

# LUMINESCENCE

## 1. Introduction

Dans cet exposé, nous abordons les points suivants relatifs aux phénomènes de luminescence:

- **Généralités:** Principes de base de ce phénomène;
- **Thermoluminescence:** Généralités et applications;
- **Bio-chimi-luminescence:** Généralités et applications;

## 2. Généralités

### 2.1. Définition

La luminescence est la propriété qu'ont certaines substances de restituer sous forme de photons d'énergie  $q=h\nu$  d'origine non thermique (c'est-à-dire que l'on ne considère pas l'incandescence comme un phénomène de luminescence) une partie de l'énergie absorbée au cours d'une excitation de type divers. Il s'agit donc de la désactivation d'une molécule excitée vers un état énergétique moins élevé.

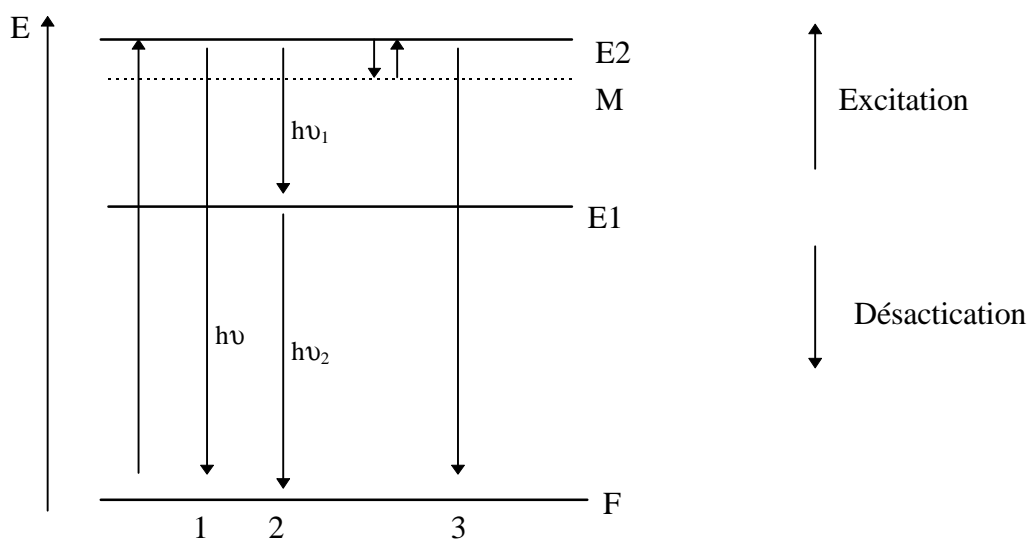
Il existe une multitude de processus d'excitation pour provoquer la luminescence. De plus à chaque type d'excitation correspond une dénomination particulière de la luminescence (par exemple une excitation de type chimique donnera lieu à de la chimiluminescence ou de la bioluminescence alors qu'une excitation par échauffement sera caractérisée par de la thermoluminescence). Le tableau ci-dessous détaille toutes ces -appellations.

INSERER DOCUMENT

## 2.1.1. La luminescence atomique et moléculaire

### 2.1.1.1. Atomes isolés

L'excitation d'un atome isolé (notons qu'un gaz très raréfiés peut être considéré comme un ensemble d'atomes isolés) conduit à ce que tout le monde a déjà vu : c'est-à-dire un spectre de raies. Lors d'une excitation, l'atome n'absorbera que certaines fréquences  $\nu$  du rayon incident correspondant aux transitions possibles de l'atome du aux niveaux discrets d'énergie.



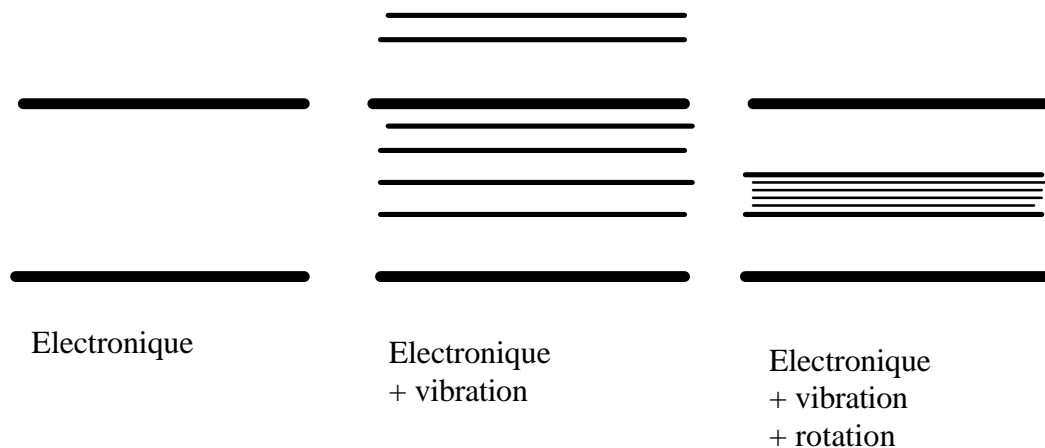
La figure ci-dessus montre les trois différentes manières possibles de retour à l'état initial d'un atome excité :

- Soit directement, en émettant un photon d'énergie égale à celle du photon absorbé. Il s'agit du phénomène de résonance.(1)
- Soit indirectement. Par des niveaux intermédiaires en émettant plusieurs photons  $h\nu_1$  et  $h\nu_2$  (2) ou en passant par un état métastable (M) à la suite d'une collision interatomique (peu probable) (3).

Ainsi tous les atomes isolés peuvent devenir luminescents. Ces lois sont régies par la spectroscopie atomique.

### 2.1.1.2.Luminescence moléculaire

Ce qui vient d'être dit pour les atomes isolés reste valable pour les molécules isolées mais les lois sont plus compliquées à cause des vibrations et des rotations moléculaires qui introduisent des niveaux d'énergie supplémentaire comme le montre le schéma de la page suivante.



Niveau d'énergie d'une molécule

### 2.1.1.3.Atomes ou molécules en interaction

Quand la pression d'un gaz (ou d'une vapeur) augmente, on assiste à des transferts de l'énergie d'excitation par collision. d'où apparition d'énergie cinétique et d'états métastables. Le retour à l'état fondamental se fait désormais avec une diminution du rendement de luminescence et un élargissement du spectre d'émission. Il apparaît ainsi un spectre de bandes.

D'autre part le retour à l'état fondamental peut parfois se faire sans émission de lumière (transitions non radiatives).

## 2.2. *Luminescence cristalline*

La luminescence des corps cristallins est due à des centres d'émission (activateurs, luminogènes). Ces centres sont :

- soit des imperfections physiques du réseau cristallin d'accueil (lacunes, atomes interstitiels, dislocations,...). On parlera de luminescence intrinsèque.
- soit, le plus souvent, des imperfections chimiques (atomes d'impuretés) introduites dans le cristal pur en faible proportion (position interstitielle ou substitutionnelle). On parlera alors de luminescence extrinsèque.

Le mécanisme de luminescence cristalline s'explique souvent à l'aide d'un schéma de bandes d'énergie. Nous en présentons un exemple dans la figure suivante.

# INSERER DOCUMENT

Alors que dans le cristal parfait il n'y a pas de niveaux dans la bande interdite (Figure a), la présence d'imperfection dans le cristal introduit des niveaux permis dans la bande interdite (BI) ou dans les bandes permises. Ces niveaux sont de plusieurs sortes :

- Les niveaux de recombinaisons ( $e^+/e^-$ ) (Figure b)
- Les niveaux métastables : pièges à  $e^-$  (Pe) ou à  $e^+$  (Pt) (figure b)
- Les niveaux fondamentaux (F) et excité (E) de centres pouvant être isolés, l'excitation des centres se faisant avec ou sans l'intervention des porteurs libres provenant des bandes permises (Bande de conduction, BC, ou bande de valence, BV).

Les spectres de luminescence cristalline diffèrent des spectres atomiques, notamment par deux aspects fondamentaux. Premièrement on observe en général des bandes et non des raies. Deuxièmement les radiations émises sont décalés vers de grandes longueurs d'ondes par rapport aux radiations absorbées. Ces deux aspects sont dus à l'interaction entre le centre d'émission et le réseau cristallin. Il s'agit là de la théorie du champ cristallin.

### ***2.3. Le transfert d'énergie***

Le transfert d'énergie est le phénomène physique observé lorsqu'une molécule luminescente à l'état excité cède une part de son surcroît d'énergie à une molécule acceptrice fluorescente. Cette dernière se désexcitiera en émettant un photon de fluorescence.

Le transfert énergétique d'un donneur vers un accepteur peut être de nature radiative ou non. Dans le cas d'une émission radiative, le quantum d'énergie transféré se fait par un photon. Dans le cas d'une émission non radiative, le transfert énergétique peut également se réaliser de manière électronique, par collision électronique ou par transfert énergétique de résonance. Ces phénomènes nécessitent le recouvrement des orbitales.

### ***2.4. Détermination des couples (donneur/accepteur)***

C'est le choix des couples (donneur/accepteur) qui conditionne le type de transfert énergétique. Ce choix repose sur l'analyse des spectres d'émission et d'absorption moléculaire des deux éléments du couple (CF. figure page suivante). Le spectre du fluorophore est caractérisé par le dépassement de Stokes entre la longueur d'onde d'absorption maximale et la longueur d'onde d'émission maximale. La zone anti-stokes résulte du chevauchement du spectre d'émission et d'absorption du fluorophore. Il faut rechercher la meilleure résolution possible entre les deux émissions du donneur et de l'accepteur. Ce «déplacement» de Stokes doit être le plus important possible. En revanche, plus la zone (J) représentée en hachure sur la figure est importante, plus le transfert efficace. La zone J résulte de l'intersection du spectre d'émission du donneur et du spectre du receveur.

INSERER DOCUMENT

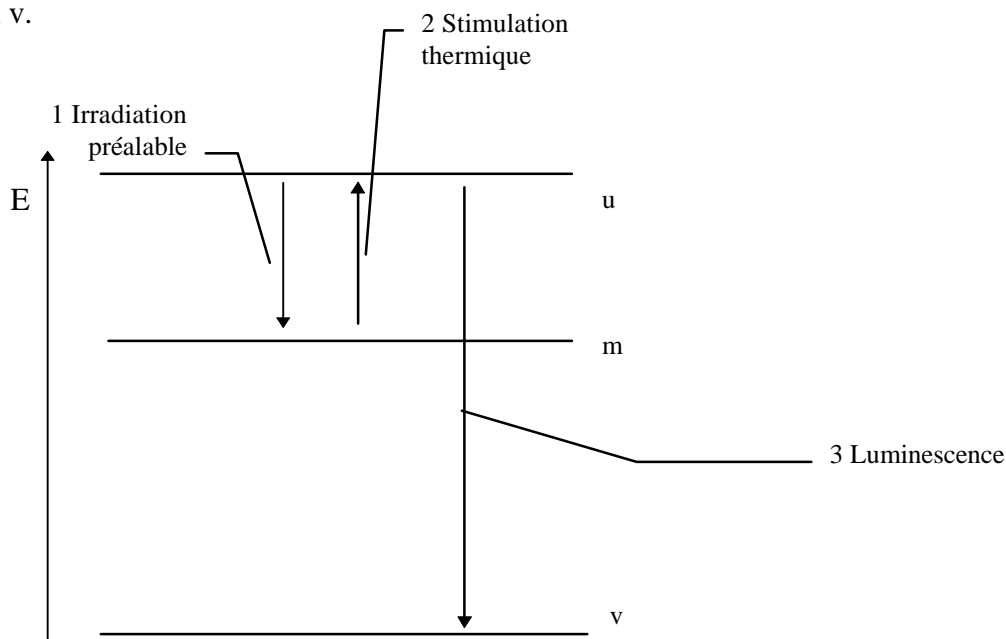
## 3. Thermoluminescence

### 3.1. Généralités

#### 3.1.1. Définitions et principe

Comme cela a été décrit précédemment, le phénomène de luminescence consiste en la réémission par un corps sous forme lumineuse d'une énergie qu'il a reçue par le biais d'une irradiation quelconque. Ce phénomène s'explique par le passage de certains électrons des atomes du corps excité d'un niveau d'énergie à un autre. En général, après le passage d'un électron de son niveau d'énergie initial (v sur le schéma suivant) au niveau supérieur (u) par une irradiation adéquate, l'électron retrouve spontanément son niveau initial en réémettant un photon lumineux. Cependant, il existe certains corps pour lesquels on trouve des niveaux d'énergie métastables (m sur la figure suivante) situés entre deux niveaux "classiques". Ainsi, dès que l'on irradie ces corps, les électrons déplacés viennent ensuite se positionner dans ces niveaux métastables, appelés pour cette raison "niveaux pièges" et le phénomène de luminescence n'a alors pas lieu.

C'est là qu'intervient alors la thermoluminescence qui consiste à chauffer le corps en question pour fournir l'énergie nécessaire à l'électron pour retrouver le niveau supérieur et ensuite retourner naturellement à son niveau initial en émettant de la lumière. En effet, la probabilité que l'électron retourne au niveau m est alors très inférieure à celle qu'il a de revenir en v.



En terme de luminescence, on distingue fluorescence et phosphorescence. Si le temps  $t_c$  qui sépare l'irradiation de l'émission est inférieur à  $10^{-8}$ s, on parle de fluorescence. Dans l'autre cas, il s'agit de phosphorescence. Or, dans le cas de la thermoluminescence, ce temps est toujours supérieur à  $10^{-8}$ s du fait du temps de séjour dans le niveau piège. On aura donc toujours phosphorescence.

Nous allons maintenant introduire quelques paramètres permettant de suivre mathématiquement le phénomène de thermoluminescence.

Tout d'abord, définissons le temps  $b$  qui correspond au temps de séjour d'un électron dans un piège. A la température  $T$ , ce temps a pour expression  $b=s^{-1}\exp(E/kT)$  où  $E$  est l'énergie de transition entre  $m$  et  $u$  et  $k$  est la constante de Boltzmann.

Des modèles ont ensuite été envisagés pour déterminer la variation de l'intensité de phosphorescence en fonction du temps  $I(t)$  et en supposant en première approximation que  $I$  est proportionnelle au taux de transition des électrons de  $u$  vers  $v$ , c'est-à-dire de  $m$  vers  $u$ , on obtient l'équation suivante correspondant à une cinétique d'ordre 1 :  $I(t) = -A*dn/dt = An/b$  d'où  $I(t) = I_0\exp(-t/b)$  où  $I_0$  est l'intensité à  $t=0$  au moment de la stimulation thermique. On peut aussi imaginer un modèle plus complexe où les électrons peuvent retourner en  $m$  où l'on peut trouver plusieurs niveaux pièges d'énergies différentes et on a alors une cinétique d'ordre 2. La loi générale de  $I(t)$  est, en appelant  $x$  l'ordre de la cinétique envisagée :

$$I(T) = s \times n^x \exp(-E/kT) \left( 1 + \frac{n^{x-1}}{NV} \int_{T_0}^T \exp(-E/kT) dt \right)^{-x/x-1} (E)$$
 où  $n$  est le nombre d'électrons piégés et  $N$  est le nombre de pièges disponibles.

De plus nous avons vu que  $b$  varie exponentiellement en fonction de  $T$ . Lorsque  $E$  est faible devant  $T$ ,  $b$  est très petit et on a bien phosphorescence à la température d'irradiation. Par contre, lorsque le niveau piège est profond ( $E$  très grand), une augmentation de température permet alors l'émission lumineuse dans des délais observables. C'est là qu'apparaît l'intérêt des thermogramme  $I(T)$ .

### 3.1.2. Le thermogramme

Ces thermogrammes s'obtiennent en faisant varier la température à une vitesse uniforme  $V$  et en relevant l'intensité lumineuse dégagée par le corps. On note alors l'apparition de pics d'intensité lumineuse pour des températures données qui permettent donc de déceler l'existence de pièges caractéristiques de la composition du corps étudié. Plus la température d'apparition du pic est élevée, plus la profondeur du piège définie précédemment est grande.

De plus, l'aire comprise sous le pic donne une indication sur le nombre de pièges occupés avant la stimulation thermique dans la mesure où elle lui est proportionnelle.

Il est même possible, à partir de l'expression (E), d'établir des relations entre les températures des pics et la profondeur  $E$  des pièges correspondants.

On dispose pour établir ces thermogrammes de deux types d'appareils dont les principes sont identiques mais qui se distinguent par les plages de température que l'on peut balayer. L'un permet d'aller de 20 à 600°C alors que l'autre autorise une exploration de -180 à 200°C.

En ce qui concerne le principe, ces deux appareils sont composés d'un porte-échantillon placé sur un four. Une lampe U.V. permet l'irradiation de l'échantillon et un photomultiplicateur capte l'intensité lumineuse émise pour ensuite transmettre un signal à un micro-ordinateur. La température du four est bien entendu commandée par un programme choisi par l'utilisateur et des mesures de températures sont régulièrement transmises à l'ordinateur.

On obtient ainsi des thermogrammes aussi bien sur des produits naturels (cf. graphique ci-après relatant les résultats de la mesure effectuée sur un cristal naturel de quartz  $\alpha$  norvégien) que synthétiques.

INSERER ICI LE THERMOGRAMME



La thermoluminescence pouvant aussi être liée à l'existence de défauts, il est par exemple possible de distinguer des plâtres obtenus sous diverses conditions de cuisson du gypse. En effet, plus la pression de cuisson est faible, plus les défauts sont importants et plus les pièges sont nombreux.

Après cet exposé des généralités concernant la thermoluminescence, nous allons à présent exposer quelques applications plus pratiques de la thermoluminescence.

## **4. La dosimétrie thermoluminescente**

### ***4.1. Introduction***

Comme son nom l'indique, la thermoluminescence (TL) consiste en l'émission de lumière sous l'effet de l'échauffement d'un matériau, généralement un isolant tel le fluorure de lithium (LiF). Dans cette partie, on va voir la TL en tant qu'instrument de dosimétrie c'est à dire pour mesurer les doses de radiations, mais elle peut aussi être utilisée à d'autres cas, par exemple comme méthode de datation d'antiquités...

De façon simplifiée, la chaleur excite un électron qui était pris dans un piège (c'est à dire un défaut du matériau), puis l'électron se désexcite en émettant de la lumière.

Avant de prendre des décisions sur le choix du matériau dosimétrique convenable et ses propriétés lors d'une application donnée, nous devons avant tout connaître les demandes et les contraintes d'une telle application. Voici brièvement les domaines d'application dans lesquels la dosimétrie thermoluminescente joue des rôles de très grande importance :

### ***4.2. Les différentes applications de la dosimétrie thermoluminescente***

#### **4.2.1. Dosimétrie du Personnel**

Le but de ce type de dosimétrie est de surveiller les doses de radiations auxquelles les opérateurs des centrales nucléaires ou les techniciens d'appareils radiologiques, subissent pendant des expositions routinières. En effet, il paraît nécessaire de limiter l'exposition du personnel aux radiations afin de ne pas dépasser les limites de sécurité. Ces limites sont basées par exemple sur les recommandations de réglementation des agences de sécurité comme la Commission Internationale de la Protection Radiologique C.I.P.R.

De plus que la surveillance routinière, le domaine de la dosimétrie du personnel inclut la détermination des doses absorbées causées par des expositions accidentelles des radiations. Il existe trois types de dosimétrie du personnel :

1) La dosimétrie des extrémités : il s'agit de la détermination de la quantité maximale permise absorbée par les mains, les bras et les pieds.

2) La dosimétrie du corps : on détermine dans ce cas, la quantité absorbée à une profondeur de 1 cm de la peau humaine. On s'intéresse dans ce cas aux radiations pénétrantes comme les rayons Gamma, les neutrons, et les rayons X tel que  $E > 15 \text{ Kev}$ .

3) La dosimétrie de la peau : on détermine la quantité absorbée à une profondeur de 0.1 mm. On s'intéresse dans ce cas aux radiations non pénétrantes comme les particules Beta et les rayons X tel que  $E < 15 \text{ Kev}$ .

#### 4.2.2. Dosimétrie de l'environnement

Il s'agit dans ce domaine de la protection de l'environnement des radiations que peuvent émettre les centrales, les déchets et les accidents nucléaires. De ce résultat, on voit que la surveillance et le contrôle continus des émissions et des fuites de radiations, concernent de plus en plus les pays industriels. L'utilisation de la dosimétrie thermoluminescence est un facteur important dans ce domaine d'activité nucléaire puisqu'elle permet de détecter toute fuite de radiations dangereuses et assure donc une meilleure sécurité.

La dosimétrie thermoluminescente concerne aussi les astronautes qui sont exposées dans leurs missions spatiales à des sources de radiations comme les protons de haute énergie et des particules lourdes chargées de la lumière solaire.

#### 4.2.3. Dosimétrie clinique

Les matériaux thermoluminescents de très petite taille sont aussi exploités dans le domaine médical. On introduit ces matériaux à travers les orifices du corps humain avant d'exposer le patient aux radiations pendant des diagnostics ou des thérapies. Ce dosimètre thermoluminescent est ensuite retiré et analysé. C'est bien grâce à ce moyen que les médecins sont capables de déterminer la quantité de radiations délivrée à un organe interne malade pendant cette procédure, et de ces informations, ils sont capables de prescrire les traitements convenables.

Les domaines d'utilisation de ce type de dosimètre sont le diagnostic radiologique (Rayons X) et la radiothérapie (thérapie des cancers).

### ***4.3. Les propriétés des matériaux de dosimétrie thermoluminescente***

Dans cette partie nous allons décrire les propriétés des matériaux utilisés en dosimétrie thermoluminescente. Ces propriétés sont analysées afin de déterminer la performance des dosimètres utilisés.

#### 4.3.1. La réponse du matériau

C'est l'intensité de thermoluminescence libérée par le matériau lors de son retour à l'état stable après avoir été excité par une radiation donnée. C'est une fonction de la quantité absorbée de radiation  $D$ . Le matériau dosimètre le plus idéal est celui qui a une réponse linéaire à  $D$ , mais la plupart des matériaux utilisés en dosimétrie des propriétés de non-linéarité, et sur la variation de l'intensité thermoluminescence est linéaire puis supralinéaire puis sublinéarité quand la quantité  $D$  augmente. On définit l'indice de supralinéarité  $f(D)$  comme :

$$f(D) = \frac{(F(D)/D)}{(F(D_1)/D_1)}$$

Où  $F(D)$  est l'intensité thermoluminescence, et  $D_1$  est une valeur pour laquelle l'intensité est linéaire.

La propriété de linéarité est définie par  $f(D) = 1$ , si  $f(D) > 1$  on dit qu'on a une supralinéarité et si  $f(D) < 1$  on dit que l'on a une sublinéarité. Cette non-linéarité est liée à la saturation que présente le matériau quand la quantité de radiation  $D$  augmente. En effet quand la quantité  $D$  augmente, les sites de pénétration des radiations sont de moins en moins larges jusqu'à qu'ils seaturent.

#### 4.3.2. La réponse en énergie

Pour une dose donnée  $D$ , l'intensité thermoluminescente  $I$  émise par un matériau est proportionnelle à la quantité d'énergie des radiations initialement absorbées par ce matériau. Cette relation découle de la dépendance du coefficient d'absorption du matériau de l'énergie des radiations.

#### 4.3.3. Fading et Stabilité

La stabilité du signal dans l'environnement où le détecteur dosimètre est installé, est un important critère dans le choix de ce détecteur. Ainsi, Il paraît nécessaire d'estimer si les charges ou radiations piégées à l'intérieur du matériau peuvent être perdues avant la deuxième étape de désexcitation du matériau, sous forme de chaleur (fading thermique), lumière (fading optique) ou par d'autres moyens (fading anomal). On rappelle que le fading c'est la diminution momentanée d'une onde radioélectrique.

Il est nécessaire de savoir que si la profondeur des pièges ou des sites (en énergie) est petite, alors les fadings peuvent se produire facilement pendant l'étape d'irradiation ou même entre l'irradiation et la désexcitation. Il est donc bien conseillé de travailler avec des matériaux dont la courbe de thermoluminescence ( courbe qui trace la réponse du matériau thermoluminescent en fonction de la température d'utilisation de ce matériau), représente un pic autour de 200-250°C.

Occasionnellement, certains détecteurs sont utilisés dans un environnement à haute température, ceci nécessite de sélectionner le matériau qui possède des pics de température assez élevés; Ceci évitera facilement le fading thermique.

D'un autre côté, le fait que certains pièges peuvent être vidés par une stimulation optique, augmente le problème du fading optique. Un dosimètre qui est exposé de façon continue à la lumière du soleil, à des lampes fluorescentes ou à d'autres sources énergétiques de lumières artificielles, pour perdre une partie de son signal par stimulation de pièges chargés par des photons.

Pour les applications en dosimétrie, un matériau est testé en l'exposant un échantillon irradié à une source de lumière de longueur d'onde connue, et puis de comparer après un certain temps, son signal thermoluminescent avec un échantillon similaire entreposé dans l'ombre. Idéalement, aucun effet optique est demandé. Au contraire, une très grande sensibilité optique est désirée dans certaines applications.

#### 4.3.4. Les procédures d'annihilation

Le but de ces procédures d'annihilation est de rétablir l'équilibre thermodynamique qui existait dans le matériau avant lui faire subir des irradiations afin de pouvoir réutiliser le matériau comme dosimètre thermoluminescent. Il s'agit en fait de renverser les réactions de diffusion thermique qui interviennent pendant la procédure de thermoluminescence, et de libérer les pièges des irradiations par annihilation thermique d'abord à haute température (250-300°C par exemple) puis à basse température (80°C). L'annihilation thermique peut désormais détériorer certaines propriétés du matériau

#### 4.3.5. Autres facteurs

Il y a bien évidemment d'autres critères que l'on doit considérer dans la sélection du matériau dosimètre. Parmi ces critères, il y a les effets de l'environnement, par exemple, un dosimètre ne doit pas subir aucun changement physique ou chimique pendant son utilisation. Ceci nécessite une encapsulation dans les porteurs spécialement conçus pour éviter l'exposition à l'humidité et aux agents corrosifs.

Ces effets posent des problèmes majeurs sur la réutilisation du matériau dosimètre. D'autres effets doivent être évoqués comme la résistance aux cycles thermiques répétés et à la manutention continue du matériau.

Un autre phénomène relevant dans la précision des mesures est la fausse thermoluminescence c'est à dire la thermoluminescence qui ne résulte pas d'une irradiation de l'échantillon. La fausse thermoluminescence a plusieurs causes. Il peut s'agir d'une charge qui a été transportée des pièges profonds vers les pièges de dosimétrie pendant l'exposition à la lumière, etc..

Si un matériau dosimètre doit être utilisé, il est nécessaire d'avoir des informations suffisantes sur ses performances, afin de pouvoir choisir le meilleur matériau pour obtenir la meilleure dosimétrie.

#### 4.3.6. Caractéristiques de certains matériaux utilisés en dosimétrie thermoluminescente

Le Fluorure de Lithium est le matériau phosphorescent standard utilisé en dosimétrie car il possède les propriétés d'un bon dosimètre. De plus, Il résiste à la corrosion et à l'usage et il est difficilement soluble dans l'eau. c'est selon les propriétés évoqués ci dessus que l'on choisisse le matériau pour une application donnée. Voici brièvement la liste de certaines propriétés des matériaux utilisés en dosimétrie :

Matériau Phosphorescent	Pic de thermoluminescence en °C	Emission maximale en nm	Niveau de saturation en rad	Les procédures d'anihilation
LiF:Mg,Ti	210	425	$10^5$	400°C, 1 heure 80°C, 24 heures
LiF;Mg,Ti,Na	220	400		généralement non nécessaire
LiF,Mg,Cu,P	232	310-410	$> 10^4$	250°C, 10 mn
Mg <sub>2</sub> SiO <sub>4</sub> :Tb	200	380-400	$> 10^5$	500°C, 3 heures
CaF <sub>2</sub>	300	500	$10^5$	non nécessaire
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	250	425	$10^5$	
BeO	180-200	330	$5 \cdot 10^5$	600°C, 15 mn

**Caractéristiques de certains matériaux utilisés en dosimétrie thermoluminescente.**

#### ***4.4. Applications de la dosimétrie thermoluminescente :***

Vu le danger qu'apportent les radiations nucléaires Alpha, Beta, Gamma, etc..., des appareils de dosimétrie de ces radiations sont installés auprès des réacteurs nucléaires pour assurer une meilleure sécurité et détecter toute fuite accidentelle. Pour la dosimétrie des radiations Gamma par exemple, on utilise des matériaux faciles à préparer réutilisables, de fading négligeable, etc...

Il existe bien évidemment d'autres applications de la dosimétrie comme la mesure des champs de rayonnement ionisant pouvant être rencontrés en période de guerre comme en période de paix, etc...

#### 4.4.1. Un important domaine d'application de la Thermoluminescence : La datation archéologique

La datation des faits reste la notion la plus importante dans le domaine de l'archéologie, car un phénomène non ou mal daté est inutilisable pour toute synthèse rigoureuse de l'histoire. Il est en effet à l'heure actuelle encore difficile de dater certains sites préhistoriques par manque d'informations.

On connaît bien évidemment le système « classique » de datation au Carbone 14, mais depuis une quinzaine d'années est apparue une nouvelle technique de datation permettant de couvrir des époques plus lointaines que celles permises par le C<sub>14</sub> (sites du paléolithiques moyens ou inférieurs) : la datation par thermoluminescence des pierres brûlées. Cette dernière ayant aussi pour avantage le fait que les pierres brûlées abondent généralement sur tout type de sites.

#### 4.4.2. Principe de la thermoluminescence (TL) en archéologie

Le principe est relativement simple : toutes les roches terrestres contiennent en faible quantité des éléments radioactifs (uranium, thorium, potassium...). Leurs rayonnements déposent une fraction de leur énergie en traversant les minéraux. Le fait de chauffer vers 500°C libère cette énergie sous la forme d'une émission de lumière proportionnelle à la quantité de rayonnement reçue depuis la cuisson de la roche.

Pour mesurer l'action des rayonnements, on utilise la notion de dose (cf. chapitre précédent) qui est l'énergie que ces éléments radioactifs déposent par unité de masse du minéral. (1 rad = 100 ergs/gramme de minéral).

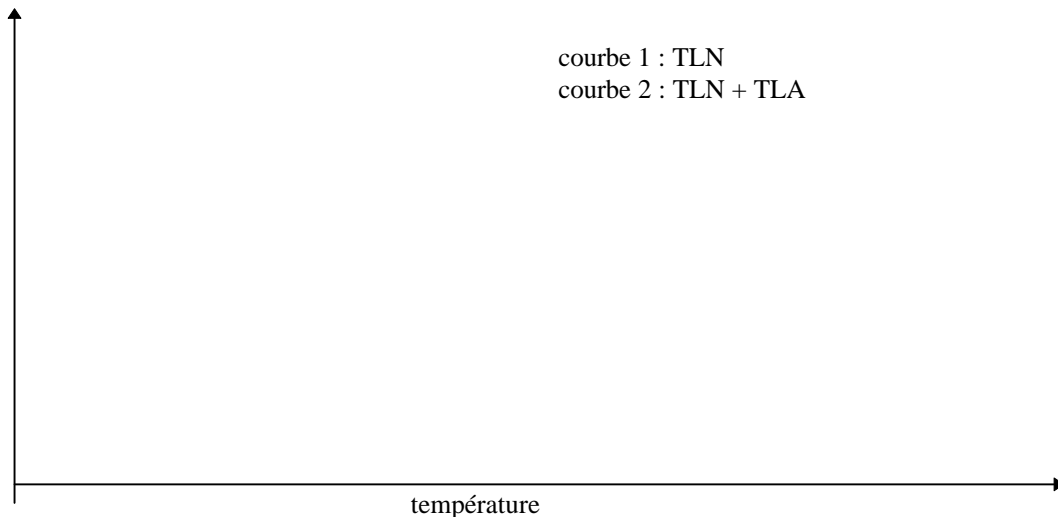
Depuis sa cuisson (où tous les éléments radioactifs ont du disparaître), le minéral a reçu une certaine dose de radioactivité, appelée dose archéologique. Pour la déterminer, on va comparer la thermoluminescence naturelle (cf. graphique ci-dessous) de l'échantillon - représentée par l'aire sous la courbe 1- à la thermoluminescence artificielle (TLA) - aire comprise entre la courbe 1 et la courbe 2 - induite au laboratoire par une dose connue dans un échantillon semblable au premier.

Il suffit alors d'effectuer une simple règle de trois, afin d'obtenir la dose archéologique accumulée dans l'échantillon depuis sa dernière cuisson.

Pour calculer l'âge de l'échantillon, il ne reste plus qu'à connaître la dose annuelle délivrée dans le minéral qu'on déduit des concentrations en radioéléments de l'échantillon et du sol qui l'entourne.

L'âge est alors égal au rapport :

\_\_\_\_\_



#### 4.4.3. Intérêts et limites de la méthode

Comme nous l'avons vu précédemment ce principe de datation présente des avantages certains : possibilités de dater des sites très anciens (paléolithiques moyen) où le  $C_{14}$  atteignait ses limites, et simplicité de la règle de détermination : ainsi une pierre qui a été chauffée il y a 2000 ans aura une émission sensiblement égale au double qu'une même pierre chauffée il y a 1000 ans.

Les premières datations ont été opérées en 1966 à Oxford par M.J Aitken sur des céramiques gallo-romaine d'âge connu pour contrôler les résultats. Depuis cette méthode s'est considérablement développée...

Ainsi, il a été possible de dater des céramiques japonaises de la première époque Jomon dont certains auteurs remontaient l'existence à 5000 BP (before present), et dont l'âge obtenu avec la datation en thermoluminescence avoisinait les 14 millénaires. A Jinnium, dans le nord de l'Australie, des roches ornées de cupules et datées de 75000 BP ont été découvertes, de quoi donner un coup de vieux aux australiens qui croyaient que l'âge de la grotte Chauvet (32000 BP) était indétrônable.

Les comparaisons faites avec des échantillons datés au  $C_{14}$  montrent une précision de datation des céramiques par la thermoluminescence de l'ordre de 10%.

Malheureusement ce système connaît encore de nombreuses limites, en particulier concernant la datation des temps préhistoriques. En effet la datation des céramiques est intéressante dans la mesure où ces vestiges sont abondants sur les chantiers de fouille pour des périodes pré-protolithique. Il a donc fallu utiliser d'autres matériaux pour dater les temps préhistoriques. On a donc essayé d'appliquer la méthode de TL aux diverses pierres (grès, granites, quartzites...) utilisées par les hommes préhistoriques pour aménager leur foyer, et qui ont donc subi l'action du feu.

Mais les températures auxquelles étaient soumises ces pierres étaient-elles suffisantes pour faire disparaître tout élément radioactif ? Car si la cuisson n'a pas été suffisante, la TL mesurée est trop grande, et l'âge du foyer surestimé...

D'autre part les radioéléments sont distribués d'une façon pratiquement uniforme dans les argiles, grâce à leur texture très fine: la dose reçue par les cristaux est donc relativement homogène. Ceci est loin d'être le cas pour des roches grenues comme le granite, où les doses reçues sont réparties très hétéroclitement. D'où la nécessité de faire une cartographie des radioéléments dans la roche pour obtenir une évaluation exacte de la dose reçue par un minéral donné.

De plus, pour des âges supérieurs à 10000 ans, les doses archéologiques reçues par les minéraux sont généralement assez importantes, et il arrive que leur TL soit près de la saturation : il n'est alors plus possible d'appliquer la règle de trois (la TL ne varie plus proportionnellement à la dose).

#### 4.4.4. Conclusion et perspectives d'avenir

Lorsque le rôle de la thermoluminescence est apparu il y a une trentaine d'années, seuls cinq laboratoires dans le monde y portaient des recherches. De nos jours ce nombre a considérablement augmenté, et l'extension de cette technique à des éléments autres que les poteries (pierres brûlées, dépôts calcaires, laves volcaniques, sédiments géologiques, météorites...) s'est largement développée.

Les limites de la TL vont au fait dépendre de la nature des roches étudiées. Nous avons vu qu'avec des roches dont la radioactivité naturelle est infime (silex, quartzites...) , il serait possible de remonter à des époques de quelques centaines de milliers d'années. Par contre, avec des granites riches en radioéléments, la saturation est vite atteinte, et les possibilités de datation limitées à quelques dizaines de millénaires.

Quoiqu'il en soit, la méthode du  $C_{14}$  restera sans doute la méthode de datation la plus précise jusqu'à 8000 ans environ. Au delà de cette limite,  $C_{14}$  et TL devront être confrontées : pour certains sites (sols ferrallitiques africains entre autres), les vestiges organiques se dégradant vite, la TL est quasiment le seul repère chronologique. Pour les âges supérieurs à 40-50000 ans, il en est de même car la concentration en  $C_{14}$  dans les vestiges organiques est devenue trop faible.

La méthode de datation par thermoluminescence devrait alors devenir un outil important pour la datation des sites archéologiques du paléolithique, jusqu'alors méconnus et extrêmement riches en objets...

## 5. III La bio-chimiluminescence:

### 5.1. La chimiluminescence:



Pour qu'une réaction de luminescence puisse avoir lieu, il faut une réaction très exergonique parmi lesquelles l'oxydoréduction. Elle se déroule en phase gazeuse, solide ou liquide. Cette dernière est la seule exploitée. Les mécanismes réactionnels de la chimiluminescence sont multiples mais tous peuvent être décomposés en trois étapes principales:

- La réaction préliminaire de formation d'un composé intermédiaire;
- L'excitation du composé intermédiaire par transformation de l'énergie chimique de l'étape précédente en énergie électronique;
- L'émission de lumière par le composé intermédiaire passant de l'état énergétique excité à un état énergétique inférieur.

Ces trois étapes permettent l'émission de lumière si l'on travaille avec des composés chimiques particuliers. On peut cependant ajouter une quatrième étape qui correspond à un transfert énergétique d'un luminophore à un fluorophore.

Dans cette partie, nous n'exposerons pas tous les composés susceptibles d'émettre de la lumière à travers le processus présenté plus haut. Nous nous bornerons à représenter le cheminement chimique de certains composés pour illustrer le processus de production de lumière.

#### 5.1.1. la chimiluminescence avec le luminol et ses dérivées:

Nous évitons de rentrer trop en détail dans le procédé chimique de la réaction. Une oxydation du luminol forme le composé intermédiaire qui est le responsable de l'émission de photons.

##### *5.1.1.1. Les paramètres de la réaction:*

Le rendement de luminescence et la longueur d'onde des photons émis dépendent des conditions opératoires.

- L'intensité lumineuse est proportionnelle à la concentration en luminol;
- Le choix de l'oxydant est important. On utilise généralement le peroxyde d'hydrogène ou l'oxygène moléculaire;
- L'utilisation d'un catalyseur tels que des ions métalliques ( $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ) est nécessaire lors de la présence de certains oxydants.
- La présence d'ions halogénures avec certains catalyseurs entraîne une amplification de la luminescence.

Nous pourrions prévoir par exemple une réaction en mettant en présence les différents composés suivants: Luminol /  $\text{H}_2\text{O}_2$  /  $\text{Cr}^{3+}$  avec un ion halogénure  $\text{Br}^-$ .

#### **Remarques:**

Le pH est généralement alcalin. Une diminution du pH entraîne une diminution de la luminescence.

Etant donné que l'on travaille en solution aqueuse, le solvant peut jouer un rôle sur la longueur d'onde. Cette dernière est aussi influençable par le transfert d'énergie sur un complexe fluorescent qui émet à une longueur d'onde différente.

Une dernière intervention peut influencer les émissions de photons. En modifiant la structure du luminol, on peut modifier la luminescence.

### 5.1.2. La chimiluminescence avec les sels d'acridinium:

La chimiluminescence avec la lucigénine, sel double d'acridinium, est observé en milieu alcalin par oxydation en présence de catalyseurs comme les métaux. La réaction chimique aboutit à la formation d'un émetteur de photons.

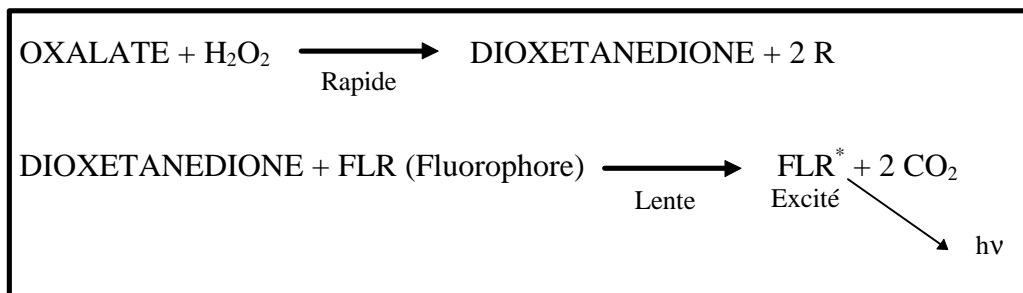
Ces deux exemples de chimiluminescence ne font pas intervenir de substances fluorescente. En effet, c'est le composé intermédiaire qui est le responsable de l'émission de photons.

Nous allons voir qu'il existe des substances chimiques qui sont susceptibles d'émettre de la lumière grâce à l'intervention de composés fluorescents.

### 5.1.3. Le cas des peroxyoxalates:

Les sels d'oxalate ou esters d'oxalate peuvent être oxydés par  $H_2O_2$  en solution. Un intermédiaire est formé. Contrairement aux exemples précédents, cet intermédiaire n'émet pas de lumière mais l'excès d'énergie chimique qu'il contient est transmis à un fluorochrome. Ce composé est alors excité et il émet des photons.

Schématisons le processus réactionnel suivant:



Des molécules fluorescentes comme le rubrène ou le pérylène sont ajoutés au milieu pour permettre l'émission de photons.

Beaucoup d'autres molécules peuvent réagir comme les trois exemples cités plus haut.

Ces procédés chimiques de luminescence ont des applications que nous verrons dans la dernière partie.

## 5.2. La bioluminescence:

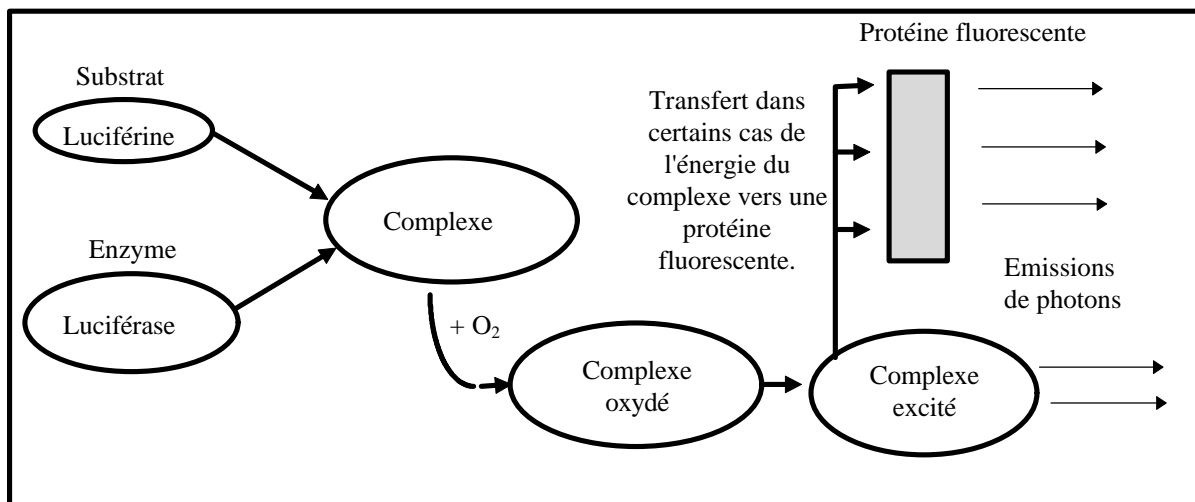
La bioluminescence ou lumière du vivant est l'émission de lumière visible des organismes vivants. Chez les animaux, de très nombreuses classes d'invertébrés présentent le phénomène de bioluminescence mais chez les vertébrés, seuls les poissons ont cette particularité. Chez les végétaux, seuls les algues monocellulaires présentent un phénomène de bioluminescence. Enfin, quelques champignons et certaines bactéries sont lumineuses.

### 5.2.1. Principe général:

Le mécanisme général est proche de celui de la chimiluminescence. En effet, la réaction est une oxydation d'un complexe formé de deux entités que sont la luciférine et la luciférase. Ceci entraîne la conversion de la luciférine en oxyluciférine excitée et énergiquement instable. Le retour à l'état stable s'accompagne de l'émission d'un photon.

Comme en chimiluminescence, il peut y avoir une substance fluorescente qui intervienne dans le mécanisme réactionnel. Dans ce cas, l'énergie emmagasinée dans le complexe sert à exciter cette substance qui servira d'émetteurs de photons.

Schématisons le mécanisme réactionnel:



Les luciférines appartiennent à différents groupes chimiques et n'ont pas ainsi de structures uniques. La luciférine peut appartenir à cinq groupes chimiques différents : aldéhydes, benzothiazoles, tétrapyrroles, flavines et imidazolopyrazines. On ignore comment ces composés sont synthétisés par l'animal. Certaines luciférines sont directement transmises d'organismes à organismes par les chaînes alimentaires. Il peut exister aussi des êtres vivants utilisant des systèmes de production de lumière qui font appel à des protéines équivalentes à la luciférine. Pour illustrer ces phénomènes biologiques, nous allons prendre les exemples de la luciole et de bactéries lumineuses qui utilisent ces procédés d'émissions.

### 5.2.2. Le cas de la luciole :

Le système de la luciole est basé sur les mêmes principes que celui exposé ci-dessus. La luciférine est d'abord activée dans une étape par l'ATP (l'Adénosine TriPhosphate sert chez les végétaux de transporteur d'énergie). Cette activation se fait en présence d'ions bivalents Mg<sup>2+</sup>. La luciférine du complexe luciférine/luciférase/AMP est oxydée en présence de luciférase et

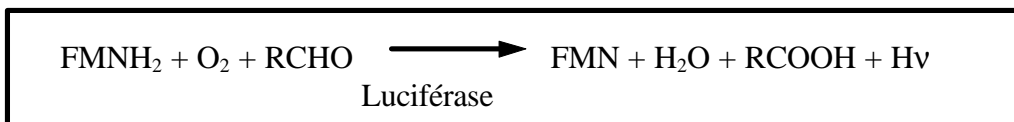
d'oxygène. Ce nouveau complexe est ainsi activé et peut revenir à son état stable en émettant un photon. Dans ce cas, l'ATP fournit l'énergie nécessaire à la première phase de la réaction

### 5.2.3. Le cas des bactéries :

La réaction de bioluminescence des bactéries nécessite quatre composés :

la luciférase bactérienne ;  
la flavine mononucléotide réduite ou FMNH<sub>2</sub> qui sert de luciférine ;  
un aldéhyde à longues chaînes carbonées servant de cofacteur ;  
l'oxygène moléculaire.

Alors que le système de la luciole fonctionne avec l'ATP, celui des bactéries fait appel au NADPH. Ce composé apporte au départ de l'énergie à une enzyme qui facilite la mise en place de la réaction. Les deux substrats, l'aldéhyde et la flavine, sont oxydés. Il s'agit donc d'une oxydation double. L'aldéhyde aurait un effet sur le rendement de la réaction. Nous pouvons schématiser le bilan de la réaction comme suit :



Cette luciférase est considérée comme une oxydase à fonctions multiples. En effet, elle catalyse en même temps l'oxydation de l'aldéhyde et du FMNH<sub>2</sub>.

Ainsi, dans les deux cas exposés, la réaction d'oxydation fournit l'énergie chimique nécessaire à un complexe pour qu'il puisse émettre des photons. La bioluminescence est utilisée par les êtres vivants pour plusieurs raisons.

### 5.2.4. Les fonctions de la bioluminescence :

On pourrait penser que la lumière produite sert à éclairer. Paradoxalement, peu d'êtres vivants utilisent cette caractéristique pour s'éclairer. On peut distinguer trois raisons essentielles à la production de lumière.

- **Attraction des proies :**

Certains poissons présentent une partie lumineuse de leur corps pour attirer les proies. Un autre exemple va dans ce sens : Des larves de moustiques développent des fils lumineux qui attirent les insectes qui s'y font piéger.

- **Mécanisme de défense :**

C'est apparemment le mécanisme qui utilise le plus la bioluminescence. En effet, il permet de tromper les prédateurs et de leur échapper. Cela peut se faire en émettant un éclair lumineux qui les effraie. Les méduses et les anémones utilisent ce système de défense. La

bioluminescence permet aussi à certains animaux de se camoufler. En mer, si le prédateur est sous sa proie, il la détecte la silhouette sur fond clair du ciel. Ainsi, quelques poissons illuminent leur face ventrale afin de se fondre dans la lumière du jour.

- **Communication :**

La dernière fonction importante de la bioluminescence est la communication entre partenaires lors des parades sexuelles par exemple. Un ver luisant marin se sert de ce phénomène par les parades. Les femelles émettent en continu de la lumière à la surface et nagent en décrivant des cercles. Les mâles montent alors du fond de la mer et se dirigent avec précision vers ces halos de lumière. Ils émettent eux aussi des éclairs de lumière et tournent en même temps que les femelles. A la fin, la lumière disparaît brusquement.

### 5.3. Applications de la bio-chimi-luminescence

Les domaines d'applications de la bio-chimi-luminescence, et plus particulièrement de la méthode de la mesure d'ATP comme marqueur biotique, sont très diverses, ainsi le montre le tableau ci-dessous:

Domaine d'application	utilisations
Agro-alimentaire	<ul style="list-style-type: none"><li>• Contrôle de stérilité des aliments, des emballages</li><li>• suivi de l'hygiène</li><li>• suivi de fermentations</li><li>• contrôle des procédés...</li></ul>
Médical	<ul style="list-style-type: none"><li>• Contrôle de stérilité de préparation injectable</li><li>• contrôle de vaccins</li><li>• contrôle de cellules cancéreuses</li><li>• dermatologie...</li></ul>
Environnement	<ul style="list-style-type: none"><li>• Traitements des eaux résiduaires</li><li>• suivi de décharge</li><li>• évaluations de l'activité microbienne</li><li>• tests de toxicité...</li></ul>
Divers	<ul style="list-style-type: none"><li>• Stérilité de produits cosmétiques</li><li>• contrôle de la dégradation des textiles par des agents microbiens</li><li>• armes bactériologiques</li></ul>

Etudions maintenant plus précisément quelques unes de ces applications.

#### 5.3.1. a Applications agro-alimentaires:

C'est le domaine le plus important et le plus étudié actuellement. Il est actuellement possible d'évaluer la flore totale d'un lait cru, d'eau minérale, de détecter la contamination d'un lait pasteurisé, d'un jus de fruit. Dans le domaine de la fermentation l'activité des levains lyophilisés peut être appréciée.

## **Détermination du niveau de contamination:**

Dans le lait, la bioluminescence a d'abord été utilisée pour détecter les cellules somatiques dont la présence est signe d'infection de la mamelle. La mamite est une infections du pis de la vache mais le lait des vache ne contient pas nécessairement un nombre élevé de bactéries. Le diagnostique est plus facile en comptant les cellules somatiques; dans le lait un niveau élevé indique la présence de leucocytes apportés par l'organisme pour combattre l'infection. La bioluminescence nous aide à détecter la concentration de bactéries dangereuses pour l'homme. Cette méthode de dosage à été aussi appliqué aux ovoproduits, (blanc d'oeuf, jaune d'oeuf et oeuf entier), en 1987, par Jackubsak. La méthode permet de dénombrer  $10^4$  bactéries par gramme de blanc d'oeuf. Ce niveau de sensibilité correspond à la norme actuelle de qualité des ovoproduits.

L'industrie des jus de fruits et des boissons aux fruits est confrontée à la difficulté pratique d'obtenir des produits rigoureusement stériles. La fabrication de boissons stables, sur le plan microbiologique notamment, est devenue un impératif du fait, de l'exigence du consommateur, de l'augmentation de la durée de distribution et des nouveaux modes de conditionnement des boissons.

Cependant les traitements actuels n'assurent pas la stérilité absolue. Ajouté à ça l'évolution de la technologie (la cadence de production est de 3000 à 15000 litres par heures et quelque fois plus, par unité de production) et les normes de contrôles entraînent une augmentation du nombre d'échantillons à analyser et rendent les techniques classiques de contrôle inadaptées et insuffisantes.

C'est pour cela que des techniques dites de contrôle microbiologiques rapide ont été développées. Elles présentent deux avantages par rapport aux techniques classiques: Réduction du temps de détection et abaissement du seuil de détection, cependant un délai d'incubation relativement long est toujours liés à ces nouvelles techniques.

Il est important pour l'industriel de prévoir l'altération, à un stade précoce, des viandes. En effet, le produit doit atteindre, sans altération, sa date limite de vente dans les conditions de stockage recommandées par la réglementation. L'utilisation de la luminescence dans le domaine de la préparation des carcasses de poulet est motivée par un double objectif:

- D'une part la détermination de la qualité de fabrication du jour, afin de réagir immédiatement lors du nettoyage-désinfection des chaînes d'abattage, en cas de contamination importante;
- D'autre part, la localisation des foyers de contamination sur la chaîne, afin de lutter efficacement la dissémination des germes.

## **Suivi de l'évolution d'une flore microbienne:**

Le dosage de l'ATP par bioluminescence constitue une méthode plus rapide et plus simple que les méthodes conventionnelles pour évaluer la viabilité des levains microbiens. Les inoculum envisagés sont très variables et concernent des domaines tels que la laiterie, la brasserie et la vinification.

La technique de bioluminescence peut permettre de sélectionner un milieu de culture, d'améliorer le milieu choisi par additions de substances nutritives et de proposer des paramètres optimaux de culture, d'optimiser ce milieu en vue de son utilisation industriel. Cette technique permet aussi de choisir la souche la plus performante. Le suivi du

développement de micro-organismes sert ainsi à contrôler en continu la production de levures industrielles.

Par le suivi du développement de micro-organismes, la bioluminescence offre la possibilité de s'assurer de la croissance normale d'une fermentation. Ainsi cette technique est appliquée dans la fermentation vinicole et l'utilisation d'inhibiteurs dans le lait.

La recherche des bactériophages est une autre application agro-alimentaire de la bioluminescence, et s'utilise dans le domaine de qualité des produits laitiers.

D'autres applications dans le domaine de l'agro-alimentaire sont expliqués à la suite:

Des chercheurs ont introduit le gène de la luciférase de luciole dans des plantes de tabacs. Ces plantes transgéniques, arrosées avec une solution contenant de la luciférine, deviennent lumineuses dans les zones où le gène de la luciférase est exprimé, principalement dans les racines et les feuilles les plus jeunes.

Par cette méthode on peut, par exemple, mettre en évidence des promoteurs de gènes qui ne seraient actifs que dans certaines parties de la cellule. On peut ensuite associer à ce promoteur un gène codant pour une toxine active contre certains parasites de manière à ce que cette toxine soit produite de façon maximale dans les feuilles et les racines attaqués par les parasites.

Un riz bioluminescent, qui émet une lumière verte pâle, a été obtenu par des chercheurs du Research Institute for Agricultural and Biological Resources. L'idée était de se servir du gène de la luciférase comme marqueur de l'insertion de gènes étrangers dans la plante, sans avoir besoin de la détruire. Le gène de la luciférase a été introduits dans des protoplastes de riz et les chercheurs japonais ont réussi à régénérer des plants de riz matures produisant une faible clarté vert-jaune et capables de transmettre cette qualité à leur descendance. Cette lumière est à peine visible à l'oeil nu mais facilement détectable par photographie. La bioluminescence n'est pas également répartie dans la plantes mais se retrouve essentiellement dans les tissus proches de la graine, ce qui suggère des différences de capacité à synthétiser la luciférase selon les tissus.

### 5.3.2. Applications dans le domaine médical et pharmaceutique:

La bioluminescence est également employée dans le diagnostic médical où il est parfois important de connaître rapidement le taux de contamination de liquide physiologique. De même le dosage de l'ATP peut servir de témoin d'une activité physiologique, ainsi l'ATP intracellulaire des spermatozoïdes est le témoin direct de leur mobilité et de leur pouvoir fertilisant. D'autres applications peuvent être envisagées comme le dosage des taux sériques ou le dosage d'antibiotiques. D'autres applications de la bioluminescence sont largement utilisés en médecine:

- **Alcoolisme et cirrhoses:** détection de l'anémie hémolytique dans les maladies hépatiques par la baisse du taux d'ATP de globules rouges.
- **Antigènes:** détermination de la quantité d'antigènes.
- **Bactériurie:** détection des microorganismes dans l'urine.
- **Cytolyse et tirage d'antisérum:** utilisation de la perte d'ATP cellulaire comme mesure de l'activité cytologique d'anti-sérums.
- **Dermatologie:** utilisation d'ATP et d'ADP cellulaire comme indicateur de la vitesse de renouvellement des cellules de la peau.
- **Dystrophie musculaire:** détermination de l'enzyme permettant le dépistage chez les nouveaux nés.



- **Immunologie:** quantifications des réactions immunologiques.
- **Infarctus cardiaque:** détermination des substrats et enzymes intervenant dans le dépistage.
- **Lèpre:** évaluation de la sensibilité microbienne aux médicaments.
- **Métabolisme:** évaluation de vitesse métabolique.
- **Médicaments:** évaluation de la sensibilité microbienne aux médicaments.
- **Plaque dentaire:** détermination de la biomasse vivante.
- **Viabilité:** des érythrocytes, des spermatozoïdes et des vaccins.

### **Applications bactériologiques:**

L'enrichissement bactérien est une méthode qui est particulièrement adaptée à la recherche de faibles contaminations dans les produits filtrables.

Pour les préparations injectables, à usage humain ou vétérinaire, le contrôle de stérilité est obligatoire sur tous les produits finis. Il s'agit là de produits biologiques types vaccins... il est pratiquement impossible d'arrêter la chaîne de production pendant 14 jours pour éviter la stérilité d'un produit; d'où l'intérêt d'un contrôle de stérilité rapide et fiable, particulièrement en cours de fabrication. La méthode bioluminescence présente donc des avantages très intéressants dans ce domaine aussi.

Il est d'usage dans les laboratoires de bactériologie médicale d'observer les hémocultures pendant 8 à 15 jours, après quoi il est recommandé de vérifier que les flacons qui seront jetés ne présentent pas de cultures bactériennes. Le problème est le même dans le cas du contrôle de la négativité des cultures provenant de liquide de dialyse.

Certains malades ayant une infection urinaire vont présenter un nombre continuellement croissant de bactéries dans les urines et donc une concentration en ATP croissante sera trouvée dans les échantillons urinaires. Le taux bactérien peut être déterminé par une mesure bioluminescence de l'ATP.

Les méthodes bioluminescence ont été appliquées à la mesure des masses cellulaires dans de petits échantillons de plaque dentaire. Celle-ci est une masse de bactéries incluses dans une matrice de polysaccharides et de protéines. Les caries dentaires résultent d'une interaction des micro-organismes de la plaque sur la surface de la dent avec les glucides qui fermentent. C'est pour cela qu'il est intéressant de pouvoir identifier et quantifier les composants bactériens de la plaque dentaire.

Un autre exemple d'application est l'évaluation de la viabilité des spermatozoïdes. Cette détermination est très importante pour l'insémination artificielle, pour le contrôle de la qualité des spermatozoïdes congelés et la détermination de la stérilité ou de la fertilité.

### 5.3.3. Applications dans le domaine de l'environnement:

La bioluminescence a eu ses premières applications dans l'estimation de la biomasse planctonique en 1966. Cette méthode se basait sur le fait que la quantité d'ATP est directement corrélée à la quantité de cellules vivantes, ce qui permet d'estimer rapidement et aisément la biomasse du plancton. De nos jours les applications dans ce domaine sont très diverses:

## Traitement des eaux:

La protection de l'environnement dépend du bon fonctionnement des stations d'épuration biologiques. Celles-ci sont chargées en boues, constituées d'une association complexe d'êtres vivants en perpétuelle évolution (biomasse) qui fonctionne en aérobiose ou en anaérobiose. La productivité qualitative et quantitative des stations est directement liée à l'état physiologique de la biomasse. On cherche à contrôler l'activité de la biomasse bactérienne dans la boue. Dans ce cas là la biochimie a un rôle très important car elle utilise des méthodes qui permettent la floculation, c'est à dire la capacité de former des amas plus dense que l'eau. Cela permet une décantation des boues par gravité. Le traitement biologique à haute charge massique est particulièrement étudié car, grâce à des temps de séjour très courts, il permet d'importantes économies sur la taille des bassins d'aération des stations.

## Humification biologique

La transformation de matières organiques en humus est un processus dont l'intérêt économique croît rapidement. L'humification biologique est un phénomène dynamique. Chaque changement physique ou chimique y est à la fois la cause et la conséquence d'une évolution de la population microbienne. Le dosage, en fonction du temps, de la concentration en ATP par bioluminescence sert à l'évaluation simple, précise et reproductible de la biomasse active.

Il apparaît que la mesure simultanée de la teneur en ATP et de dégagement de CO<sub>2</sub> serait un moyen adéquat d'estimation de la vie globale d'un sol. La teneur en ATP renseigne sur l'ampleur de la biomasse, le dégagement de CO<sub>2</sub> sur l'activité catabolique globale. L'application de cette méthode pour nous aider à caractériser l'état biologique du sol. De nombreux progrès sont encore à faire dans ce domaine.

Il existe d'autres applications dans le domaine de l'environnement que nous détaillons maintenant:

L'introduction chez *Pseudomonas fluorescens*, au niveau d'un gène codant un enzyme impliquée dans la dégradation du naphthalène des gènes lux codant pour la luciférase de *Vibrio fischeri*, a montré que la dégradation du naphthalène coïncidait avec une émission lumineuse. Le facteur limitant étant la quantité d'oxygène disponible pour la réaction de bioluminescence.

Cette technique permet également de suivre des micro-organismes transformés génétiquement. La persistance d'une souche JS 414 de *Xanthomonas campestris* a été suivie dans l'environnement grâce à cette technique.

Le développement de techniques d'immobilisation cellulaires appropriées, couplées à l'utilisation de fibres optiques mesurant l'intensité de la lumière émise par les bactéries au cours de la dégradation du naphthalène devrait conduire à des biocapteurs pouvant à la fois détecter la présence du polluant et suivre en continue sa dégradation. Les applications envisagées concernent par exemple le contrôle de déchets et la détection des agents chimiques. Un capteur enzymatique bioluminescent a été récemment développé à l'Université de Tokyo pour la détection des micropolluants résiduels dans le sol. Sa « tête chercheuse » est constituée de cellules d'*E.coli* immobilisées et recombinées avec le gène de la luciférase.

L'utilisation des réactions de luminescence n'en est qu'à son début mais les possibilités de faire synthétiser différentes protéines luminescentes dans des cellules ouvrent de nouvelles perspectives pour la biologie cellulaire. Les luciférases ou les photoprotéines synthétisées *in situ* peuvent jouer le rôle de sondes intracellulaires pour révéler différentes activités (flux

cyclique, production de radicaux libres, synthèse de protéines, activation de gènes). Une instrumentation capable de mesurer une émission de lumière à partir d'une seule cellule devrait permettre d'étudier les facteurs modulant ces activités en particulier les facteurs qui permettent les communications intercellulaires

## 6. Conclusion

Nous avons exposé dans ce rapport les principales bases de la luminescence dans des domaines aussi différents que le monde vivant, la chimie ou la physique. Les applications de ces connaissances se trouvent dans de nombreux autres domaines comme l'environnement, la médecine...

Des premières explications de ce phénomène du début du siècle jusqu'à la triboluminescence (luminescence par excitation mécanique) dont nous n'avons pas parlé car ses frontières ne sont pas encore unanimement définies, les scientifiques ont déjà exploité une partie importante de ce phénomène. Il reste tout de même des zones d'ombres comme par exemple l'origine des substances luminescentes pour certains êtres vivants.

## 7. Bibliographie

- "Bio-chimi-luminescence: Principes et applications"  
coordonné par D. CHAMPIAT et J.P LARPENT.
- "Luminescence"  
G.Monod-Herzen
- "Thermoluminescence of solids"  
S.W.S McKeever
- "Analysis of Thermally Stimulated Processes"  
R.Chen et Y. Kirsh
- "Thermoluminescence dosimetry materials : properties and uses"  
M.Moscovitch, S.W.S McKeever et P.D. Townsend
- "Thermoluminescence and Thermoluminescent Dosimetry"  
Yigal S.Horowitz