}} = 49.3\text{mg}$, masse moyenne mesurée expérimentalement, et $m_{\text{exp}} = 50\text{mg}$. Le calcul donne ici $z=1.6 < 2$, donc les données expérimentales sont cohérentes avec les données indiquées sur l'emballage du Tardyferon 50mg.

2.3 Caractérisation quantitative de la ferroïne : méthode de Job

2.3.1 Principe de la méthode

Dans cette partie, on cherche à retrouver expérimentalement la stœchiométrie de la ferroïne, afin d'obtenir un autre résultat quantitatif sur nos travaux. Pour cela, on va utiliser la méthode de Job, mise en œuvre ici selon le protocole suivant:

1) On réalise une solution (S_1) d'orthophénantroline et une solution (S_2) de sel de Mohr (Fe^{2+} , SO_4^{2-}), à des concentrations connues, mais dont le détail nous intéresse finalement peu car nous allons les diluer.

2) On réalise 11 échantillons suivant un gradient de concentration en métal et en ligand, de sorte à ce que la concentration totale soit constante, égale à $c_0=2.0 \times 10^{-4}\text{M}$.

3) On trace l'absorption de ces solutions en fonction du pourcentage en métal introduit en leur sein. On obtient deux portions de courbes : l'une correspond au cas où le métal est le réactif limitant pour la réaction (supposée totale) de formation du complexe (portion de gauche de la figure 5), et l'autre correspond au cas où le ligand orthophénantroline est limitant (portion de droite de la figure 5).

4) On relève le point d'intersection entre ces deux droites, nous donnant accès à la valeur de n par un calcul détaillé juste après. Un traitement des incertitudes de type B et le calcul du z-score permet enfin de conclure sur la stœchiométrie de la ferroïne (on s'attend à $n=3$).

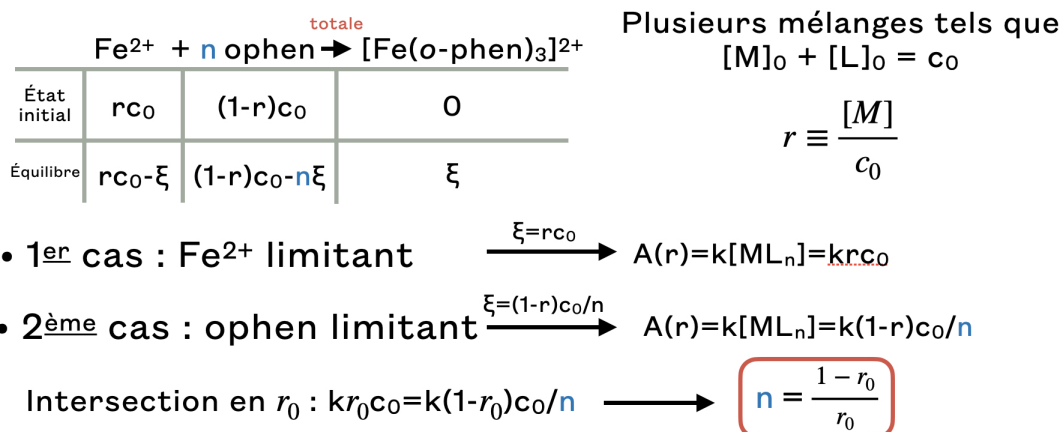


Figure 5: Principe de la méthode de Job , appliquée à la ferroïne

2.3.2 Mise en oeuvre expérimentale

En pratique, j'ai choisi de réaliser ces 11 échantillons avec les valeurs suivantes:

Tube n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
VS ₁ /mL	2	3	4	5	6	7	7,5	8	8,5	9	9,5
VS ₂ /mL	8	7	6	5	4	3	2,5	2	1,5	1	0,5

Figure 6: Valeurs utilisées pour réaliser la méthode de Job

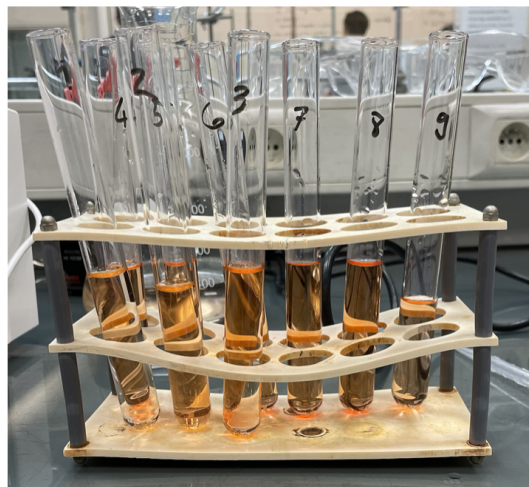


Figure 7: 9 des 11 tubes à essais

De cette façon, j'obtiens deux portions de droites bien marquées après avoir fait des régressions linéaires. L'intersection entre les deux portions de droites est en $r_0=(0.2351\pm 0.01)$. Sachant que :

$$n = \frac{1 - r_0}{r_0}$$

En combinant avec la formule de propagation des incertitudes, il vient: $n_{exp}=(3.25\pm 0.18)$. Le calcul du z-score, avec $n_{theorique}=3$ donne $z=1.39 < 2$, on peut ainsi raisonnablement affirmer que les résultats expérimentaux sont en accord avec la théorie.

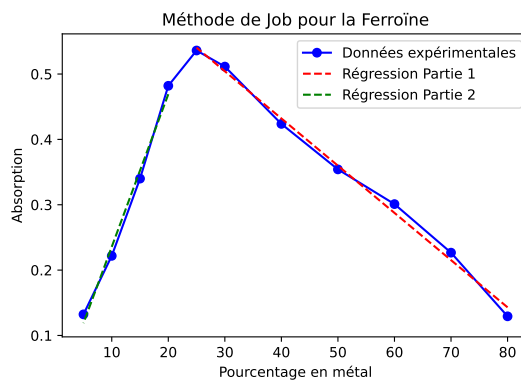


Figure 8: Graphe obtenu expérimentalement

2.3.3 Discussion des résultats

La méthode de Job ici donne des résultats satisfaisants. Observons toutefois que ces résultats sont discutables, et que la valeur de r_0 dépend des points pris en compte dans le tracé des droites moyennes, respectivement en vert et rouge dans la figure 8. Le choix ici a été fait de sorte à ne pas prendre en compte le point d'absorbance maximale, qui n'est ni vraiment à l'une ou l'autre portion de courbe. L'incertitude sur r_0 a donc été calculée en prenant en compte cette variabilité de l'abscisse du point, dépendant de la prise en compte ou non de ce point d'absorbance maximale.

3 Une alternative verte à o-phen : la curcumine

3.1 Présentation du ligand et état de l'art

La curcumine est le pigment principal du curcuma, une épice originaire d'Asie du Sud. Ce composé est d'une couleur orangée caractéristique, et ses deux fonctions cétones lui permettent de former des complexes avec différents métaux, à divers degrés d'oxydation. En particulier, la curcumine peut former des complexes avec le Fe(II) et le Fe(III) de façon quantitative [5]. Ces complexes sont de couleur bleu nuit. L'objectif de cette partie est d'exploiter cette coloration afin de déterminer la teneur en fer d'un complément alimentaire.

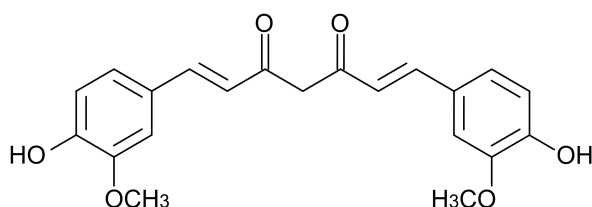


Figure 9: Curcumine (forme cétonique)

Le curcuma est une matière première accessible et peu coûteuse (5 à 10€/kg). La curcumine, son pigment principal, est une molécule naturelle et sans aucun effet néfaste sur la santé.

La littérature répertorie une méthode pratique pour la détermination d'une concentration en Fe(III) inconnue, en exploitant la formation du complexe Cur-Fe(III) [5]. J'ai cherché dans cette partie à m'inspirer de cette publication pour l'adapter à notre situation sur deux points :

- 1) Modification du métal central: Fe^{2+} au lieu de Fe^{3+} , car le fer est présent au degré d'oxydation +II dans les compléments alimentaires
- 2) Adaptation du protocole pour l'adapter à la détermination de la teneur en fer d'un complément alimentaire.

3.2 Extraction et caractérisation de la curcumine

La curcumine peut être extraite à l'aide d'un extracteur de Soxhlet, en plaçant du curcuma dans la cartouche, et en prenant un solvant adapté. J'ai choisi ici l'acétone, polaire et protique comme la curcumine. Afin de récolter un maximum de produit possible dans le ballon, j'ai laissé tourner le montage pendant 14h.

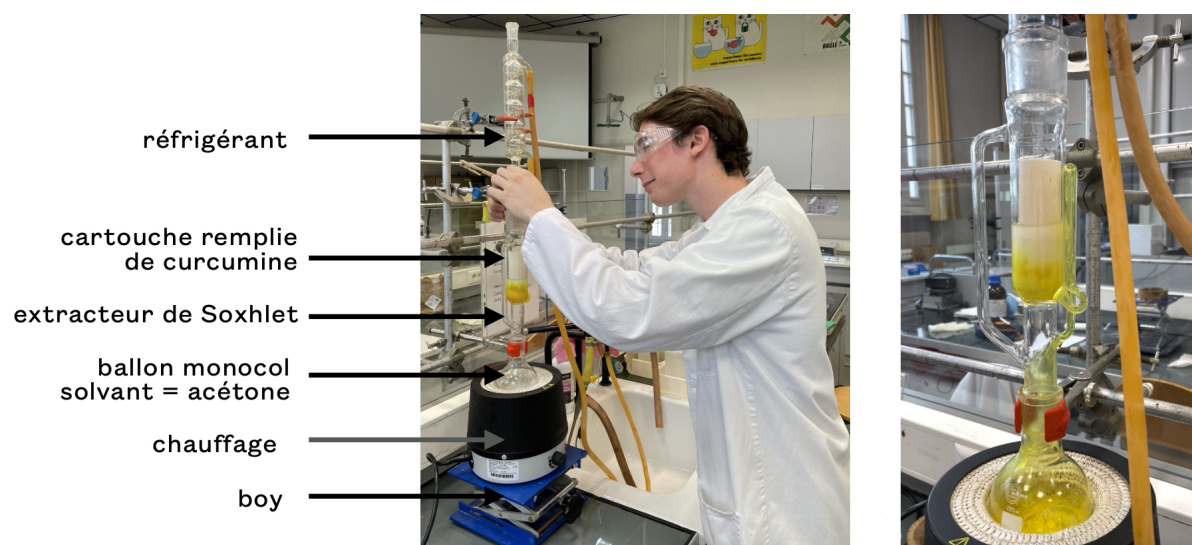


Figure 10: Extraction de la curcumine

. Une fois la curcumine extraite, elle n'est pas seule en solution: d'autres composés aux structures

proches, appartenant à la famille des curcuminoïdes sont présents en solution. Ce n'est pas vraiment un problème, car ces composés disposent des mêmes effets chélatants que la curcumine. J'ai toutefois tenu à caractériser la présence de curcumine dans la solution obtenue, par deux approches: d'abord par une chromatographie sur couche mince (CCM) et par la réalisation d'un spectre RMN ^1H . L'objectif est d'obtenir un résultat quantitatif à comparer avec la littérature.

Pour la CCM, une publication recense la tâche caractéristique de la curcumine dans un solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ en proportions massiques 97:3 [6]. J'ai donc reproduit ce solvant, et placé la curcumine obtenue après évaporation de l'acétone et dilution sur une plaque de silice. Les résultats obtenus sont cohérents : j'obtiens des rapports frontaux similaires à ceux disponibles dans la littérature.

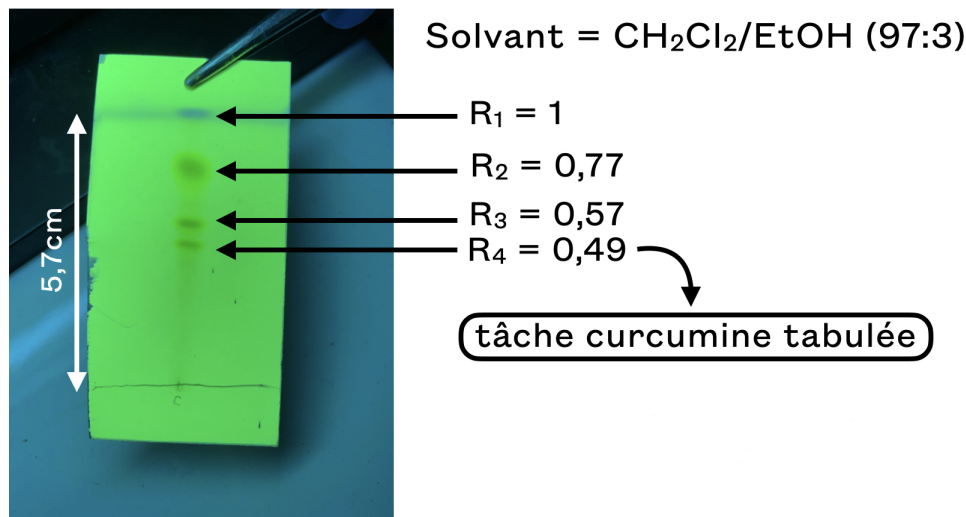


Figure 11: Révélation sous UV de la CCM

Une seconde façon de caractériser la solution obtenue, et donc de confirmer la présence de curcumine, consiste en la réalisation d'un spectre RMN. Pour cela, j'ai contacté Pr.Benoît Colasson (Université Paris-Cité), qui m'a accueilli dans ses laboratoires pour me présenter les spectromètres RMN et m'aider à réaliser quelques spectres. L'acétone D-6 a été utilisé comme solvant. La comparaison avec les pics tabulés dans la littérature sont également cohérents ici: on peut mettre en évidence la similarité des pics obtenus expérimentalement et les pics tabulés [7].

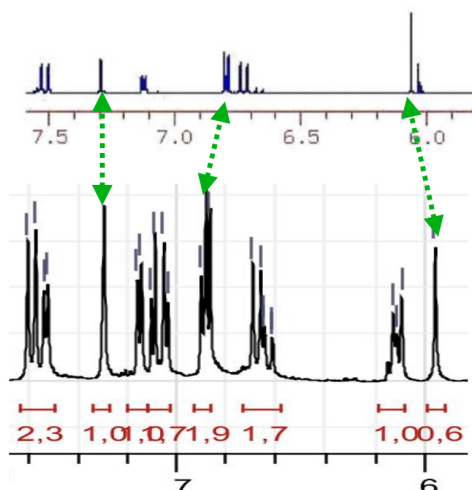


Figure 12: En haut: spectre attendu. En bas: spectre obtenu.

3.3 Utilisation de la curcumine comme ligand

L'objectif ici est de mettre en évidence la présence ou non de Fe(II) dans un complément alimentaire dans une gamme de concentration connue. On peut pour cela exploiter la coloration du complexe Cur-Fe(II). J'ai commencé par imbiber un papier Whatman de curcumine dans la solution issue de l'extraction, en le laissant pendant 1h. L'idée est ensuite de verser dessus des gouttes de solutions de Fe(II) à différentes concentrations, qui vont donc former différentes concentrations de complexes, donc avoir différentes couleurs. La comparaison de la couleur d'un papier de concentration inconnue permet alors d'avoir un ordre d'idée qualitatif de la bonne teneur en fer d'une solution (donc d'un complément alimentaire).

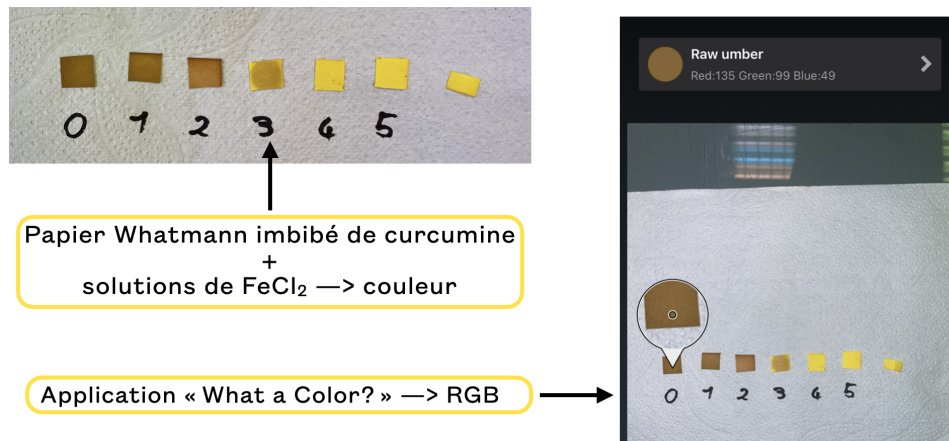


Figure 13: Plusieurs papiers imbibés par des concentrations différentes en Fe(II)

Cette coloration peut être analysée via les composantes RGB des papiers. On peut proposer un kit pour tester la teneur en fer d'un complément alimentaire distribuable à grande échelle. Le principe est :

- 1) Découper le papier imbibé de curcumine en deux, et verser une goutte de solution de sel de Mohr (concentration selon normes locales). Le papier se colore.
- 2) Broyer le complément, le diluer pour atteindre des concentrations comparables à la solution de sel de Mohr, et verser une goutte sur l'autre papier.
- 3) Comparer les composantes RGB des papiers avec un téléphone : si le papier de référence est plus foncé, la concentration en Fe(II) est sous la limite maximale ; sinon, le complément est surchargé en Fe(II) et ne doit pas être consommé.

- (1) Solution Sel de Mohr (réf) adaptée aux normes locales
- (2) Papier Curcumine
- (3) 20cL eau distillée
- (4) Deux bouchons en plastique
- (5) Deux pipettes Pasteur

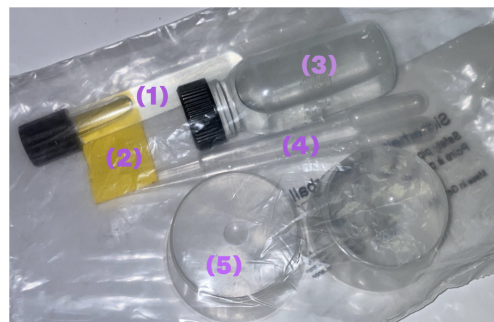


Figure 14: Exemple de kit de détection

4 Discussion sur le choix du ligand et conclusion

L'utilisation du kit présenté est reproductible à grande échelle, et peu coûteuse, mais la détection reste qualitative. On ne compare que la couleur d'un papier à un autre: pratique, mais peu précis. Utiliser ophen est plus judicieux si on cherche de la précision. Il s'agit d'un ligand certes plus dangereux et plus cher que la curcumine, mais qui permet l'obtention de résultats quantitatifs, nécessaires par exemple lors de l'alimentation d'un sportif de haut niveau.

Les avantages et inconvénients de chacun sont résumés ci-dessous.

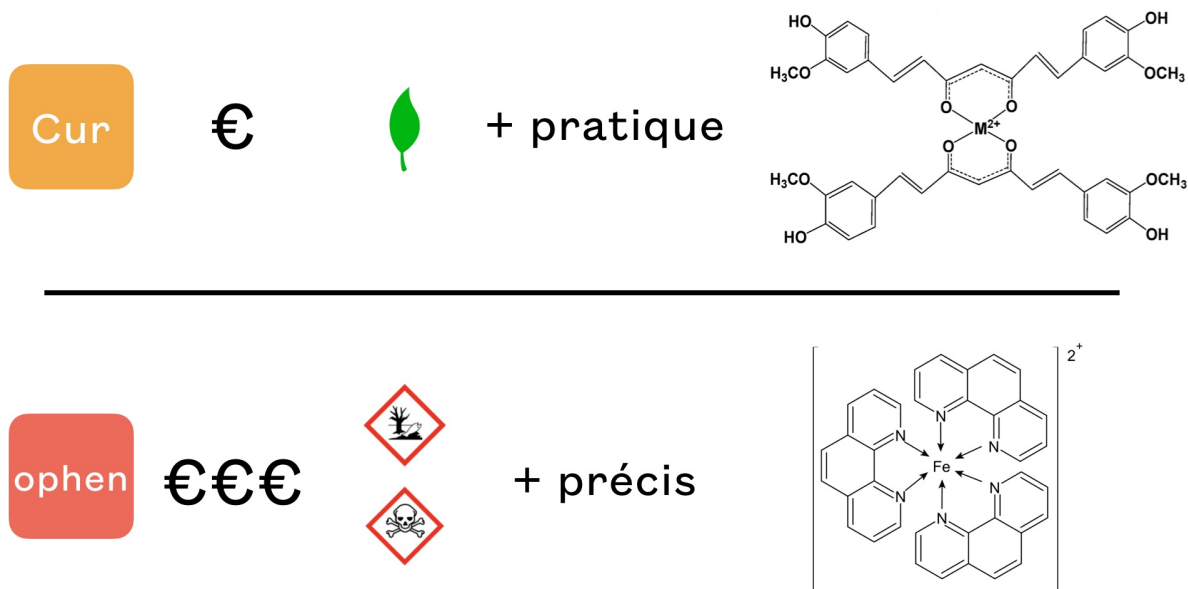


Figure 15: Comparaison des ligands

5 Bibliographie

- [1]: Daniel Curvat. Impact d'une carence martiale sans anémie sur la performance sportive, intérêt d'une supplémentation, p.39. Sciences pharmaceutiques. 2013. dumas-00838046
- [2]: Sim, M., Garvican-Lewis, L.A., Cox, G.R. et al. Iron considerations for the athlete: a narrative review. *Eur J Appl Physiol* 119, 1463–1478 (2019), p.1464.
- [3]: Quality evaluation of iron-containing food supplements in the Palestinian market, Murad ABUALHASAN, Shorouq DWAIKAT, Rawan ATAYA, Anagheem ALI, Munir AL-ATRASH. Faculty of Medicine and Health Sciences, Department of Pharmacy, An-Najah National University, Nablus, Palestine, 11/06/21.
- [4]: Fiche de données de sécurité, 1,10-Phenanthroline monohydrochloride monohydrate, Thermo Fisher Scientific. <https://www.fishersci.fr/chemicalProductDatauk/wercs?itemCode=10294840&lang=FR>
- [5]: Portable Quantitative Chemical Analysis: Digital Image Colorimetric Detection of Fe(III) with Curcumin Paper Supacha Wirojsaengthong, Wanlapa Aeungmaitrepirom, Fuangfa Unob, Saowarux Fuangswasdi, Puttaruksa Varanusupakul, Kanphitcha Mueangdech, Thirachat Treetos, and Pumidech Puthongkham *Journal of Chemical Education* 2023 100 (9), 3604-3611
- [6]: Isolation of Curcumin from Turmeric Andrew M. Anderson, Matthew S. Mitchell, and Ram S. Mohan *Journal of Chemical Education* 2000 77 (3), 359
- [7]: A.C Gören et al./*Food Chemistry* 113 (2009) 1239-1242

6 Annexes

6.1 Annexe 1: Script Python utilisé pour la méthode de Monte-Carlo

```
# Imports nécessaires et choix du nombre de simulations

import numpy as np
import numpy.random as rd
import matplotlib.pyplot as plt

N = 10000

# Simulation de N mesures d'une grandeur dont la dispersion est caractérisée
# par une incertitude-type : on utilise une distribution gaussienne :

r0 = 0.2344
u_r0 = 0.01 #incertitude-type associée à r0

r0_sim = r0 + u_r0*rd.normal(0 , 1, N)
#=> tableau de N valeurs, gaussienne centrée sur g1 d'écart-type ug1

# N calculs de la grandeur d'intérêt :

n_calc_sim = (1-r0_sim)/r0_sim

# Visualisation de la variabilité de la grandeur calculée :

plt.hist(n_calc_sim, bins = 'rice')
plt.xlabel("Grandeur calculée simulée")
plt.ylabel("Nombre d'apparitions")
plt.grid()
plt.show()

# Caractérisation de la grandeur d'intérêt : moyenne et écart-type

n_calc_moy = np.mean(n_calc_sim)
u_n_calc = np.std(n_calc_sim, ddof=1)

print("L'estimateur de n_calc est :", n_calc_moy)
print("L'incertitude-type u(g_calc) associée est :", u_n_calc)

# Comparaison à une grandeur de référence avec l'écart normalisé (z-score) :

n_calc_ref = 3
z = abs(n_calc_moy-n_calc_ref)/u_n_calc

print("L'écart normalisé est z =", z)
#NB : z < 2 => les mesures sont compatibles.
```

Figure 16: Script Monte-Carlo

6.2 Annexe 2: Script Python utilisé pour l'exploitation de la méthode de Job

```
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from sympy import symbols, Eq, solve

#Données
pourcentages_en_metal = np.array([80, 70, 60, 50, 40, 30, 25, 20, 15, 10, 5])
absorptions = np.array([0.1293, 0.2267, 0.301, 0.3541, 0.4237, 0.5114, 0.5360, 0.4820, 0.3400, 0.2218, 0.1323])
# Indice de séparation entre les deux parties
separation_index = 7

# Division des données en deux parties
pourcentages_partie1 = pourcentages_en_metal[:separation_index]
absorptions_partie1 = absorptions[:separation_index]

pourcentages_partie2 = pourcentages_en_metal[separation_index:]
absorptions_partie2 = absorptions[separation_index:]

# Calcul des droites de régression linéaire pour chaque partie
a1, b1 = np.polyfit(pourcentages_partie1, absorptions_partie1, 1)
a2, b2 = np.polyfit(pourcentages_partie2, absorptions_partie2, 1)

x = symbols('x')

# Équation de régression
equation_partie1 = Eq(a1 * x + b1, a2 * x + b2)

# Résolution pour trouver r0
intersection_x = solve(equation_partie1, x)[0]

# Tracé des points
plt.plot(pourcentages_en_metal, absorptions, marker='o', linestyle='-', color='b', label='Données expérimentales')

# Tracé des régressions
plt.plot(pourcentages_partie1, a1 * pourcentages_partie1 + b1, linestyle='--', color='r', label='Régression Partie 1')
plt.plot(pourcentages_partie2, a2 * pourcentages_partie2 + b2, linestyle='--', color='g', label='Régression Partie 2')

plt.xlabel('Pourcentage en métal')
plt.ylabel('Absorption')
plt.title('Méthode de Job pour la Ferroïne')

plt.legend()

print(f"L'abscisse de l'intersection entre les deux droites est : {intersection_x.evalf()}")

plt.savefig("Job_Final.pdf")
```

Figure 17: Script méthode de Job

6.3 Annexe 3: Script Python utilisé pour l'exploitation du dosage par étalonnage de la ferroïne

```
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt

# Données
concentrations = np.array([4.8e-6, 9.6e-6, 1.92e-5, 3.36e-5, 3.84e-5, 4.32e-5, 4.8e-5, 5.76e-5])
absorbances = np.array([0.0882784, 0.131595, 0.247333, 0.411365, 0.455753, 0.497121, 0.540447, 0.651125])

# Régression linéaire
a, b = np.polyfit(concentrations, absorbances, 1)
fit_line = a * concentrations + b
# Calcul des résidus
residues = absorbances - fit_line

# Tracé des données et la régression linéaire
plt.figure(figsize=(10, 4))

# Tracé du graphique de la régression linéaire
plt.subplot(1, 2, 1)
plt.scatter(concentrations, absorbances, color='blue', label='Données expérimentales')
plt.plot(concentrations, fit_line, color='red', label=f'Régression linéaire: y = {a:.4f}x + {b:.4f}')
plt.xlabel('Concentration en Fe(II)')
plt.ylabel('Absorbance à 510nm')
plt.title('Régression linéaire')
plt.legend()
plt.xlim(4e-6, 6e-5)
plt.ylim(0, 1)

# Tracé des résidus
plt.subplot(1, 2, 2)
plt.scatter(concentrations, residues, color='green', label='Résidus')
plt.axhline(0, color='red', linestyle='--', label='Ligne de référence (résidu = 0)')
# Tracé des lignes pointillées reliant les résidus à la ligne de référence
for i in range(len(concentrations)):
    plt.plot([concentrations[i], concentrations[i], [residues[i], 0], 'k--')

plt.xlabel('Concentration en Fe(II)')
plt.ylabel('Résidus')
plt.title('Graphique des résidus')
plt.legend()

plt.tight_layout()

# Affichage des coefficients de la régression linéaire
print(f"Régression linéaire: y = {a:.4f}x + {b:.4f}")

plt.savefig('dosag_ferro_new.pdf')
```

Figure 18: Script dosage ferroïne