

Dosage spectrophotométrique

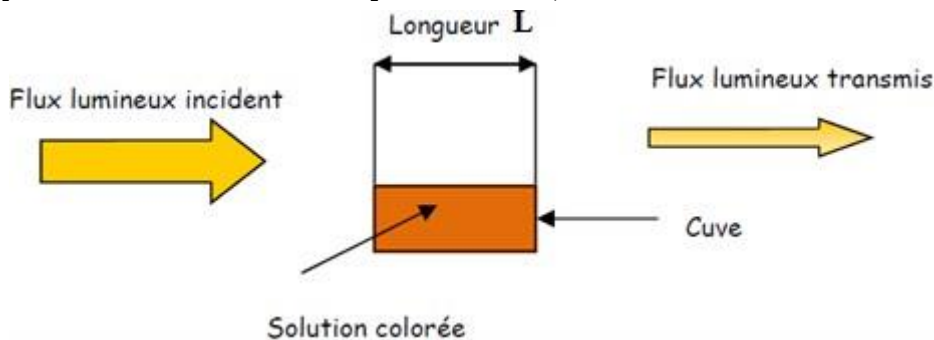
Objectifs :

- Connaître la technique de spectrophotométrie.
- Connaître et exploiter la relation entre l'absorbance et la concentration d'une espèce absorbante en solution (loi de Beer Lambert).
- Déterminer la concentration d'une solution de Méthyle orange à partir d'une courbe d'étalonnage.

I-Principe de fonctionnement du spectrophotomètre

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance.

Le spectrophotomètre fait passer une radiation monochromatique (de longueur d'onde λ) à travers une cuve de longueur L contenant une solution colorée. Il mesure alors l'absorbance A (grandeur liée à la quantité de lumière absorbée par la solution).

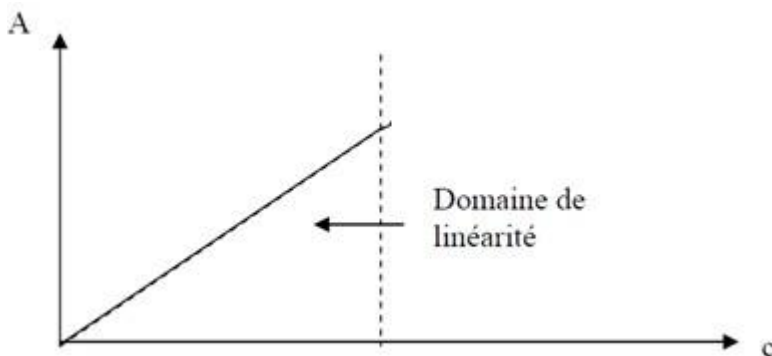


II- La loi de Beer Lambert ($A = \epsilon.C.L$)

La Loi de Beer-Lambert est une loi qui détermine la relation entre l'absorbance et la concentration d'une espèce absorbante en solution.

L = longueur de la cuve (1 cm en général, avec une précision de 1 %)

- C = concentration de la solution
- ϵ = Coefficient d'extinction spécifique qui dépend de la longueur d'onde. ϵ varie également en fonction des forces intermoléculaires et donc du solvant utilisé.



Le graphique représentant l'absorbance en fonction de la concentration, appelé droite (ou **courbe**) **d'étalonnage**, permet de déterminer une concentration inconnue d'une solution à partir de la mesure de l'absorbance spectrophotométrique.

Le coefficient de corrélation, " R^2 ", et l'axe "Y" à l'origine de la droite de régression vous permettent de démontrer l'acceptabilité de la linéarité des données.

Introduction

L'amoxicilline est un antibiotique semi-synthétique appartenant à la famille des bêta-lactamines. Elle agit en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne, ce qui la rend efficace contre un large spectre de bactéries Gram positives et négatives. Le dosage spectrophotométrique est une méthode analytique simple, rapide et précise permettant de déterminer la concentration d'une substance en solution à partir de son absorption de la lumière à une longueur d'onde spécifique.

Principe

Le dosage repose sur la loi de Beer-Lambert : $A = \epsilon \cdot l \cdot C$, où A est l'absorbance mesurée, ϵ le coefficient d'extinction molaire, l la largeur de la cuve (1 cm), et C la concentration. L'absorbance est proportionnelle à la concentration de la solution d'amoxicilline mesurée à 272 nm dans l'UV.

Objectif

Déterminer la concentration d'une solution inconnue d'amoxicilline à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, en construisant une courbe d'étalonnage et en appliquant la loi de Beer-Lambert.

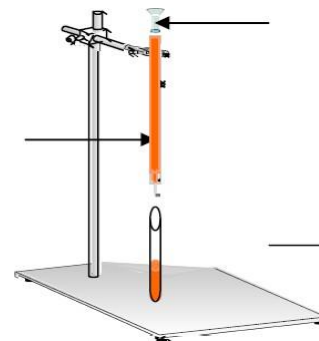
. Matériel et réactifs

- Spectrophotomètre UV-Visible
- Cuvettes en quartz (1 cm)
- Balance analytique
- Fiole jaugée de 100 mL
- Pipettes graduées et micropipettes
- Eau distillée
- Amoxicilline trihydratée pure

Protocole expérimental

1. Préparer une solution mère d'amoxicilline à 1 mg/mL en dissolvant 0,1 g dans 100 mL d'eau distillée.
2. Préparer une série de dilutions pour obtenir des concentrations de 10, 20, 40, 60, 80 et 100 µg/mL.
3. Régler le spectrophotomètre à la longueur d'onde $\lambda = 272$ nm.
4. Régler le zéro avec le blanc (eau distillée).
5. Mesurer l'absorbance des solutions étalons et de la solution inconnue.
6. Tracer la courbe $A = f(C)$ et déterminer la concentration de l'échantillon à partir de la droite d'étalonnage.

- Préparer une solution mère d'amoxicilline à 1 mg/mL en dissolvant 0,1 g dans 100 mL d'eau distillée.
- Préparer une série de dilutions pour obtenir des concentrations de 10, 20, 40, 60, 80 et 100 µg/mL.
- Régler le spectrophotomètre à la longueur d'onde $\lambda = 272$ nm.
- Régler le zéro avec le blanc (eau distillée).
- Mesurer l'absorbance des solutions étalons et de la solution inconnue.
- Tracer la courbe $A = f(C)$ et déterminer la concentration de l'échantillon à partir de la droite d'étalonnage.



Les données : L'amoxicilline est un [antibiotique \$\beta\$ -lactamine bactéricide](#) de la famille des [aminopénicillines](#). Sa formule chimique est $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ (Masse molaire : 365,4 g/mol Solubilité : 3 430 mg L^{-1} eau à 25 °C et $pK_a = 2.8$

Résultats et calculs

Concentration (µg/mL)	Absorbance (A)
10	-----
20	-----
40	-----
60	-----
80	-----
100	-----

Discussion et conclusion

La courbe d'étalonnage obtenue présente une bonne linéarité, indiquant que la loi de Beer-Lambert est respectée dans la gamme de concentrations étudiée. La méthode spectrophotométrique s'avère donc fiable pour le dosage de l'amoxicilline. L'échantillon analysé présente une concentration d'environ --- µg/mL. Cette méthode est particulièrement utile en contrôle qualité pharmaceutique et dans l'analyse des formulations médicamenteuses.

Compte-rendu (entre 6 -8 pages):

Préparer un compte rendu n'excédant pas 6 à 8 pages contenant les deux parties suivantes:

Partie théorique: Une recherche bibliographique sur le matériel du spectrophotomètre et le dosage par la méthode spectrophotométrique : les courbes d'étalonnage ; la loi de Beer Lambert ; l'absorbance ; antibiotique (y compris L'amoxicilline).

• Partie pratique:

- Présenter les mesures de l'absorbance obtenues dans le TP1 (dans un tableau)
- Déterminez les concentrations des solutions de S_1 à S_6 en mol/L (sur le même tableau)
- Tracer la courbe d'étalonnage $A = f(C)$ (par **papier millimétré** et par **Excel**). (avec A : absorbance et C : concentration du colorant (méthyle orange) en mg/L).
- Exploiter l'équation de la courbe ($Y = aX$ ($a = \epsilon C L$))
avec : Y : l'absorbance ; X : la concentration de L'**amoxicilline** (mg/L ou Mole/L) ; A : la pente)
- Commenter l'allure de la courbe.
- Calculer ϵ le Coefficient d'extinction spécifique ($mg^{-1} \cdot L \cdot cm^{-1}$).