

# FLUORESCENCE

**But du TP :** On souhaite déterminer la limite de détection du spectrophotomètre pour un hydrocarbure aromatique volatil. Et on veut étudier la méthode de calcul du rendement quantique du composé par rapport au p-terphényl.

## 1. Principe et Matériel utilisé

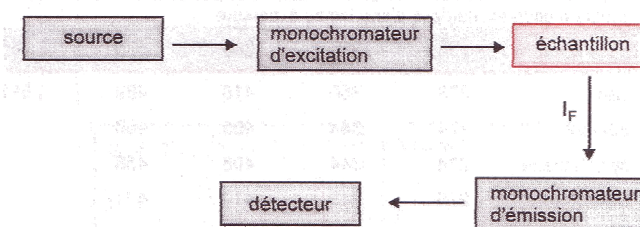
La fluorescence est un phénomène d'émission qui suit une absorption de lumière. Les composés en solution, lorsqu'ils sont excités par des radiations lumineuses de l'UV/Visible, réémettent l'énergie reçue en totalité ou en partie sous forme d'un rayonnement. Selon la loi de Stokes le maximum d'émission d'un composé fluorescent est situé à une longueur d'onde plus grande que celle qui correspond au maximum de sa bande d'absorption. Lorsqu'on arrête l'excitation, l'intensité du flux lumineux décroît exponentiellement. La fluorescence est un phénomène très rapide. La fluorescence est mieux observée pour les molécules cycliques, rigides et possédant des liaisons  $\pi$ . De plus, elle est augmentée par la présence de groupes électro-donneurs et diminuée avec les groupes électro-attracteurs. On peut relier la fluorescence à la concentration :

$$I_f = K \cdot I_0 \cdot c$$

$I_f$  étant l'intensité de fluorescence,  $I_0$  l'intensité de la radiation excitatrice,  $c$  la concentration et  $K$  un facteur dépendant de la longueur de la cuve, du coefficient d'absorption molaire, et du rendement quantique de fluorescence.

On définit le rendement quantique de fluorescence comme le rapport du nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés ou comme le rapport de l'intensité de fluorescence sur l'intensité absorbée.

Concernant l'instrumentation en fluorescence, l'échantillon à doser se comporte comme une source émettant dans toutes les directions. La mesure de



l'intensité lumineuse est faite par l'intermédiaire d'un photomultiplicateur. Généralement on recueille la lumière dans une direction perpendiculaire à celle de la source primaire. Les appareils comportent comme source d'excitation une lampe à arc xénon.

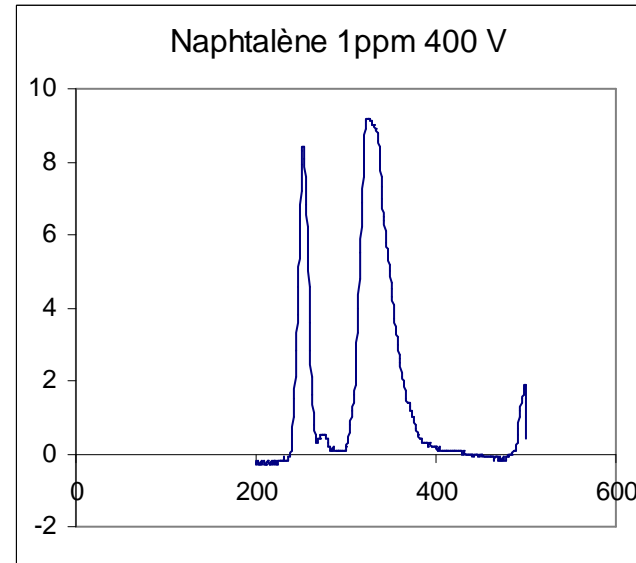
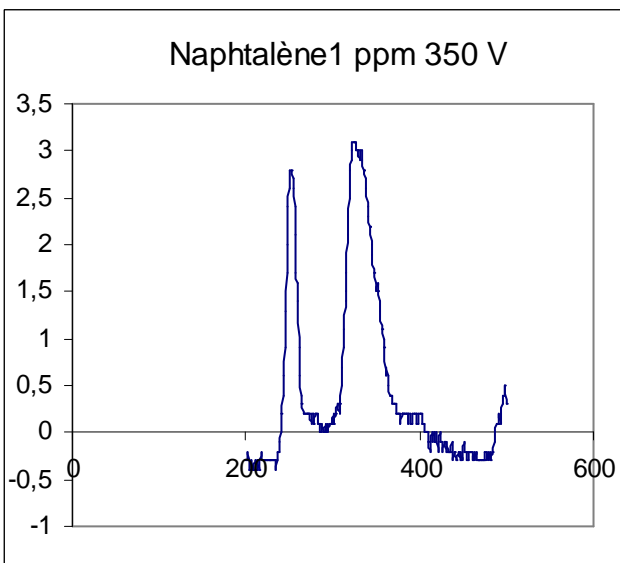
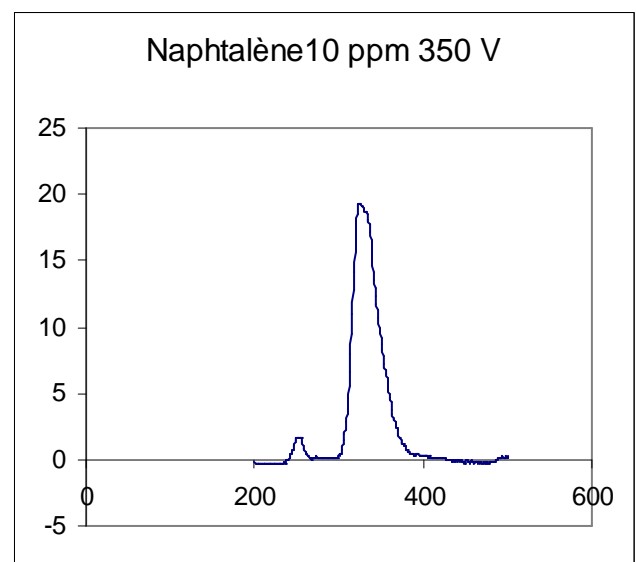
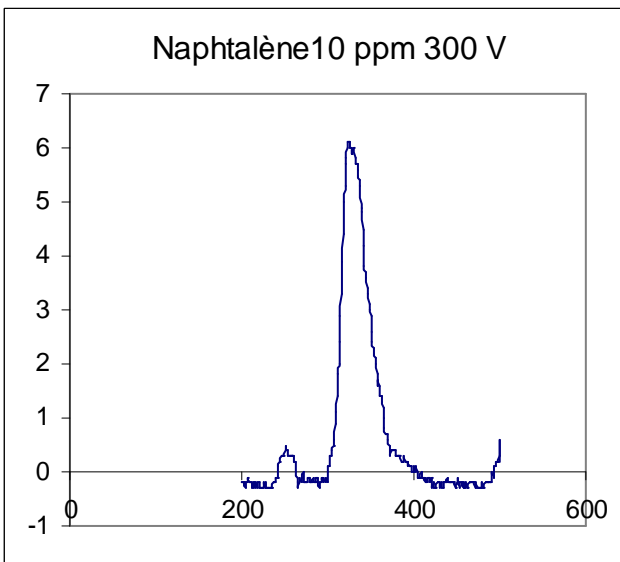
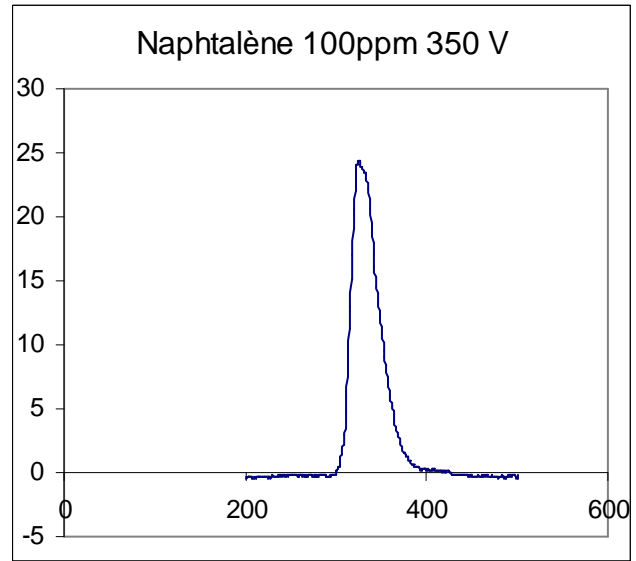
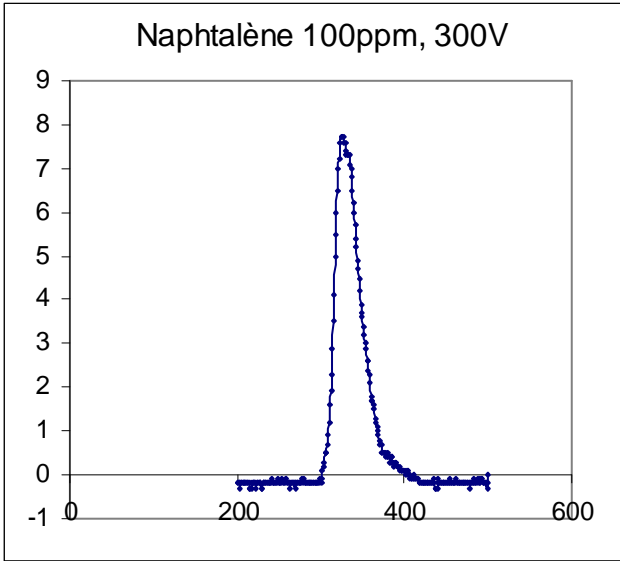
Aussi, le solvant, le pH et la concentration sont des paramètres qui interviennent sur les intensités de fluorescence.

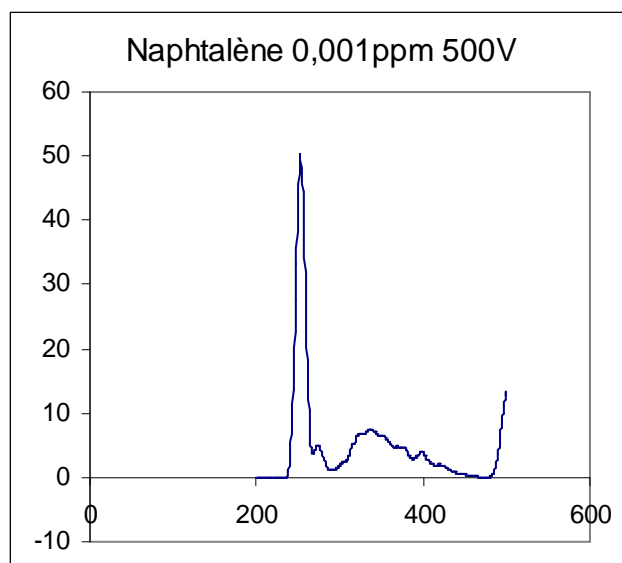
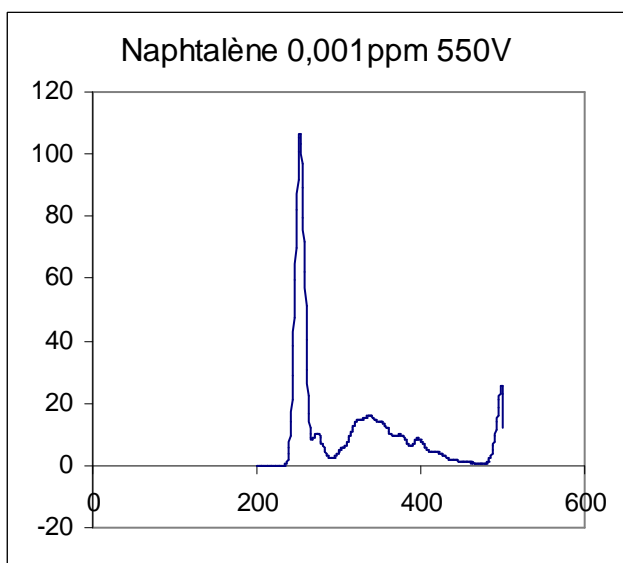
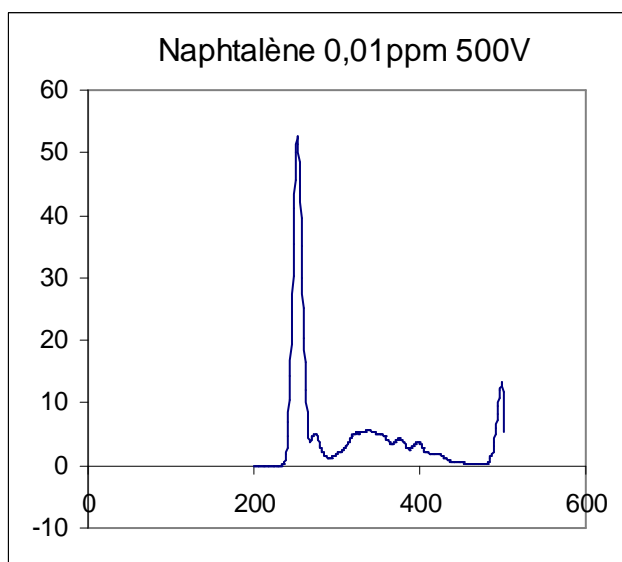
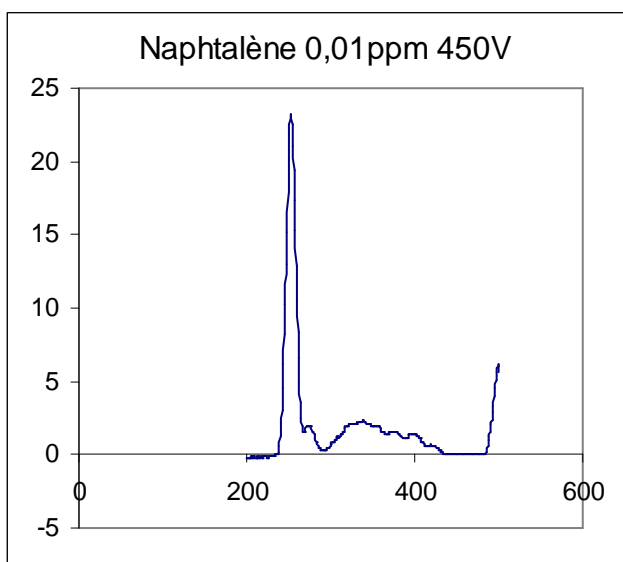
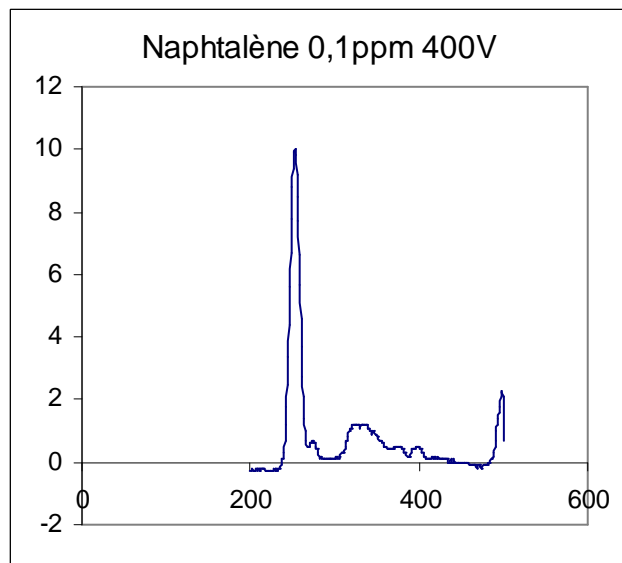
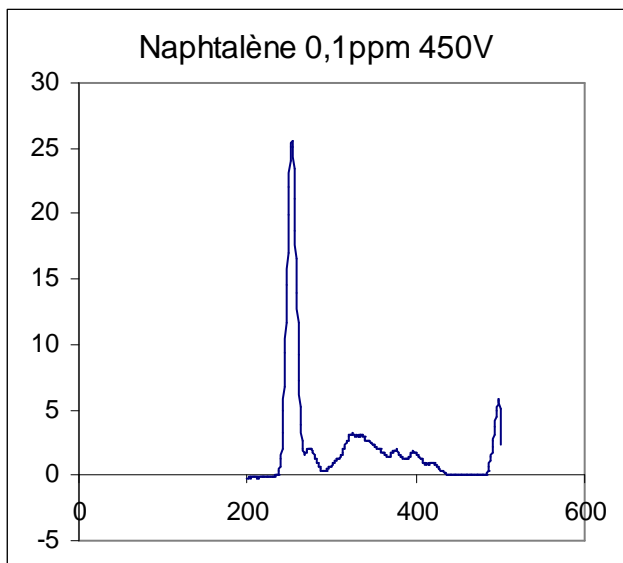
## 2. Manipulation et Résultats

On prépare une gamme de solution de naphthalène dans du méthanol sur le domaine de concentration de 100ppm à 0,001ppm. Chaque solution est excitée à une longueur d'onde excitatrice, elle émet une intensité de fluorescence. Cette longueur d'onde est choisit telle que l'absorption soit maximum. Nous avons déterminé la valeur de  $\lambda_{\text{excitation}}$  en optimisant la valeur d'émission du naphthalène. L'intensité la plus élevée était pour  $\lambda=253\text{nm}$ . Nous aurions pu tracer le spectre d'absorption afin de déterminer la longueur d'excitation.

On effectue chaque spectre de fluorescence pour deux tensions différentes. L'intensité de fluorescence dépend de cette tension. On ajoute en annexe la courbe du gain qui nous permet de prendre en compte l'influence de la tension sur l'intensité.

Voici les spectres de toutes les solutions :

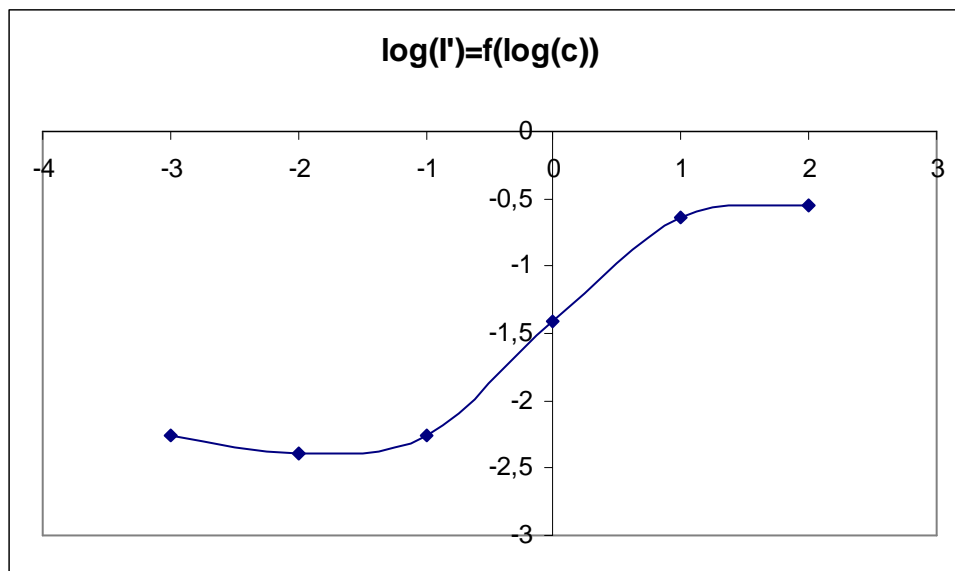




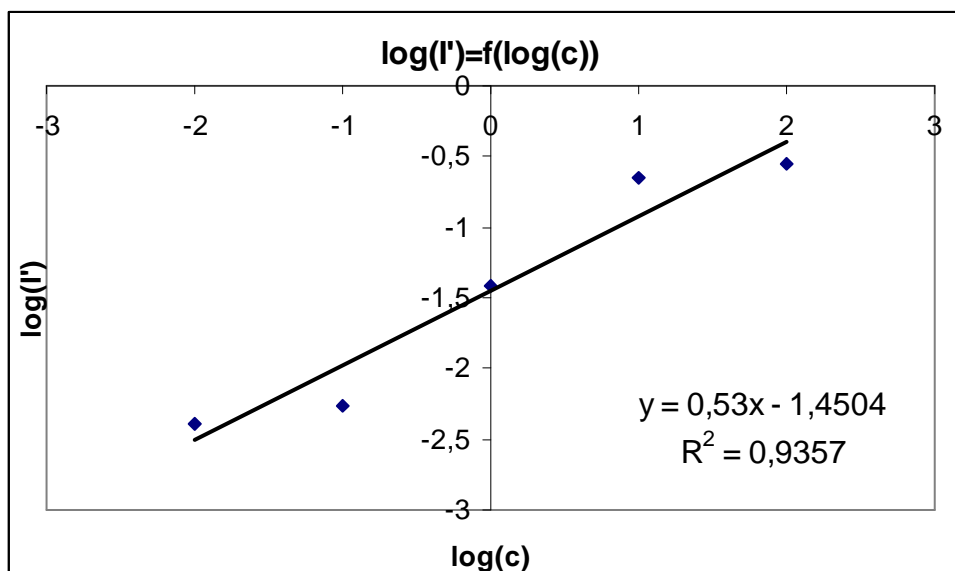
## 2.1. Limite de détection du naphthalène

A partir de ces spectres, on peut tracer la droite  $\text{Log}(I') = \log(c)$ . On remarque que pour tracer cette fonction, on a pris soin de soustraire le spectre du méthanol. Pour chaque valeur d'intensité on a soustrait l'intensité due à l'émission faible du méthanol.

On obtient :



On constate que pour une concentration de 0,001ppm, la relation d'émission n'est plus linéaire. On décide de tracer une régression linéaire sur le domaine de concentration 100ppm à 0,01ppm. On obtient :



On peut calculer les incertitudes sur C :

- Pour  $C_f = 10\text{ppm}$  on a  $\Delta C_f = (0 + 0,06/50 + 0,02/5) * 10 = 5,2 \cdot 10^{-2} \text{ppm}$ .
- Pour  $C_f = 1\text{ppm}$  on a  $\Delta C_f = (5,2 \cdot 10^{-2} + 0,06/50 + 0,02/5) * 1 = 1,04 \cdot 10^{-2} \text{ppm}$ .

- Pour  $C_f = 0,1\text{ppm}$  on a  $\Delta C_f = 1,56 \cdot 10^{-3}\text{ppm}$ .
- Pour  $C_f = 0,01\text{ppm}$  on a  $\Delta C_f = 2,08 \cdot 10^{-4}\text{ppm}$ .
- Pour  $C_f = 0,001\text{ppm}$  on a  $\Delta C_f = 2,6 \cdot 10^{-5}\text{ppm}$ .

Nous avons préparé les solutions de la même manière que dans le TP UV/Visible, les incertitudes sont calculées de la même manière. Aussi, ces incertitudes étant très faibles, elles ne sont pas visibles sur le graphe.

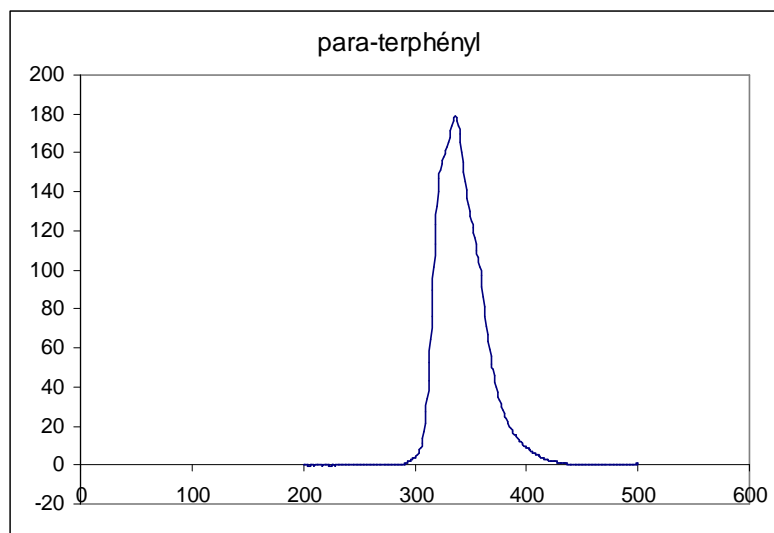
Pour les incertitudes sur l'intensité, on estime  $\Delta I = 0,1$ . Lorsqu'on sélectionne notre longueur d'onde, on observe pour  $\lambda \pm 1$  une différence d'intensité de 0,1. On calcule alors :

$I+\Delta I$	$I-\Delta I$	$\frac{(I+\Delta I)}{G} = I'1$	$\frac{(I-\Delta I)}{G} = I'2$	$\log(I'1)$	$\log(I'2)$	$\log(I'1)-\log(I)$	$\log(I)-\log(I'2)$	$\Delta I/I \cdot 100$
24,4	24,2	0,2862	0,2838	-0,5433	-0,5468	-0,0017	-0,0017	0,32
19,4	19,2	0,2275	0,2252	-0,6428	-0,6473	-0,0022	-0,0022	0,34
9,3	9,1	0,0389	0,0380	-1,4099	-1,4193	-0,0046	-0,0047	0,33
3,3	3,1	0,0056	0,0053	-2,2449	-2,2720	-0,0133	-0,0137	0,61
5,4	5,2	0,0041	0,0040	-2,3805	-2,3969	-0,0081	-0,0082	0,34
15	14,8	0,0055	0,0054	-2,2571	-2,2629	-0,0029	-0,0029	0,12

Finalement, étant donné les résultats, droites et incertitudes, on peut dire que la limite de détection du naphthalène est inférieure à 0,01ppm.

## 2.2. Rendement quantique

A partir des mesures, on peut déterminer le rendement quantique du naphthalène par rapport au p-terphényl. Pour cela, on prépare une solution de p-terphényl à 1ppm. On règle la longueur d'onde d'excitation à 300nm ( $\lambda$  correspondant au maximum d'absorption du p-terphényl), et on règle la tension à 300V.



A partir de ce spectre on calcule  $S\text{-ter} = H * \Delta\lambda = 160 * 100 = 16000$  unités d'aire

Puis à partir du spectre du naphthalène réalisé à 300V on détermine  $S\text{-naph} = H * \Delta\lambda = 319,2$

On trouve alors  $\rho_{\text{naph}} = \rho_{\text{ter}} * (S_{\text{naph}}/S_{\text{ter}}) = 0,93 * (319,2/16000) = 0,02$

Sachant que la valeur théorique du rendement quantique du naphthalène est de 0,55, on déduit une erreur dans la manipulation. L'erreur peut provenir de :

Une erreur dans la tension appliquée pour le spectre du p-terphényl ou du naphthalène à 1ppm

Une erreur dans les concentrations

Une contamination d'une ou plusieurs solutions.

## Conclusion

Ce TP nous a permis d'approfondir nos connaissances en fluorescence. La limite de détection de l'appareil est d'environ 0.01ppm, cette méthode est donc relativement sensible mais se limite aux composés fluorescents.

Le rendement quantique calculé ne correspond pas à la valeur théorique. Nous l'expliquons par une contamination probable des solutions de naphthalène qui fausserait tous nos résultats. En effet, nous avons remarqué au cours du TP que notre solution de méthanol servant aux dilutions était contaminée. Lors de l'analyse du méthanol (spectre ci-dessous), nous avons remarqué que le spectre présentait des pics d'émission intense, alors que le méthanol n'émet que très faiblement.

Nous avons vu que l'intensité dépend de la tension appliquée ce qui permet de diminuer considérablement la concentration de nos analytes tout en gardant un signal d'émission.

