

Manipulation II

Etude du quenching de fluorescence de la quinine et dosage des ions chlorure dans l'eau potable et une eau de source

Le chlore est indispensable à l'équilibre hydrique de l'organisme, il participe à la digestion en formant l'acide chlorhydrique déversé dans l'estomac et contribue au transport du CO₂ dans le sang. L'apport journalier recommandé est de 1 g par jour. Des études ont permis de conclure que le chlorure joue un rôle dans l'hypertension sensible au sodium.

Les chlorures sont présents en grande quantité dans l'eau de mer (± 19 g/l). Leur concentration dans l'eau de pluie est approximativement de 3 mg/l. Dans les eaux souterraines, leur concentration dépend des roches traversées. Les sols pollués par l'industrie chimique sont très riches en chlorures.

Le seuil de perception gustative pour le chlorure dépend du cation auquel il est associé et se situe généralement entre 200 et 300 mg/L. La concentration maximale admise des chlorures dans les eaux destinées à la consommation humaine est de 200 mg/l.

Dans ce TP l'effet des chlorures sur la fluorescence de la quinine ou effet quenching sera utilisé pour déterminer la concentration des ions chlorures dans l'eau potable et une eau de source.

I- Loi fondamentale de la fluorimétrie

Pour les solutions faiblement absorbantes: la loi de B er Lambert étant valable pour l'absorption de rayonnement incident d'intensité Io on peut montrer que la fluorescence F est une fonction linéaire de la concentration C de l'espèce fluorescente:

$$F = K I_0 C \quad K: \text{constante}$$

Dans la majeure partie des cas, les intensités sont mesurées en unités arbitraires (u.a.), ce qui permet après un étalonnage de faire des analyses précises.

Validité de cette loi et effet quenching

Cette expression n'est valable que pour des solutions faiblement absorbantes. Les traces de substances étrangères interviennent énormément par absorption ou inhibition: la molécule fluorescente peut perdre toute ou partie de l'énergie d'excitation de façon non radiative, l'intensité de fluorescence diminue et peut disparaître compl tement: c'est l'extinction ou processus de « quenching ».

On distingue deux types de quenching:

- Quenching par collision: suite à une collision avec le quencher le fluorophore lui transfère son énergie d'excitation.
- Quenching par formation d'un complexe (quenching statique): un complexe non fluorescent se forme entre le fluorophore le quencher.

L'intensité de fluorescence d'un fluorophore en présence d'ions interférants (quencher) est donnée par la relation suivante:

$$F_0 = F (1 + K_Q C_q)$$

F₀: intensité de fluorescence en l'absence de quencher,

F: intensité de fluorescence en présence de quencher,

K_Q: constante de quenching,

C_q: concentration en quencher.

K_Q est le coefficient directeur de la droite F₀/F=f(concentrations en quencher).

Pr. N. EL JOUHARI, Pr. M. BOUZIANE.

UNIVERSITE MOHAMMED V-AGDAL, FACULTE DES SCIENCES, DEPARTEMENT DE CHIMIE

Master: Chimie Fondamentale et Environnement. TP: « Fluorimétrie ».

NB: Si le quenching se produit à la fois par collision et par formation d'un complexe, la courbe est déformée «vers le haut».

II- Etude du quenching de fluorescence de la quinine par les ions Cl^- et dosage des chlorures dans 2 échantillons d'eau X

1-Principe

Dans ce TP, des quantités croissantes de chlorure seront ajoutées à une solution de quinine de concentration constante et la fluorescence sera mesurée. Le quenching de la fluorescence de la quinine par les ions chlorure sera mis en évidence et la constante de quenching déterminée. Ces résultats seront utilisés, par la suite, pour déterminer la teneur en ions chlorure de l'eau du robinet et d'une eau de source.

2- Mode Opératoire

Les solutions disponibles sont:

- Solution M de quinine à $3.082 \cdot 10^{-4}$ M dans HNO_3 10^{-2} M,
- HNO_3 à 0.01M,
- HNO_3 0.1M.

a- Préparation des solutions étalons

- Dans une fiole jaugée de 2000 ml, mettre 10ml (pipette) de la solution M. Compléter au trait de jauge avec HNO_3 (0.01M). Bien agiter pour homogénéiser: c'est la solution **F (sans NaCl)**. Transvaser la solution F dans une bouteille de couleur foncée. Remplir une fiole de 100 ml de la solution F (**Fiole N°= 1**) et conserver à l'abri de la lumière.
- Dans une fiole jaugée de 500 ml, dissoudre 0.1465g de NaCl dans un peu de la solution F. Compléter au trait de jauge avec la même solution F: c'est la solution **A** (la plus concentrée en ions Cl^-). Bien agiter pour homogénéiser. Remplir une fiole de 100 ml de la solution A (**Fiole N°= 6**).
- A partir de la solution A, préparer 4 solutions étalons. Pour cela, mettre un volume V_A (burette) de la solution A dans une fiole jaugée de 100ml ($V_A=20, 40, 60, 80$ ml). Compléter au trait de jauge avec la solution F. Agiter pour bien homogénéiser (**Fioles N°= 2-5**).

Remarques:

- Utiliser 2 burettes: une pour mesurer V_A de la solution A et l'autre pour compléter avec la solution F.
- Numéroté les fioles de 1 à 6, bien agiter et laisser reposer 30 min à l'abri de la lumière.

b- Préparation des solutions à doser

A partir de 2 échantillons d'eau: du robinet (X_r) et de source(X_s) de concentrations en ions chlorure inconnues, préparer 2 solutions diluées X_1 et X_2 :

- Dans 2 fioles jaugées de 100 ml mettre 7 ml de HNO_3 0.1M, ajouter 30 ml de la solution F et compléter au trait de jauge l'une avec l'eau de robinet X_r et l'autre avec l'eau de source X_s . Agiter bien pour homogénéiser et laisser reposer 30min à l'abri de la lumière.
- Pour la mesure de la fluorescence F_0 relatif aux eaux à doser, préparer en même temps une solution B sans NaCl: dans une fiole jaugée de 100ml mettre 30 ml de la solution F et compléter au trait de jauge avec HNO_3 (0.01M). Agiter bien pour homogénéiser et laisser reposer 30 min à l'abri de la lumière.

III- Résultats

1- Détermination de la constante de quenching

- Calculer la concentration molaire en quinine C_F de la solution F. En déduire la concentration molaire en quinine des différentes solutions étalons préparées (1-6).
- Calculer la concentration molaire en ions chlorure des différentes solutions étalons (1- 6).
- Mesurer la fluorescence des solutions étalons (1- 6) et compléter le tableau I.

Tableau I: Effet quenching

Etalon N°	1 (Sol. F)	2	3	4	5	6 (Sol. A)
V_A (ml)	0	20	40	60	80	100
C_{Cl} (mol/l)						
Fluorescence F	$F_0 =$					
F_0/F						

- Représenter la variation de $F_0/F = f(C_q)$.
- Discuter l'effet de la présence des ions chlorures sur la fluorescence ?
- Déterminer la valeur de la constante de quenching K_Q .

2- Dosage de Cl^- dans les 2 échantillons d'eaux: potable et de source

- Calculer la concentration en quinine et en HNO_3 de la solution B et des 2 solutions X_1 et X_2 .
- Mesurer la fluorescence F_0 de la solution B et des 2 solutions X_1 et X_2 .
- Calculer la concentration de Cl^- dans les 2 solutions X_1 et X_2 .
- En déduire la concentration de Cl^- dans l'eau potable X_r et l'eau de source X_s .
- Récapituler les résultats dans le tableau II.

Tableau II: Concentration en ions Cl^- des 2 échantillons d'eaux analysées

	Sol. B	X_1 : eau du robinet diluée	X_2 : eau de source diluée
F	$F_0 =$		
F_0/F			
C_{Cl} (mol/l)			
C_{Cl} (mol/l) des eaux X_r et X_s			
C_{Cl}' (mg/l) des eaux X_r et X_s			

Commenter le résultat obtenu sachant que la norme en ions Cl^- prescrite par l'Union Européenne et l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.) est de 200 mg/l (Arrêté du 11 janvier 2007)