

Exercice 1 : Spectrophotométrie de fluorescence

Données pour l'exercice :

- $h = 6,64 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$, la constante de Planck ;
- $1 \text{ eV} = 1,60 \times 10^{-19} \text{ J}$.

1.1 Introduction

Document 1

La spectrophotométrie, aussi appelée spectroscopie, regroupe un ensemble de méthodes d'analyse permettant d'accéder à la composition et à la structure de la matière fondées sur l'étude des spectres fournis par l'interaction des atomes et des molécules avec divers rayonnements électromagnétiques qu'ils émettent ou absorbent.

Les méthodes de spectroscopie qui sont fondées sur l'absorption utilisent la loi de Beer-Lambert, indiquant la proportionnalité entre l'intensité lumineuse absorbée et la quantité de matière absorbante. Selon le type d'échantillon à analyser et le niveau de performances recherché, on utilise en laboratoire la spectrométrie d'absorption soit sur molécules en phase liquide ou gazeuse, soit sur vapeur atomique obtenue en décomposant thermiquement les échantillons liquides ou solides.

Les atomes ou molécules portés dans un état excité peuvent se désexciter en émettant un rayonnement appelé rayonnement d'émission. Lorsque l'excitation résulte de l'absorption sélective, par les atomes ou les molécules à analyser, d'un rayonnement électromagnétique, il s'agit d'émission de fluorescence. La spectrométrie de fluorescence est particulièrement bien adaptée à la mesure des très faibles concentrations.

Source : *CEA*

1. Rappelez la relation déduite de la loi de Beer-Lambert en précisant chacun des termes.
2. Quelle est la différence majeure entre les spectrométries d'absorption et de fluorescence ?

1.2 Spectrophotométrie de fluorescence atomique

Document 2

Lorsqu'un électron d'une couche interne, d'énergie E_0 , est arraché à un atome sous l'effet d'un rayonnement, un électron d'une autre couche d'énergie supérieure E_n vient immédiatement prendre sa place en émettant un photon : c'est le phénomène de fluorescence.

Compte tenu du fait que le rayonnement d'excitation est suffisamment énergétique pour arracher des électrons de cœur, les photons émis lors du processus de fluorescence ont une énergie comprise entre 50 eV et une centaine de keV et une longueur d'onde allant d'un centième de nanomètre à 30 nanomètres. Ils « tombent » dans le domaine des rayons X, d'où le nom de fluorescence X.

Les énergies des niveaux électroniques étant caractéristiques des atomes, l'énergie du photon émis le sera tout autant. En analysant le spectre d'émission d'un échantillon après ionisation, on est capable d'identifier les éléments qu'il contient et, en prenant les précautions nécessaires, de déterminer leurs concentrations.

Source : *Philippe Galez, Techniques spectroscopiques d'analyse (2011)*

3. En vous servant du diagramme de la figure 1, donnez l'expression de l'énergie de transition ΔE correspondant à l'ionisation de l'atome de magnésium par l'éjection d'un électron du niveau E_0 .
4. Donnez l'expression de l'énergie de transition $\Delta E'$ correspondant au passage d'un électron du niveau E_1 vers le niveau E_0 .
5. Vérifiez que le rayonnement émis correspond au domaine des rayons X.

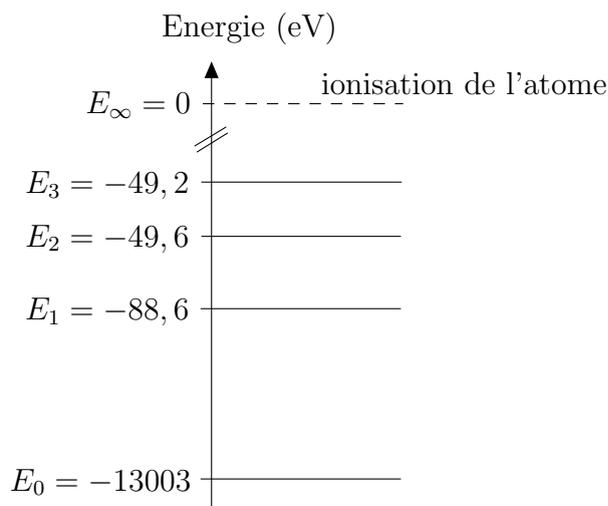


FIGURE 1 – Diagramme montrant les niveaux d'énergie des couches électroniques dans l'atome de magnésium.

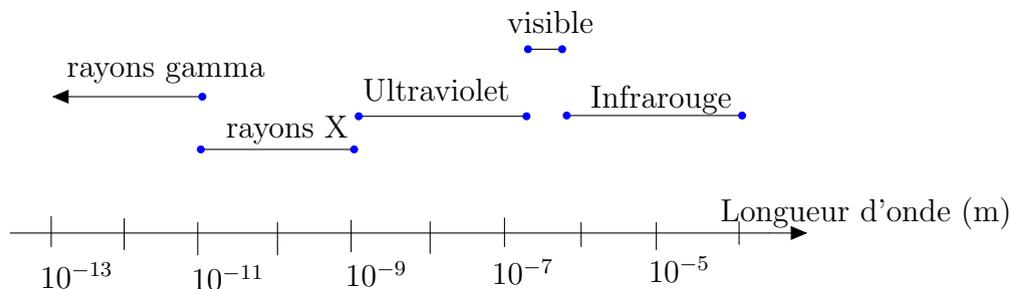


FIGURE 2 – Domaines des ondes électromagnétiques

1.3 Spectrophotométrie de fluorescence moléculaire

Document 3

Un grand nombre de composés absorbent la lumière dans les régions U.V. et visible du spectre. L'énergie lumineuse absorbée excite les molécules et les élève à un niveau énergétique supérieur. Les molécules excitées retournent ensuite à leur niveau énergétique de base ; l'énergie qu'elles avaient emmagasinée est alors dissipée sous forme de chaleur, utilisée pour des réarrangements moléculaires ou des transitions électroniques, ou réémise sous forme de lumière. Dans ce dernier cas, la lumière réémise est la fluorescence.

Source : *Université du Québec à Montréal, document de travail*

Document 4

On peut montrer que la fluorescence de solutions faiblement absorbantes est donnée par l'expression quantitative approchée suivante :

$$F = K \times C \quad (1)$$

avec F l'intensité de la fluorescence de la solution (unité arbitraire), K une constante et C la concentration de l'espèce fluorescente.

Il existe donc une relation linéaire entre la fluorescence d'un composé et la concentration de celui-ci. Il y a cependant une limitation à la validité de cette relation. Cette expression n'est valable que pour des solutions faiblement absorbantes, et donc faiblement concentrées. En effet, si tel n'était pas le cas, on observerait une diminution de la fluorescence due à la forte absorption propre à la solution. C'est le processus d'auto-absorption.

Source : *INSA de Rouen, document de travail de chimie analytique*

On se propose de déterminer la teneur en quinine dans une boisson gazeuse par spectrophotométrie de fluorescence. Le dosage de la quinine dans l'urine est employé afin de surveiller la concentration d'héroïne dans le corps (on peut détecter la quinine jusqu'à 2 semaines après son injection), celle-ci étant souvent utilisée pour diluer l'héroïne.

6. En vous servant du graphique de la figure 3, justifiez le fait que la relation 1 n'est valable que pour de faibles concentrations.
7. Déterminez la valeur du coefficient K de la courbe d'étalonnage de la solution de quinine (figure 4).

8. On considère une limonade, désignée comme la solution S , contenant de la quinine. On dilue 200 fois la solution S pour obtenir la solution S' .
- (a) Pour réaliser la dilution, on prélève un volume V de la solution S de concentration C en quinine. On obtient un volume V' de la solution S' , de concentration C' en quinine.
- Quelle est la relation entre V , V' , C et C' ?
 - On définit la facteur de dilution comme le rapport $D = \frac{C}{C'}$.
Démontrez que $D = \frac{V'}{V}$.
- (b) Déterminez la concentration en quinine de la solution S , sachant que l'intensité de fluorescence de la solution S' est $F = 1,22$.

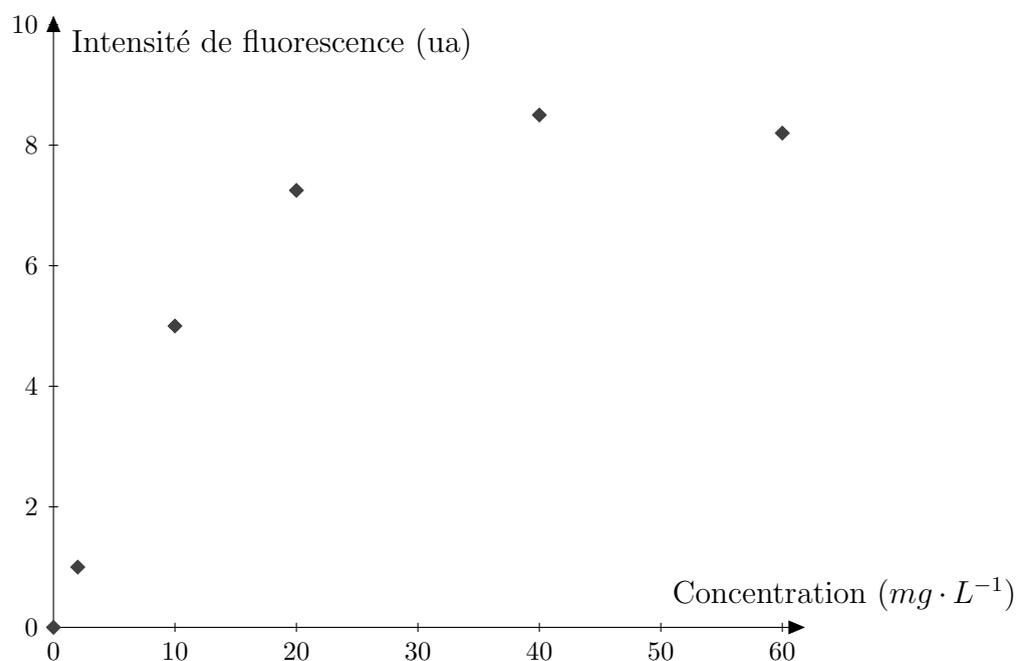


FIGURE 3 – Fluorescence de la quinine en fonction de la concentration (*Pauline Laurenti, Thibaut Dedreuil-Monet, 2006*).

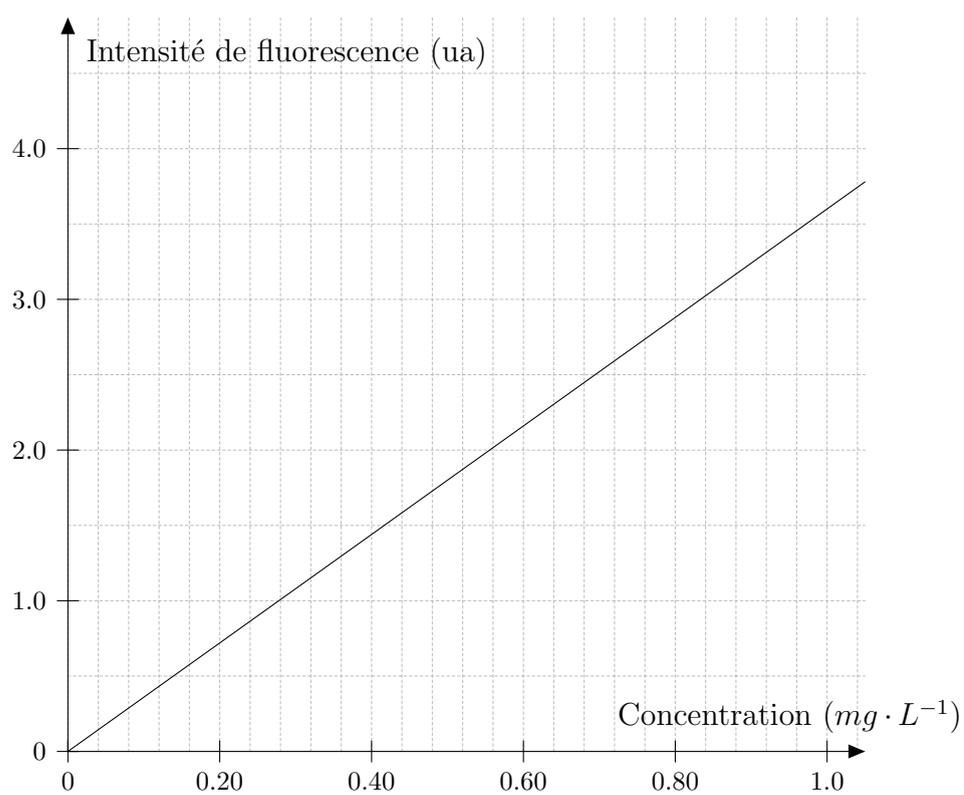


FIGURE 4 – Courbe d'étalonnage pour la solution de quinine (*Pauline Laurenti, Thibaut Dedreuil-Monet, 2006*).