



Faculté des Sciences Exactes

Département de Chimie

3^{ème} Année Licence Chimie Fondamentale

Polycopie de TP

Méthodes Physiques d'Analyses

M^{me} BRAHMI. D

"L'homme et sa sécurité doivent constituer
la première préoccupation de toute aventure technologique"
Albert EINSTEIN

TP N° 1 : Spectrophotométrie UV-Visible

1. Objectif

Dosage par la méthode spectrophotométrie UV-Visible d'une solution de permanganate de potassium, le but étant la vérification de la concentration massique en permanganate, annoncée par le fabricant, dans une solution de **Dakin** pharmaceutique

2. Principe

La solution pharmaceutique étudiée est le Dakin, il est à base d'hypochlorite de sodium (eau de javel diluée) additionnée de permanganate de potassium pour le stabiliser vis-à-vis de la lumière.

La solution doit être conservée à l'abri de la lumière pour ralentir sa décomposition, qui est rapide (quelques jours).

La manipulation consiste à :

- Tracer la courbe d'étalonnage donnant l'absorbance **A** en fonction de la concentration **C** en permanganate de potassium ;
- Etablissement de la loi de Beer-Lambert ($A = \xi \cdot l \cdot C$)

A : Absorbance ; **l** : Le trajet optique (cm) ; **C** ; la concentration de la solution (mol/L) ;
 ξ : le coefficient d'absorption molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$).

La loi de Beer-Lambert est établit à partir d'une échelle de teintes étalon en mesurant leur absorbance relative suivi de tracé du graphe de celles-ci en fonction de leurs concentrations en espèces colorées.

3. Matériels et produits

- Fioles jaugées de 25ml - Pipettes graduées - Spectrophotomètre et cuves
- Solution permanganate de potassium $KMnO_4$ - Eau de javel - Solution pharmaceutique de Dakin

4. Protocole

- Préparer 100 ml d'une solution de KMnO_4 de concentration 0,1 M
- Faire le spectre d'absorption d'une solution de KMnO_4 ($C = 10^{-3}$ M) ; le graphe est obtenu par un balayage dans le domaine s'étalant de 400 à 800nm (domaine du visible)
- Réaliser le spectre d'absorption de l'eau de javel dans le même domaine d'absorption.
- A partir de la solution mère de permanganate de potassium (10^{-3} mol/l) ; réaliser une échelle de teintes constituée par 25 ml de chaque solution fille suivante :

Solution fille	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆
C (mol/L) x10 ⁴	0,5	0,8	1	2	4	8

- Régler préalablement le spectrophotomètre à la longueur d'onde maximale déterminée précédemment.
- A l'aide du spectrophotomètre, mesurer l'absorbance A des solutions préparées par ordre de concentration croissante, ainsi que celle de la solution de Dakin.

5. Exploitation des résultats de la manipulation

- Tracer les spectres d'absorption de la solution de KMnO_4 (10^{-3} M), de l'eau de javel et du Dakin. **(Les spectres doivent être superposés et réalisés à l'aide d'Excel).**
- Quel est le but du tracé de l'eau de javel ?
- Quelle est l'espèce colorée dans l'eau de Dakin ?
- A partir du spectre de la solution mère de permanganate de potassium, déterminer la valeur de la longueur d'onde choisie pour réaliser les mesures au spectrophotomètre.
- A partir des résultats obtenus, la loi de Beer Lambert est-elle vérifiée ? expliquer
- De la courbe d'étalonnage déduire la concentration molaire et massique de permanganate de potassium contenu dans la solution commerciale de Dakin, comparer à l'indication sur l'emballage.
- Calculer la masse expérimentale (m_{exp}) de permanganate de potassium présente dans 100 mL de solution de Dakin.
- Comparer la valeur obtenue à celle indiquée par le fabricant (ci-dessous) en calculant l'erreur relative. Le résultat du dosage est-il compatible avec l'indication du fabricant ?

SOLUTÉ DE DAKIN STABILISÉ COOPER

COMPOSITION :

Principes actifs

Hypochlorite de sodium 0,500 g de chlore actif pour
100 mL

Principes non actifs

Permanganate de potassium 0,0010 g pour 100 mL

Dihydrogénophosphate de sodium dihydraté Excipient

Eau purifiée Excipient

TP N° 2 : Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

1. Objectif : Savoir réaliser et interpréter une chromatographie sur couche mince CCM (mélanges colorés et incolores).

2. Principe de la chromatographie

- La chromatographie CCM est une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituants ; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile.
- Cette technique permet de séparer les espèces chimiques présentes dans un mélange homogène, donc de contrôler la pureté d'un échantillon.
- Elle permet également d'identifier les espèces chimiques présentes dans l'échantillon.
- Les échantillons à tester, ainsi que les échantillons témoins, sont disposés sur une plaque de chromatographie (phase fixe) plongée dans un éluant (phase mobile).
- La vitesse de migration d'une espèce chimique est la résultante de :
 - la force d'entraînement par le solvant (solubilité),
 - la force de rétention par le gel (adsorption).

En conséquence, voici **les règles d'interprétation d'un chromatogramme :**

❖ *Observations verticales :*

- Si on observe plusieurs taches distinctes au-dessus d'un dépôt, alors la goutte déposée est un mélange composé d'autant d'espèces chimiques qu'il y a de taches.
- Si on n'observe qu'une seule tache au-dessus du dépôt, la goutte déposée est une espèce chimique unique.

❖ *Observations horizontales :*

- Si deux taches issues de deux dépôts différents ont migré à la même hauteur, alors les deux gouttes déposées ont une même espèce chimique en commun.

3. Réalisation de la chromatographie

Préparation de la cuve

- Si besoin, préparer le mélange de solvants qui constituera l'éluant, puis en verser dans la cuve à chromatographie (bécher) afin d'obtenir une hauteur de liquide d'environ 0,5 cm.
- Couvrir le bécher afin d'éviter l'évaporation des solvants.

Préparation de la plaque

Attention ! Si la plaque utilisée est une plaque de silice, elle est très fragile. Éviter de la toucher avec les doigts.

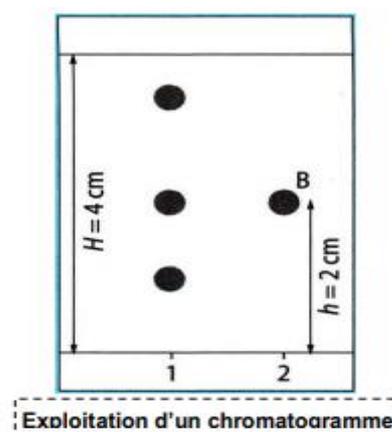
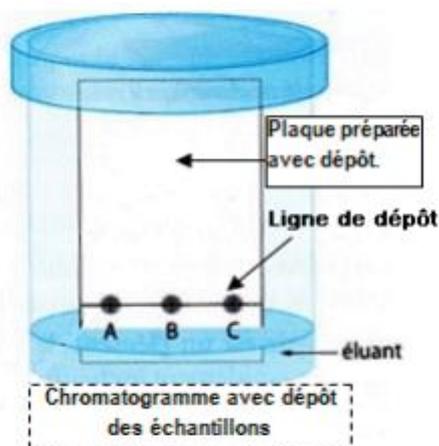
- Tracer au crayon gris, à environ 1 cm du bord inférieur de la plaque, un trait qui constitue la ligne de dépôt.
- Placer sur cette ligne des marques, régulièrement espacées, dont le nombre est égal à celui des échantillons à déposer.

Dépôt des échantillons

- À l'aide d'une pointe fine, déposer les échantillons sur leurs marques respectives. La tache de dépôt ne doit pas dépasser 3 mm, et il faut changer de pique pour chaque échantillon.

Élution

- Introduire la plaque verticalement dans la cuve : la ligne de dépôt doit être au-dessus du niveau du solvant. Fermer la cuve.
- Le solvant contenu dans la cuve monte le long de la plaque : c'est l'étape d'élution. Attendre que l'éluant arrive à environ 1 cm du haut de la plaque, puis retirer la plaque et repérer par un trait la hauteur maximale atteinte par l'éluant (c'est la ligne de front). Sécher la plaque.



Exploitation de la C.C.M

La distance parcourue entre la ligne de dépôt et le centre de la tache dans des conditions données (phase fixe et éluant connus) est caractéristique de l'espèce chimique : elle est identique que l'espèce soit pure ou dans un mélange.

Pour identifier une espèce d'un mélange, on peut donc comparer la distance parcourue pour une tache d'un mélange avec celle obtenue pour l'espèce chimique pure.

Les espèces qui ont migré à des hauteurs identiques sont les mêmes. On peut aussi calculer le rapport frontal (noté R_f) pour chaque tache observée :

$$R_f = \frac{h}{H}$$

h est la distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tache ; c 'est la distance parcourue par l'espèce chimique.

H est la distance parcourue par l'éluant dans le même temps ; c 'est la distance entre la ligne de dépôt et le front du solvant.

4. Mode opératoire

On dispose de colorants alimentaires de couleurs différentes. On désire savoir si ces espèces sont pures ou constituent des mélanges homogènes.

La phase fixe : papier à chromatographie

Éluant : mélange de solution de chlorure de sodium à 40 g/L et d'alcool sur une hauteur d'environ 5 mm (verser quelques mL d'éluant dans le bécher). Couvrir.

- 1) 20% alcool+80% NaCl ;
- 2) 50% alcool +50 % NaCl ;
- 3) 80% alcool+20% NaCl.

6. Exploitation

- 1) Reproduire les taches observées.
- 2) Mesurer : la hauteur H de montée de l'éluant

La hauteur h des taches par rapport à la ligne de dépôt.

- 3) Calculer le rapport frontal R_f pour toutes les taches.
- 4) Que peut-on dire des différents colorants ?
- 5) Observations. Remarques. Conclusions.

TP N°3 : Identification des fonctions organiques

1. Introduction

Pour identifier les groupes fonctionnels :(alcool, acide carboxylique, aldéhyde, cétone, alcène, amine, halogène.....) contenus dans une molécule, on réalise des tests caractéristiques. Ces tests permettent d'identifier les principales fonctions organiques intervenant dans une réaction chimique, suite à la formation de précipités ou à l'apparition de colorations diverses.

Le but du TP est de connaître et savoir réaliser quelques tests chimiques qualitatifs qui permettent d'identifier et de reconnaître certains des groupes fonctionnels les plus courants.

2. Tests qualitatifs

a) Aldéhydes et cétones

Le réactif caractéristique permettant d'identifier la présence d'un composé carbonylé est celui de la 2,4-dinitrophénylhydrazine (2,4-DNPH).

La 2,4-DNPH réagit avec les fonctions aldéhydes ou cétones en formant un précipité jaune (jaune orangé). La 2,4-D.N.P.H permet d'identifier les composés carbonylés, mais ne permet pas de différencier les aldéhydes des cétones.

Test à la liqueur de Fehling

Ce test permet de distinguer entre les aldéhydes et les cétones. Il est caractéristique des aldéhydes. La liqueur de Fehling initialement bleue précipite en un **dépôt de couleur rouge brique** à chaud et cela uniquement en présence d'un composé qui présente la fonction **aldéhyde** (tels les sucres).

Test du miroir d'argent de Tollens

Le réactif de Tollens permet de mettre en évidence la fonction aldéhyde. c'est un complexe de nitrate d'argent en solution ammoniacale ($[Ag(NH_3)_2]^+$, NO_3^-). Au cours de la réaction, l'ion Ag^+ oxyde l'aldéhyde pour donner un acide. Lorsque le test est effectué dans une verrerie rigoureusement propre, l'argent se dépose finement en un miroir sur les parois du

tube à essai : seuls les aldéhydes donnent ce miroir d'argent métallique. Cette réaction s'appelle " **test du miroir d'argent** ".

Test de Lieben

Permet de mettre en évidence une cétone, identification qualitative des cétones (formation du précipité jaune avec une odeur spécifique d'iodoforme).

b. Alcools

Test de Lucas : Ce test permet de distinguer entre un alcool primaire, secondaire ou tertiaire. Le réactif de Lucas transforme les alcools en dérivés chlorés insolubles qui se séparent en couche d'apparence huileuse (phase insoluble ou émulsion).

- ✓ en moins de 2 mn avec les alcools tertiaires.
- ✓ de 5 à 10 (lentement) mn avec les secondaires : il se forme un trouble qui augmente progressivement pour se concentrer en couche huileuse insoluble qui peut prendre plus d'une heure à se former selon l'alcool.
- ✓ les alcools primaires ne réagissent pas et la solution reste limpide.

Test de Jones : Ce test permet de distinguer rapidement entre un alcool primaire ou secondaire et un alcool tertiaire. Le réactif de Jones est le CrO_3 en présence d'acide sulfurique (H_2SO_4) dans l'acétone.

- ✓ test *positif* avec un alcool primaire ou secondaire : coloration bleu vert en moins de 5 mn (couleur de l'ion de chrome III)
- ✓ test *négatif* avec un alcool tertiaire, la solution demeure orange.

f) les acides et aminés :

Test au BBT : Le BBT (bleu de bromothymol) est un indicateur coloré acido-basique. Il prend une coloration jaune en présence d'une substance acide et bleue avec une base. L'utilisation du papier pH permet aussi d'identifier ces deux espèces.

3. Travail à effectuer

Il s'agit d'identifier la famille à laquelle appartiennent les produits organiques fournis (numérotés de 1 à 8).

Test à la 2,4-DNPH (pour les composés 1,2 et 3) : attention : introduire le composé

organique dans la 2,4-DNPH.

Dans trois tubes à essai, placer 1ml de ce réactif (2,4 DNPH) de couleur jaune. Ajouter quelques gouttes de composé organique à tester (1, 2 et 3), agiter vigoureusement et laisser reposer. Conclure ?

Récupérer le précipité, sécher et faire une analyse IR.

Test à la liqueur de Fehling :(pour les composés 1 et 2)

Dans deux tubes à essais secs et propre introduire 1ml de solution de Fehling (A+B), ajouter 1mL de composé organique à tester (aldéhyde ou cétone), chauffer légèrement le mélange (au bain marie), en agitant. Il se forme un précipité rouge d'oxyde de cuivre(I) Cu_2O , si la substance testée contient la fonction aldéhyde. Conclure ?

Test de Tollens : (pour les composés 1 et 2)

Préparation du réactif : Dans un tube à essais, introduire environ 2 mL de solution de nitrate d'argent puis 2 gouttes de solution d'hydroxyde de sodium à 5 mol/L. Un précipité brun se forme. Ajouter peu à peu de l'ammoniaque jusqu'à dissolution complète du précipité. Le réactif de Tollens est prêt : il contient alors l'ion complexe diamineargent (I) incolore : $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$

Dans un tube à essai, parfaitement propre et sec, verser 3ml de réactif de Tollens, fraîchement préparé. Ajouter 4 gouttes du produit à tester, agiter doucement. S'il n'y a pas de réaction, mettre le tube dans un bain marie (35 à 60°C) pendant 5 mn, l'argent commence alors à se déposer sur les parois, formant un beau miroir d'argent si la substance testée est un aldéhyde.

Test de Lieben (pour les composé 1 et 2) : Dans un tube à essais où l'on a placé la substance à tester (1mL), on rajoute du diiode I_2 (3 mL) et de l'hydroxyde de sodium (2 mL) puis on laisse quelques minutes et on observe. Si le test est positif, c'est-à-dire que la substance testée contient une cétone, un précipité jaune pâle avec une odeur spécifique.

Test de Lucas pour les composé (3,4 et 5)

Préparation du réactif de Lucas : Verser 10 mL d'acide chlorhydrique concentré (à 37 %) dans un erlenmeyer placé dans un bain de glace, y dissoudre 16 g de chlorure de zinc anhydre (ZnCl_2)

Test avec le réactif de Lucas

On introduit dans trois tubes différents 2mL de composé organique à tester (3,4 et 5), on

rajoute dans chaque tube 2mL de réactif de Lucas. Boucher les trois tubes et agiter énergiquement pendant 1min. laissé reposer et noter le temps nécessaire à l'apparition d'un trouble. Conclure.

Test de Jones (3,4 et 5)

Préparation du réactif de Jones : Dissout 27 g de CrO₃ dans 23 mL de H₂SO₄ concentré. - Compléter avec de l'eau distillée jusqu'à un volume de 100 mL.

Test avec le réactif de Jones : Dans un tube sec, verser 1 mL d'acétone et quelques gouttes de composé à tester (3,4 et 5)

Ajouter quelques gouttes du réactif de Jones.

Test au BBT

Dans un tube à essai, verser 1mL de composé à tester (6 et 7), ajouter quelques gouttes de bleu de bromothymol. Confirmer avec papier pH.

4. Compte rendu

- Donner toutes les observations des différents tests et conclure.
- Quelle famille de composés organiques est identifiée ? donner la fonction de chaque composés et l'attribuée au numéro correspondant (1à7).
- Pourquoi faut- il introduire la DNPH avant le composé carbonyle ?
- Quelles sont les bandes caractéristiques des fonctions aldéhyde et cétone en IR ?
- Un acide carboxylique RCOOH réagit-il avec la 2,4-DNPH ?
- Donner la définition d'une oxydation ménagée, peut-on généraliser l'oxydation ménagée à toutes les classes d'alcool ?