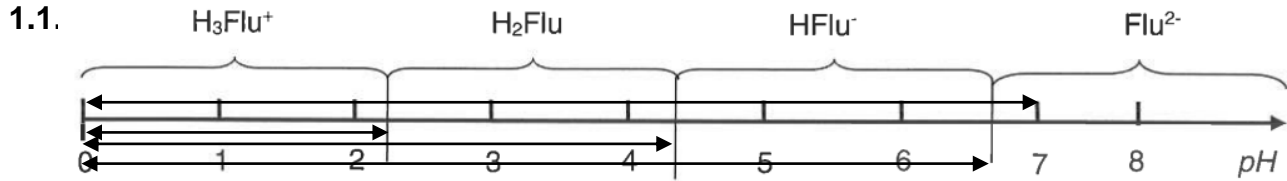


EXERCICE 1 : UN MARQUEUR FLUORESCENT, LA FLUORESCÉINE (10 points)

1. Propriétés spectroscopiques de la fluorescéine



Les valeurs des pK_a se situent aux intersections entre les domaines de chaque espèce.

Il faut les déterminer avec précision.

12,6 cm \rightarrow 7 unités pH

12,6 cm \rightarrow 7 unités pH

12,6 cm \rightarrow 7 unités pH

4,0 cm $\rightarrow pK_{a1}$

7,8 cm $\rightarrow pK_{a2}$

12,0 cm $\rightarrow pK_{a3}$

Couples acide/base

H_3Flu^+ / H_2Flu

$pK_{a1} = 2,2$

calculs

$(4,0 \times 7 / 12,6)$

$H_2Flu / HFlu^-$

$pK_{a2} = 4,3$

$(7,8 \times 7 / 12,6)$

$HFlu^- / Flu^{2-}$

$pK_{a3} = 6,7$

$(12,0 \times 7 / 12,6)$

Remarque : Ne pas utiliser la valeur de 8 sur l'axe de pH, car elle semble mal placée.

1.2.1. $FluNa_{2(s)} \rightarrow Flu^{2-}_{(aq)} + 2 Na^+_{(aq)}$

D'après l'équation de dissolution totale, on $n_{FluNa_2} = n_{Flu^{2-}}$

$$c = [Flu^{2-}]_0 = \frac{n_{Flu^{2-}}}{V} = \frac{n_{FluNa_2}}{V} = \frac{m_{FluNa_2}}{M} = \frac{m_{FluNa_2}}{M \cdot V}$$

$$[Flu^{2-}]_0 = \frac{1,00 \times 10^{-2}}{376 \times 0,100} = 2,66 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$$

stockée en mémoire

1.2.2. $Flu^{2-} + H_2O \rightleftharpoons HFlu^- + HO^-$

La base Flu^{2-} gagne un proton H^+ fourni par l'acide H_2O ; il s'agit d'une réaction acido-basique.

Remarque : On a supposé que cette réaction est limitée d'où la \rightleftharpoons , non exigible ici.

1.2.3. En considérant la réaction acido-basique ci-dessus comme étant limitée, alors une partie des ions Flu^{2-} apportés est transformée en ions $HFlu^-$ et une partie est encore sous forme Flu^{2-} .

$$[Flu^{2-}]_0 = [HFlu^-] + [Flu^{2-}]$$

$$\text{ainsi } [Flu^{2-}] = [Flu^{2-}]_0 - [HFlu^-]$$

$$1.2.4. \text{pH} = pK_{a3} + \log \left(\frac{[Flu^{2-}]}{[HFlu^-]} \right)$$

$$\log \left(\frac{[Flu^{2-}]}{[HFlu^-]} \right) = \text{pH} - pK_{a3}$$

$$\frac{[Flu^{2-}]}{[HFlu^-]} = 10^{\text{pH} - pK_{a3}}$$

$$\frac{[Flu^{2-}]_0 - [HFlu^-]}{[HFlu^-]} = 10^{\text{pH} - pK_{a3}}$$

$$[Flu^{2-}]_0 - [HFlu^-] = [HFlu^-] \cdot 10^{\text{pH} - pK_{a3}}$$

$$[HFlu^-] \cdot 10^{\text{pH} - pK_{a3}} + [HFlu^-] = [Flu^{2-}]_0$$

$$[HFlu^-] \cdot (10^{\text{pH} - pK_{a3}} + 1) = [Flu^{2-}]_0$$

$$[\text{HFlu}^-] = \frac{[\text{Flu}^{2-}]_0}{10^{\text{pH} - \text{p}K_{a_3}} + 1}$$

$$[\text{HFlu}^-] = \frac{2,66 \times 10^{-4}}{10^{7,0-6,7} + 1} = 8,88 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$$

1.2.5. Pour $\text{pH} = 7,0$, le diagramme de prédominance montre que $[\text{Flu}^{2-}] > [\text{HFlu}^-]$.

On peut calculer $[\text{Flu}^{2-}] = [\text{Flu}^{2-}]_0 - [\text{HFlu}^-]$

$$[\text{Flu}^{2-}] = 2,66 \times 10^{-4} - 8,88 \times 10^{-5} = 2,66 \times 10^{-4} - 0,888 \times 10^{-4} = 1,77 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$$

On vérifie bien que $[\text{Flu}^{2-}] > [\text{HFlu}^-]$, ce résultat est cohérent.

1.3.1. L'hydroxyde de sodium est une base forte pour laquelle $\text{pH} = \text{p}K_e + \log c$

$$\text{pH} = 14 + \log 0,01$$

$$\text{pH} = 12$$

1.3.2. La figure 2 montre que pour un $\text{pH} = 12$, l'absorbance est maximale. On suppose que lorsque la fluorescéine absorbe beaucoup de lumière alors elle est capable d'émettre par fluorescence efficacement. **??Impossible de répondre à cette question car il n'y a aucune information pour faire le lien entre le pH et l'intensité de la fluorescence, ou d'information faisant le lien entre l'absorbance et l'intensité de la fluorescence. ??**

1.3.3. La courbe en trait plein atteint un maximum pour une longueur d'onde d'environ 490 nm.

La courbe en trait pointillé atteint un maximum pour une longueur d'onde d'environ 520 nm.

On sait que $\lambda_{\text{bleu}} < \lambda_{\text{vert}}$ et que la fluorescéine absorbe dans le bleu et fluoresce dans le vert.

On en conclut que la courbe en trait plein correspond au spectre d'absorption.

1.3.4. La figure 2 montre que pour un $\text{pH} = 8,3$ l'absorbance est très élevée. On en déduit que la fluorescence sera forte et permettra de faire un suivi fluorimétrique.

1.4.1. En diluant la solution S_0 par 10, on obtient la solution S_1 . On en déduit que $C_1 = C_0/10$.

Au cours d'une dilution la quantité de matière de soluté se conserve $n_0 = n_1$.

$$C_0 \cdot V_0 = C_1 \cdot V_1$$

$$C_0 \cdot V_0 = \frac{C_0}{10} \cdot V_1$$

alors $V_0 = \frac{V_1}{10}$, il faut prélever un volume V_0 de solution mère S_0 dix fois plus faible que le volume

de solution fille préparée.

Protocole de dilution : On place de la solution mère S_0 dans un becher. À l'aide d'une pipette jaugée de 10,0 mL, on prélève le volume V_0 de solution mère que l'on verse dans une fiole jaugée de 100,0 mL. On ajoute de l'eau distillée au 1/3 de la fiole. On agite, puis on complète jusqu'au trait de jauge. On agite à nouveau.

1.4.2. Il faut choisir une longueur d'onde pour laquelle l'**absorbance est maximale**. Ainsi l'incertitude relative sur la mesure de l'absorbance est réduite.

La lecture du spectre montre qu'une longueur d'onde **égale à environ 490 nm** conviendrait.

Complément : Supposons que l'incertitude absolue sur la mesure de l'absorbance soit égale à $U(A) = 0,10$.

On mesure une absorbance $A = 1,00 \pm 0,10$ alors l'incertitude relative est $\frac{U(A)}{A} = \frac{0,10}{1,00} = 10\%$.

Si on mesure une absorbance plus faible $A = 0,20 \pm 0,10$ alors $\frac{U(A)}{A} = \frac{0,10}{0,20} = 50\%$ l'incertitude relative devient très élevée.

1.4.3. La loi de Beer-Lambert indique que l'absorbance est proportionnelle à la concentration.

En classe, on a vu que $A = k.C$.

Le sujet indique $A = \varepsilon.l.C$, on comprend que $k = \varepsilon.l$.

Solution fille	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄
Concentration molaire (mol.L ⁻¹)	$2,68 \times 10^{-5}$	$2,01 \times 10^{-5}$	$1,34 \times 10^{-5}$	$6,70 \times 10^{-6}$
Absorbance	1,523	1,200	0,811	0,411
$k = \frac{A}{C}$ (L.mol ⁻¹)	$k_1 = 5,68 \times 10^4$	$k_2 = 5,97 \times 10^4$	$k_3 = 6,05 \times 10^4$	$k_4 = 6,13 \times 10^4$

On remarque que les valeurs de k sont proches les unes des autres, on peut alors considérer k comme une constante. Ce qui valide la loi de Beer-Lambert pour cette expérience.

1.4.4. $k = (k_1 + k_2 + k_3 + k_4)/4$

$$k = 5,96 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}$$

$k = \varepsilon.l$ où l est l'épaisseur de la cuve égale à 1 cm.

$$\varepsilon = \frac{k}{l}$$

$$\varepsilon = \frac{5,96 \times 10^4}{1} = 5,96 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

2. Synthèse de la fluorescéine

2.1. On reconnaît les molécules d'après leurs formules brutes.

L'anhydride phtalique C₈H₄O₃, possède 8 atomes de carbone, alors que la résorcine C₆H₆O₂ n'en possède que 2.

La résorcine est la première molécule de l'équation et la seconde molécule écrite à gauche de la flèche est l'anhydride phtalique.

2.2. Déterminons les quantités de matière des deux réactifs :

$$\text{Résorcine : } n_1 = \frac{m_1}{M_1}$$

$$n_1 = \frac{3,30}{110} = 3,00 \times 10^{-2} \text{ mol}$$

$$\text{Anhydride phtalique : } n_2 = \frac{m_2}{M_2}$$

$$n_2 = \frac{2,00}{148} = 1,35 \times 10^{-2} \text{ mol}$$

D'après l'équation de la réaction,

il faut 1 mol d'anhydride phtalique pour consommer 2 mol de résorcine

Avec $n_2 = 1,35 \times 10^{-2}$ mol d'anhydride phtalique, on peut consommer $n_{\text{rés.Conso}}$ mol de résorcine.

Par proportionnalité $n_{\text{rés.Conso}} = 2.n_2 = 2,70 \times 10^{-2}$ mol.

Or on dispose de $n_1 = 3,00 \times 10^{-2}$ mol $>$ $n_{\text{rés.Conso}}$, ainsi il restera de la résorcine en fin de réaction.

La résorcine est bien introduite en excès.

Autre rédaction plus rapide, mais plus délicate à comprendre :

Pour respecter les proportions stœchiométriques, il faut que $\frac{n_1}{2} = \frac{n_2}{1}$.

On constate que $\frac{n_1}{2} > \frac{n_2}{1}$ ainsi la résorcine est en excès.

2.3. On extrait du tableau de données pour la résorcine $T_f = 110^\circ\text{C}$ et $T_{éb} = 280^\circ\text{C}$ et pour l'anhydride phtalique $T_f = 131^\circ\text{C}$ et $T_{éb} = 284^\circ\text{C}$.

Le bain d'huile est à la température de $T = 180^\circ\text{C}$.

Comme $T_f < T < T_{éb}$, les deux réactifs sont à l'état liquide.

2.4. On n'ajoute que quelques gouttes d'acide sulfurique, par ailleurs il apparaît au-dessus de la flèche dans l'équation de la réaction ; il s'agit d'un catalyseur dont le rôle est de réduire la durée de la réaction.

2.5. La réaction indique de l'eau du côté des produits, or la température du milieu réactionnel est supérieure à 100°C . On peut penser que les vapeurs sont essentiellement formées d'eau.

2.6. À la fin de l'étape f, on a ajouté de la soude à 1 mol.L^{-1} . Il s'agit d'une solution très basique.

On peut penser que le pH est supérieur au pK_a du couple $\text{HFlu}^- / \text{Flu}^{2-}$.

Ainsi la fluorescéine est sous la forme de la base Flu^{2-} .

2.7. L'ajout d'acide sulfurique fait baisser fortement le pH. Ainsi le pH doit devenir inférieur au pK_a du couple $\text{H}_2\text{Flu} / \text{HFlu}^-$ faisant prédominer H_2Flu dans le milieu.

Or le tableau de données indique que H_2Flu est peu soluble, ainsi H_2Flu apparaît sous forme solide et précipite.

2.8. Le rendement est défini comme égal au rapport de la quantité de fluorescéine réellement obtenue par la quantité maximale de fluorescéine qu'il est possible d'obtenir théoriquement.

$$\eta = \frac{n_{\text{exp}}}{n_{\text{max}}}$$

L'anhydride phtalique est le réactif limitant, d'après l'équation de la réaction il peut se former autant de fluorescéine que l'on consomme d'anhydride phtalique.

$$\eta = \frac{m}{M_{\text{H}_2\text{Flu}} \cdot n_2} = \frac{m}{n_2 \cdot M_{\text{H}_2\text{Flu}}}$$

$$\eta = \frac{2,47}{\frac{2,00}{148} \times 332} = 0,55 = \mathbf{55 \%}$$