

Thème : Jeux et sports

Synthèse de fluorophores



La fluorescence au service du sport

[1]

[2]

Introduction

Utilisation dans le sport :

→ **Protection** : gilet fluo, balise fluo, bouée fluo



[3]



[4]

→ **Développement** : sport nocturne, flotteur fluo pour la pêche



[5]

→ **Perfectionnement** : utilisation en F1 avec « Flow-vis »

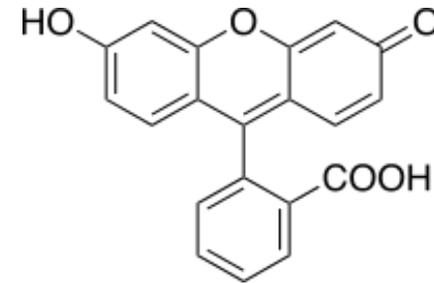


Fig 1 : Structure de la fluorescéine



[6]



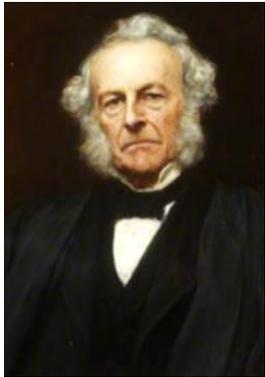
[7]

Fig 2 : Fluorescéine commerciale

Introduction

Découverte de la fluorescence et définition d'un fluorophore :

→ Étude du phénomène de fluorescence aux **XIX^{ème}** (Stokes) et **XX^{ème} siècles** (Jablonski)



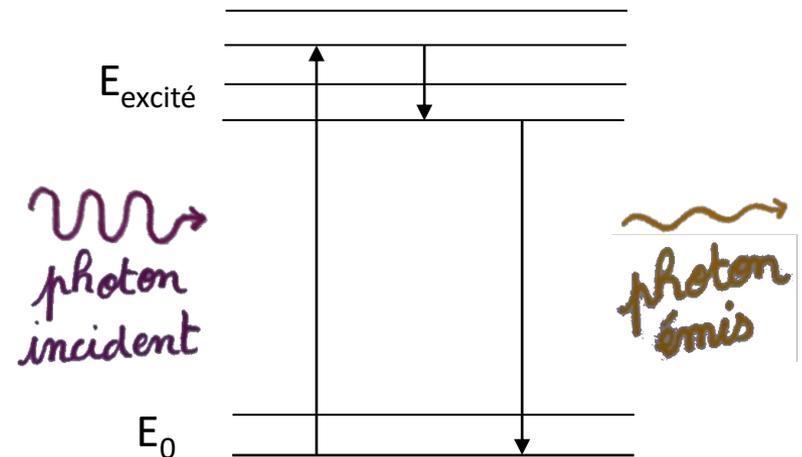
Stokes [8]



Jablonski [9]

Fig 3 : Portraits de Stockes et Jablonski

→ Fluorophores = **molécules conjuguées et rigides** émettant des **photons** d'une fréquence plus faible que celle de ceux absorbés lors de l'excitation



$$\text{Relation de Planck-Einstein : } E = \frac{hc}{\lambda}$$

→ Déplacement/écart de Stokes

Fig 4 : Absorption/émission de photons et décalage de Stokes

Introduction

Problématique :



Comment **synthétiser** un fluorophore et le **caractériser** ?

Comment **quantifier la fluorescence** ?

Quels sont les **paramètres** pouvant influencer les propriétés fluorescentes ?

Objectifs personnels :



Synthétiser un fluorophore

Caractériser un fluorophore avec des **spectres IR et RMN**

Etudier l'influence de la **structure** et du **solvant** sur la **fluorescence** des fluorophores

Introduction



I. Synthèse du fluorophore

I.1 Synthèse 

I.2 Purification



II. Caractérisations

II.1 Température de fusion

II.2 Spectroscopie IR 

II.3 Étude en RMN 



III. Quantification de la fluorescence

III.1 Spectroscopie UV-Visible

III.2 Fluorimétrie

III.3 Brilliance

III.4 Influence de la structure 

III.5 Influence du solvant 

Plan



I. Synthèse du fluorophore

I.1 Synthèse 

I.2 Purification



II. Caractérisations

II.1 Température de fusion

II.2 Spectroscopie IR 

II.3 Étude en RMN 



III. Quantification de la fluorescence

III.1 Spectroscopie UV-Visible

III.2 Fluorimétrie

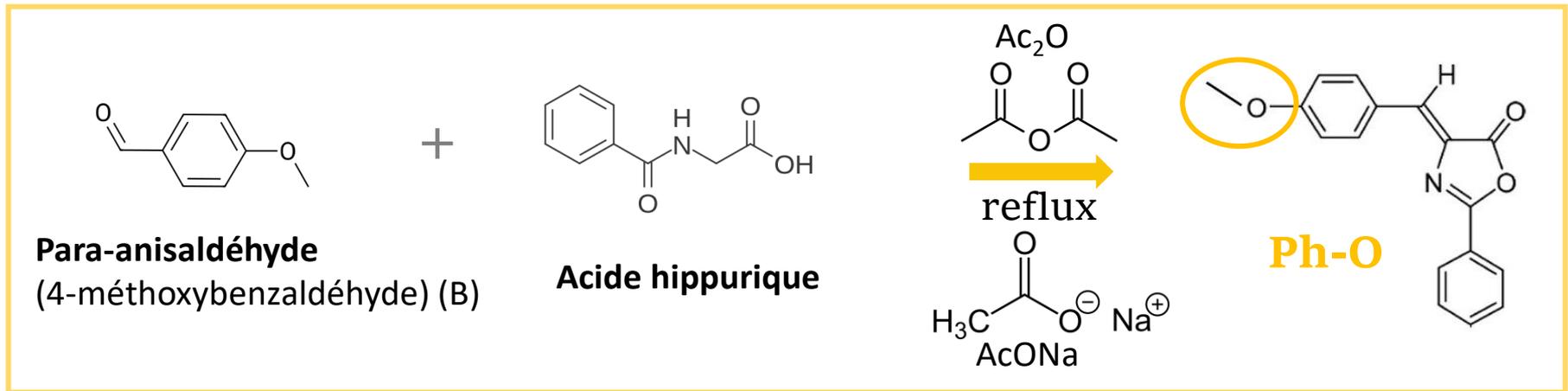
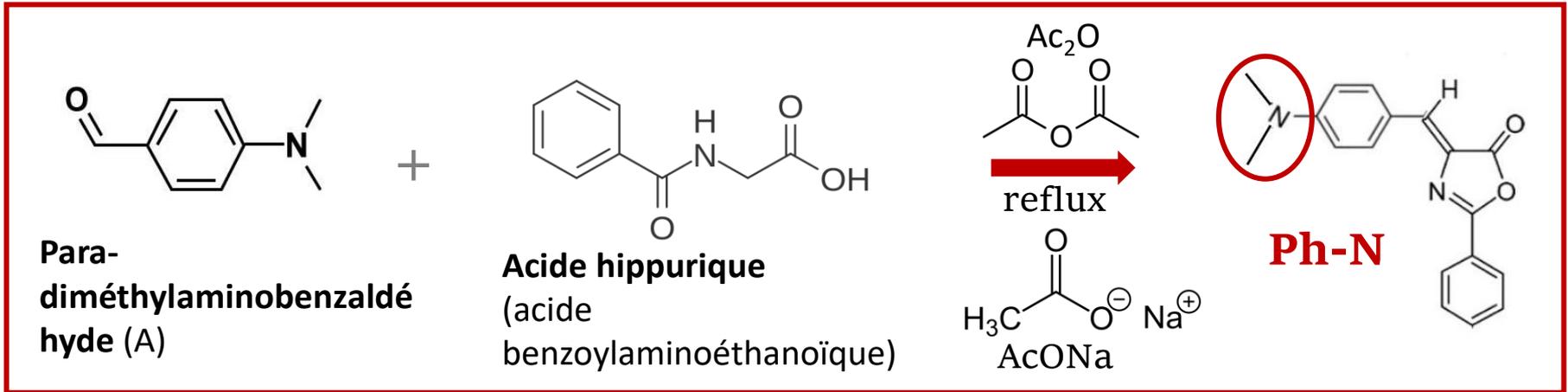
III.3 Brilliance

III.4 Influence de la structure 

III.5 Influence du solvant 

I.1-Synthèse du fluorophore : Synthèse

Fig 5 : Schémas de synthèse

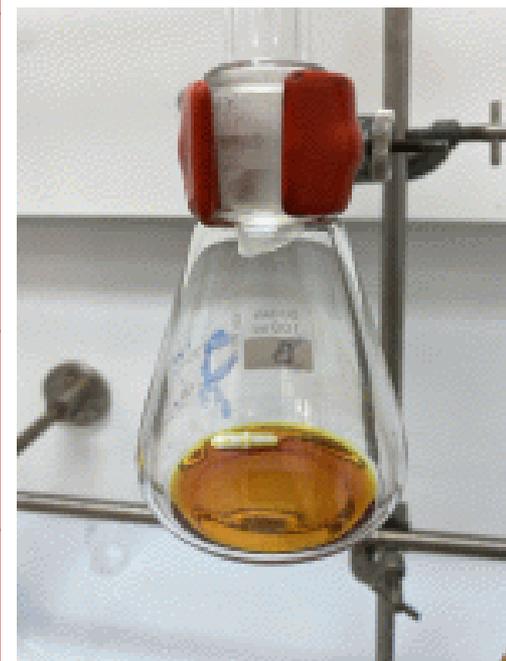


I.1-Synthèse du fluorophore : Synthèse

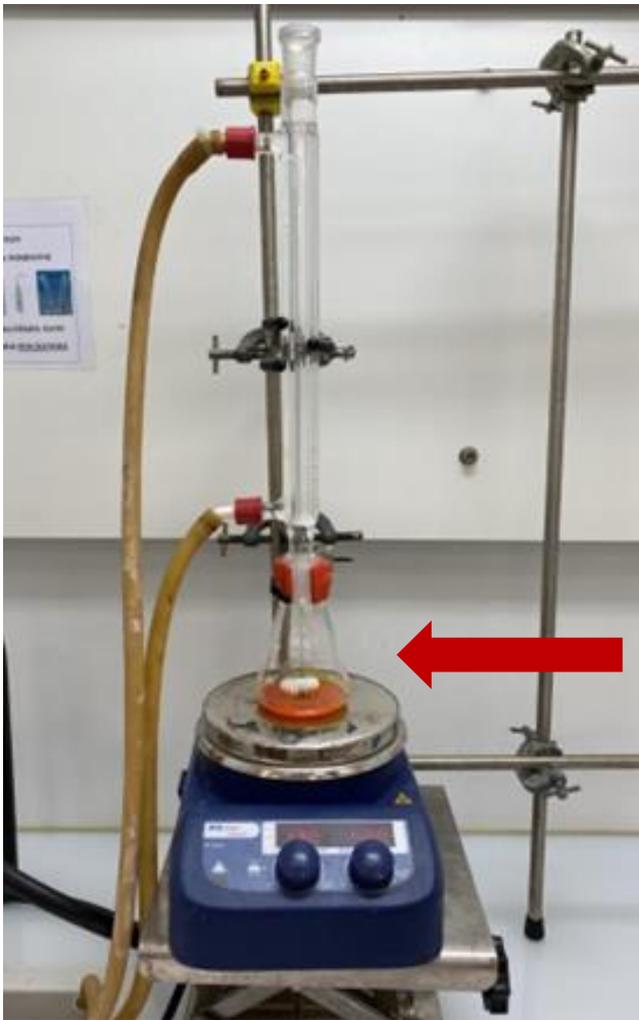
Fig 6 : Tableau d'engagement :

Réactifs	Etat physique	Masse (g)	Quantité de matière (mmol)	Equivalents
Para-diméthylaminobenzaldéhyde	solide	0,50	3,5	1
Acide hippurique	solide	0,60	3,5	1
Acétate de sodium	liquide	0,10	1,0	catalyseur
Anhydride acétique	liquide	∅	20	solvant

Fig 7 : Photo du **Ph-N** obtenu



I.1-Synthèse du fluorophore : Synthèse



10 min



Agitation
magnétique

Erlenmeyer
de 50 mL

180°C

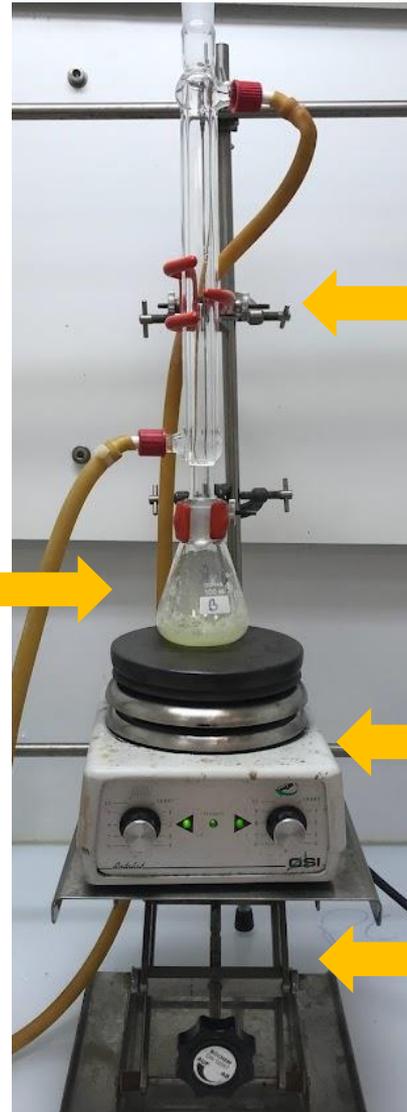
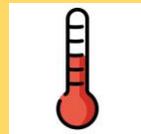


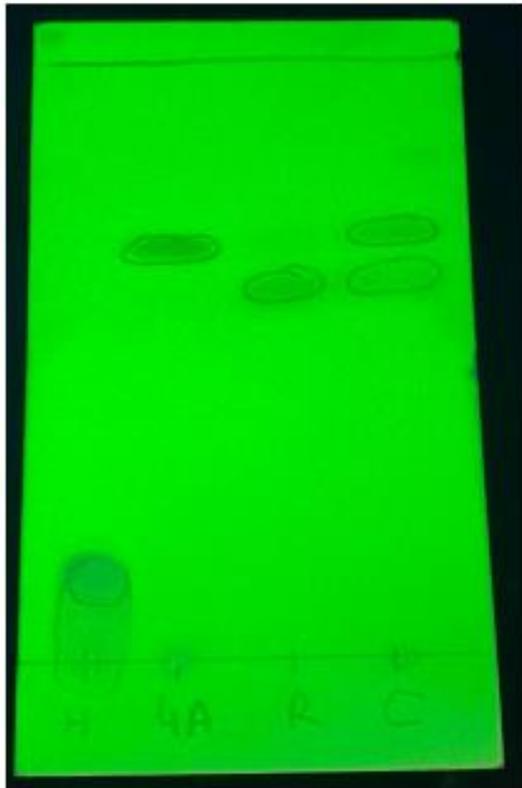
Fig 8 : Photos
du montage

Réfrigérant
droit à eau

Agitateur
magnétique
chauffant

Support
élevateur

I.1-Synthèse du fluorophore : Synthèse



éluant utilisé :
60% cyclohexane
40% acétate d'éthyle

-> Pas de traces d'impuretés,
ni de restes de réactifs : la
synthèse a été menée à bout

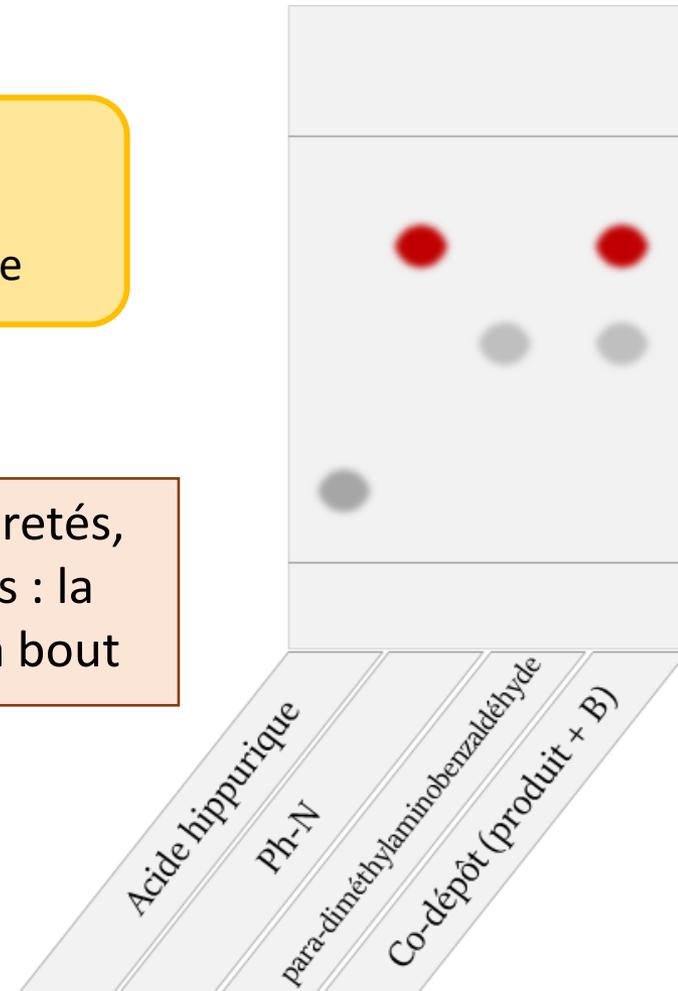
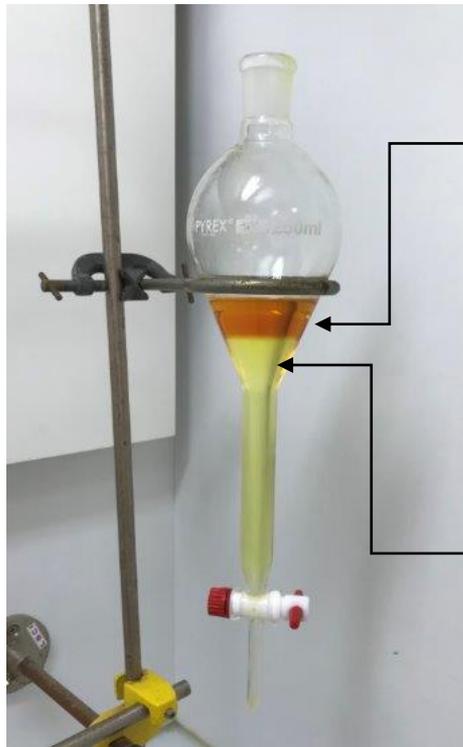


Fig 9 : Schéma et photo de la plaque CCM à la fin de la synthèse CCM du **Ph-N** sous lampe UV (254nm)

I.2-Synthèse du fluorophore : Purification

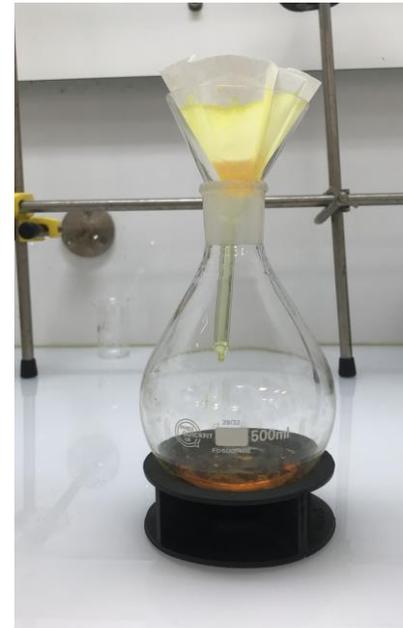
Fig 10 : Lavage au carbonate de potassium K_2CO_3



Phase organique :
PhN dans de
l'acétate d'éthyle

phase aqueuse :
 K_2CO_3 saturée

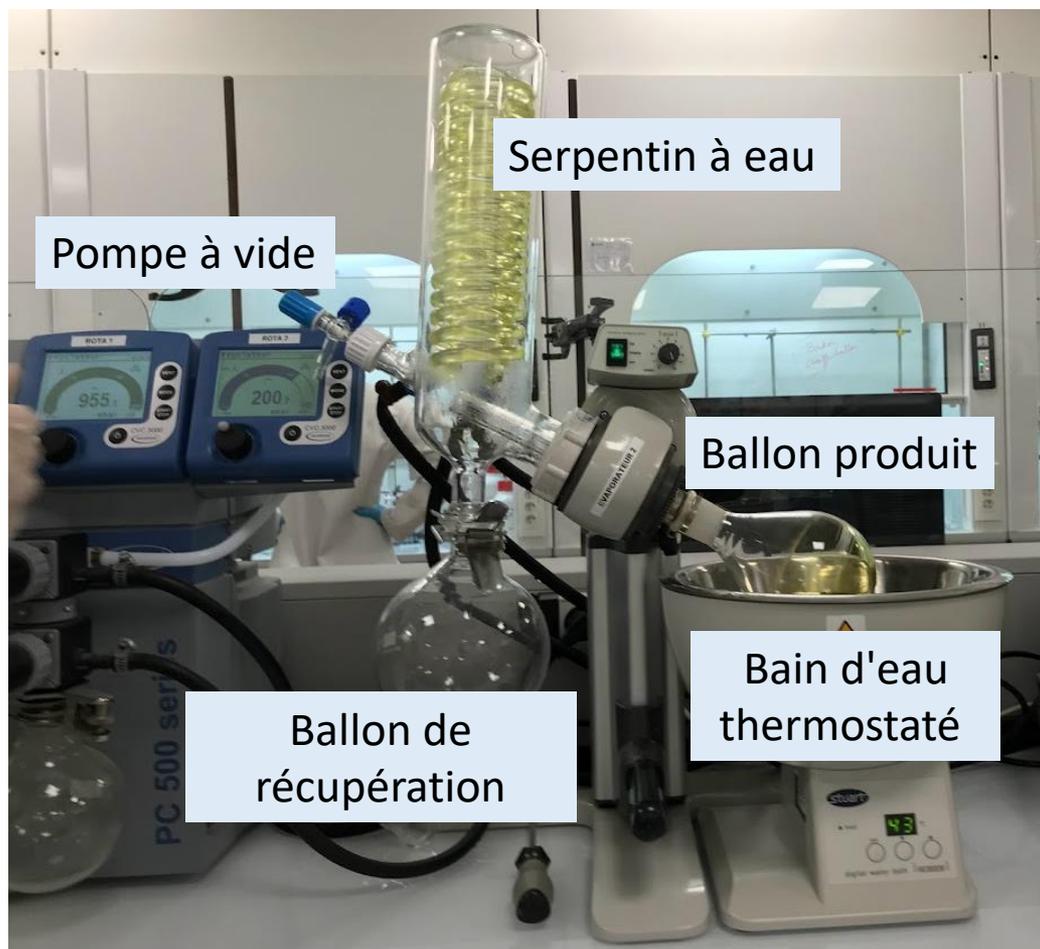
Fig 11 : Séchage de la phase organique
avec du Na_2SO_4 anhydre



Produit récupéré :
Ph-N

I.2-Synthèse du fluorophore : Purification

Fig 12 : Passage à l'évaporateur rotatif



Conditions opératoires :

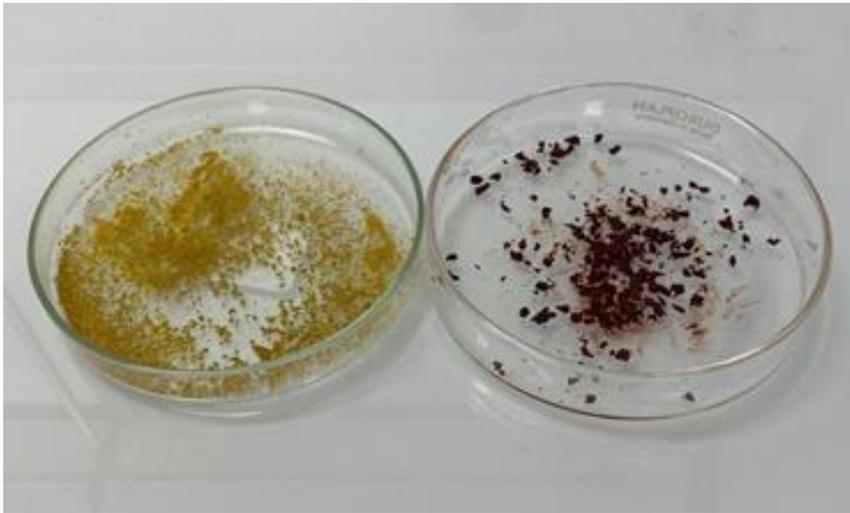
- Chauffage à 40°C
- Pression réduite à 240 mbar



Fig 13 : Ph-O après évaporateur rotatif

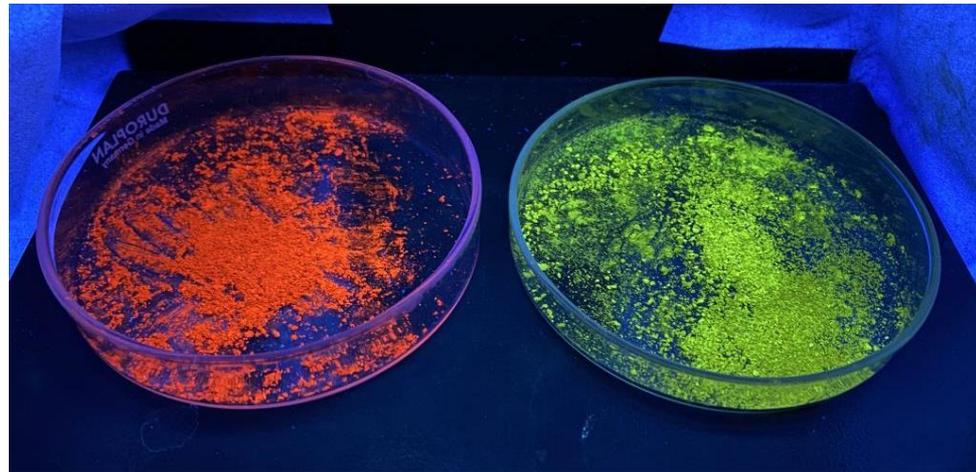
1.2-Synthèse du fluorophore : Purification

Fig 14 : Produits Ph-N et Ph-O récupérés après plusieurs jours à l'étuve



Masse = $(449,0 \pm 2,9)$ mg
Rendement = **43 %**

Fig 15 : Fluorophores sous lampe UV à 365 nm



Masse = $(388,0 \pm 2,9)$ mg
Rendement = **38 %**

Plan



I. Synthèse du fluorophore

I.1 Synthèse 

I.2 Purification



II. Caractérisations

II.1 Température de fusion

II.2 Spectroscopie IR 

II.3 Étude en RMN 



III. Quantification de la fluorescence

III.1 Spectroscopie UV-Visible

III.2 Fluorimétrie

III.3 Brilliance

III.4 Influence de la structure 

III.5 Influence du solvant 

II.1- Caractérisations : Température de fusion

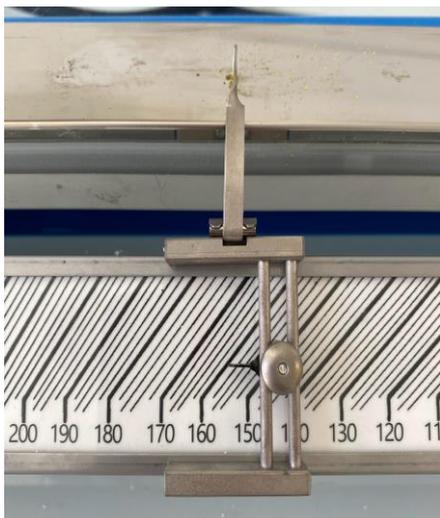
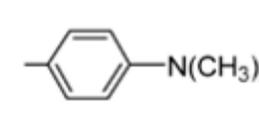
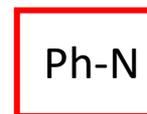
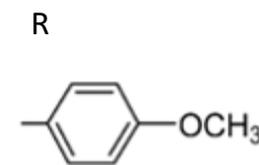
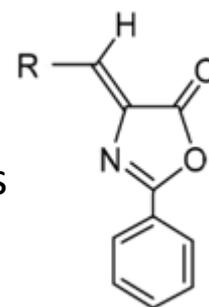


Fig 16 :
Structures des fluorophores



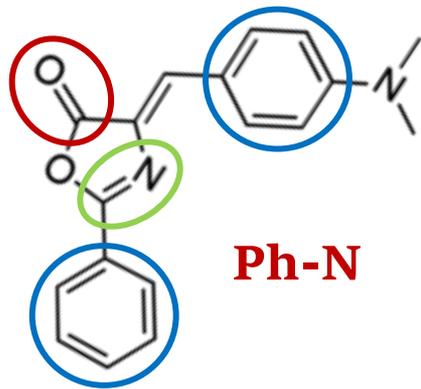
Ph-N : appareil à fusion lente

Ph-O : banc Köfler

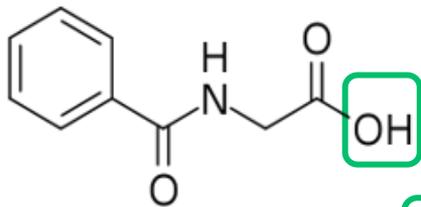
composé/ T_{fus}	expérimentale	tabulée
Ph-O	$(159 \pm 1) ^\circ\text{C}$	159 $^\circ\text{C}$
Ph-N	$(216 \pm 1) ^\circ\text{C}$	216 $^\circ\text{C}$

Fig 17 : Tableau récapitulatif des températures de fusion

II.2-Characterisations : Spectroscopie IR



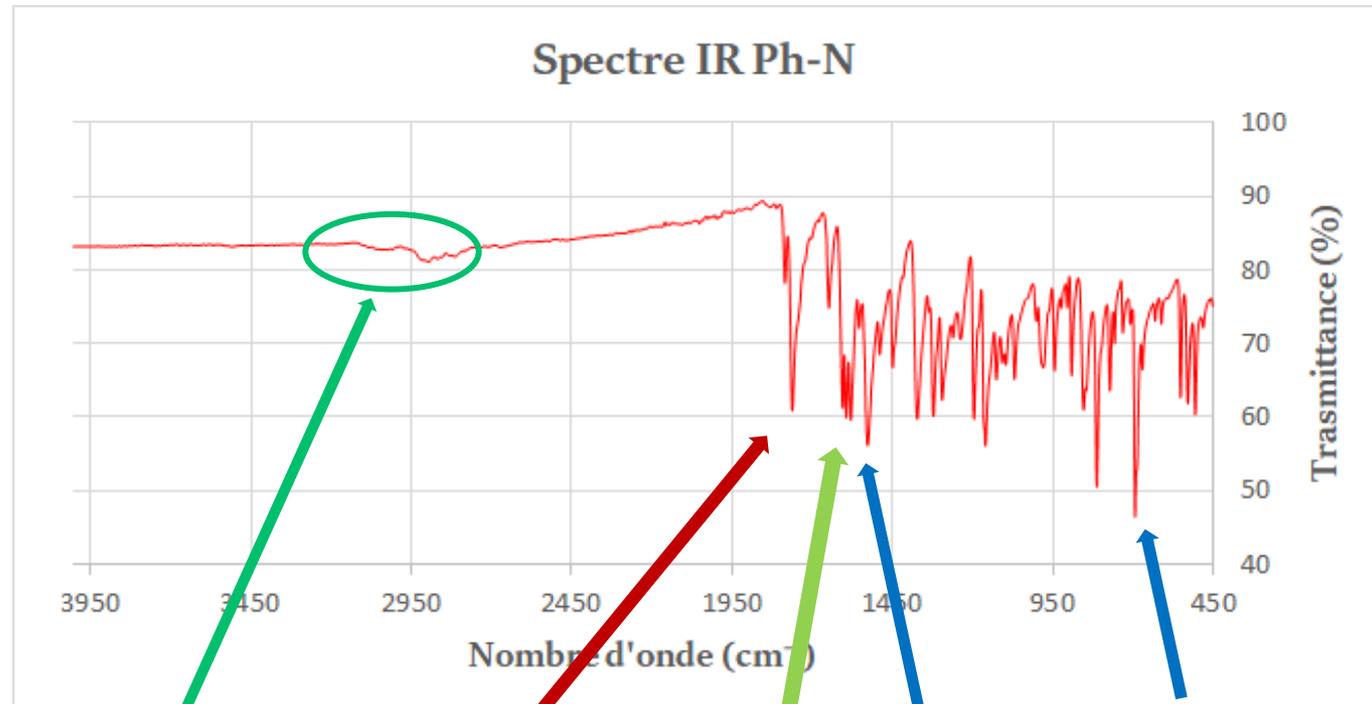
Ph-N



Acide hippurique

Ø liaison O-H

Fig 18 : Structures de **Ph-N** et de l'acide hippurique



C=O ester

C=N imine (1640 cm⁻¹)

C=C aromatique (1540 cm⁻¹)

Déformation hors du plan

Fig 19 : Spectre IR du fluorophore **Ph-N**

II.3- Caractérisations : Etude en RMN ^1H

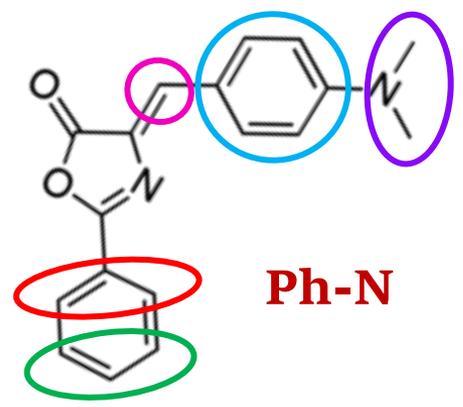


Fig 21 : Structure du **Ph-N**

Fig 20 : Spectromètre RMN

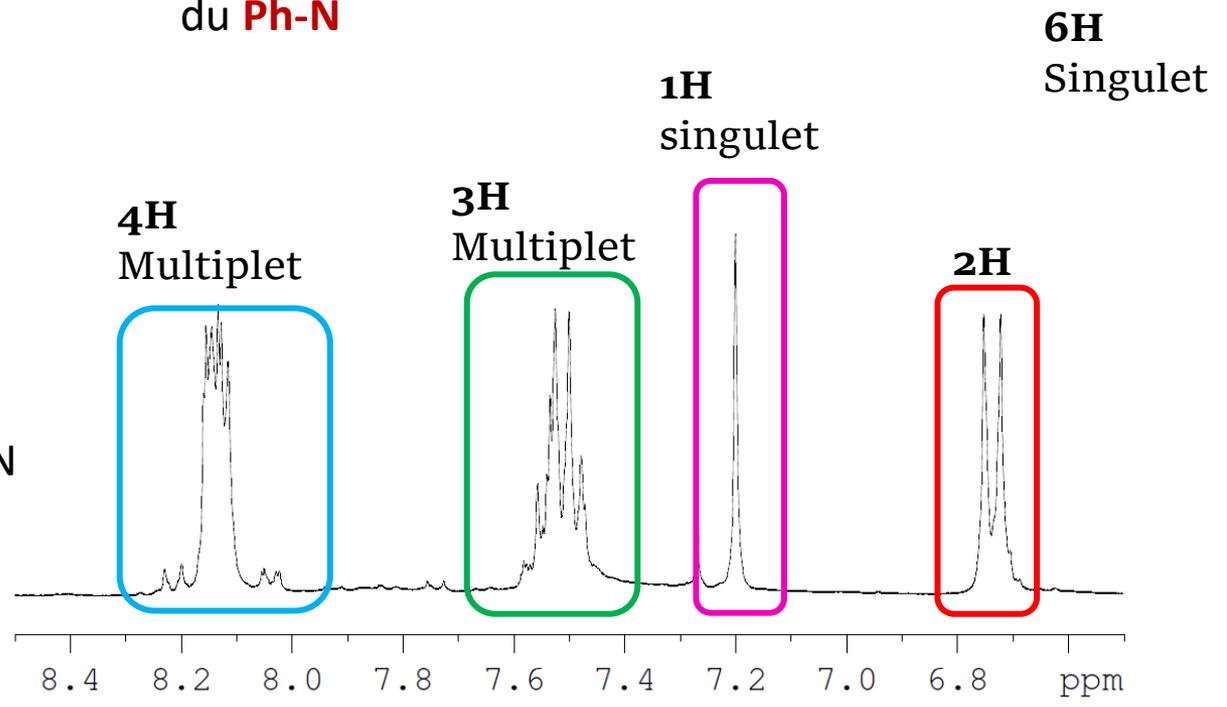


Fig 22 : Spectre RMN ^1H de **Ph-N** dans CdCl_3 , 300 MHz

II.3-Characterisations : Etude en RMN ^{13}C

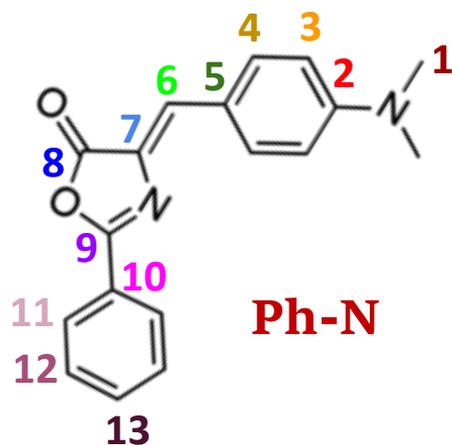
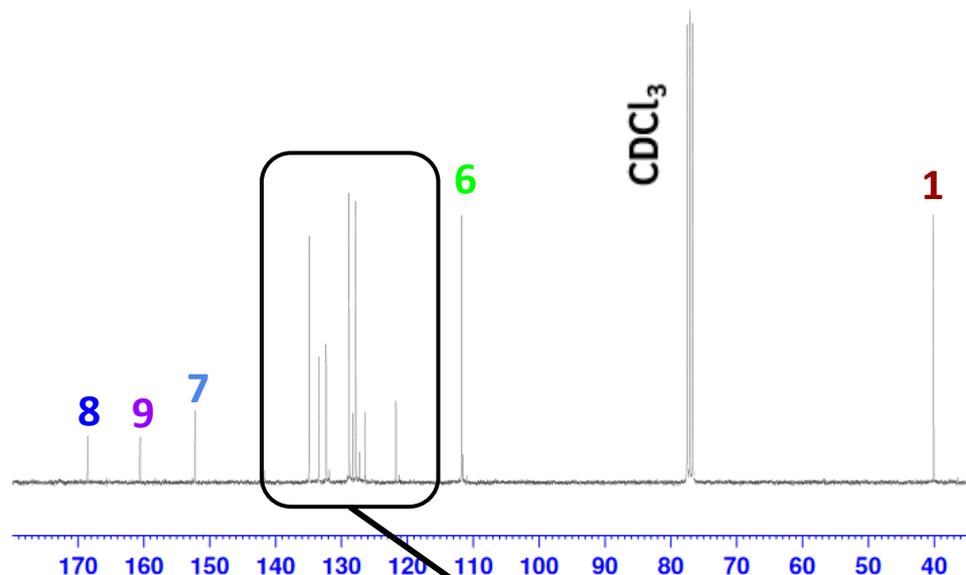


Fig 23 : Structure du Ph-N

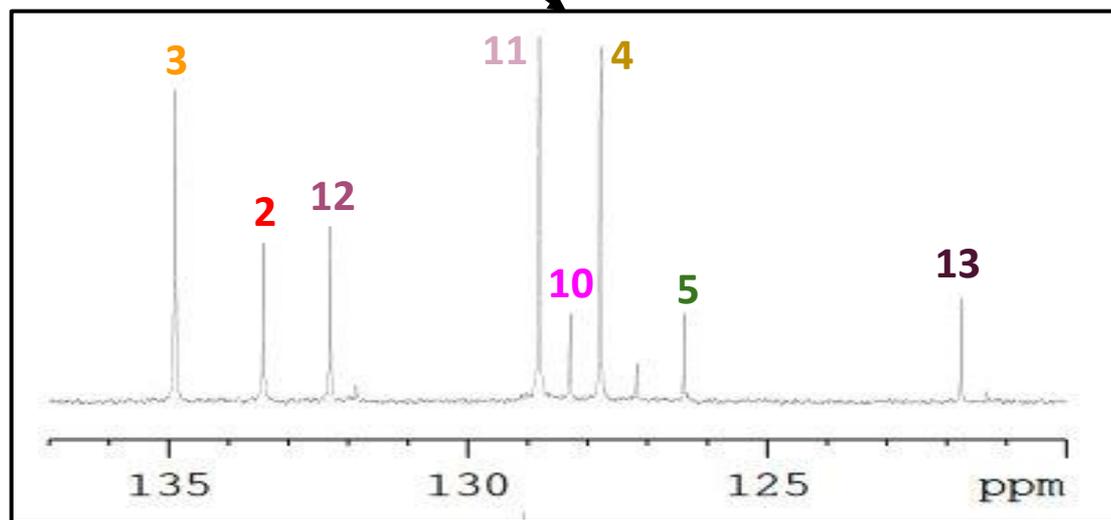


Fig 24 : Spectre RMN ^{13}C de Ph-N

Plan



I. Synthèse du fluorophore

I.1 Synthèse 

I.2 Purification



II. Caractérisations

II.1 Température de fusion

II.2 Spectroscopie IR 

II.3 Étude en RMN 



III. Quantification de la fluorescence

III.1 Spectroscopie UV-Visible

III.2 Fluorimétrie

III.3 Brilliance

III.4 Influence de la structure 

III.5 Influence du solvant 

III.1-Quantification : Spectroscopie UV-visible

Loi de Beer-Lambert: $A = l \times \epsilon \times c$

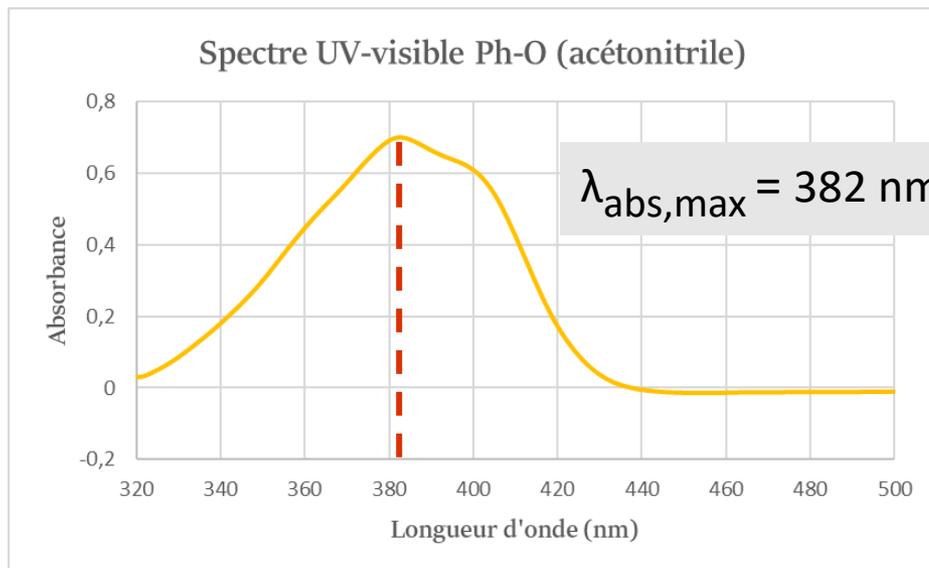


Fig 25 : Spectre d'absorption de **Ph-O** dans l'acétonitrile à $1,7 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$

- Solvant = acétonitrile
- Dissolutions et dilutions successives
- $\lambda_{\text{travail}} = \lambda_{\text{max}} = 382 \text{ nm}$



Fig 26 : Dilutions successives de **Ph-O** dans l'acétonitrile à différentes concentrations

III.1-Quantification : Spectroscopie UV-visible

Loi de Beer-Lambert: $A = l \times \epsilon \times c$

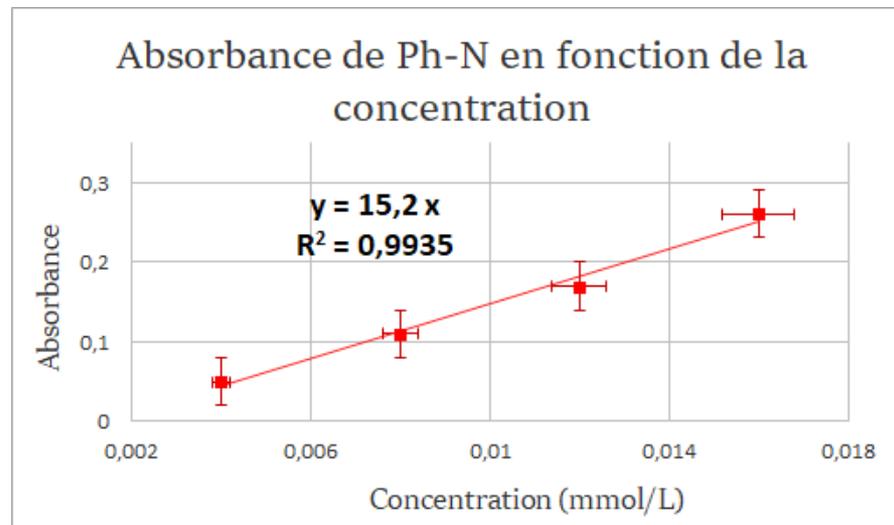
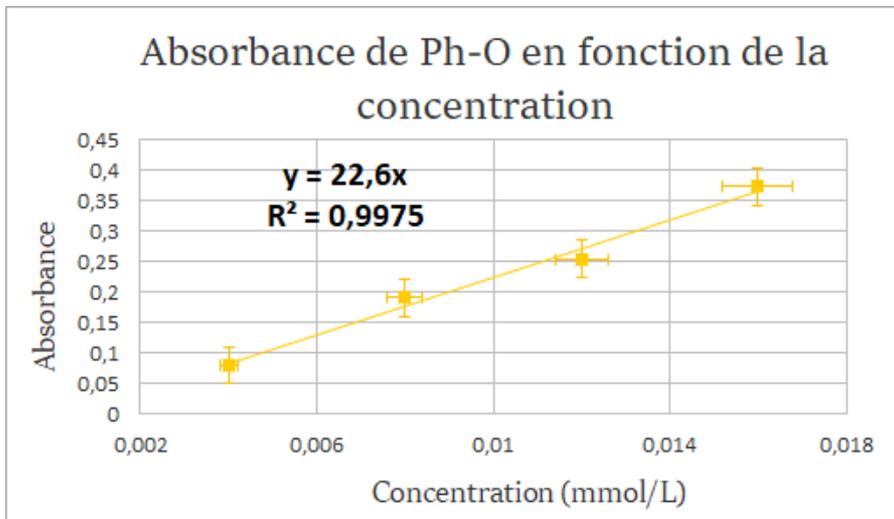


Fig 27 : Droite d'étalonnage de Ph-O à $\lambda = 382 \text{ nm}$ et de Ph-N à $\lambda = 461 \text{ nm}$



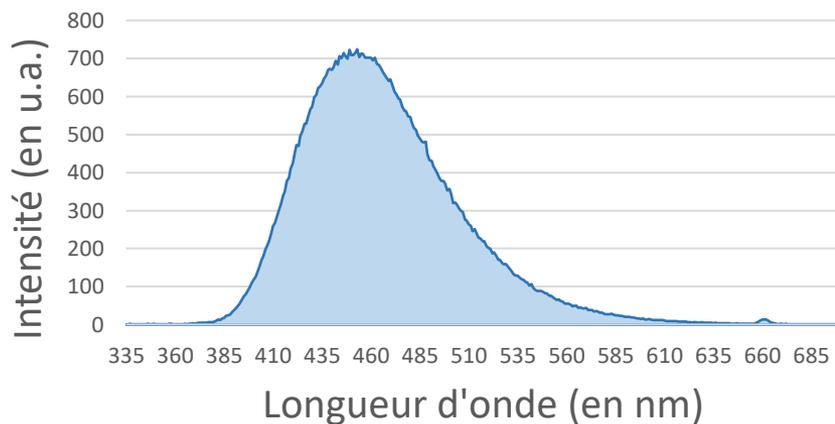
Ph-O : $\epsilon = (22,6 \pm 1,1) \cdot 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
Ph-N : $\epsilon = (15,20 \pm 0,76) \cdot 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Comparaison: $\epsilon_{\text{fluorescéine}} = 80\,000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

III.2-Quantification : Fluorimétrie

Spectre de fluorescence

Fig 28 : Spectre d'émission du sulfate de quinine dans l'acide sulfurique



Sulfate de quinine à $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$

Fig 29 : Structure de la quinine

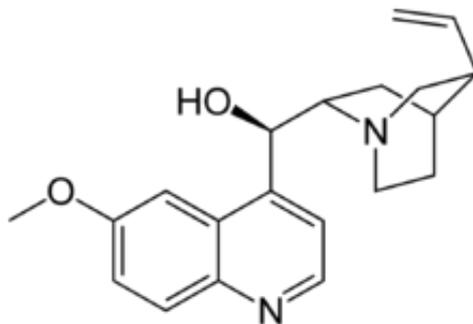


Fig 30 : Schéma de principe d'un fluorimètre

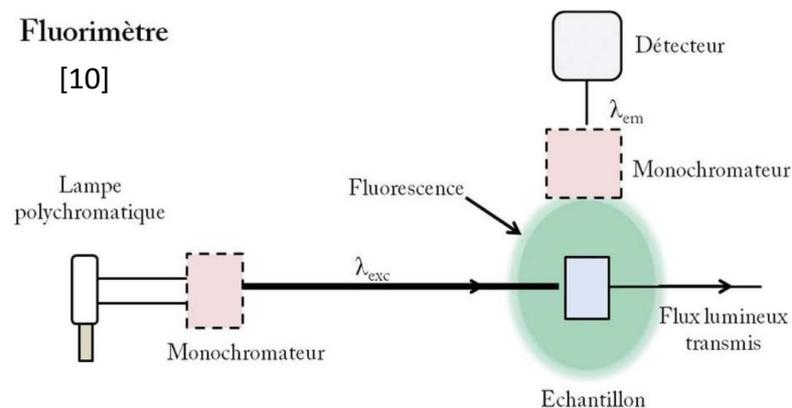


Fig 31 : Fluorimètre

III.2-Quantification : Fluorimétrie

$$\Phi_F = \frac{\text{nombre de photons émis}}{\text{nombre de photons absorbés}}$$

Φ : **Probabilité** du fluorophore à émettre un photon (efficacité d'émission)

$$\Phi_F = \Phi_{Fref} \times \left(\frac{n_{AcOEt}}{n_{ref}}\right)^2 \times \frac{\mathcal{A}_{\text{fluorophore dans AcOEt}}}{\mathcal{A}_{\text{sulfate de quinine}}} \times \frac{1 - 10^{-A_{ref}(\lambda_E)}}{1 - 10^{-A(\lambda_E)}}$$

Rendement quantique de la quinine (valeur tabulée)

Aires sous les courbes de fluorescence

Valeur de l'absorbance en spectroscopie UV pour λ_E

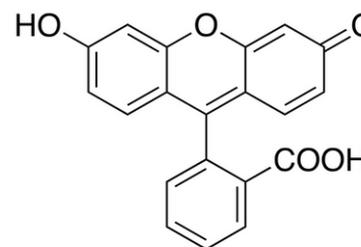
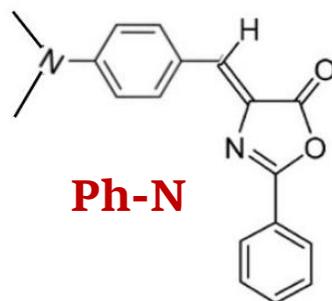
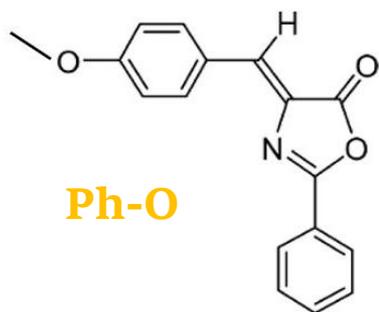
Indice de réfraction du milieu (acétate d'éthyle/quinine à $1,0 \times 10^{-5}$ mol/L dans l'acide sulfurique)

$$\lambda_{\text{excitation}} = \lambda_E = 361 \text{ nm}$$

III.2-Quantification : Fluorimétrie

Produit/référence	Ph-O	Ph-N	Fluorescéine
Rendement quantique	$(9,687 \pm 0,067) \times 10^{-3}$	$(4,74 \pm 0,14) \times 10^{-2}$	0,8

Fig 32 : Tableau récapitulatif des rendements quantiques des fluorophores



Fluorescéine

Fig 33 : Structure des fluorophores

Molécule fluorescente $\Phi_F > 0,1$

III.3-Quantification : Brillance

Calcul de la brillance

Produit/référence	Ph-O	Ph-N	Fluorescéine
Brillance (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	(218 ± 12)	(714 ± 42)	7,2 x 10 ⁴

Fig 34 : Tableau récapitulatif de la brillance de **Ph-O**, **Ph-N** et de la fluorescéine



Fig 35 : Fluorescéine sous UV [11]



Fig 36 : Fluorophore sous UV
(365 nm)

III.4-Quantification : Influence de la structure

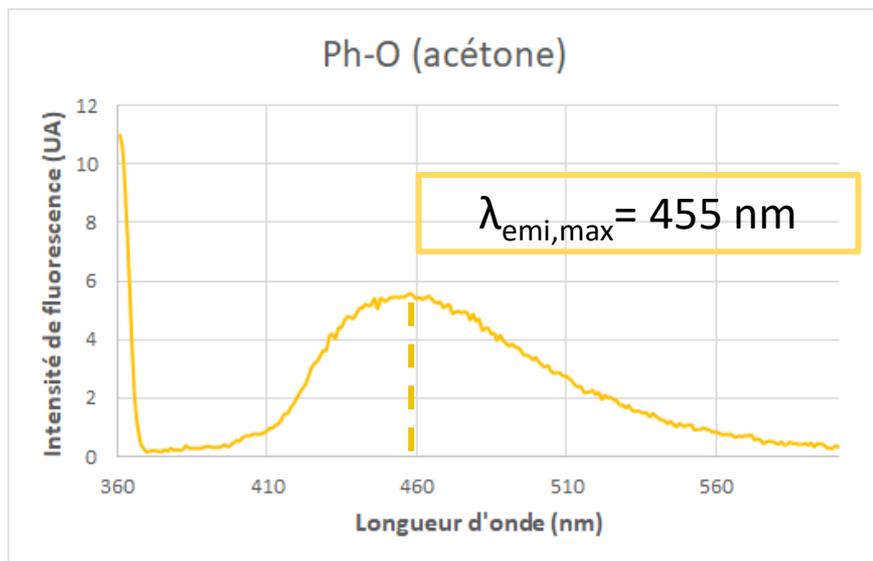


Fig 37 : Courbe de l'intensité de fluorescence de **Ph-O** et **Ph-N** en fonction de la longueur d'onde dans l'acétone

$$\lambda_{\text{excitation}} = 361 \text{ nm}$$

$$\lambda_{\text{excitation}} = 466 \text{ nm}$$

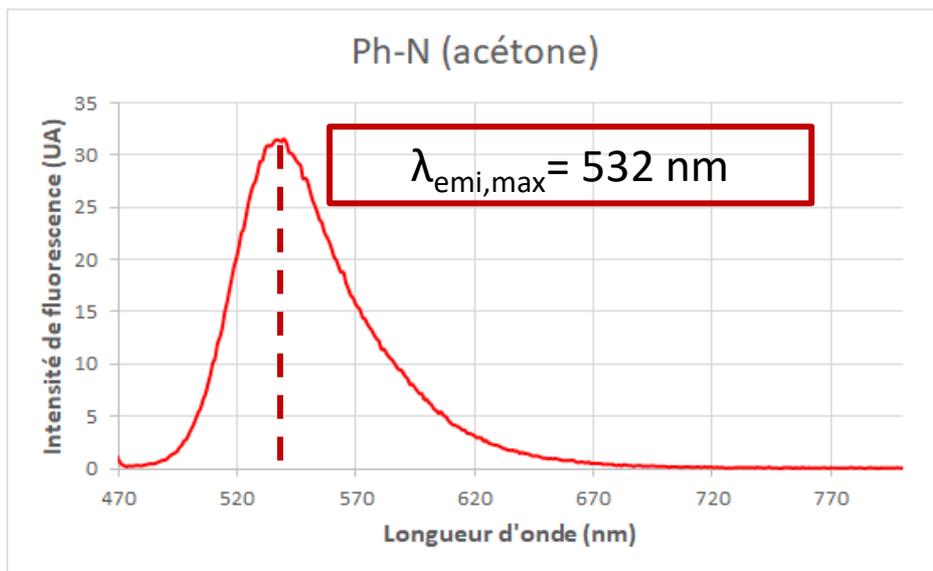
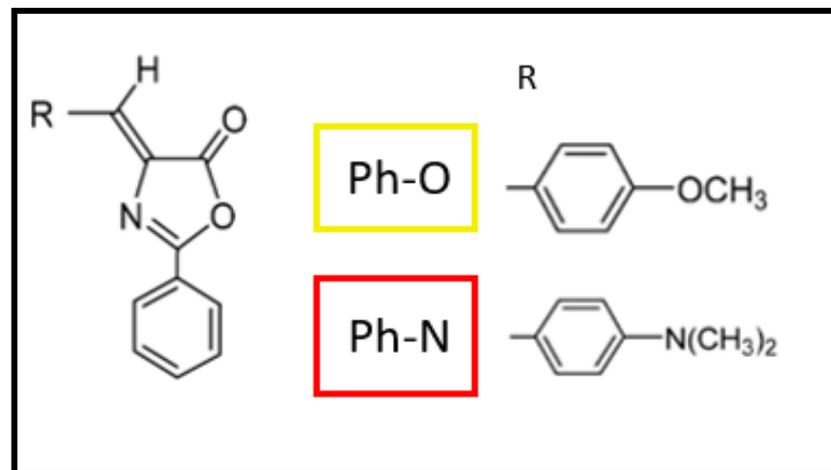


Fig 38 : Structures des fluorophores



III.4-Quantification : Influence de la structure

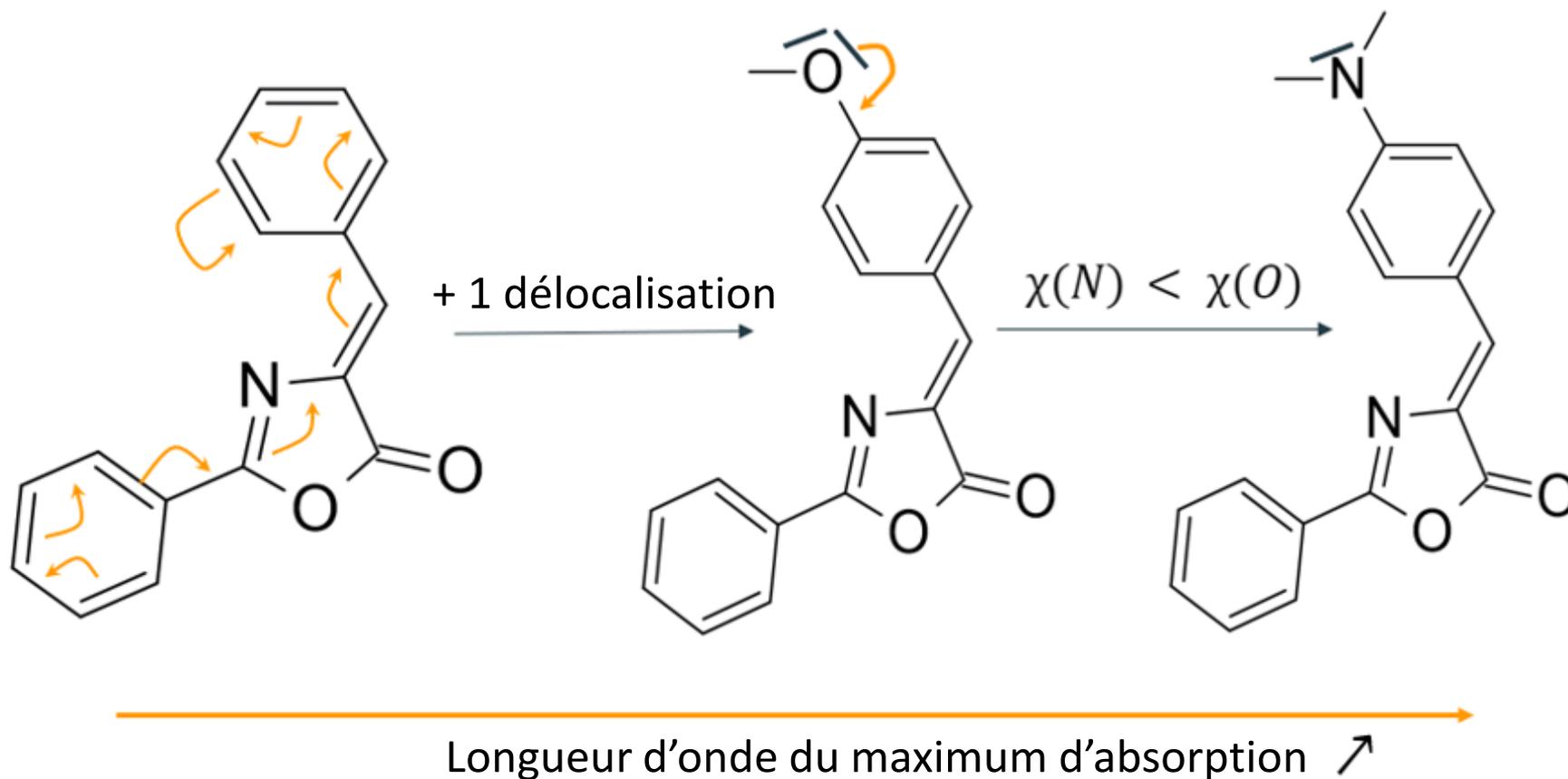


Fig 39 : Structures des fluorophores montrant l'évolution du maximum d'absorption grâce aux différents effets mésomères et inductifs

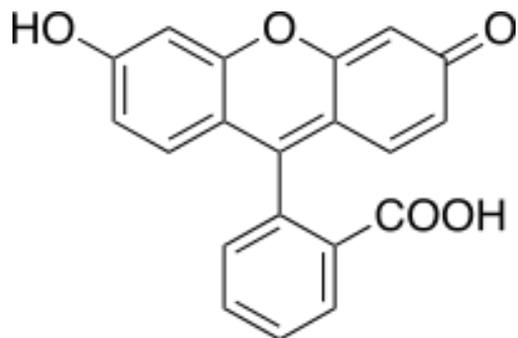
III.4-Quantification : Influence de la structure



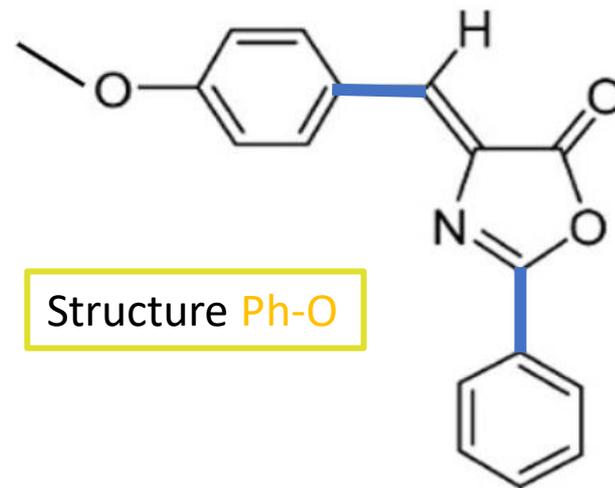
Fig 40 : tableau avec les rendements quantiques des fluorophores

Produit/référence	Ph-O	Ph-N	Fluorescéine
Brillance (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	(218 ± 12)	(714 ± 42)	7,2 x 10 ⁴

Explication possible : les liaisons bleues, mêmes si renforcées par mésomérie sont moins rigides que les doubles liaisons ≠ fluorescéine : structure davantage bloquée



Structure de la fluorescéine

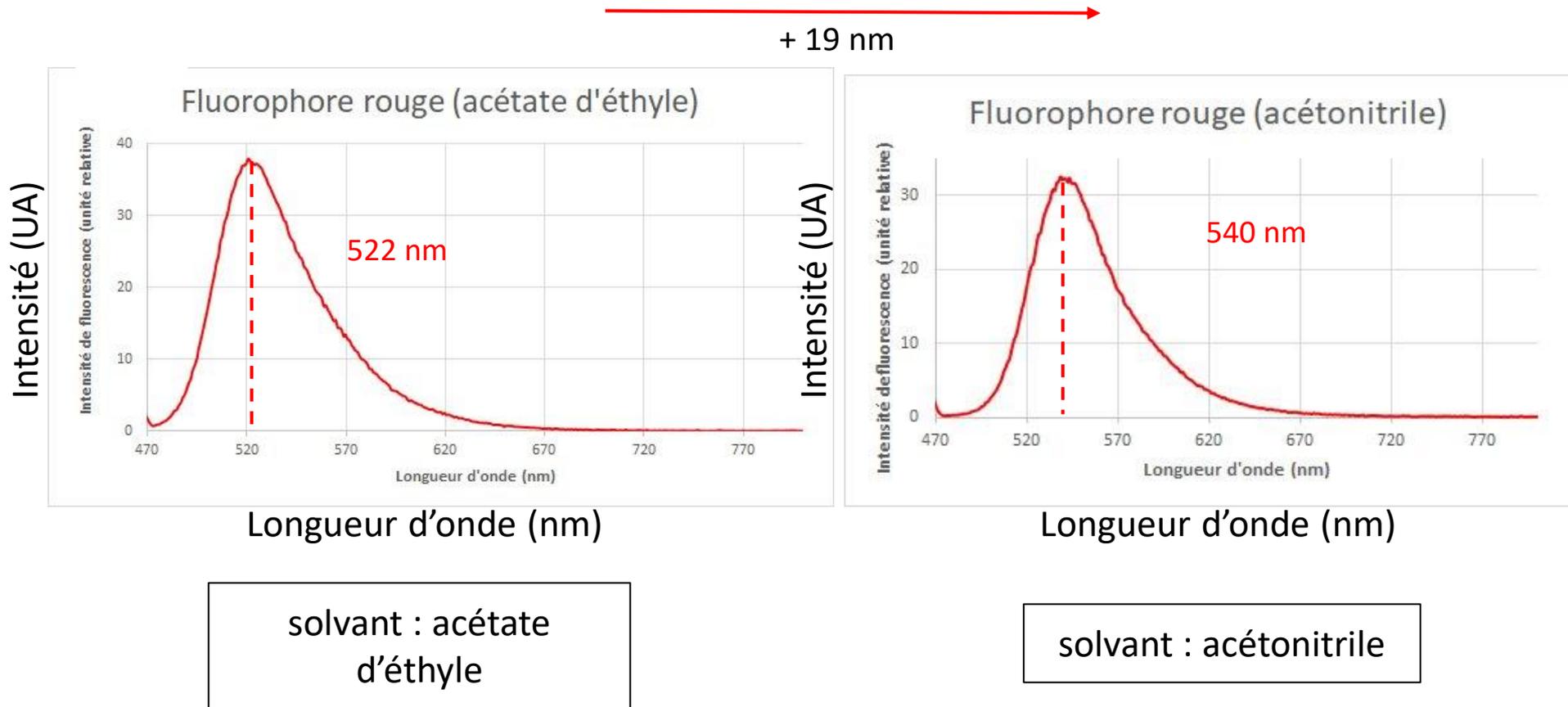


Structure Ph-O

Fig 41 : Structure du fluorophore Ph

III.5-Quantification : Influence du solvant

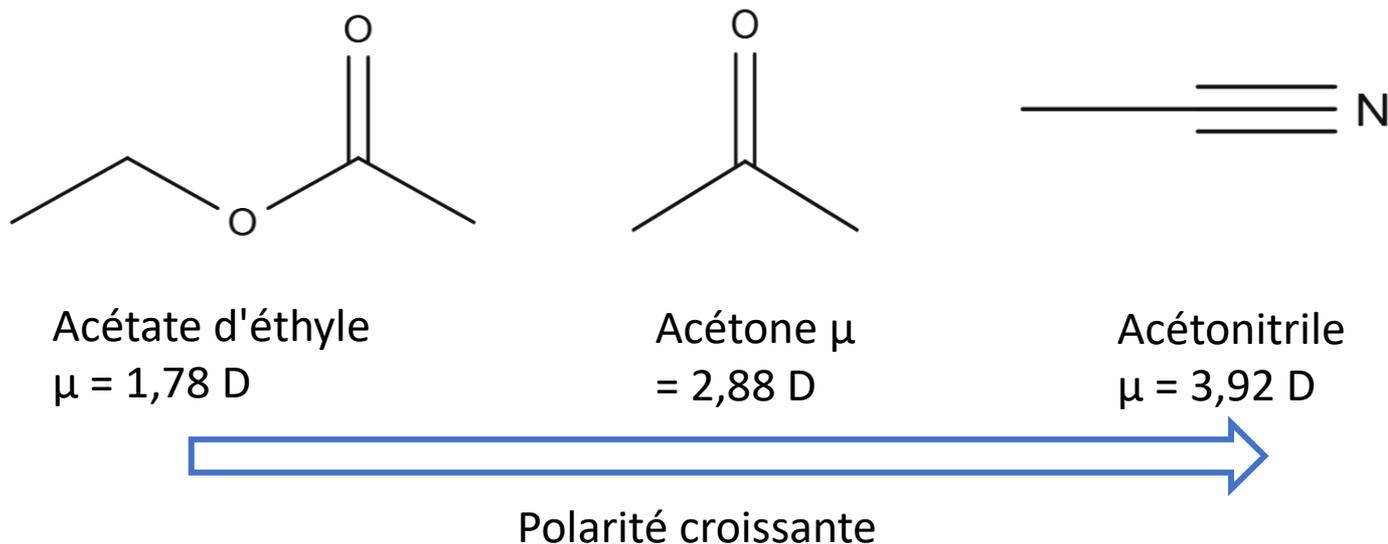
Fig 42 : Spectres de fluorescence du **Ph-N** dans deux solvants différents



III.5-Quantification : Influence du solvant

Solvatochromisme

Propriété d'une molécule à changer de couleur selon la polarité du solvant dans lequel elle est dissoute.



$$\lambda_{\text{acétate d'éthyle}} = 522 \text{ nm} < \lambda_{\text{acétone}} = 535 \text{ nm} < \lambda_{\text{acétonitrile}} = 540 \text{ nm}$$

$$\lambda_{\text{acétate d'éthyle}} = 448 \text{ nm} < \lambda_{\text{acétone}} = 455 \text{ nm} < \lambda_{\text{acétonitrile}} = 460 \text{ nm}$$

Conclusion

→ Synthèse de deux fluorophores différents

→ Différentes caractérisations qui montrent la pureté et décrivent le produit obtenu

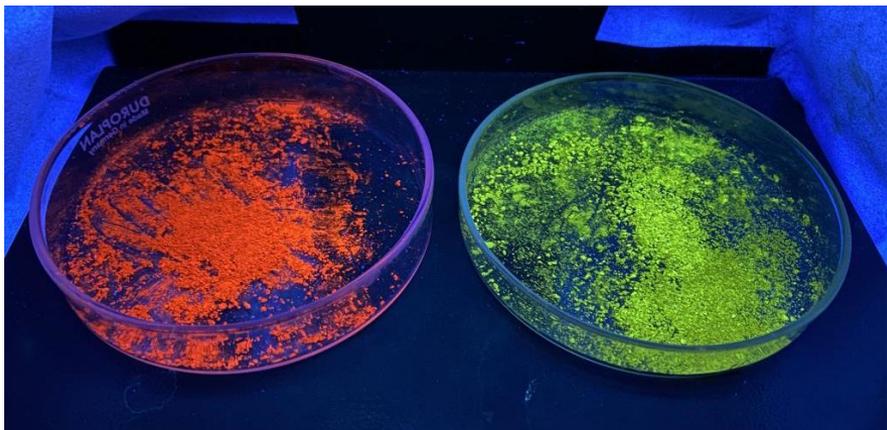


Fig 43 : Produits après purification



[8]



[1]

Fig 44 : flow-vis sur F1 et sur surface lisse expérimentale à partir d'un mélange fluorophore/paraffine

→ Étude de la fluorescence avec calcul de rendement quantique, brillance

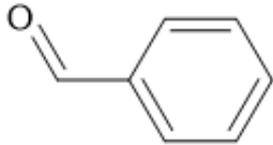
→ Étude de l'influence de la structure et du solvant sur la fluorescence



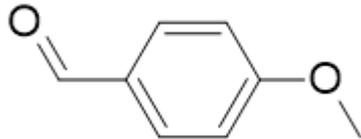
Annexes

Fig 45 : Structure des molécules

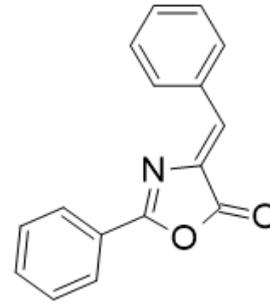
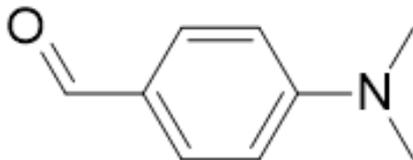
benzaldéhyde



p-anis aldéhyde (= 4-méthoxybenzaldéhyde)

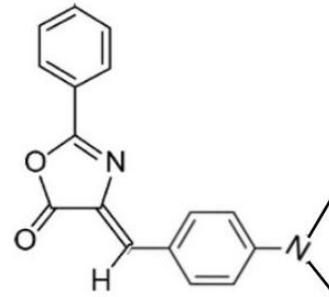


4-(Diméthylamino)benzaldéhyde



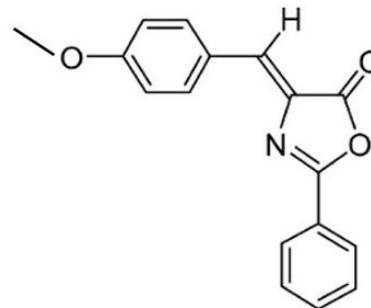
4-Benzylidene-2-phenyloxazol-5(4H)-one

→ Ph



4-(4-Methoxybenzylidene)-2-phenyloxazol-5(4H)-one

→ Ph-O

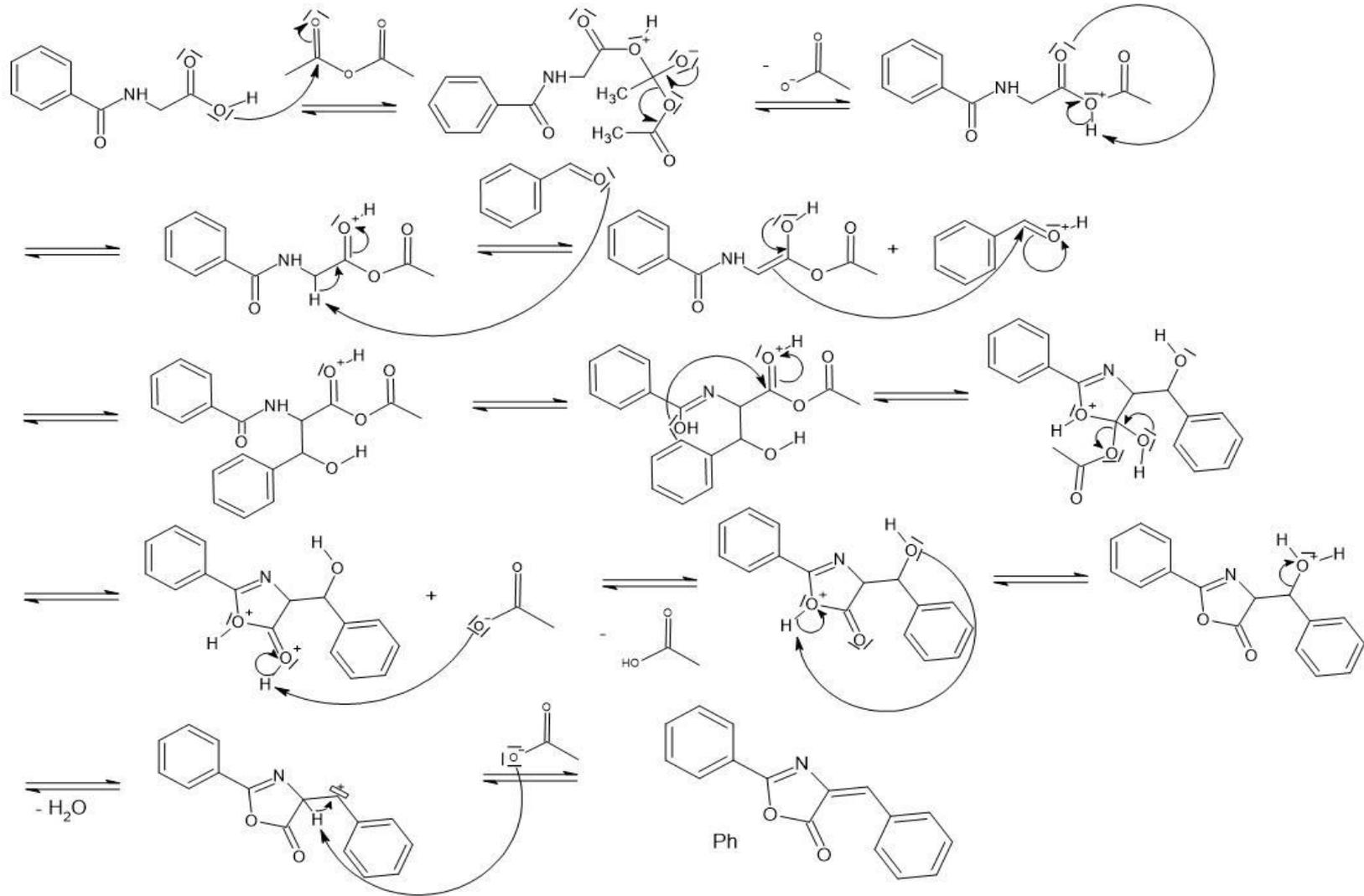


4-[4-(Diméthylamino)benzylidene]-2-phenyloxazol-5(4H)-one

→ Ph-N

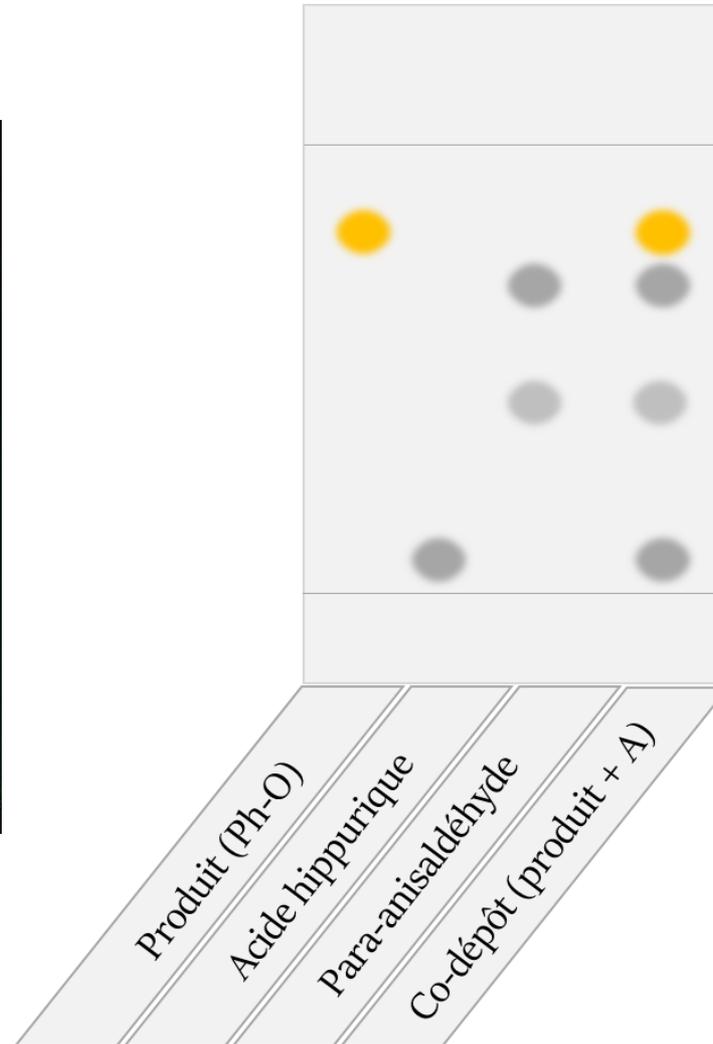
Annexes

Fig 46 : Mécanisme de la synthèse



Annexes

Fig 47 : Plaque CCM du produit **Ph-O** et des réactifs



$R_f = 0,77$

$R_f = 0,68$

$R_f = 0,36$

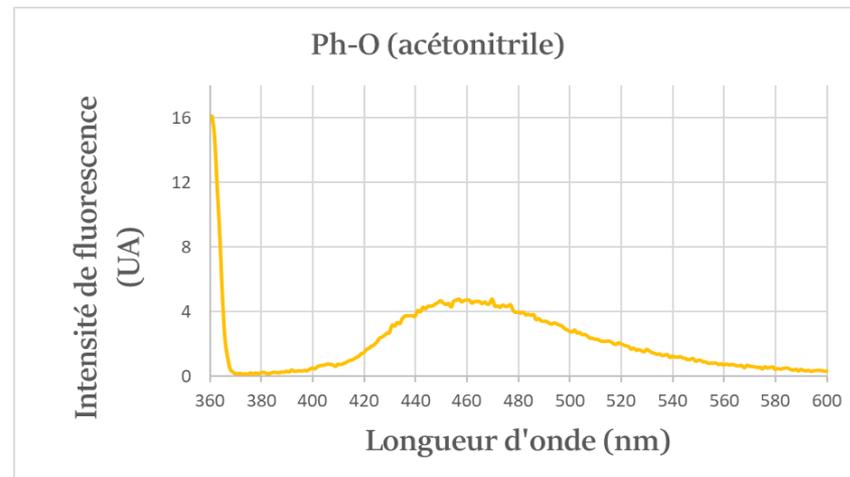
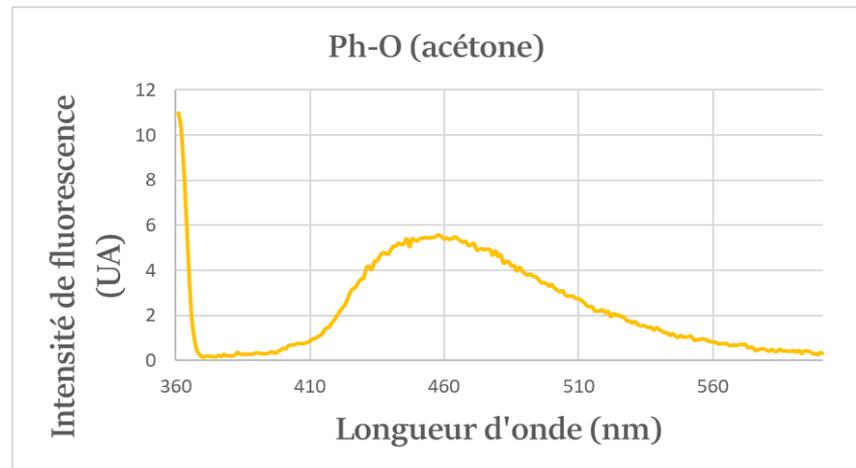
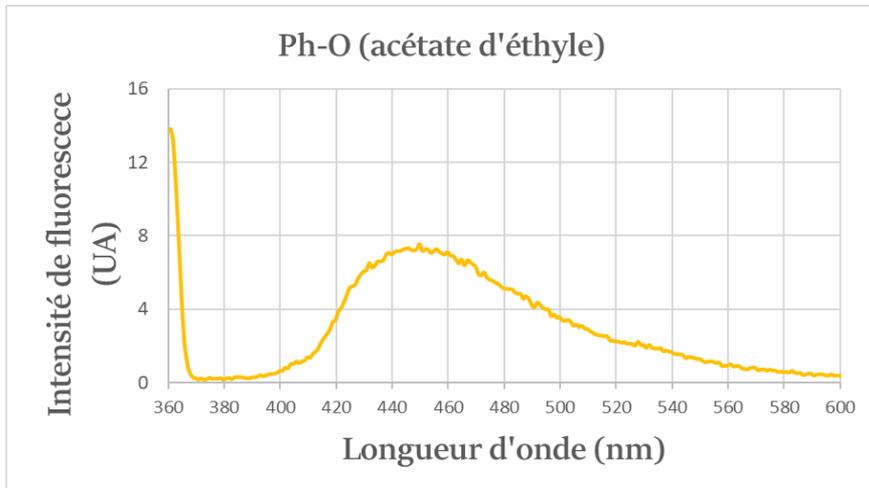
Eluant:

60% cyclohexane
40% acétate d'éthyle

(*): A = para-anisaldéhyde

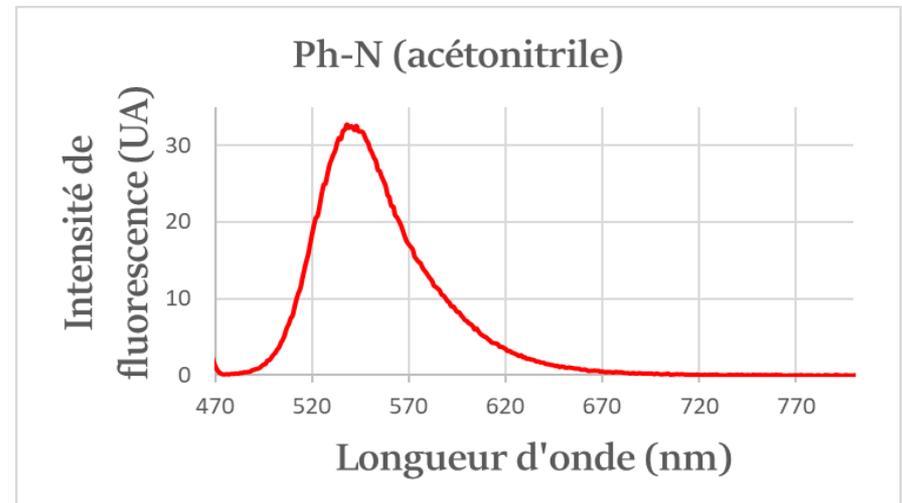
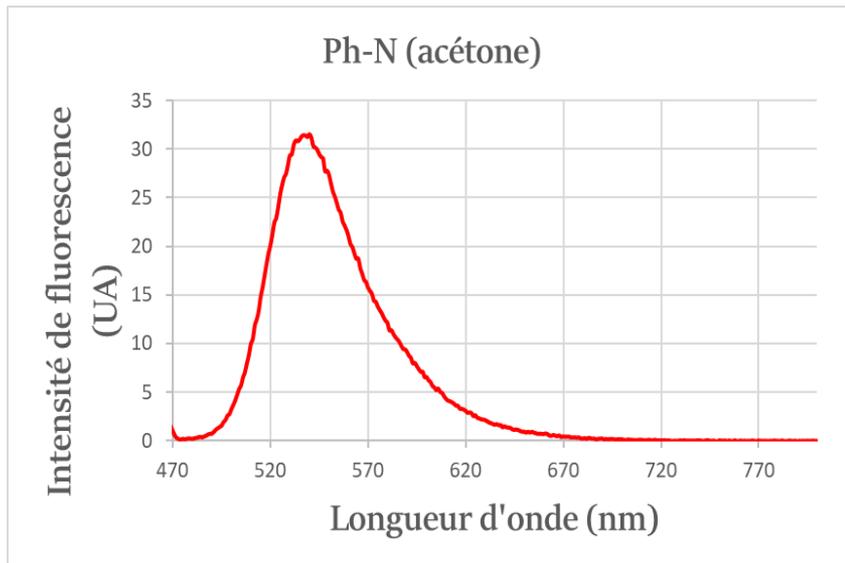
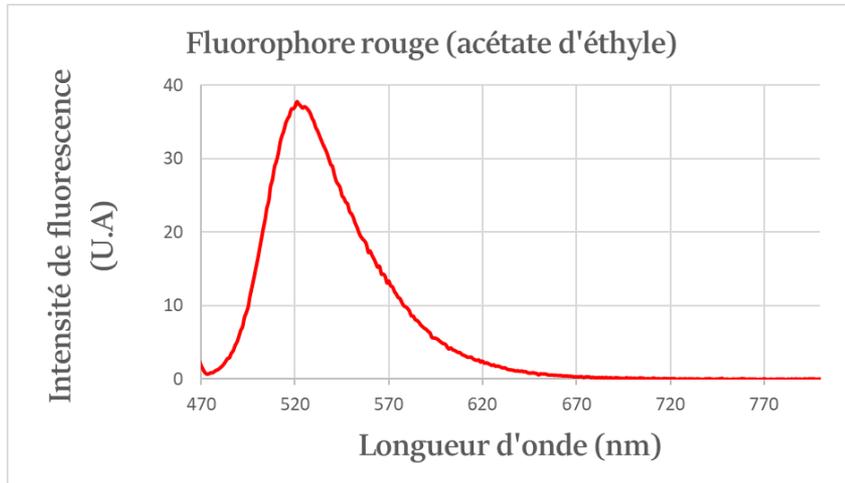
Annexes

Fig 48 : Spectres de fluorescence de **Ph-O** dans différents solvants



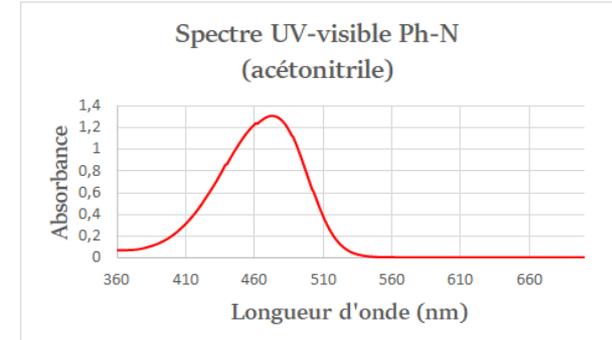
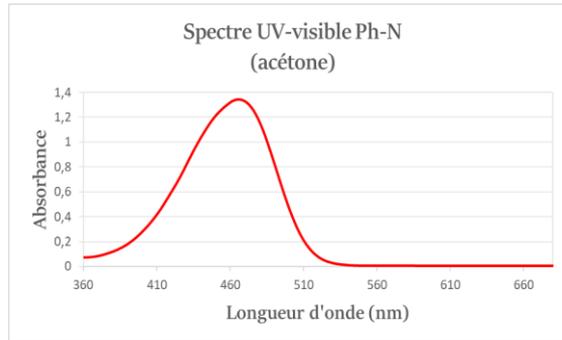
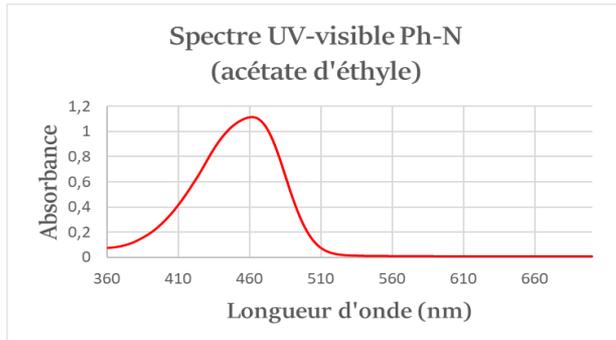
Annexes

Fig 49 : Spectres de fluorescence de **Ph-N** dans différents solvants

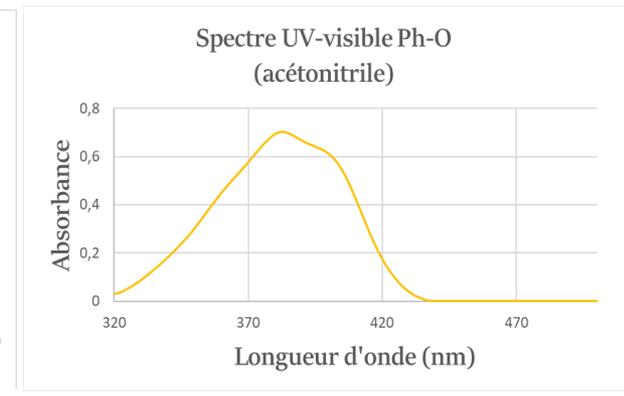
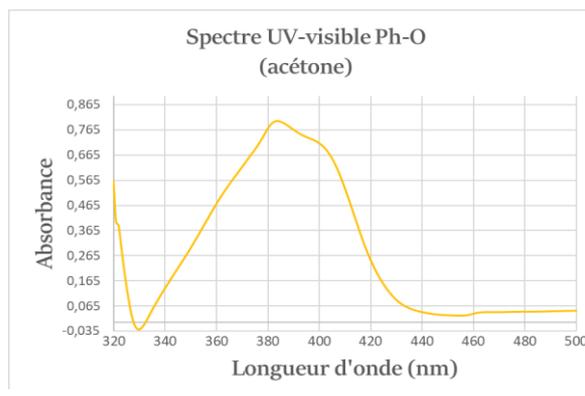
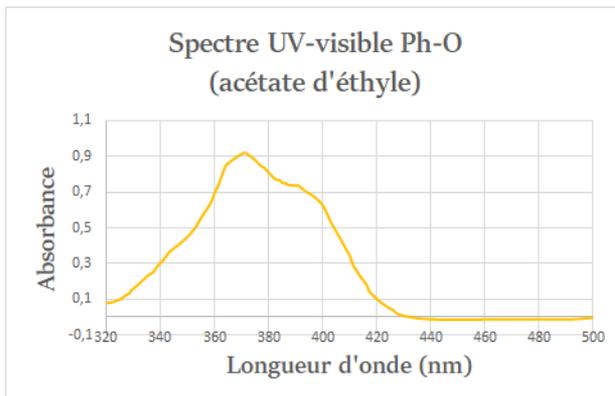


Annexes

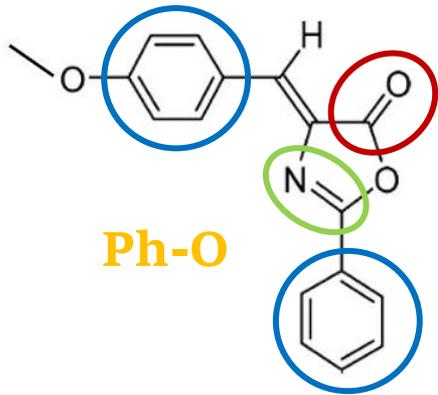
Fig 50 : Spectres UV-visible dans différents solvants



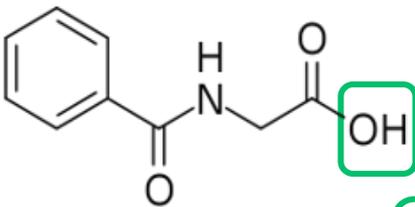
$$c = 1,0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$



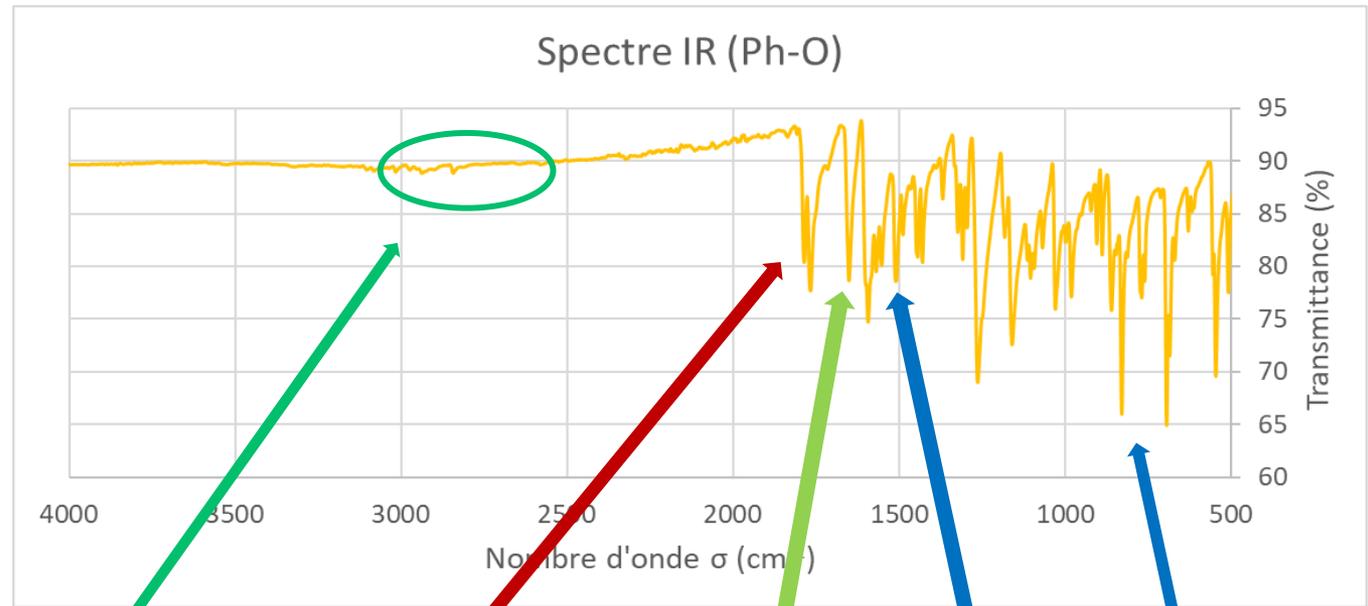
Annexes



Ph-O



Acide hippurique



Ø liaison O-H

C=O ester

C=N imine
(1640 cm⁻¹)

C=C
aromatique
(1540 cm⁻¹)

Déformation
hors du plan

Fig 51 : Structures de Ph-O et de l'acide hippurique

Fig 52 : Spectre IR du fluorophore Ph-O

Annexes

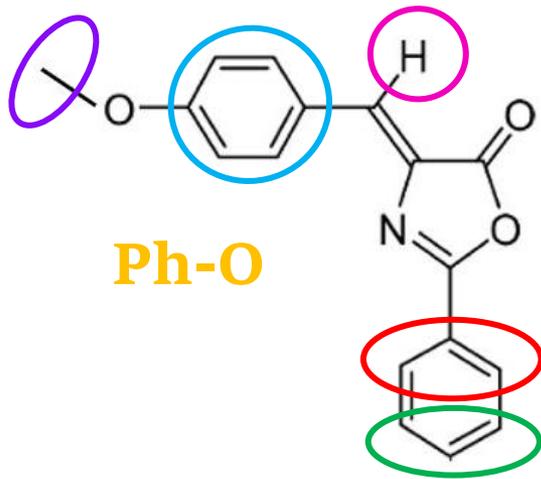


Fig 53 : Structure du **Ph-O**

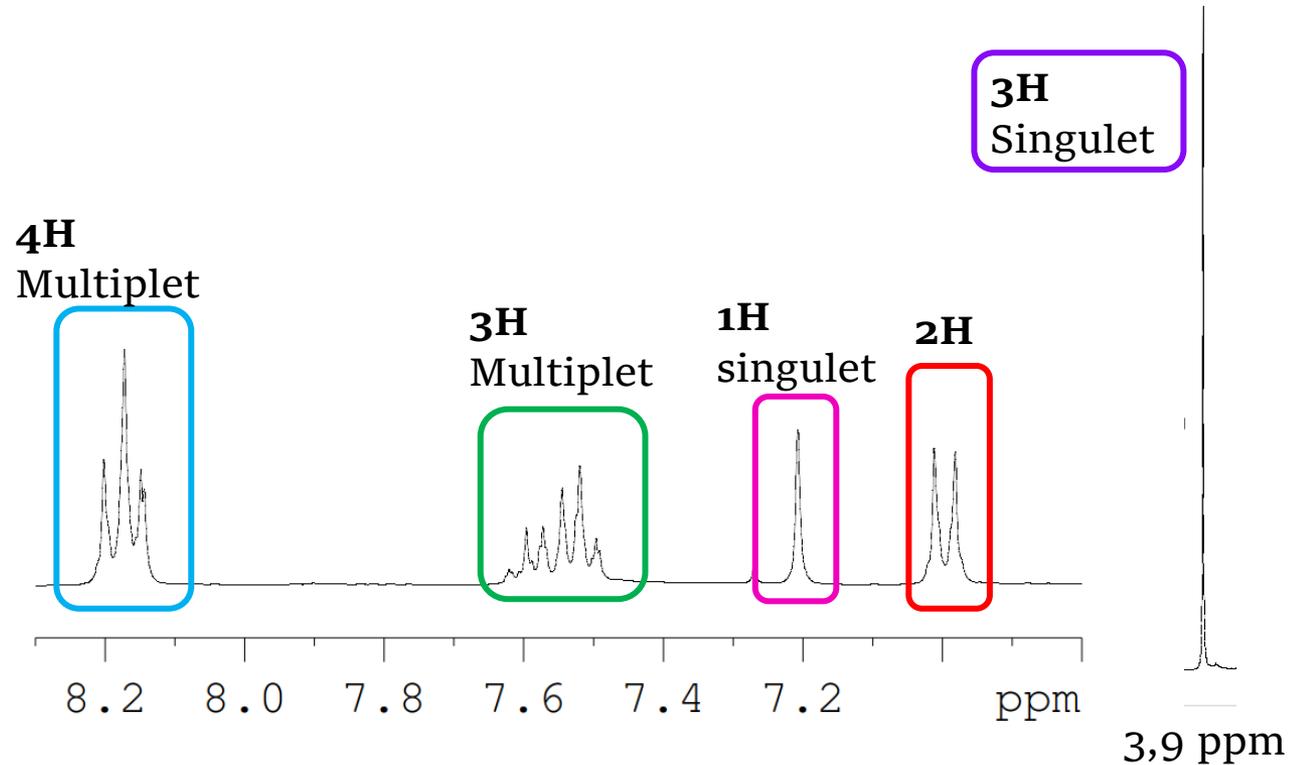


Fig 54 : Spectre RMN¹H de **Ph-O** dans CdCl₃, 300 MHz

Annexes

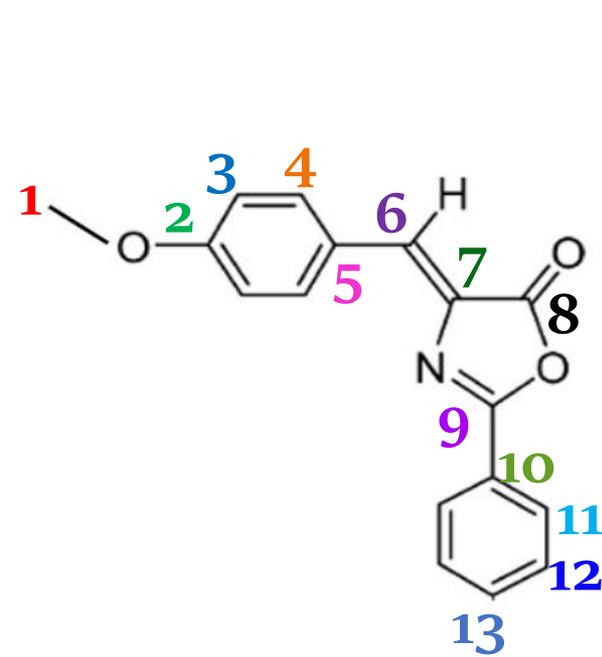


Fig 55 : Structure du
Ph-O

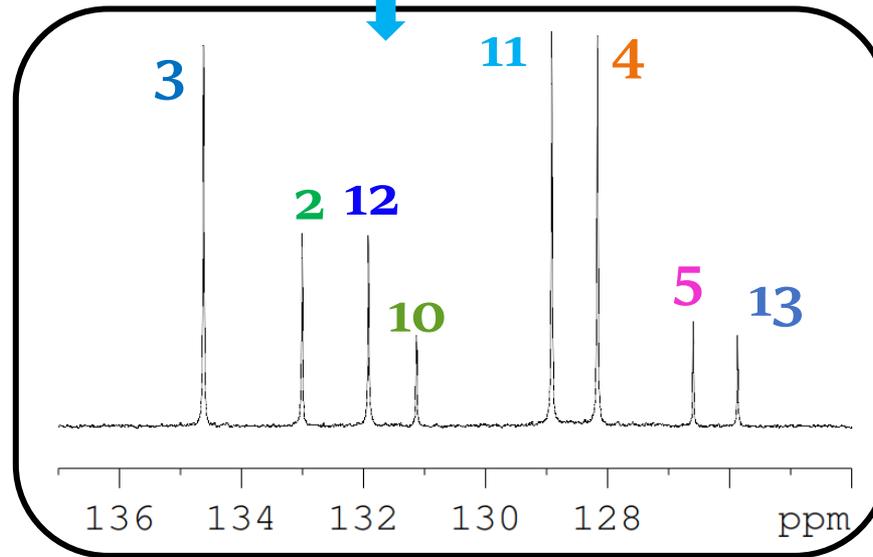
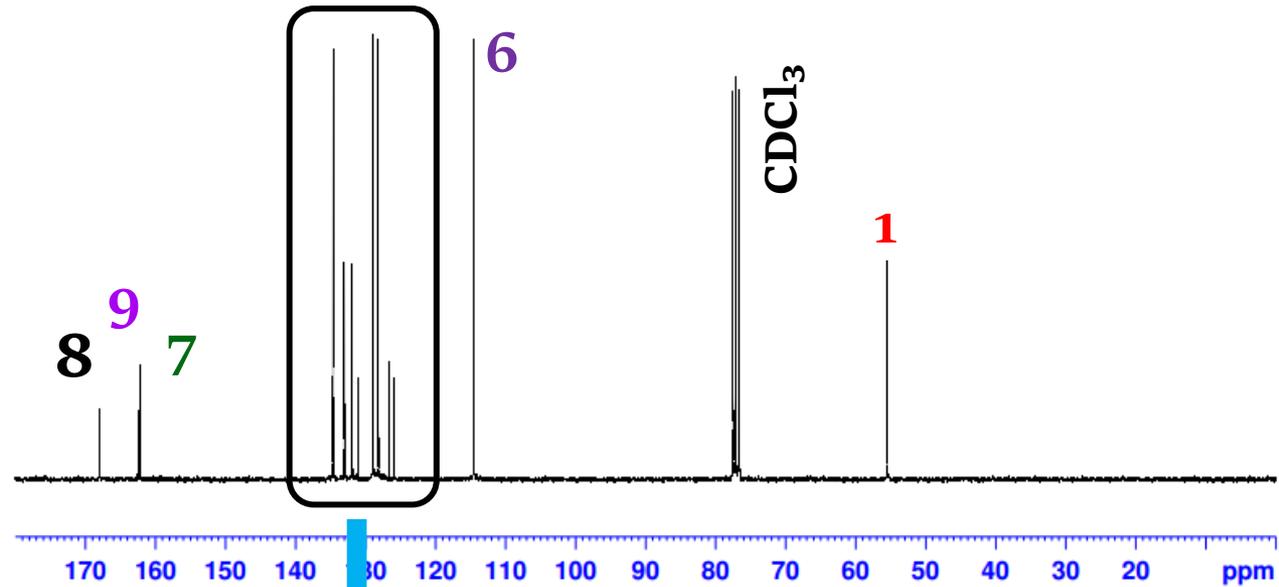


Fig 56 : Spectre
RMN ¹³C de
Ph-O dans
CdCl₃, 300 MHz

Annexes

Application numérique : Rendement

Ph-O	Ph-N
$m_{\text{exp}} = 388 \text{ mg}$ $M_{\text{Ph-O}} = 279 \text{ g.mol}^{-1}$	$m_{\text{exp}} = 0,449 \text{ mg}$ $M_{\text{Ph-N}} = 292 \text{ g.mol}^{-1}$
$\rho = m_{\text{exp}} / (M_{\text{Ph-O}} \times n_{\text{max}})$ $= 0,388 / (279 \times 3,5 \times 10^{-3})$ $= 0,38$	$\rho = m_{\text{exp}} / (M_{\text{Ph-N}} \times n_{\text{max}})$ $= 0,449 / (292 \times 3,5 \times 10^{-3})$ $= 0,43$

Annexes

Brillance

$$B_{\text{Ph-O}} = 9,69 \times 10^{-3} \times 22,60 \times 10^3 \\ = 219$$

$$B_{\text{Ph-N}} = 5,31 \times 10^{-5} \times 15,20 \times 10^3 \\ = 8,06 \times 10^{-1}$$

Rendement quantique

Ph-O	Ph-N
$A_{\text{Ph-N}} = 654,526 \text{ UA}$ $n_{\text{acétate d'éthyle}} = 1,3698$ $A_{\text{réf}}(\lambda_{\text{excitation}}) = 0,055$ $A(\lambda_{\text{excitation}}) = 0,54$	$A_{\text{Ph-O}} = 2394,6 \text{ UA}$ $n_{\text{acétate d'éthyle}} = 1,3698$ $A_{\text{réf}}(\lambda_{\text{excitation}}) = 0,1$ $A(\lambda_{\text{excitation}}) = 1,0993$
$\Phi = 9,687 \times 10^{-3}$	$\Phi = 4,74 \times 10^{-2}$

Annexes

Incertitudes

$$\rho = \frac{m_{exp}}{M_{fluorophore} \times n_{max}}$$

$$u(m) = \frac{\Delta(m)}{\sqrt{3}}$$

$$u(\rho) = \frac{u(m)}{M_{fluorophore} \times n_{max}}$$

$$\Delta(m) = 0,0005 \text{ g} \rightarrow u(m) = 2,9 \times 10^{-4} \text{ g}$$

$$\rho_{Ph-O} = (38,00 \pm 0,30) \%$$

$$\rho_{Ph-N} = (43,00 \pm 0,28) \%$$

Annexes

Incertitudes (rendement quantique)

$$\Phi_F = \Phi_{F_{réf}} \times \left(\frac{n_{\text{acétate d'éthyle}}}{n_{réf}} \right)^2 \times \frac{A_{\text{fluorophore dans acétate d'éthyle}}}{A_{\text{sulfate de quinine}}} \times \frac{1 - 10^{-A_{réf}(\lambda_{\text{excitation}})}}{1 - 10^{-A(\lambda_{\text{excitation}})}}$$

$$\frac{u(\Phi_F)}{\Phi_F} = \sqrt{\left(\frac{u(A_{\text{fluorophore}})}{A_{\text{fluorophore}}} \right)^2 + \left(\frac{u(A(\lambda_E))}{A(\lambda_E)} \right)^2}$$

$$u(A_{\text{fluorophore}}) = \frac{\Delta}{\sqrt{3}} \quad u(A(\lambda_E)) = \frac{\Delta}{\sqrt{3}} \quad \Delta = 0,005$$

$$\Delta = 5 \text{ UA}$$

$$\Phi_F(\text{Ph} - \text{O}) = (9,687 \pm 0,067) \times 10^{-3}$$

$$\Phi_F(\text{Ph} - \text{N}) = (4,74 \pm 0,14) \times 10^{-2}$$

Annexes

Incertitudes (concentrations)

$$c = \frac{C_{initiale} \times V_{pipette}}{V_{fiolle}}$$

$$\frac{u(c)}{c} = \sqrt{\left(\frac{u(V_{fiolle})}{V_{fiolle}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{pipette})}{V_{pipette}}\right)^2 + \left(\frac{u(C_{initiale})}{C_{initiale}}\right)^2}$$

$$u(V_{pipette}) = \frac{\Delta}{\sqrt{3}} \quad \Delta = 0.1 \text{ mL} \quad u(V_{fiolle}) = \frac{\Delta}{\sqrt{3}} \quad \Delta = 0.3 \text{ mL}$$

$$C_{initiale} = \frac{m_{\text{fluorophore}}}{M_{\text{fluorophore}} \times V_{fiolle}} \quad \frac{u(C_{initiale})}{C_{initiale}} = \sqrt{\left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{fiolle})}{V_{fiolle}}\right)^2}$$

$$u(m) = \frac{\Delta}{\sqrt{3}} \quad \Delta = 0.005 \text{ g}$$

Annexes

Incertitudes (coefficient d'absorption molaire)

$$u(A(\lambda)) = \frac{\Delta}{\sqrt{3}} \quad \Delta = 0,005$$

En entrant les différentes incertitudes sur Regressi, on trouve l'incertitude liée à ε

$$\varepsilon_{Ph-O} = (22,6 \pm 1,1) \times 10^3$$

$$\varepsilon_{Ph-N} = (15,20 \pm 0,76) \times 10^3$$

$$B = \Phi_F \times \varepsilon \quad \frac{u(B)}{B} = \sqrt{\left(\frac{u(\varepsilon)}{\varepsilon}\right)^2 + \left(\frac{u(\Phi_F)}{\Phi_F}\right)^2}$$

$$B_{Ph-O} = (218 \pm 12) \text{ L. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

$$B_{Ph-N} = (714 \pm 42) \text{ L. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

Annexes

Bibliographie

- [1] : <https://uk.las-motorsport.com/f1/news/flow-visualization-in-formula-1-a-guide-to-aerodynamic-testing-2/5545/>
- [2] : <https://fr.motorsport.com/f1/news/flow-viz-explications-f1-peinture-visualisation/8452968/>
- [3] : <https://www.amazon.ca/-/fr/sauvetage-r%C3%A9fl%C3%A9chissante-fluorescente-professionnel-lect%C3%A9rieur/dp/B0B2L7DFBV>
- [4] : <https://innovexalgerie.com/produit/gilet-fluorescent-haute-visibilite/>
- [5] : <https://decathlon.gp/products/flotteur-pche-au-pose-pl-flt-b?>
- [6] : <https://fr.motorsport.com/f1/news/flow-viz-explications-f1-peinture-visualisation/8452968/>
- [7] : <https://www.gravasac.com/article/213>
- [8] : <https://www.thefamouspeople.com/profiles/sir-george-stokes-1st-baronet-6219.php>
- [9] : <https://micro.magnet.fsu.edu/optics/timeline/people/jablonski.html>
- [10] : Schéma de principe d'un fluorimètre Piard J., Le Bup, 2015, Octobre, p 1213-1239.
- [11] : https://www.colorey.com/fr/traceurs-hydrologiques.html?limit=5&p=1&product_list_mode=list