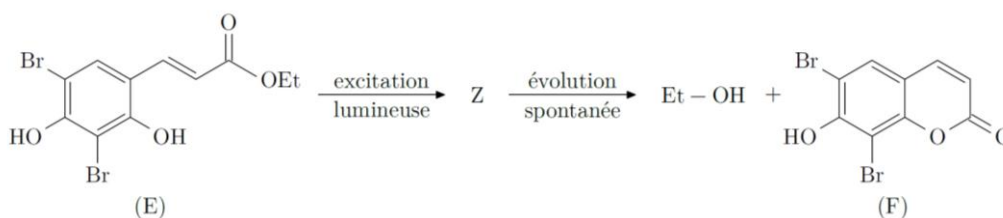


TD Chimie n°13 : Interaction lumière - matière

Exercice 1 : Suivi cinétique par fluorescence d'une photo-déprotection

Sous irradiation, une liaison C = C de l'ester cinnamique E s'isomérisé, ce qui conduit à la formation du diastéréoisomère Z. Ce dernier évolue spontanément pour conduire à la libération de l'éthanol ainsi qu'à la formation de la coumarine fluorescente F (figure 11).

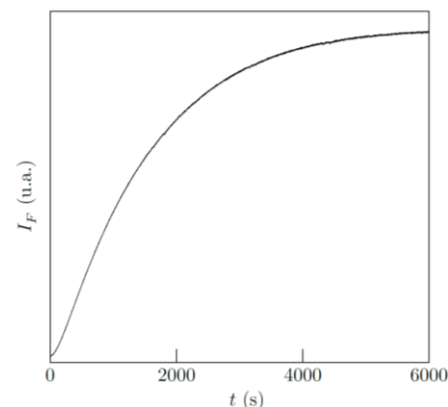


L'intensité de la lumière émise par un échantillon contenant une entité fluorescente est appelée intensité de fluorescence. Elle peut être mesurée par un fluorimètre. Pour cela, une cuve spectroscopique de longueur ℓ reçoit un rayonnement incident d'intensité I_0 qui excite les entités chimiques présentes. L'entité fluorescente se désexcite en émettant de la lumière dont un photo-récepteur mesure l'intensité I_f (exprimée en unité arbitraire u.a.). Dans la suite, on considère qu'une seule espèce chimique, l'ester cinnamique E, absorbe la lumière à la longueur d'onde de l'étude.

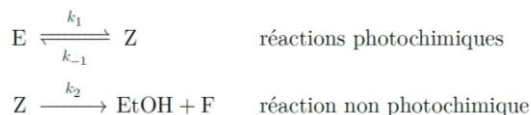
- Rappeler l'expression de l'absorbance A en fonction de l'intensité du rayonnement incident I_0 et de l'intensité du rayonnement transmis I_t . Exprimer alors I_t en fonction de A et I_0 .
- Qu'appelle-t-on rendement quantique de fluorescence ? Donner la relation existant entre le rendement quantique Φ_f , I_f et I_0 , si les intensités sont exprimées en nombre de photons par unité de temps et de volume. Exprimer alors I_f en fonction de I_0 , A et Φ_f .
- En se plaçant à haute dilution, on peut faire le développement limité $10^{-A} \approx 1 - 2,3A$. Dans cette hypothèse, montrer que l'intensité de fluorescence s'écrit $I_f = KI_0c$, où K une constante dont on donnera l'expression en fonction de Φ_f , de ℓ , du coefficient d'absorption molaire de l'espèce chimique qui absorbe la lumière (noté ε).

Lors de la photo-déprotection d'un principe actif (ici l'éthanol) protégé sous forme d'ester cinnamique, la coumarine fluorescente F est libérée. Comme ni l'ester cinnamique ni le principe actif ne sont fluorescents, la quantité de coumarine libérée (et donc l'avancement de la photo-déprotection) peut être suivi en mesurant l'intensité de fluorescence de la solution au cours du temps.

Dans l'expérience présentée ci-après, une solution de l'ester cinnamique E (à la concentration $c_0 = 5,7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ dans un mélange d'acétonitrile (CH_3CN) et de tampon tris(hydroxyméthyl)aminométhane fixé à pH = 7) a été irradié à 350 nm avec une intensité lumineuse $I_0 = 12,9 \times 10^{-8} \text{ E} \cdot \text{min}^{-1}$. L'intensité de fluorescence à 450 nm a été mesurée au cours du temps et la courbe obtenue est présentée ci-contre (u.a. signifie « unité arbitraire »).



Pour rendre compte des résultats expérimentaux, une modélisation microscopique a été proposée avec le mécanisme suivant :



Les valeurs numériques de k_1 , k_{-1} et k_2 ont pu être mesurées et sont fournies ci-dessous :

k_1	k_{-1}	k_2
$1,8 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	$3,2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	$2,2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$

- Établir, d'après ce modèle, les trois équations différentielles auxquelles obéissent les concentrations des espèces E, Z et F.

Dans un premier temps, on se place dans l'hypothèse où la transformation de E en Z conduit à un équilibre rapide du système, la réaction ayant une constante thermodynamique d'équilibre K° .

5. Montrer que la concentration en coumarine F vérifie alors une équation différentielle du type : $\frac{d[F]}{dt} + \alpha[F] = \alpha c_0$. Exprimer la constante α en fonction de k_2 et K° .
6. En déduire l'expression de l'évolution temporelle de la concentration en coumarine F en fonction du temps.
7. À l'aide du résultat de la question 4, déterminer l'expression de l'intensité de fluorescence I_f en fonction du temps en supposant que seule la coumarine F contribue à la fluorescence. Identifier la ou les caractéristiques de la courbe expérimentale qui valident le modèle obtenu et celles qui l'invalident.

Pour améliorer le modèle, l'hypothèse d'un équilibre entre E et Z est abandonnée. Le programme Python a été écrit pour résoudre le système des trois équations différentielles établies à la question 6 puis pour tracer l'intensité de fluorescence en fonction du temps.

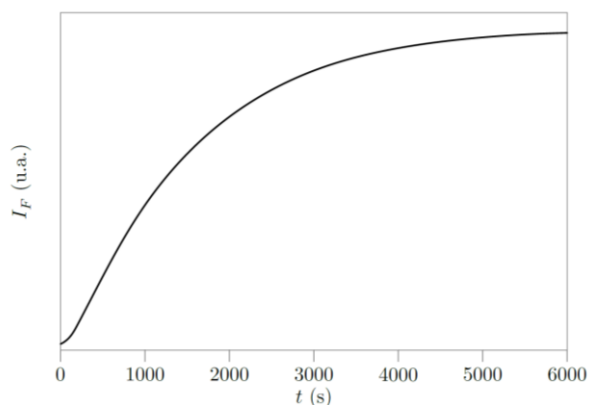
8. Dans le programme proposé ci-dessous, certaines lignes sont incomplètes. Compléter les lignes 11 à 13 et 30 à 33.

```

1  #Importation des bibliothèques
2  import numpy as np
3  import matplotlib.pyplot as plt
4
5  #Données numériques
6  I0 = 12.9e-8 # intensité de la lumière excitatrice (E.min-1)
7  k1, km1, k2 = 1.8e-3, 3.2e-3, 2.2e-3 # constantes de vitesse (s-1)
8  K = 17.7 # constante définie à la question 29
9
10 #Concentrations initiales
11 E0=.....
12 Z0=.....
13 F0=.....
14
15 #Méthode d'Euler
16 ti, tf = 0, 6000 # instant initial et instant final (s)
17 N = 1000 # nombre de points
18 h= (tf-ti)/N # pas de la méthode
19
20 t=[ti]
21 E=[E0]
22 Z=[Z0]
23 F=[F0]
24 i=1
25
26 while i<=N and E[-1]>=0:
27     e=E[-1]
28     z=Z[-1]
29     f=F[-1]
30     t.append(.....)
31     E.append(.....)
32     Z.append(.....)
33     F.append(.....)
34     i=i+1
35
36 #Calcul et tracé de l'intensité de fluorescence
37 IF = K * I0 * np.array(F)
38 plt.plot(t, IF, 'k-')
39 plt.xlabel('$t$ (s)')
40 plt.ylabel('$I_F$ (u.a.)')
41 plt.tick_params(axis = 'y', which = 'both', left = False, labelleft = False)
42 plt.show()

```

9. Le graphe obtenu lors de la mise en oeuvre de ce programme est reproduit ci-contre. Commenter.



Exercice 2 : Fonctionnement de capteurs à dioxygène

Un capteur à dioxygène est basé sur l'extinction de la luminescence (par exemple de la fluorescence) d'un luminophore (comme un fluorophore) par le dioxygène du milieu, qui joue le rôle d'inhibiteur de luminescence. Le principe est applicable à des mesures en phase gaz, toutefois, dans un premier temps, on s'intéresse au principe en phase aqueuse pour plus de facilité.

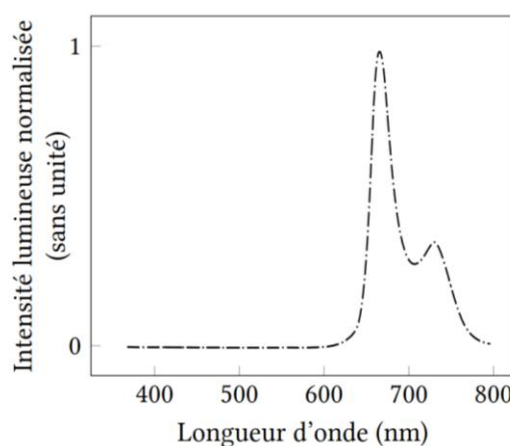
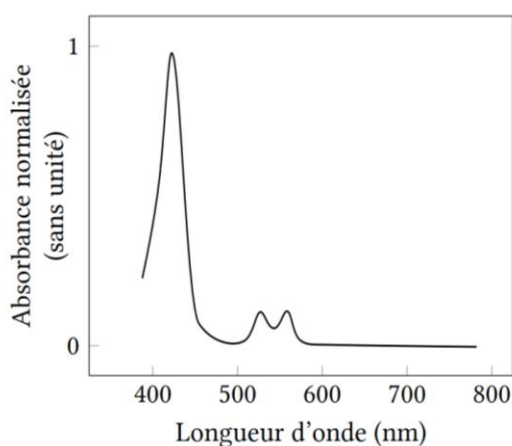
L'échantillon contenant le luminophore est initialement exposé à une impulsion lumineuse de longueur d'onde donnée. Le luminophore, noté A, préalablement excité suite à l'absorption d'un photon (on notera cet état A*), peut revenir à l'état fondamental de diverses manières, radiatives ou non. Les différents actes élémentaires que l'on considérera, ainsi que leurs constantes de vitesse respectives, sont indiqués dans le tableau de ci-dessous.

	En l'absence d'inhibiteur	En présence d'inhibiteur (Q)
Déexcitation radiative	$A^* \xrightarrow{k_r} A + h\nu$	$A^* \xrightarrow{k_r} A + h\nu$
Déexcitation non radiative	$A^* \xrightarrow{k_{nr}} A$	$A^* \xrightarrow{k_{nr}} A$
Inhibition		$A^* + Q \xrightarrow{k_q} A + Q^*$

1. En l'absence d'inhibiteur, exprimer la vitesse de disparition de A* en fonction des vitesses de déexcitation radiative et non radiative. En déduire une équation différentielle sur [A*].
2. Établir l'expression de la concentration [A*] en fonction du temps. On notera [A*]₀ la concentration initiale en A*. On posera τ₀, le temps caractéristique : $\tau_0 = \frac{1}{k_r + k_{nr}}$
3. Préciser comment l'équation différentielle obtenue à la question 1 est modifiée en présence d'inhibiteur. En déduire la nouvelle expression de la concentration [A*]_Q en fonction du temps, en précisant l'expression d'un nouveau temps caractéristique τ associé. La concentration en inhibiteur [Q] est considérée indépendante du temps.
4. Montrer que le rapport τ₀/τ peut se mettre sous la forme (1) ci-dessous, appelée « relation de Stern-Volmer » : $\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K[Q]$ où K est une constante dont on donnera l'expression.

La relation de Stern-Volmer est transposable en phase gaz, où elle prend la forme (2) : $\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{SV}p(O_2)$, K_{SV} étant la constante de Stern-Volmer et p(O₂) la pression partielle en dioxygène.

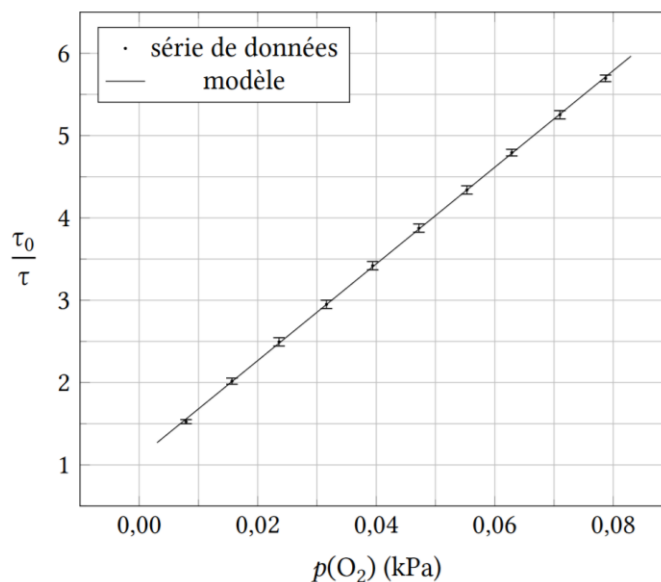
Un capteur permet de détecter et mesurer des pressions partielles très faibles de dioxygène. Il est basé sur ce principe d'extinction de la luminescence d'un complexe métallique dispersé sur des particules de silice en présence de dioxygène. Le spectre d'absorbance d'un des complexes métalliques utilisés et celui de la lumière qu'il émet suite à son excitation sont donnés ci-après :



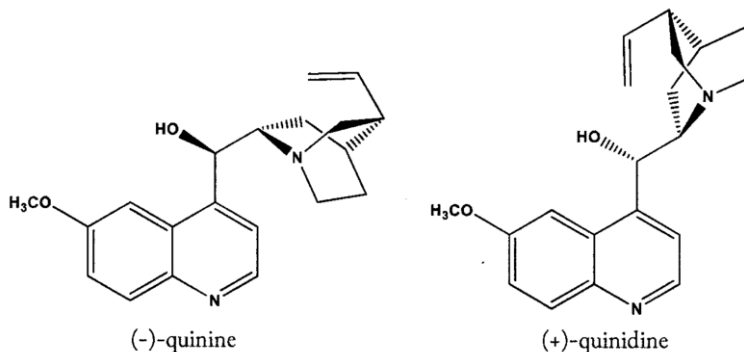
5. Rappeler, dans le cadre du phénomène de fluorescence, comment s'interprète la différence d'énergie entre les photons absorbés par le fluorophore et ceux qu'il émet.
6. Déduire des spectres fournis la longueur d'onde optimale d'excitation du complexe métallique utilisé comme luminophore.

La calibration du capteur est basée sur la relation de Stern-Volmer (2) donnée plus haut. La courbe de Stern-Volmer ci-dessous (Figure 6) montre l'évolution de τ_0/τ en fonction de la pression partielle en dioxygène, pour un des complexes métalliques utilisés dans cette étude.

- Expliquer en quoi ce graphique est compatible avec le modèle de Stern-Volmer, puis estimer la valeur de la constante de Stern-Volmer K_{SV} pour le système à 5 °C.
- Expliquer en quoi la courbe obtenue permet effectivement d'envisager le dispositif comme un capteur de dioxygène.



Exercice 3 : Propriété physico-chimique de la (-)-quinine et application aux dosages



La (-)-quinine comporte plusieurs formes acido-basiques. Ces formes QH_2^{2+} , QH^+ et Q possèdent des rendements quantiques de fluorescence ϕ_f respectifs de 0,55, 0,50 et 0,01. On considérera que ces rendements ne dépendent pas de la longueur d'onde d'excitation.

Excitation stationnaire

Pour avoir accès expérimentalement au spectre d'émission et au rendement quantique dans un solvant donné et à une température donnée, on réalise une excitation stationnaire (excitation continue et constante au cours du temps) grâce à une source de lumière dont on fixe la longueur d'onde (appelée longueur d'onde d'excitation λ_{exc}). On considère dans le cas de l'excitation stationnaire que la quantité de molécules excitées est faible par rapport à la quantité de molécules en solution. Les spectres d'absorption et d'émission de fluorescence pour une longueur d'onde d'excitation λ_{exc} de 333 nm des différentes formes acido-basiques de la (-)-quinine en solution aqueuse sont donnés ci-dessous. Le spectre d'émission pour QH_2^{2+} est normalisé à 1 au maximum d'émission.

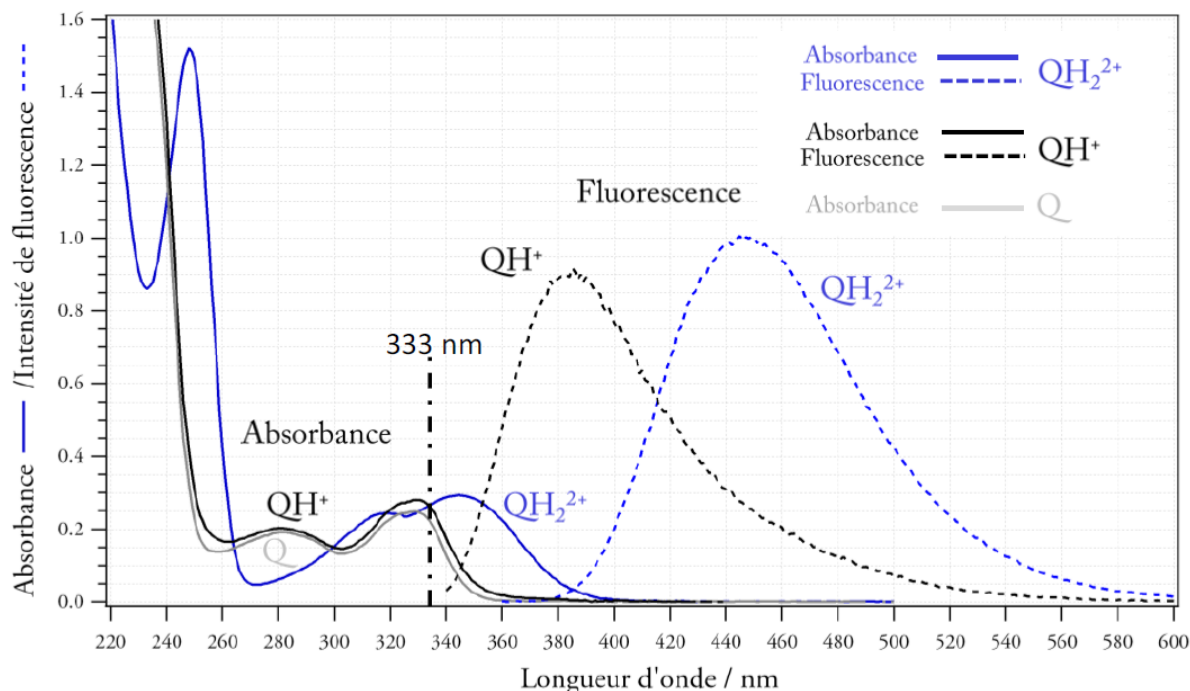


Figure 1 : Spectres d'absorption (en trait plein) et d'émission de fluorescence normalisés à 1 pour QH_2^{2+} (en pointillé) pour une longueur d'onde d'excitation λ_{exc} de 333 nm des différentes formes de la (-)-quinine en solution aqueuse. Le spectre de fluorescence de Q n'est pas reporté car sa fluorescence est trop faible.

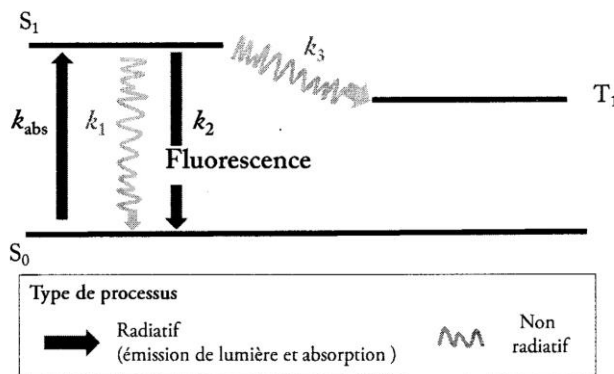
1. Justifier le positionnement relatif des courbes d'absorption et de fluorescence sur la Figure 1 pour une espèce donnée.

On s'intéresse dans un premier temps à la forme QH_2^{2+} en solution diluée. On notera $[\text{QH}_2^{2+}]$ et $[\text{QH}_2^{2+*}]$ les concentrations en quantité de matière de (-)-quinine respectivement dans l'état fondamental (état S_0 du document 1) et dans l'état excité (état S_1 du document 1).

2. Donner les deux expressions des intensités I_f et I_{abs} en fonction des constantes k_2 , k_{abs} , $[\text{QH}_2^{2+}]$ et $[\text{QH}_2^{2+*}]$.

3. Justifier que l'AEQS peut s'appliquer à l'espèce QH_2^{2+*} .

Sur le schéma ci-dessous l'état S_0 correspond au niveau électronique à l'état fondamental de la (-)-quinine sous la forme QH_2^{2+} . L'état S_1 correspond au niveau électronique à l'état excité de la (-)-quinine sous la forme QH_2^{2+*} . Cette dernière peut se désexciter par trois processus différents, comme indiqué sur le schéma.



Notez bien que sur ce schéma, seuls les niveaux d'énergie électronique (S_0 , S_1 et T_1) sont représentés, les niveaux d'énergie vibrationnelle n'y sont pas représentés

- Etablir la relation entre $[QH_2^{2+}]$ et $[QH_2^{2+*}]$ en fonction de k_{abs} , k_1 , k_2 et k_3 .
- On considère un fluorophore. Donner l'expression du rendement quantique de fluorescence ϕ_f en fonction de I_f et I_{abs} . Donner l'expression de l'absorbance à la longueur d'onde d'excitation $A(\lambda_{exc})$ en fonction de l'intensité du rayonnement incident I_0 et de l'intensité du rayonnement transmis I_t . Montrer alors que : $I_f = \phi_f I_0 (1 - 10^{-A(\lambda_{exc})})$.
- Montrer que les mesures de fluorescence stationnaire présentées sur la figure 1 permettent de retrouver le rapport entre les rendements quantiques de QH_2^{2+} et QH^+ .

Excitation transitoire

Une excitation transitoire au moyen d'une impulsion laser permet d'avoir accès à la durée de vie de l'état excité τ pour un solvant et une température donnés. À un instant pris comme origine des temps ($t = 0$ s), une impulsion lumineuse de très courte durée, fait passer une concentration en quantité de matière $[QH_2^{2+}]_0$ QH_2^{2+} dans l'état excité S_1 , par absorption d'un photon. La courbe de déclin correspondant à l'évolution temporelle de $\ln(I_f)$ pour QH_2^{2+} dans une solution aqueuse de H_2SO_4 à $0,05 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ est donnée sur la figure suivante :

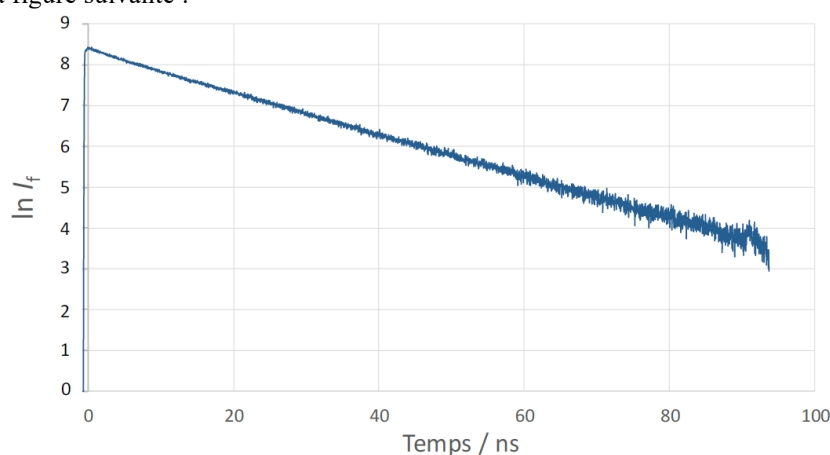


Figure 2 : Déclin de fluorescence de la forme QH_2^{2+} en solution aqueuse de H_2SO_4 à $0,05 \text{ mol} \cdot L^{-1}$.

- Après avoir établi et résolu l'équation différentielle reliant $[QH_2^{2+*}]$, k_1 , k_2 et k_3 , estimer la valeur expérimentale de la constante de vie radiative τ pour la forme QH_2^{2+} .

Analyse quantitative de la (-)-quinine dans une boisson « Tonic »

Le protocole expérimental pour effectuer le dosage par étalonnage de la (-)-quinine dans une boisson « Tonic » est le suivant :

Préparer dans un premier temps une solution mère $S_{mère}$ de concentration (en quantité de matière) en (-)-quinine $[quinine]_0$ de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ dans une solution aqueuse de H_2SO_4 à $0,05 \text{ mol} \cdot L^{-1}$. Puis, à partir de celle-ci, réaliser 10 solutions filles (S_1 à S_{10}) de concentrations (en quantité de matière) en (-)-quinine notées $[quinine]_i$ comprises entre $0,1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ et $9,0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot L^{-1}$. Mesurer pour chaque solution S_1 à S_{10} l'intensité de fluorescence I_f à une longueur d'onde d'émission λ_{em} de 445 nm en irradiant avec une longueur d'onde d'excitation λ_{exc} égale à 345 nm. Pour chacune de ces solutions l'absorbance à 345 nm est inférieure à 0,1. Tracer la droite d'étalonnage $I_f(445 \text{ nm}) = f([quinine]_i)$. Mesurer, dans les mêmes conditions que les solutions filles, l'intensité de fluorescence d'une solution de la boisson « Tonic » préalablement diluée par 100. En déduire la concentration (en quantité de matière) en (-)-quinine dans cette boisson. Les concentrations (en quantité de matière) en (-)-quinine dans les boissons « Tonic » sont généralement comprises entre $1,5$ et $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot L^{-1}$.

- Justifier en vous appuyant sur les parties précédentes, les conditions opératoires choisies dans le protocole ci-dessus : dilution avec une solution aqueuse de H_2SO_4 à $0,05 \text{ mol} \cdot L^{-1}$, choix de λ_{exc} et de λ_{em} .
- Sachant que 10^x tend vers $(1 + (\ln 10) \times x)$ lorsque x tend vers 0, montrer en utilisant la loi de Beer-Lambert et la formule établie à la question 5 ($I_f = \phi_f I_0 (1 - 10^{-A(\lambda_{exc})})$), que les conditions expérimentales décrites dans le protocole ci-dessus, permettent de doser la concentration en (-)-quinine dans les boissons « Tonic ».
- L'intensité de fluorescence à 445 nm pour une boisson « Tonic » diluée par 100 est de 318 u.a. (unité arbitraire). Sachant que la pente et l'ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage à 445 nm sont respectivement de $1,37 \times 10^8 \text{ u. a} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot L$ et 18 u. a. , en déduire une estimation de la concentration (en quantité de matière) en (-)-quinine dans la boisson « Tonic » et discuter la valeur obtenue.