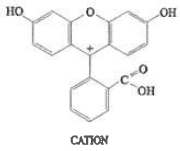
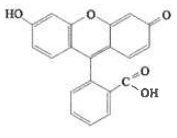
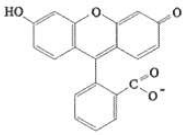
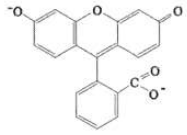
EXERCICE 1 : UN MARQUEUR FLUORESCENT, LA FLUORESCÉINE (10 points)

La fluorescéine est obtenue par dissolution dans l'eau de fluorescinate de sodium, solide de couleur rougeâtre. La fluorescéine est connue pour émettre une lumière « vert-fluo » quand elle est éclairée en lumière blanche ou en lumière UV. Ses applications sont nombreuses : traçage de cours d'eau souterrains, détection de fuites, angiographie de l'œil. L'intérêt des molécules fluorescentes ne s'arrête pas là : en 2008, M. Chalfie et R.Y. Tsien ont reçu le prix Nobel de chimie pour la découverte de la GFP (Green Fluorescent Protein) à partir de l'étude d'une méduse bioluminescente. Cette découverte permet aujourd'hui le marquage de protéines, d'anticorps et le suivi de processus biologiques complexes par fluorescence.

À la fluorescéine sont associées différentes formes acidobasiques :

Écriture simplifiée	H_3Flu^+	H_2Flu	$HFlu^-$	Flu^{2-}
Formule topologique	 CATION	 QUINONOID	 MONOANION	 DIANION

Référence : Chem. Ber. 91 572-580.1958

Cet exercice a pour objectif d'étudier les propriétés spectroscopiques de la fluorescéine d'une part et d'étudier une voie de synthèse de la fluorescéine d'autre part.

Liban 2019

Données :

- Produit ionique de l'eau à 25°C : $pK_e = 14$;
- Couples acido-basiques de l'eau : H_3O^+/H_2O et H_2O/HO^- ;
- Loi de Beer-Lambert : $A = \varepsilon.l.C$ avec ε, le coefficient d'extinction molaire.

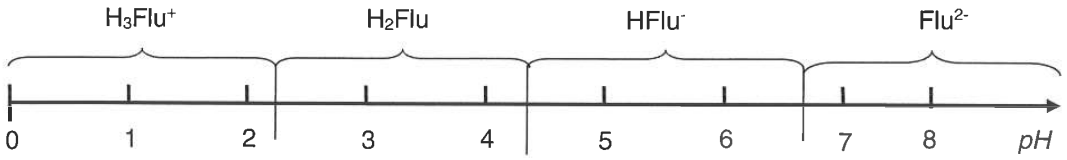
Nom	Formule brute	Masse molaire en $g.mol^{-1}$	Températures de changement d'état	Solubilité dans l'eau en $g.L^{-1}$	Sécurité
Résorcine	$C_6H_6O_2$	110	T_f = 110 °C ; T_{eb} = 280 °C	1400	
Anhydride Phtalique	$C_8H_4O_3$	148	T_f = 131 °C ; T_{eb} = 284 °C	$6,2 \times 10^{-3}$	
Forme H_2Flu de la fluorescéine	$C_{20}H_{12}O_5$	332	T_f = 315 °C	Peu soluble	
Fluorescinate de sodium $FluNa_2$	$C_{20}H_{10}O_5Na_2$	376		600	
Acide sulfurique	H_2SO_4	98		Miscible avec l'eau	

Le corrigé détaillé est sur galilee.ac

Sujet officiel du baccalauréat · Ministère de l'Éducation nationale
Voir le corrigé scanner ou cliquer

1. Propriétés spectroscopiques de la fluorescéine

La détermination des concentrations de fluorescéine par mesures d'absorbance ou d'émission de fluorescence est délicate car l'absorbance et l'émission de fluorescence dépendent fortement du pH de la solution ; parmi les différentes formes de la fluorescéine, la forme Flu^{2-} est la plus fluorescente. Le diagramme de prédominance des différentes formes de la fluorescéine figure ci-après.



1.1. Identifier les différents couples acide/base associés à la fluorescéine et estimer leur pK_a.

1.2. On réalise une solution aqueuse S_0 en dissolvant $1{,}00 \times 10^{-2}$ g de fluorescinate de sodium $FluNa_2$ dans 100 mL d'eau déminéralisée.

1.2.1. Écrire l'équation de la réaction de dissolution du fluorescinate de sodium en ions Flu^{2-} et Na^+ dans l'eau. En déduire la concentration molaire apportée en ion fluorescinate $[Flu^{2-}]_0$.

1.2.2. Lors de la dissolution, les ions Flu^{2-} réagissent avec l'eau. Écrire l'équation de la réaction. De quel type de réaction s'agit-il ?

1.2.3. Justifier la relation suivante : $[Flu^{2-}] = [Flu^{2-}]_0 - [HFlu^-]$

Avec : $[Flu^{2-}]_0$: concentration molaire apportée en ions fluorescinate.
$[Flu^{2-}]$: concentration molaire en ion fluorescinate à l'équilibre.
$[HFlu^-]$: concentration molaire de l'espèce $HFlu^-$ à l'équilibre.

1.2.4. À partir des résultats précédents, en déduire la concentration molaire en ions $HFlu^-$ à l'équilibre, pour un pH de la solution égal à 7,0, en utilisant la relation ci-dessous.

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{[Flu^{2-}]}{[HFlu^-]}\right)$$

1.2.5. Le résultat trouvé est-il cohérent avec le diagramme de prédominance ? Justifier.

1.3. Pour obtenir une solution aqueuse de fluorescence maximale, on réalise le spectre d'absorption et d'émission en absorbance de la fluorescéine sous la forme Flu^{2-} dans une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (Na^+_{aq} ; HO^-_{aq}) de concentration molaire 0,01 mol.L^{-1}.

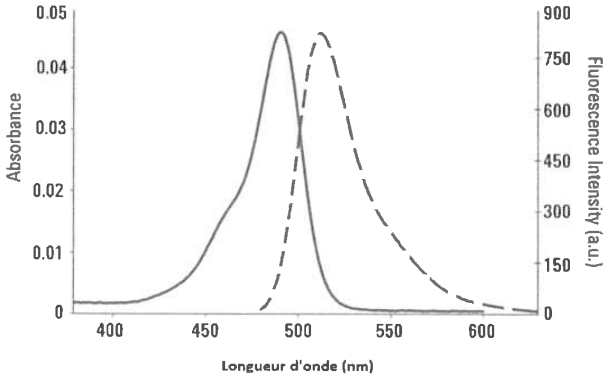


Figure 1 : Spectre d'absorption et d'émission par fluorescence de la fluorescéine sous la forme Flu^{2-} dans une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 0,01 mol/L.

Liban 2019

Le corrigé détaillé est sur galilee.ac
Page 2 / 4
Sujet officiel du baccalauréat · Ministère de l'Éducation nationale
Voir le corrigé
scanner ou cliquer

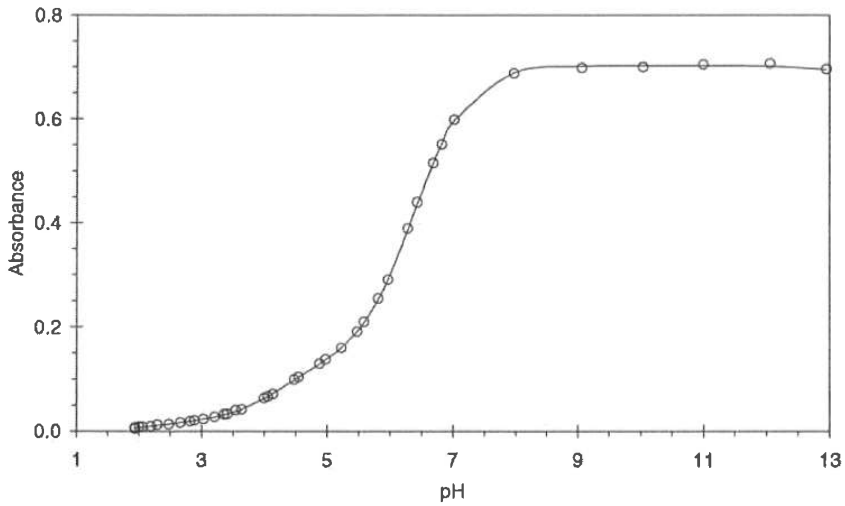


Figure 2 : Absorbance d'une solution de fluorescéine en fonction du pH.
Référence : ISSN 0378-4738 = Water SA Vol. 28 No. 4 Octobre 2002

Liban 2019

1.3.1. Vérifier que le *pH* d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (Na^+_{aq} ; HO^-_{aq}) de concentration molaire 0,01 mol.L^{-1} est égal à 12.

1.3.2. Cette solution permet-elle d'assurer une fluorescence maximale ? Argumenter.

1.3.3. Quelle courbe de la figure 1 correspond au spectre d'absorption de la fluorescéine sachant qu'elle absorbe dans le bleu et fluoresce dans le vert ?

1.3.4. L'eau à la source du Lez à Montpellier a un pH de 8,3. Le suivi fluorimétrique du cours d'eau est-il envisageable ? Justifier.

1.4. L'étude qui suit a pour objectif d'étudier l'absorption de la fluorescéine. Pour cela, on réalise une solution aqueuse S_0 de volume 100,0 mL par dissolution de $1{,}00 \times 10^{-2}$ g de fluorescinate de sodium. En diluant la solution aqueuse S_0 par 10, on obtient la solution aqueuse S_1. La valeur *pH* de cette solution aqueuse est ajustée au-dessus de 9. Trois solutions S_2, S_3 et S_4 sont fabriquées de façon analogue. On mesure l'absorbance des différentes solutions aqueuses à une longueur d'onde appropriée, en utilisant une cuve spectrophotométrique de 1 cm d'épaisseur et on obtient les résultats suivants :

Solution	S_1	S_2	S_3	S_4
C (mol.L^{-1})	$2{,}68 \times 10^{-5}$	$2{,}01 \times 10^{-5}$	$1{,}34 \times 10^{-5}$	$6{,}70 \times 10^{-6}$
A	1,523	1,200	0,811	0,411

1.4.1. Rédiger le protocole de dilution pour préparer S_1 à partir de S_0 en précisant la liste du matériel utilisé.

1.4.2. À quelle longueur d'onde faut-il réaliser le dosage spectrophotométrique ?

1.4.3. Montrer que les mesures réalisées sont en accord avec la loi de Beer-Lambert.

1.4.4. En déduire la valeur du coefficient d'extinction molaire ε pour la forme prédominante de la fluorescéine à ce pH.

Le corrigé détaillé est sur galilee.ac

Voir le corrigé
scanner ou cliquer

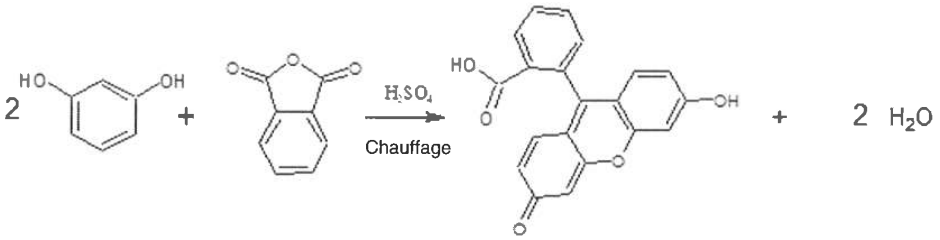
2. Synthèse de la fluorescéine

La fluorescéine a été découverte et synthétisée en 1871 par Adolf von Baeyer à partir de résorcine et d'anhydride phtalique. Il s'agit de la première synthèse d'une molécule fluorescente.

On se propose d'étudier un protocole de synthèse de la fluorescéine à partir de la résorcine.

a) Broyer 3,30 g de résorcine et 2,00 g d'anhydride phtalique.
b) Les introduire dans un ballon de 100 mL et placer l'ensemble dans un bain d'huile thermostaté à 180 °C.
c) Ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré.
d) Le système prend alors rapidement une couleur rougeâtre et des vapeurs sont émises. Chauffer pendant 30 min tout en agitant.
e) Laisser refroidir. Veiller à retirer le barreau aimanté car le produit brut passe à l'état solide.
f) Dissoudre le produit obtenu en ajoutant progressivement une solution aqueuse de soude à 1 $mol.L^{-1}$ en utilisant une agitation magnétique.
g) Placer la solution obtenue dans un grand bécher.
h) Pour précipiter la fluorescéine, acidifier la solution en ajoutant progressivement de l'acide sulfurique tout en agitant. Arrêter quand la phase aqueuse devient limpide.
i) Filtrer sur Büchner.
j) Sécher à l'étuve à 100 °C.

L'équation de la réaction de synthèse est donnée ci-dessous :



2.1 Identifier les deux réactifs résorcine et anhydride phtalique dans l'équation de réaction. Justifier votre démarche.

2.2 Montrer que la résorcine est introduite en excès.

2.3 Sous quel état physique se trouvent les réactifs à la température du bain d'huile ?

2.4 Quel est le rôle de l'acide sulfurique lors de l'étape c ? Justifier.

2.5 Quelle est la nature des vapeurs émises lors de l'étape d ? Justifier.

2.6 Sous quelle forme prédomine la fluorescéine à la fin de l'étape f ?

2.7 Pourquoi l'ajout d'acide sulfurique dans l'étape h permet-il la précipitation de la fluorescéine ?

2.8 Une masse de 2,47 g de fluorescéine est obtenue. Quel est le rendement de la synthèse ?

Liban 2019

Le corrigé détaillé est sur galilee.ac

Sujet officiel du baccalauréat · Ministère de l'Éducation nationale

Voir le corrigé
scanner ou cliquer