

RAPPORT DE TP CHIMIE PHYSIQUE

Rédigé par Noushrina CHEETAMAN, Sophea DUONG et Valeria GALKINA

Étudiantes en première année M1

Date du TP : 10 mars 2021

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE CHIMIE

1 rue Blaise Pascal – 67 008 Strasbourg

MASTER SCIENCES ANALYTIQUES POUR LES BIOINDUSTRIES

FLUORESCENCE



Enseignant : M. Pierre-Antoine Bonnefont

Technicien : Thomas Weisenberger

Année universitaire 2020 – 2021

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 1. | INTRODUCTION | 1 |
| 2. | PRINCIPES..... | 1 |
| 1.1. | LES HAP | 1 |
| 2.1.1 | <i>Structures</i> | <i>1</i> |
| 2.1.2 | <i>Origines.....</i> | <i>1</i> |
| 2.1.3 | <i>Propriétés</i> | <i>1</i> |
| 1.2. | LA FLUORESCENCE | 2 |
| 2.1.4 | <i>La luminescence et les niveaux d'énergies électroniques.....</i> | <i>2</i> |
| 2.1.5 | <i>Le spectrofluorimètre</i> | <i>2</i> |
| 1.3. | DIFFUSION DE RAMAN ET RAYLEIGH..... | 3 |
| 2. | MODE OPERATOIRE | 3 |
| 2.1. | PREPARATION DES SOLUTIONS..... | 3 |
| 2.2. | SPECTROFLUORIMETRIE..... | 4 |
| 2.1.6 | <i>Détermination des longueurs d'onde d'émission et d'excitation</i> | <i>4</i> |
| 2.1.7 | <i>Les spectres</i> | <i>4</i> |
| 3. | RESULTATS ET DISCUSSIONS..... | 4 |
| 3.1. | SPECTROFLUORIMETRIE..... | 4 |
| 2.1.8 | <i>Détermination des longueurs d'onde d'émission et d'excitation</i> | <i>4</i> |
| 2.1.9 | <i>Détermination de la concentration de naphthalène et d'anthracène dans notre solution X</i> | <i>5</i> |
| 4. | CONCLUSION | 6 |
| 5. | ANNEXES | 7 |
| 3. | BIBLIOGRAPHIE | 16 |

1. INTRODUCTION

Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (=HAP), tels que le naphthalène et l'anthracène, font partie des polluants cancérigènes présents dans l'environnement. Par ailleurs, en plus de se retrouver dans l'air, certains contaminent également notre alimentation ou notre intérieur.

M. Bonnefont a réalisé un échantillonnage provenant de sa piscine et voudrait en quantifier le naphthalène et l'anthracène. Cela lui permettrait d'évaluer le risque que présente le premier plongeon du mois de mai. Malheureusement, par faute de temps, il a demandé à ses élèves de quantifier ces deux molécules à sa place. Pour cela, nous allons utiliser un spectrofluorimètre permettant l'obtention de spectres d'excitation et d'émission. Ces derniers seront utiles pour quantifier la concentration des molécules.

2. PRINCIPES

1.1. Les HAP

2.1.1 Structures

Comme son nom l'indique, les HAP sont des molécules composées uniquement de carbones et d'hydrogènes (=hydrocarbures), sous forme de cycles aromatiques, avec au moins deux cycles adjacents (polycycliques). Par ailleurs, The National Institute of Standards and Technology a déjà évalué le nombre de HAP à plus de 1000 molécules différentes^[2]. Cependant, dû à la réactivité accrue de certains HAP, ils sont moins présents dans l'environnement que d'autres^[1].

2.1.2 Origines

Les HAP sont des composés aromatiques considérés comme semi-volatiles, c'est-à-dire qu'ils ne le sont qu'en contact d'une source de chaleur^[1]. En général, ils ont pour origines les activités humaines, tels que les incendies, la combustion du carburant dans les véhicules, le domaine du tertiaire... Toutefois, les événements naturels, comme les feux de forêts ou les éruptions volcaniques peuvent également provoquer un grand nombre d'HAP dans l'air.

2.1.3 Propriétés

Les HAP sont des molécules organiques non polarisées, puisqu'elles ne sont composées que de Carbones et d'Hydrogènes. Les liaisons C-H n'étant pas polarisée, les HAP ne le sont pas également, car ils ne présentent aucuns moments dipolaires. Ainsi, ces composés sont hydrophobes.

En revanche, ce qui nous intéresse plus particulièrement, c'est sa présence de systèmes d'électrons π sur leurs structures. Ainsi, en fonction de leurs caractères aromatiques, les HAP absorbent dans le domaine des UV et produisent des spectres de fluorescence.

1.2. La fluorescence

2.1.4 La luminescence et les niveaux d'énergies électroniques

Tout d'abord, la luminescence correspond à un "phénomène physique"^[3] pour lequel un composé émet une lumière suite à une excitation pour retrouver un état stable en énergie. Par ailleurs, l'étude de la luminescence d'un composé permet d'en déduire sa nature fluorescente ou phosphorescente. En effet, si une molécule subit un changement de spin par une "conversion intersystème de l'énergie"^[4], il entrera dans une phase de "demi-vie longue"^[4] lui conférant une aptitude à se désexciter de manière très lente. Cette molécule sera dite phosphorescente. En revanche, nos HAPs possèdent plutôt des caractéristiques fluorescentes (ou fluorophores), c'est-à-dire que suite à l'absorption d'un photon de fréquence et de longueur d'onde spécifique à la molécule ; Les électrons vont subir une "conversion interne de l'énergie"^[4] et retourner à l'état électronique fondamental rapidement. De plus, la relaxation vibrationnelle se produit à des états d'énergie très proche, induisant une longueur d'onde également très proche. La fluorescence se déroule spécifiquement à partir du niveau vibratoire le plus bas d'un état électronique excité (Voir figure1)

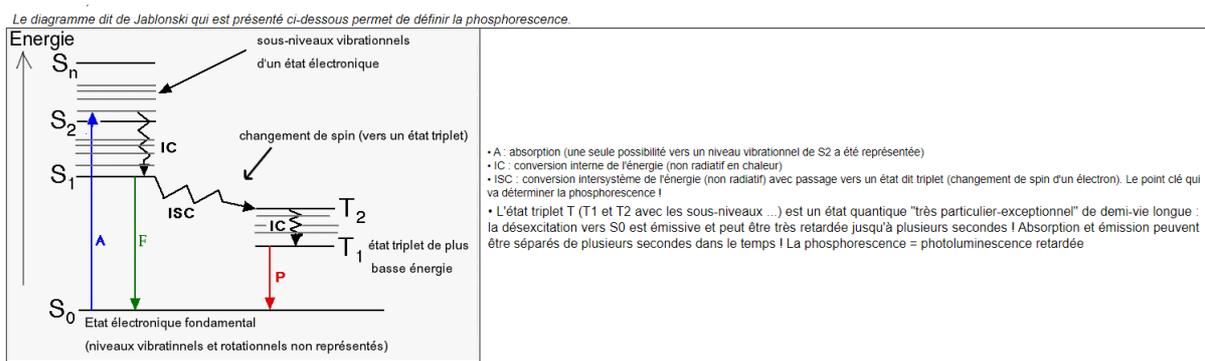


Figure 1 : Schéma du déroulement de la fluorescence au niveau des états d'énergie^[4]

2.1.5 Le spectrofluorimètre

La spectrofluorimétrie peut être utilisée dans le cadre de la quantification ou d'identification d'espèces fluorophores. En effet, lors du processus de relaxation, les photons émis vont acquérir des fréquences spécifiques au composant et ce sont ces dernières qui permettront de déterminer la structure des différents niveaux de vibrations^[5].

Concernant les diverses parties du spectromètre de fluorescence, il se compose^[5] :

- D'une source : il existe plusieurs sources d'excitation possible, comme le laser ou les lampes.

Dans notre cas, nous avons utilisé la lampe Xénon



- D'un monochromateur d'excitation : ce qui va engendrer un flux d'incident d'excitation à une longueur d'onde donnée

- D'un porte échantillon : au contact avec le flux incident, nous aurons de la fluorescence transmise dans toutes les directions selon une bande spectrale
- D'un monochromateur d'émission : pour sélectionner une longueur d'onde d'émission
- D'un détecteur : pour détecter le flux et en faire l'acquisition dans le logiciel

Pour pouvoir quantifier nos HAP dans l'échantillon, nous allons réaliser un spectre d'émission. Pour cela, nous allons fixer une longueur d'onde λ d'excitation selon l'absorption la plus élevée du spectre UV-Visible du TP UV-Visible. En effet, pour cette longueur d'onde, l'échantillon va exciter le plus. Puis on balaie les longueurs d'onde λ d'émission. Nous allons également réaliser un spectre d'excitation en fixant la longueur d'onde λ d'émission selon le maximum obtenu dans le spectre d'émission. Puis on balaie les longueurs d'onde λ d'excitation.

1.3. Diffusion de Raman et Rayleigh

Lorsque l'échantillon est traversé par la lumière, une collision **inélastique** peut se produire. Cela implique le transfert d'énergie de radiation excitatrice vers les molécules de notre solvant : l'éthanol. L'énergie que capte les groupements hydroxyles va se répercuter sur son énergie de vibration, qui deviendra plus faible que l'énergie provenant du λ d'excitation. Ce phénomène est décrit comme étant la diffusion de Raman.

Par ailleurs, la diffusion de Rayleigh correspond à une collision **élastique** entre les électrons et les photons de la molécule d'intérêt. Ce phénomène se déroule sans échange d'énergie puisqu'on ne change pas de longueur d'onde dans la même molécule.

2. MODE OPERATOIRE

2.1. Préparation des solutions

Tout d'abord, nous avons préparé une gamme d'étalonnage externe. Cela nous permettra de pouvoir quantifier notre naphthalène et anthracène dans l'échantillon de M. Bonnefont.

| Noms des étalons | Les concentrations ($\mu\text{g/mL}$) | Facteur de dilution | Volume de la fiolle fille (mL) | Volume à prélever de la solution S0 (mL) |
|------------------|--|-------------------------|-----------------------------------|---|
| S1 (N) | 7.0 | $10^1/7.0 \approx 1.43$ | 25 | $25/1.43 = 17.5$ |
| S2 (N) | 15 | $25/15 \approx 1.67$ | 25 | $25/1.67 \approx 15.0$ |
| S3 (N) | 25 | $50^2/25 = 2$ | 25 | $25/2 = 12.5$ |

¹ La solution mère de $10\mu\text{g/mL}$ avait été préparée durant la session de TP Uv-Vis

² La solution mère de $50\mu\text{g/mL}$ avait été préparée durant la session de TP Uv-Vis

ATTENTION

Ce PDF n'a pas été publié entièrement pour éviter les risques de plagiat et/ou de non-respect de clauses de confidentialités