LEDμSF : un nouvel outil pour l'étude de la fluorescence UV des matériaux du patrimoine culturel

Aurélie Mounier[1], Sylvain Lazare[2], Daniel Floréal[1]

[1] Institut de recherche sur les archéomatériaux (IRAMAT), UMR CNRS 5060, Centre de recherche en physique appliquée à l'archéologie (CRPAA), Université Bordeaux-Montaigne, Maison de l'archéologie – Esplanade des Antilles 33607 Pessac, France
(contact : mounieraurelie33@yahoo.fr)

[2] ISM, Institut des sciences moléculaires, CNRS / Université Bordeaux, UMR 5255 – Bâtiment A12, 351 Cours de la Libération, 33405 Talence, Cedex, France

Introduction

La photoluminescence est un phénomène d'émission de photons par un atome ou une molécule dans un état électronique excité par l'absorption de photons. L'émission de fluorescence est un des processus de désexcitation radiatifs de la photoluminescence, avec des temps de vie de 10^{-10}-10^{-7} s [1]. La fluorescence, connue depuis le XVI^{e} siècle, est théorisée par Stockes au milieu du XIX^{e} siècle [2].

Dans le domaine de l'examen des objets culturels, les méthodes qui s'appuient sur l'émission de fluorescence se sont développées après l'invention de la lampe de Wood (1913), notamment pour l'examen de surface des peintures anciennes : l'observation sous éclairage UV peut, par exemple, mettre en évidence, d'éventuels repeints ou restaurations récentes. Basée sur cette émission de fluorescence de certains matériaux, la spectrofluorimétrie est une technique d'analyse très sensible utilisée essentiellement pour l'étude de composés organiques. Dès la fin des années 1970, les travaux de René de La Rie [3] ont permis d'établir les propriétés de fluorescence de certains pigments, liants et vernis.

Ce chapitre se propose de rappeler les principes de la spectrofluorimétrie avant de développer les caractéristiques techniques des nouveaux instruments portables. Les méthodes de traitement et d'interprétation des données sont explicitées et illustrées par la présentation de spectres de produits purs frais et dégradés (pigments, colorants,

liants et supports). La difficulté de l'étude par spectrofluorimétrie des mélanges de composés et des produits dégradés est présentée sur la base d'exemples.

1 Principe de la spectrofluorimétrie

1.1 Rappel des principes physiques

On appelle *fluorimétrie* et *spectrofluorimétrie* les techniques d'analyse qui consistent à analyser le phénomène de fluorescence des molécules ou atomes. La fluorescence est un phénomène d'émission de rayonnement électromagnétique (ou photons) par une molécule (ou un atome) suite à l'excitation de cette dernière (ou de ce dernier) par absorption d'un rayonnement électromagnétique de plus forte énergie. Dans le cas de la fluorescence moléculaire, on utilise, afin d'exciter les molécules, un rayonnement monochromatique ultraviolet ou visible. On parle de fluorescence moléculaire ou de fluorescence UV. Toute molécule capable d'absorber dans l'UV-visible est appelée chromophore. Les groupes d'atomes étant capables de réémettre l'énergie absorbée sous forme de rayonnement électromagnétique sont appelés fluorophores. Il existe pour des molécules excitées par absorption de photons deux phénomènes distincts d'émission de lumière (photoluminescence) : la phosphorescence et la fluorescence. La différence entre les deux consiste en des différences de transitions électroniques, et se traduit par un phénomène plus lent dans le cas de la phosphorescence (Figure 1) [2].

L'excitation des molécules intervient par transition des électrons constituant la liaison entre deux atomes d'une molécule. L'énergie transportée par des photons UV-visible permet en effet de faire passer ces électrons d'un niveau fondamental, d'énergie basse, vers un niveau excité, d'énergie plus élevée. L'énergie des molécules augmente elle aussi, on dit alors qu'elles sont excitées. Ce phénomène est appelé *absorption*. Dans un second temps, la molécule perd son excès d'énergie. Cette perte d'énergie peut être accompagnée de l'émission de photons, on parle alors de *transitions radiatives*, et les photons émis sont à l'origine du phénomène de fluorescence [2].

1.2 Spectrofluorimètre de laboratoire « classique »

Il existe deux types généraux d'instruments : les fluorimètres à filtres et les spectrofluorimètres à monochromateurs réseaux. Dans les deux cas, la lumière excitatrice passe par le filtre ou le monochromateur, puis par l'échantillon qui peut absorber une partie du rayonnement, induisant la fluorescence de certaines molécules de l'échantillon. Une partie de la lumière de fluorescence est ensuite concentrée sur un filtre (ou un monochromateur), qui est parfois placé à un angle de 90° par rapport à la lumière d'excitation ce qui est souvent le cas pour les échantillons solides. La lumière émise par l'échantillon est ensuite captée par un détecteur.

Diverses sources lumineuses peuvent être utilisées comme sources d'excitation : les lasers (fluorimétrie induite par Laser ou LiF), les photodiodes et des lampes comme les arcs au xénon et lampes à vapeur de mercure.

En laboratoire, les spectrofluorimètres « classiques » sont des systèmes imposants, composés d'une lampe au xénon et d'un double monochromateur allant de l'UV à l'IR. À titre d'exemple, le spectrofluorimètre SPEX Fluorolog, modèle 212 (Horiba

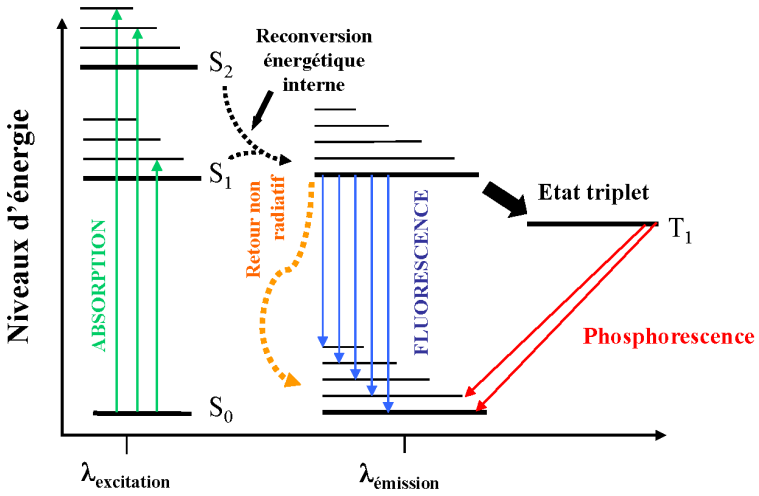


FIGURE 1 – Diagramme de Perrin-Jablonski et illustration des positions relatives des bandes d'absorption, de fluorescence et de phosphorescence.

Jobin-Yvon) utilisé pour nos recherches, se compose d'une source à arc au xénon de 450 W, donnant un rayonnement polychromatique continu, d'un double monochromateur constitué de réseaux plans pour l'excitation, d'un compartiment porte-échantillon, d'un second double monochromateur à réseaux pour l'émission et d'un photomultiplicateur.

Les appareils enregistrent soit le spectre d'excitation, soit le spectre d'émission de fluorescence [1], soit les deux simultanément ce qui permet d'obtenir des cartographies excitation / émission. Les spectres d'émission de fluorescence sont en général collectés à 90°.

Les appareils qui enregistrent les spectres d'excitation présentent l'avantage de compléter la caractérisation des fluorophores responsables de l'émission de fluorescence. Cependant, l'intensité du faisceau délivrée par l'ensemble lampe et monochromateur varie en fonction de la longueur d'onde d'excitation. Ces fluctuations perturbent donc la mesure d'un spectre d'excitation. Le spectre corrigé, sera donc égal au rapport entre le spectre mesuré et une fonction de correction qui peut être déterminée grâce au dispositif de comptage de photons. Le dispositif consiste en une cuve triangulaire contenant une solution de référence (généralement de la rhodamine) très concentrée et dont l'intensité du spectre d'émission ne dépend pas de la longueur d'onde d'excitation. La solution absorbe la totalité du faisceau excitateur et réémet vers le photomultiplicateur une image des fluctuations de la cellule d'excitation.

Ce système comporte une chambre d'analyse relativement petite permettant de travailler sur des lames de quartz ou des cellules avec une zone d'analyse de 1 cm x 5 mm. Il est donc, avec ce système, impossible d'analyser les objets de manière non invasive. Or, le déplacement d'œuvres de leur lieu de stockage (musée, réserves…) vers les

1. Illustration d'un spectre d'émission de fluorescence et d'un spectre d'excitation sur la Figure 4.

laboratoires reste souvent limité, voire exceptionnel. L'impossibilité de prélever, ou de déplacer ces œuvres rendait impossible leur analyse par ces systèmes classiques ; il est toutefois possible d'équiper l'instrument (par exemple dans notre laboratoire : iHR Fluorolog 320 [Horiba Jobin-Yvon]) d'une fibre optique et d'un microscope pour pouvoir étudier les objets qui peuvent être déplacés au laboratoire.

1.3 Spectres de fluorescence

Du fait de l'existence des phénomènes de relaxation vibrationnelle, la position du maximum d'émission de fluorescence d'une molécule se situe à une énergie plus basse que son maximum d'absorption, soit à une longueur d'onde plus grande. La bande d'émission se situe en général dans le domaine UV-visible-IR du spectre électromagnétique. Plusieurs paramètres sont importants dans l'étude d'un spectre, en particulier, la forme du spectre, l'intensité de luminescence, la longueur d'onde du maximum d'intensité, la largeur à mi-hauteur des bandes, etc. Dans certaines conditions (faibles concentrations, composés purs...) il existe, comme pour la spectrométrie d'absorption, une relation de proportionnalité entre l'intensité de fluorescence et la concentration de l'espèce considérée. La spectrofluorimétrie peut donc parfois permettre de faire de l'analyse quantitative.

La forme du spectre de fluorescence pour une molécule ne dépend pas de la longueur d'onde excitatrice. Cependant, dans le cas d'un mélange de composés, tous les composés ne sont pas excités de la même façon en fonction de la longueur d'onde excitatrice choisie. Le spectre de fluorescence d'un mélange de composés varie donc en fonction de la longueur d'onde excitatrice [2].

2 Spectrofluorimètres portables

2.1 Aperçu des systèmes existants

Le spectrofluorimètre portable permet d'abolir la limite de taille des objets analysés et de déplacer l'instrument auprès de l'objet. Le principe général est de miniaturiser le détecteur, de choisir des sources d'excitation LED avec des fibres optiques pour transmettre le signal lumineux d'excitation et d'émission de fluorescence.

B. Brunetti et C. Miliani ont, par exemple, effectué un développement dans le cadre du projet européen CHARISMA [2] afin de pouvoir, avec un même système, enregistrer les spectres de réflectance, de fluorescence et de durée de vie de fluorescence des composés [4]. Leur appareil comprend des sources diodes lasers (LEDs à 375, 455 et 650 nm) pour la mesure de fluorescence, une lampe halogène-deutérium pour les mesures d'absorption et des sources diode laser pulsées pour mesurer les durées de vie. Trois détecteurs sont nécessaires pour récolter le signal (des capteurs CCD). La zone d'analyse est d'environ 5 mm^2. Même si les composants étaient les plus petits disponibles sur le marché en 2011, le système est assez volumineux dans son ensemble et est plus transportable que portable puisqu'il nécessite l'emploi d'un chariot pour poser les différents composants. Les équipes italiennes ont montré l'intérêt de la

2. Cultural Heritage Advanced Research Infrastructures : Synergy for a Multidisciplinary Approach to Conservation/Restoration, FP7 Capacities – specific Programme Integrated Activities for Research Infrastructures, n° 228330.

fluorescence UV, notamment pour l'identification de l'indigo [5]. Ils ont intégré des traitements mathématiques à leurs données comme la formule de Kubelka-Munk afin d'éliminer les phénomènes d'auto-absorption permettant de visualiser uniquement la fluorescence émise [6].

D'autres systèmes sont disponibles sur le marché comme celui proposé par Ocean Optics (système Jazz). Il nécessite des modules spécifiques pour les différentes configurations de mesure et leur manipulation n'est pas toujours aisée, ce qui nous a amené à développer notre propre système en fonction des contraintes précisées plus haut. Le système devait être léger, portable, permettant des temps d'analyse très courts tout en maîtrisant la puissance des LEDs et le temps d'analyse afin d'adapter les conditions opératoires à tout type de matériau.

2.2 Développement d'un système original : le LEDµSF

Nous présentons ici les phases du développement du micro-spectrofluorimètre portable à LED (LEDµSF)[3] (Figure 2a, b, c, d).

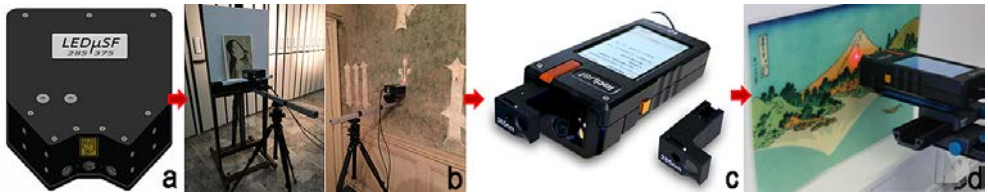


Figure 2 – (a) Premier prototype réalisé par une société locale, Erma Electronique avec deux LEDs excitatrices ; (b) LEDµSF v1 en situation devant une estampe japonaise du musée de Saragosse (Espagne) et devant une peinture murale du château de Germolles en Bourgogne (France) ; (c) LEDµSF v2 augmenté de modules LED + filtres offrant une large gamme d'excitatrices allant de l'UV à l'IR et d'une LED blanche pour enregistrer à la fois les spectres d'émission de fluorescence et de réflectance. L'appareil est commercialisé par Freiberg Instruments (Allemagne) ; (d) LEDµSF v2 devant une estampe, le réglage de la mise au point est réalisé grâce à deux lasers rouge.

Le spectromètre Thorlabs, CCS200 / M qui équipait la 1ere version (Figure 2a et b) a été remplacé par un spectromètre Qmini Wide VIS (Pembroke Instruments) pour la version 2 (Freiberg Instruments, Figure 2c et d). La gamme spectrale de ce dernier s'étend de 200 à 1000 nm. Le signal entre dans le spectromètre par une fibre optique (Ø 400 µm).

Pour l'excitation des matériaux, les sources UV sont dans la version 1, des LEDs de faible puissance et de différentes longueurs d'onde : 285 nm (300 µW) et 375 nm

3. Le système LEDµSF a été conçu et développé en partenariat entre d'une part, le Centre de Recherche en Physique Appliquée à l'Archéologie, une des composantes de l'Institut de Recherche sur les ArchéoMATériaux (IRAMAT-CRPAA) de l'Université Bordeaux Montaigne et, d'autre part, l'Institut des Sciences Moléculaires (ISM) de l'Université de Bordeaux. Grâce à l'accompagnement d'Aquitaine Science Transfert, le dispositif a fait l'objet d'un dépôt de brevet auprès de l'Institut National de Protection Intellectuelle (INPI) le 24 décembre 2014 (France n° 14 63318). L'extension géographique de la protection du brevet a été faite le 23 décembre 2015 par le dépôt d'une demande internationale au titre du Traité de Coopération en matière de Brevet (PCT/FR2015/053744). La SATT Aquitaine a conduit l'étude marketing et financé la réalisation d'un prototype industriel. Une société locale, Erma Electronique (Groupe Charbonnier, Lateste) a livré le premier prototype fin juillet 2015. Le second prototype, livré en 2018, a été réalisé en collaboration avec la société Freiberg Instruments (Allemagne) avec qui une licence d'exploitation a été signée en juillet 2018.

(5 mW) avec des filtres passe-hauts associés (respectivement 320 nm pour la première et 455 nm pour la seconde). La version 2 offre un nombre de modules (LED + filtres) plus importants et interchangeables. Ceux dont nous disposons actuellement émettent aux longueurs d'onde suivantes : 255, 285, 310 et 365 nm pour l'UV, 457, 525, 590 et 625 nm pour le VIS. Une LED blanche permet de plus, d'enregistrer les spectres de réflectance sur le même point d'analyse.

La gamme du spectromètre (200 à 1000 nm) est plus large que celle des appareils de laboratoire (200-720 nm).

La distance de travail, ajustée à l'aide de deux lasers rouges, est de 4 cm. Le diamètre du spot d'analyse sur l'échantillon est d'environ 2 mm. La tâche de lumière émettrice de la fluorescence est imagée sur l'entrée de la fibre d'analyse par une lentille de courte focale.

Pour les objets fragiles ou lorsque le signal est trop intense, la puissance des LED peut être modifiée afin de diminuer l'intensité des sources.

Un module (Arduino [4] dans la version 1) permet l'activation et la désactivation des pointeurs laser pour obtenir la distance de travail adéquate, l'activation / désactivation des sources UV pour l'excitation de l'échantillon, le temps d'intégration et le début de l'analyse. Le logiciel permet de sélectionner le temps d'intégration de 10 µs à 60 s et d'afficher la durée d'exposition programmée. Le temps d'analyse dépend de l'intensité de l'émission des matériaux étudiés. Dans le cas de signaux faibles, un lissage des spectres peut être nécessaire. Le temps d'analyse très court permet l'application de la méthode aux œuvres sensibles et notamment pour l'étude des peintures.

Le LEDµSF v1 pèse moins d'1,5 kg pour une dimension de la tête de mesure de 15 x 15 x 8 cm tandis que la version 2 pèse 0.8 kg pour une taille de 17 x 8 x 5 cm. Si le 1er système était alimenté et contrôlé par connexion USB via un ordinateur portable et au moyen d'une interface graphique réalisée avec « Windows Forms [5] », la version commerciale possède une alimentation électrique (ou éventuellement une batterie) et un écran tactile permettant d'ajuster les conditions opératoires et d'enregistrer les données. Afin de régler finement la distance de travail, l'appareil est fixé sur une platine millimétrique. Le positionnement horizontal ou vertical est également ajustable manuellement. L'ensemble est fixé sur un pied photo, réglable en continu. Il est doté d'une colonne centrale qui peut être inversée grâce à une rotule qui permet un pivot réglable à 90° pour ajuster l'inclinaison (Figure 2b et d). L'appareil (Figure 2c) peut aussi être tenu à la main lorsque les mesures sont faites dans des lieux difficiles d'accès.

Si le LEDµSF est globalement moins sensible que les appareils de laboratoire classiques, le rapport signal sur bruit est largement suffisant pour nos applications. Le LEDµSF n'enregistre que les spectres d'émission (et pas les spectres d'excitation), ce qui ne permet pas toujours de caractériser finement les fluorophores.

4. Cartes (matériellement libres) sur lesquelles se trouve un microcontrôleur pouvant être programmé pour l'analyse et la production de signaux électriques.

5. Interface réalisée avec l'IDE Arduino et MS Visual Studio Express C++.

Les corrections de fluorescence peuvent être envisagées, notamment grâce à l'ajout de la LED blanche qui permet l'enregistrement du spectre de réflectance [6] dans le visible dans la même zone d'analyse.

Les principaux avantages du LEDμSF sont la portabilité, le poids et la facilité d'utilisation et de mise en œuvre. Sa rapidité d'analyse est aussi un véritable atout. Quelques secondes sont suffisantes pour collecter un spectre d'émission de fluorescence, 1 à 2 secondes pour un composé organique et de 10 à 20 secondes pour un pigment inorganique (environ 5 minutes avec un appareil fixe de laboratoire). Le temps d'analyse très bref et la qualité du signal permettent de travailler sur des œuvres fragiles et d'étudier les colorants et liants des peintures, textiles, estampes et plus généralement des œuvres du patrimoine culturel qui sont parfois peu étudiées du fait de l'impossibilité d'échantillonner ou de les déplacer vers les laboratoires.

3 Démarche pour l'interprétation des spectres d'émission de fluorescence

L'interprétation des spectres d'émission de fluorescence est facilitée par l'étude préalable des matériaux purs avec des instruments de laboratoire. Ceux-ci permettent d'enregistrer les spectres d'excitation afin de caractériser les fluorophores à l'origine de l'émission de fluorescence. Les maxima d'excitation propres à chaque composé guident notamment le choix de la LED excitatrice la plus adaptée pour révéler la fluorescence du matériau.

3.1 Longueur d'onde maximale d'émission de fluorescence

Certains matériaux possèdent des propriétés de fluorescence qui peuvent permettre, dans certaines conditions, de les identifier, notamment par leur longueur d'onde maximale de fluorescence.

Cependant dans le cas des instruments portables, ces maxima d'émission de fluorescence peuvent présenter des décalages de bandes qui s'expliquent par des paramètres expérimentaux (temps d'analyse, choix de la source) et par la reproductibilité des mesures [7].

Les spectres de fluorescence issus de l'expérience sont complexes à interpréter du fait de la composition des matériaux et de leur état : le support, le liant, les mélanges de pigments, leur préparation, l'épaisseur des couches et les altérations peuvent modifier le spectre et décaler les maxima d'émission mesurés sur les matériaux purs. Des phénomènes d'auto-absorption et d'absorption se produisent, notamment dans le cas de mélanges (pigments + liants) [6, 8, 9].

Des traitements, dont ceux reposant sur les théories de Kubelka-Munk (K-M), peuvent être appliqués pour minimiser les effets de ces phénomènes [8, 9].

Ce traitement K-M est généralement appliqué sur des spectres de mélanges de type pigment + liant, ce qui permet d'éliminer l'absorption par le pigment et de ne laisser apparaître que la fluorescence intrinsèque du liant. Or dans le cas de colorants en

6. Fraction du flux réémis dans toutes les directions pour chaque longueur d'onde.

couches non-opaques et transparentes, les conditions d'application de la théorie de K-M ne sont pas remplies. Cette correction doit donc être adaptée au cas de mélanges de divers fluorophores pour lesquels des déplacements de bandes caractéristiques ont été observés [6].

Outre ces traitements de données spectrales, il est possible d'interpréter les spectres de fluorescence par comparaison avec ceux d'une base de données de spectres d'émission de fluorescence intrinsèque des constituants seuls ou de mélanges de composés.

3.2 Création d'une base de données de spectres de composés de référence

Le travail essentiel de constitution de référentiels est un investissement à long terme dans le sens ou tout matériau peut être étudié seul ou combiné, mélangé ou superposé, sur un support fluorescent ou non, vieilli selon différents modes (UV, humidité relative ou la conjonction des deux...) et que les applications débordent largement le champ des matériaux du patrimoine culturel. Chaque équipe établit ses propres échantillons de référence en fonction de son objet d'étude et enregistre ses propres spectres de références. La plupart des articles publiés présente l'étude d'un cas particulier de pigment (ou couleur), colorant ou laque [9, 10, 11]. En 2005, l'équipe italienne de Claudia Daffara avec Anna Pelagotti a publié une base de données sur l'étude de la fluorescence UV des matériaux de la peinture avec des spectres d'émission de fluorescence et de réflectance [12]. En 2017, Derrick et ses collègues ont publié un article traitant des colorants utilisés dans les estampes Japonaises et une base de données est présentée [13]. Nous disposons donc d'un certain nombre de données sur lesquelles nous pouvons nous baser pour confirmer nos résultats même si, la plupart du temps, ces données publiées ont été obtenues avec des appareils de configuration plus traditionnelle.

Nous avons constitué notre propre base de données de spectres de référence avec le système portable. Les résultats obtenus ont été validés avec un spectrofluorimètre classique. En ce qui concerne ce dernier, les paramètres d'acquisition choisis sont les suivants : angle de 22,5° entre le faisceau incident et le détecteur ; excitatrice de 366 nm, mode à flux excitateur constant. La largeur de fente est de 2,2 mm ce qui correspond à une bande passante de 4 nm, pour un pas de 0,5 nm et un temps d'intégration de 0,5 secondes. Notre base de données compte actuellement près de 200 spectres de référence. Elle a principalement été établie à partir de deux nuanciers réalisés selon les techniques anciennes. Le premier a été réalisé sur du parchemin, le second sur du papier de cellulose pure. Les pigments ou laques ont été mélangés à un liant (détrempe, gomme arabique ou amidon de riz) et déposés sur le support.

Nous présentons quelques spectres de référence dans la partie 4 de ce chapitre.

3.3 Complémentarité avec d'autres techniques d'analyse

La fluorimétrie portable est complémentaire des techniques d'analyse « traditionnelles » (Spectroscopie de Fluorescence de Rayons X [XRF], Spectrométries Raman ou de Réflectance par Fibre Optique [FORS] et Imagerie hyperspectrale [HSI]) qui aident à interpréter les résultats obtenus avec le LEDµSF. Les techniques couramment employées (XRF, Raman...) permettent de répondre essentiellement à l'identification

des pigments inorganiques en apportant des informations sur la composition élémentaire ou la structure moléculaire des minéraux, respectivement. Celle des matériaux organiques reste problématique mais possible, notamment grâce au LEDµSF.

Par exemple, la combinaison des spectres de fluorescence de rayons X, de réflectance et de fluorescence a permis de résoudre de nombreux questionnements sur l'identification des laques employées dans les estampes japonaises. L'analyse élémentaire (XRF) permet d'identifier le mordant (alun, calcium...) utilisé pour précipiter le colorant et de confirmer l'hypothèse de la présence d'une laque. Le spectre de réflectance permet, par exemple, de définir les bandes d'absorption et donc de mieux choisir la LED excitatrice pour la caractérisation du ou des fluorophores présents. L'intégration de ce nouveau système LEDµSF dans la gamme d'appareils portables disponibles ouvre de nouvelles pistes et objets d'études [14].

L'imagerie hyperspectrale sous UV peut bénéficier d'une base de données de spectres d'émission de fluorescence de pigments, de colorants et de liants de référence telles que celle que nous avons développée (Tableau 1) : il est ainsi possible de cartographier la fluorescence des matériaux en choisissant les longueurs d'onde d'observation *ad hoc*. Par exemple, on peut localiser la présence du cinabre qui émet une fluorescence à λ_{max} 610 nm, grâce à l'imagerie obtenue en sélectionnant la longueur d'intérêt. Cette complémentarité des techniques a fait l'objet d'une publication dédiée à l'étude de miniatures médiévales par Mounier *et al.* [15].

Tableau 1 – Maximum d'émission de fluorescence caractéristique de pigments mélangés avec de la gomme arabique analysés avec la LED 375 nm (L375) ou la LED 285 nm (L285) ainsi que des mélanges de pigments.

Pigments	LEDμSF (λ_{max})		Mélanges de pigments	LEDμSF (λ_{max})
Cinabre	610 nm (L375)		Ocre rouge + indigo	592, 720 nm (L375)
Minium	590 nm (L375)		Ocre rouge + azurite	605 nm (L375) 430 nm (L285)
Ocre rouge	605 nm (L375)		Cinabre + indigo	590, 725 nm (L375)
Cochenille	640 nm (L375)		Cinabre + indigo + rouge organique	619, 720 nm (L375)
Bois brésil	630 nm (L375)		Cinabre + minium	620 nm (L375)
Azurite	440 nm (L285)		Cinabre + minium + rouge organique	615 nm (L375)
Lapis-Lazuli	440, 710 nm (L285)		Indigo + ocre jaune	560, 615, 730 nm (L375)
Bleu égyptien	440, 560, 710 & 890 nm (L285)		Indigo + orpiment	560, 720 nm (L375)
Indigo	730 nm (L375)		Vert-de-gris + indigo	560, 710 nm (L375)
Ocre jaune	575 nm ((L375)		Malachite + azurite	440, 695 nm (L285)
Jaune de plomb et d'étain	545 nm (L285)			
Orpiment	525 nm (L285)			
Bourdaine	520 nm (L285)			
Nerprun	570 nm (L285)			
Stil-de-grain	550 nm (L285)			
Malachite	430 nm (L285) 550 nm (L375)			

4 Applications

4.1 Produits purs frais

4.1.1 Matières colorantes

Nous présentons ici quelques spectres de référence obtenus sur un nuancier de 150 pigments réalisé par l'atelier Marlier [7] selon les recettes décrites dans les traités anciens (Cennino Cennini, Moine Théophile...). Pigments et liants proviennent de divers fournisseurs (Kremer, Okhra, Marlier, préparés en laboratoire). Les pigments ont été mélangés avec les liants les plus employés dans les enluminures médiévales, tels que la gomme arabique, la colle de peau de lapin ou le blanc d'œuf, déposés sur des lames ou sur parchemin.

Les matières colorantes employées sont de nature inorganique ou organique. Dans les enluminures médiévales, par exemple, les colorants organiques sont le plus souvent utilisés en rehauts sur des pigments inorganiques (cinabre, lapis-lazuli, minium, malachite, ocres) [8].

Pigments rouges

Cinq pigments rouges, fixés sur un support inorganique, classiquement employés dans les enluminures médiévales ont été étudiés par fluorimétrie. Chacun d'entre eux (minium, cinabre, ocre rouge, bois de brésil et cochenille sous forme de laques) a été lié avec de la gomme arabique et déposé sur une lame de quartz. Les études en laboratoire ont montré que la longueur d'onde d'excitation à 375 nm était bien adaptée pour exciter les fluorophores présents [7]. Les spectres d'émission de fluorescence ont été enregistrés avec le LEDμSF V1 en excitant à 375 nm avec le filtre de 455 nm, pour un temps d'analyse de 30 s. La Figure 3 présente les spectres d'émission de fluorescence de ces cinq pigments rouges. Le cinabre donne une longueur d'onde d'émission maximale vers 610 nm, le minium émet vers 590 nm, la cochenille à 640 nm et le bois de brésil à 630 nm. L'ocre rouge ne donne aucune bande caractéristique même si un épaulement est visible vers 600 nm. Ainsi, dans cet exemple, ces cinq pigments rouges dans les conditions les plus favorables peuvent être différenciés par leurs spectres d'émission de fluorescence.

L'allure des spectres et les valeurs de longueur d'onde d'émission de fluorescence ont été confirmées par les appareils de laboratoire sur ces mêmes échantillons pour des temps d'analyse plus importants (5 minutes environ par spectre).

La longueur d'onde maximale d'excitation (celle qui permet d'exciter le fluorophore avec le plus d'efficacité) peut être caractéristique des colorants et leur étude par des appareils classiques de spectrofluorimétrie peut s'avérer indispensable. Ainsi, par exemple dans le cas de la laque de cochenille, les maxima d'excitation à 540 et 580 nm correspondent au complexe d'acide carminique (Figure 4). Dans le bois de brésil,

7. http ://www.enluminure-peinture.fr/. Renaud Marlier est spécialiste de l'enluminure médiévale. Il fabrique lui-même ses matériaux (pigments, liants, ...) et procède à la réalisation de *facsimile*.

8. Projets coordonnés par Floréal Daniel et financés par le Conseil Régional d'Aquitaine (ENLUMINURES) et le labex LaScArBx (HYPERSPEC).

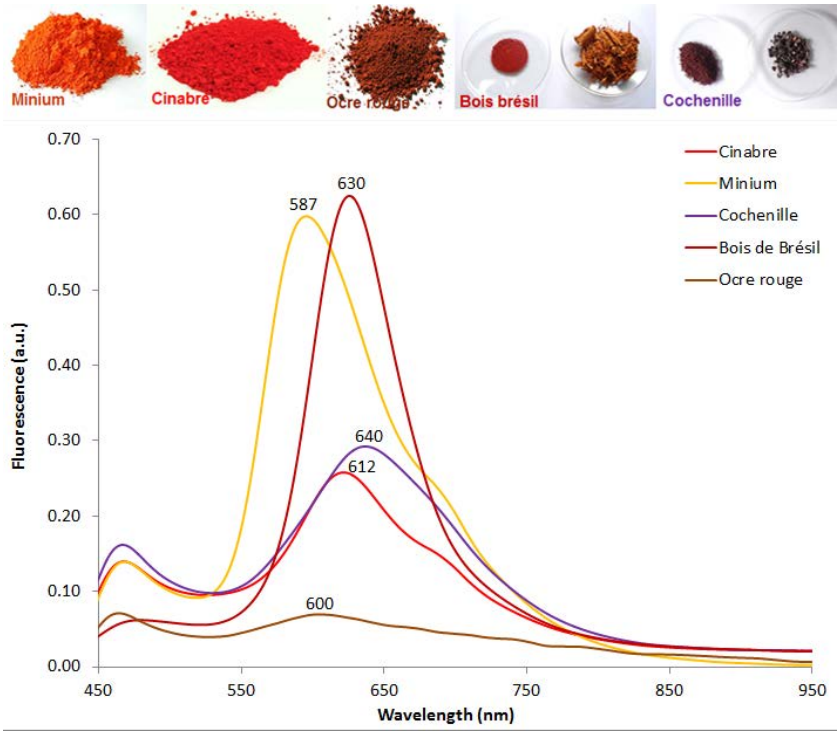


FIGURE 3 – Spectres d'émission de fluorescence de 5 pigments rouges mélangés à de la gomme arabique, déposés sur une lame de quartz, excités à 375 nm (filtre 455 nm), pour un temps d'analyse de 30 s avec le LEDµSF. Chaque pigment présente un spectre et un maximum d'émission spécifique, ce qui permet de le distinguer.

la braziléine est le seul fluorophore avec un maximum d'excitation centré à 510 nm [7]. Ces résultats sont confirmés par la littérature [16-20].

Reproductibilité

En ce qui concerne la réponse entre deux appareils de laboratoire calibrés et dont les courbes sont corrigées, on note un décalage de quelques nm pour chaque pigment rouge étudié. Le LEDµSF donne des *maxima* plus élevés pour tous les pigments rouges et le décalage est encore plus important pour les pigments organiques [15].

Pigments bleus

La même méthodologie a été appliquée sur des pigments bleus (azurite, lapis-lazuli, bleu égyptien) mélangés à de la gomme arabique avec une excitation à 285 nm. Tous les spectres présentent une bande commune centrée vers 440 nm [7]. Le lapis-lazuli a une bande supplémentaire à 730 nm et le bleu égyptien à 890 nm. L'ion Cu^{2+}, qui donne la couleur au bleu égyptien, absorbe vers 620 nm et est connu pour donner une fluorescence vers 900 nm [21].

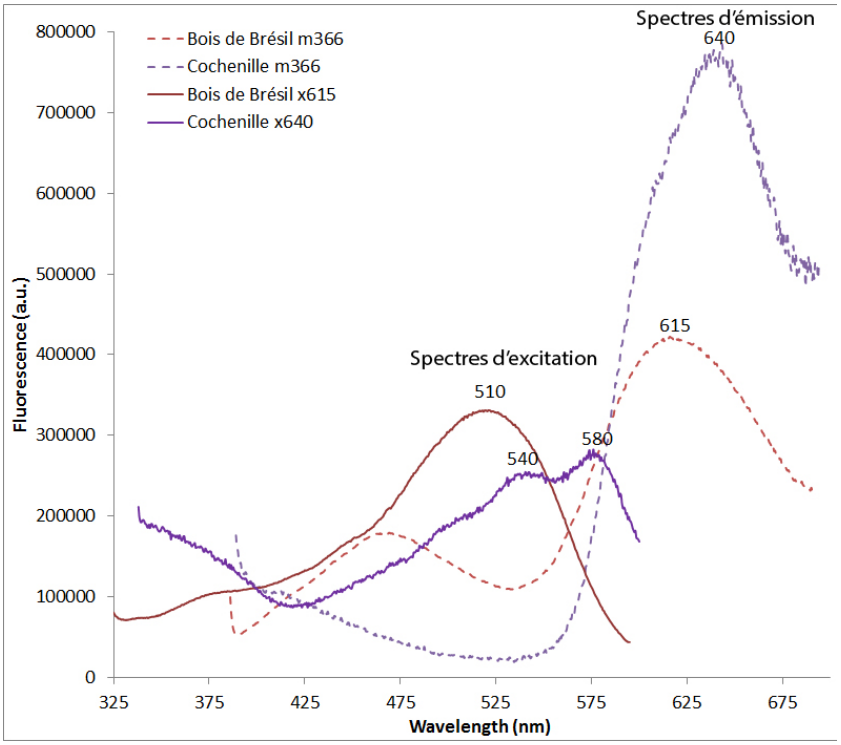


FIGURE 4 – Spectres d'émission de fluorescence du bois de brésil (émission à 615 nm) et de la cochenille (max à 640 nm) en excitant à 366 nm avec le système de laboratoire ; les spectres d'excitation induisant des émissions à 615 et 640 nm, révèlent les fluorophores à l'origine de la fluorescence (510 nm pour la braziline et 540 et 580 pour les anthraquinones).

Pigments jaunes

Cinq pigments jaunes sont couramment utilisés dans les manuscrits médiévaux : orpiment, jaune de plomb et d'étain, nerprun, bourdaine et stil-de-grain. Les trois derniers sont fabriqués à partir des baies ou de l'écorce d'arbrisseaux de la famille des rhamnacées et, du point de vue chimique, les composés colorés sont des flavonoïdes (fruits verts), des anthraquinones (fruits rouges) et des anthocyanes (fruits noirs).

Les cinq pigments jaunes ont été excités à 285 nm avec le filtre à 320 nm pour un temps d'analyse de 50 s (Figure 5). Le jaune de plomb et d'étain donne un maximum de fluorescence autour de 545 nm et l'orpiment à 525 nm.

En ce qui concerne les trois colorants organiques issus du même végétal, la maturité des baies pourrait être à l'origine de variations sur la longueur d'onde maximale (jusqu'à 50 nm) observées sur les spectres de fluorescence. Plus la baie est mûre, plus la longueur d'onde maximale d'émission se déplace vers les grandes longueurs d'onde. En effet, le nerprun a une λ_{max} à 570 nm, le stil-de-grain à 550 nm et la bourdaine à 520 nm. Pour fabriquer de la bourdaine, on utilise plutôt une baie verte, une baie plus mature pour le stil-de-grain et une baie rouge, bien mûre pour le nerprun [7].

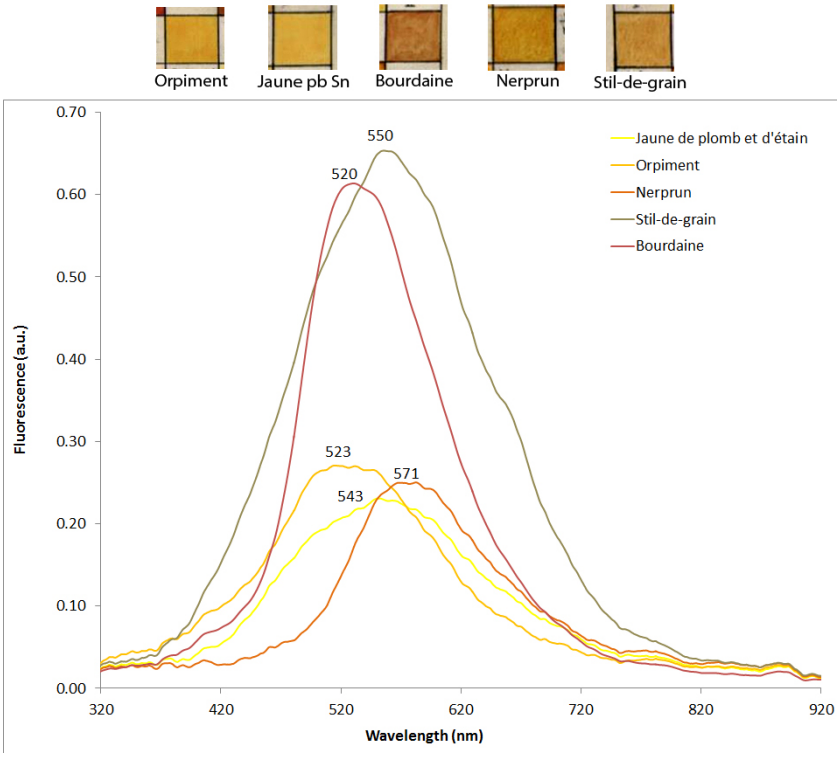


FIGURE 5 – Spectres d'émission de fluorescence obtenus avec le LEDµSF sur cinq pigments jaunes en excitant à 285 nm (filtre à 320 nm) pour un temps d'analyse de 50 s. Les 5 spectres sont différents et dans cet exemple, chaque pigment donne un maximum d'émission et une allure de spectre qui lui est propre.

Le système LEDµSF a permis de les distinguer et d'enregistrer les bandes caractéristiques pour ce cas précis. Si cette technique seule ne donne que des indices pour ce type de composés, notons qu'aucune autre technique non invasive n'est capable d'en donner une identification.

L'intensité de fluorescence, dans certains cas particuliers, peut aider à différencier les composés organiques de ceux inorganiques. Par exemple, l'intensité de fluorescence, pour un même temps d'analyse, est trois fois plus importante pour la bourdaine que pour l'orpiment. Dans tous les cas, l'analyse par XRF ou par spectroscopie de réflectance UV-Vis permet de lever les incertitudes.

4.1.2 Liants

Si les pigments et colorants peuvent avoir des bandes d'émission de fluorescence intrinsèques, ils sont en général mélangés à un liant organique qui, lui aussi, émet une fluorescence et contribue au spectre global enregistré. Dans les exemples précités, la gomme arabique et la détrempe ont peu d'impact car la LED excitatrice est choisie

en fonction du pigment à analyser (par exemple, 375 nm pour les pigments rouges) et pour minimiser la fluorescence du liant [22].

La fluorescence des liants (colles, huiles...) a largement été étudiée avec des spectrofluorimètres de laboratoire et leurs fluorophores ont été identifiés [3, 10, 22, 23]. La gomme arabique et la colle de poisson donnent un maximum d'émission de fluorescence à 440 nm. L'huile de lin fraîche émet à 430 nm et l'huile de lin vieillie présente une longueur d'onde maximale vers 560 nm. Cet effet bathochrome [9] s'explique par la réticulation de l'huile lors de son séchage et de la formation du film solide, continu, dur et résistant, entraînant son jaunissement [3, 23, 24]. Le jaune d'œuf présente un maximum d'émission de fluorescence à 520 nm. La présence d'un liant et sa dégradation au fil du temps peut donc avoir une influence sur la fluorescence apparente du pigment ou du colorant mesurée dans le mélange composant la couche picturale.

L'étude en laboratoire par spectrofluorimétrie des liants employés dans les peintures a permis de montrer que les liants protéiniques (colles de peau de lapin, d'os, de nerf) ou glucidiques (gomme arabique) fluorescent dans le bleu tandis que les liants lipidiques (huile de lin, de noix...) donnent plutôt une fluorescence jaune.

Des vieillissements photochimiques accélérés menés sur ces liants ont montré que la longueur d'onde maximale d'émission se déplace vers les grandes longueurs d'onde (jaunissement) et que l'ajout d'un siccatif (pigment au plomb) augmente l'intensité de fluorescence [22, 23].

4.1.3 Supports

On ne saurait trop insister sur l'influence du support sur les spectres d'émission et en particulier sur le déplacement apparent des longueurs d'ondes maximales d'émission, critère que nous avons choisi pour l'identification.

Le support des peintures (parchemin, couche préparatoire, papier...) peut effectivement émettre une fluorescence et ainsi contribuer à la fluorescence totale enregistrée. C'est pourquoi les matières colorantes étudiées l'ont été sur un *facsimile* [10] d'enluminure du XIV^{e} siècle réalisé par l'atelier Marlier [7]. Le parchemin émet une fluorescence très intense et une bande très large quelle que soit la longueur d'onde d'excitation. Cependant, dans les diverses mesures effectuées sur le *facsimile*, la fluorescence du parchemin a peu d'impact sur celles des pigments car la couche pigmentée est épaisse et opaque.

La variabilité des spectres dépend du procédé de préparation du pigment et de son application sur le support (épaisseur, concentration des couches, type de liant...). En revanche, pour une épaisseur faible du colorant la mesure est gênée par la superposition des spectres dus au pigment et au support.

9. Modification de la position de la bande spectrale vers les plus grandes longueurs d'onde (ou fréquences plus faibles).

10. Reproduction d'un antiphonaire Dominicain, XIVe s. conservé à la bibliothèque municipale de Colmar (cod. 311, fol. 123), lettrine N avec la représentation de la Nativité, parchemin des Ets Lieutard. Les pigments et mélanges de pigments ou liants sont connus.

4.2 Mélanges de colorants

Dans le cas simple de l'acquisition de la fluorescence intrinsèque ou lorsque l'alun est utilisé en tant que mordant pour fixer le colorant, l'identification semble poser moins de difficultés. En revanche, dans le cas de mélanges ou de fixation du colorant sur une charge à base de calcium, la cochenille et le bois de brésil peuvent par exemple être confondus [7]. Seuls les spectres d'excitation peuvent lever l'ambiguïté. On a donc intérêt à utiliser le même type d'appareil pour réaliser la base de données et garantir la reproductibilité des mesures.

L'identification des matériaux dans le cas de mélanges est peu aisée si l'on ne considère que les spectres d'émission de fluorescence. Cependant des hypothèses peuvent être émises et la comparaison des résultats avec ceux obtenus par d'autres techniques (imagerie hyperspectrale, FORS, XRF...) peuvent aider à l'interprétation des bandes et à l'identification des pigments. En l'absence de traitement des données spectrales, il est parfois difficile, pour les systèmes complexes que sont les peintures, de distinguer certains pigments.

Si le pigment est souvent associé à un liant organique, les pigments et colorants peuvent être mélangés ou superposés. À titre d'exemple, dans les enluminures médiévales les colorants sont généralement apposés en rehauts sur une couche de pigment tandis que dans les estampes japonaises, le mélange de pigments / colorants est habituel. Les gravures sont colorées par superposition de couches ou mélanges de pigments afin de faire varier les tonalités. De plus, les colorants organiques sont très employés et complexifient l'identification car de nombreux fluorophores peuvent être présents. Ces colorants sont aussi connus pour être peu stables.

Nous avons produit en laboratoire les colorants spécifiques aux gravures japonaises du XVIII^{e} au XX^{e} siècle et réalisé des pseudo-estampes [11]. Outre les pigments traditionnels employés dans les peintures occidentales (vermillon, minium, ocres, blanc de plomb, malachite...), l'usage de colorants spécifiques et/ou locaux viennent enrichir la palette (millepertuis, cochenille, garance, carthame, indigo, gamboge...). Ces colorants sont d'origine animale ou végétale. Ce matériel permet ainsi d'étendre notre base de données de spectres de référence d'émission de fluorescence. Une dizaine de mélanges de pigments (50/50 en pourcentage volumique) a été réalisée pour étudier leur effet sur les spectres de fluorescence mesurés.

Par exemple, le violet est une couleur très présente dans les estampes, plusieurs combinaisons de mélanges sont possibles pour l'obtenir. De même, il n'est pas rare de trouver en mélange du vermillon, du minium et un rouge organique pour faire varier subtilement les teintes des rouges [26].

Des mélanges ont été recréés en laboratoire pour obtenir un ton violet (vermillon + indigo ou vermillon + indigo + cochenille) (Figure 6) et déposés sur lames de quartz et sur un papier Whatman non fluorescent dans nos conditions opératoires (temps et longueurs d'onde d'excitation). Les spectres de référence du vermillon et de l'indigo

11. Projet INDIGO porté par Floréal Daniel (CRP2A) dont notamment une thèse en cours menée par Carole Biron, dirigée par Rémy Chapoulie (IRAMAT-CRP2A) et Laurent Servant (ISM) sur les applications de la spectroscopie infrarouge.

apparaissent dans la Figure 6 pour une comparaison directe des bandes (LED 375 nm, filtre 455 nm, temps d'analyse 30 s). Les maxima d'émission de fluorescence des mélanges étudiés sont donnés dans le Tableau 1. Dans le premier mélange, il apparaît un déplacement apparent de la longueur d'onde maximale due au vermillon vers les plus courtes longueurs d'onde (612 nm 590 nm), de même pour l'indigo (730 725 nm). Dans le second cas, trois pigments sont mélangés et analysés avec les mêmes paramètres expérimentaux. On note la présence d'une large bande maximale centrée à 620 nm avec un léger épaulement vers 720 nm. La bande principale se trouve entre celle du vermillon (612 nm) et celle de la cochenille (640 nm). La bande de l'indigo (référence à 730 nm) est présente mais décalée vers 720 nm. Le vermillon et l'indigo ont des λ_{max} de fluorescence de 610 nm et 730 nm, respectivement. En mélange, la λ_{max} des deux composants se déplace vers les plus courtes longueurs d'onde, de 20 nm pour le vermillon et de 5 nm pour l'indigo. En général, des émissions proches supplémentaires élargissent les bandes et l'apparition de nouvelles bandes est possible, probablement en raison de l'excitation de nouveaux fluorophores formés lors de l'interaction entre les pigments/laques mélangés. Il est également possible qu'il s'agisse de maxima d'émission apparents générés par les propriétés d'absorption du mélange global. Les raisons de ces déplacements ont été abordées plus haut. Les pigments sont susceptibles d'absorber et/ou de disperser le rayonnement émis par les matériaux environnants. Il peut se produire des phénomènes d'auto-absorption entre les molécules, ce qui déplace les bandes caractéristiques.

À titre d'illustration, voici un exemple d'attribution des bandes sur une estampe japonaise ukiyo-e (réf. 49868, Figure 7) qui montre toute la difficulté d'interprétation des spectres de fluorescence dans le cas de mélanges (pigments, colorants, liant) sur un support lui-même fluorescent. En effet, le spectre du colorant violet montre un certain nombre de bandes à 502, 566, 610 et 690 nm. Celles de longueurs d'onde inférieures à 550 nm correspondent à la fluorescence du papier. La bande à 610 nm semble s'apparenter à celle du vermillon mais d'autres hypothèses peuvent être avancées :

- Déplacement de la longueur d'onde maximale d'émission apparente du pigment en raison de la forte intensité de fluorescence du papier. Un traitement comme celui proposé par Pottier *et al.* [25] permettrait de distinguer la fluorescence des matières colorantes de celle du papier filtré par la couche picturale.
- Présence de cochenille ou d'un mélange de pigments rouge et bleu. Ce ne peut être l'indigo qui donne une bande caractéristique beaucoup plus haute vers 730-40 nm, absente sur le spectre. Or, un autre colorant bleu (dayflower ou aobana) extrait des pétales de la commeline commune, très fréquent dans les estampes pour sa couleur bleu-violet, a pu être utilisé. Nous ne disposons pas de référence pour ce colorant dans notre base de données. Cependant, les bandes d'absorption caractéristiques de ce pigment à 594 et 645 nm, décrites dans la littérature [14, 27], ont été mesurées par spectrométrie de réflectance. La spectrométrie de réflectance diffuse a rendu possible l'identification du colorant *aobana* dans cette estampe.

En fonction de la complexité des objets étudiés et des différents paramètres en jeu (objet multicouches, hétérogénéité des matériaux, organiques et inorganiques,

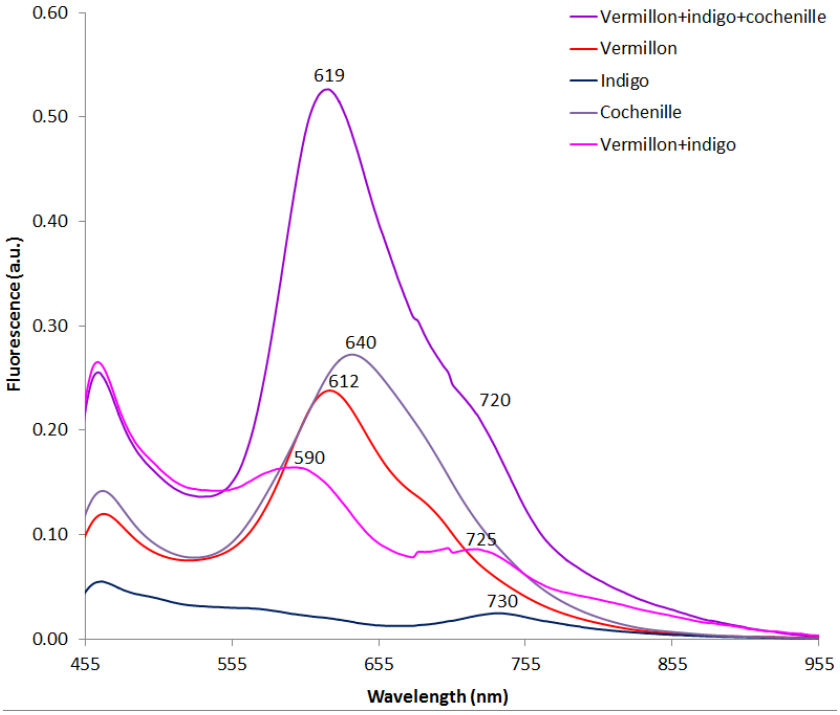


FIGURE 6 – Spectres d'émission de fluorescence de mélanges de pigments pour obtenir du violet : vermillon + indigo et vermillon + indigo + cochenille. Les spectres de référence des pigments seuls ont aussi été ajoutés afin de faciliter la comparaison des bandes. Dans le cas des mélanges, les bandes caractéristiques des pigments seuls sont décalés ou bien se superposent, rendant difficile l'identification des pigments ; des traitements correctifs (Kubelka-Munk, déconvolution...) pourraient aider à cette dissociation.

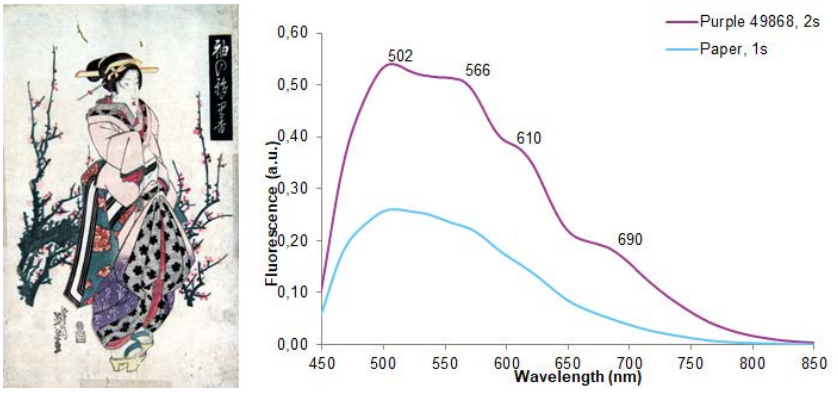


FIGURE 7 – Estampe japonaise de la collection Torralba (musée de Saragosse) référencée 49868 (artiste Eisen, XIX^{e} s.). Spectres d'émission de fluorescence mesurés dans le violet et dans le papier. Ce dernier présente une fluorescence très importante. Les bandes entre 500 et 550 nm peuvent donc provenir du support et non des pigments.

supports, liants, pigments...) des traitements correctifs (Kubelka-Munk, déconvolution...) pourraient aider à dissocier le signal dû aux différents constituants et en particulier, caractériser la fluorescence intrinsèque du pigment en éliminant, notamment, les phénomènes d'auto-absorption.

Ces aspects méthodologiques nécessitent encore le développement de modèles. Récemment, les procédures de correction standard (Kubelka-Munk) ont été appliquées aux données de fluorescence expérimentales recueillies sur la surface polychromatique d'un manuscrit aztèque du XVI^{e} siècle [25]. Ces résultats sont confrontés à une nouvelle méthode basée sur l'hypothèse de couches de peinture transparentes non diffusantes. Cette méthode permet d'établir l'origine de l'émission détectée et de distinguer la fluorescence du substrat transmise par la couche picturale de l'émission intrinsèque réelle générée par les matières colorantes étudiées.

4.3 Matières colorantes dégradées

L'étude des matériaux sensibles et en particulier des colorants organiques mène à considérer l'altération de ces matériaux et plus principalement le phénomène de décoloration [3].

La spectrofluorimétrie n'est pas, à partir d'un certain niveau de dégradation du colorant, adaptée pour l'identification de celui-ci, pas plus que les spectres d'excitation parce qu'il est probable que certains fluorophores sont dégradés au cours du vieillissement.

Il en est de même pour les liants seuls comme par exemple l'huile de lin dont la longueur d'onde d'émission passe de 440 nm au-delà de 500 nm au cours d'un vieillissement photochimique [23].

Pour vérifier l'évolution des spectres de fluorescence des matières colorantes en fonction de la dégradation, nous avons soumis des échantillons au flux d'une LED (275 nm, 1,6 mW) et suivi la décoloration de pigments (Figure 8) dans des conditions de puissance 5 fois supérieures à celle du LEDµSF en conditions d'analyse et des temps d'irradiation allant jusqu'à 12 heures, correspondant à une exposition énergétique de 5 870 mJ/cm^2. Les spectres de fluorescence ont été enregistrés régulièrement au cours du temps.

Les premiers tests ont été menés sur l'indigo et la cochenille mélangés à de la gomme arabique, liant fragile et très cassant. La dégradation des matières colorantes dépend de la concentration et de la nature du liant, du mode de préparation du colorant et de la charge sur lequel il est fixé. En effet, selon Saunders et Kirby [28], plus la concentration en liant est élevée, moins le spectre de fluorescence du pigment évolue. Par ailleurs, la cochenille se décolore plus rapidement lorsqu'elle est mêlée à la gomme arabique plutôt qu'à l'huile.

La Figure 8 présente les spectres d'émission de fluorescence de l'indigo et de la cochenille seuls avant irradiation, et après 12h d'irradiation à 275 nm. La bande caractéristique de l'indigo à 730-740 nm reste stable. Ce résultat est conforme à de précédentes études publiées [11]. Le spectre de la cochenille, avant irradiation, présente une bande à 640 nm et un petit épaulement à 575 nm. La fluorescence de la cochenille est due

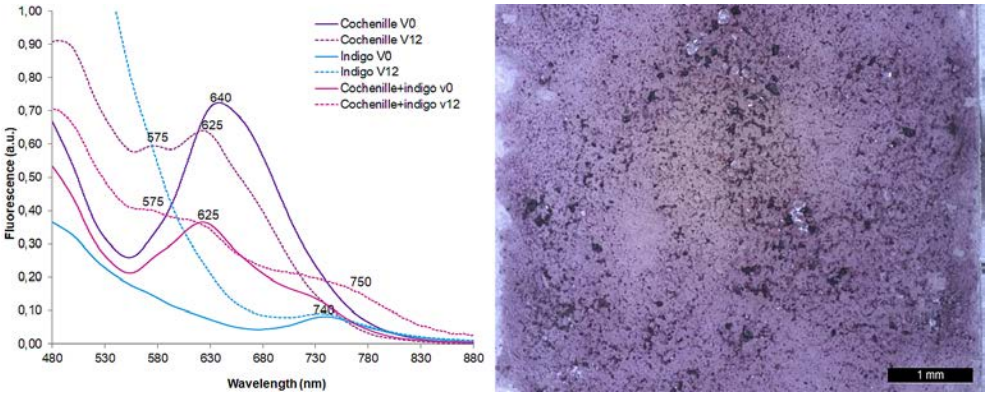


FIGURE 8 – Spectres d'émission de fluorescence obtenus à 375 nm sur la cochenille, l'indigo et le mélange des deux pigments avant irradiation (V0) et après 12h d'irradiation (V12, soit une exposition énergétique de 5870 mJ/cm^2) avec une LED à 275 nm. L'indigo est peu affecté par l'irradiation prolongée aux UV, contrairement à la cochenille qui se dégrade et se décolore. La bande principale à 640 nm se décale vers 625 nm et une bande à 575 nm croît sous l'irradiation. Dans le cas du mélange cochenille + indigo le même phénomène est observé. Après 12h d'irradiation UV, une tache orangée apparait, ce qui montre bien la décoloration / altération du pigment.

aux anthraquinones qui la composent : l'acide carminique (composé rouge, bande à 640 nm) et l'acide laccaïque (composé jaune, bande vers 575 nm). Après 12h d'irradiation à 275 nm, on note une modification moléculaire. La bande principale se décale vers les plus courtes longueurs d'onde (de 640 à 625 nm) et on note une forte prédominance de la bande à 575 nm. Selon Saunders et Kirby, les composés rouges sont détruits par l'exposition aux UV [28]. Cette décoloration, mesurable par spectrométrie de réflectance (baisse de l'intensité du facteur de réflexion), commence même à être visible à l'œil nu à partir de 10h d'irradiation. Sous microscope, une tache jaune-orangée apparaît clairement dans la zone irradiée (Figure 8).

Dans le cas du mélange indigo + cochenille, avant irradiation, on relève deux bandes à 625 et 730-740 nm avec un léger épaulement vers 575 nm. Après 12h d'irradiation, l'intensité chute en raison de la destruction des composés rouges de la cochenille pour laisser place aux composés jaunes. La bande de l'indigo est décalée vers les grandes longueurs d'onde (750 nm) (Figure 8). La présence d'indigo semble accélérer la dégradation de la cochenille puisque la contribution des composés jaunes apparaît dès 3h d'irradiation. De plus, on assiste à une inversion des bandes, celle des composées jaunes est plus importante que celle des rouges. L'influence de l'indigo sur la cochenille dans son processus d'altération n'est pas établie mais quelques hypothèses peuvent être émises sur les facteurs en jeu comme la modification du pH, l'interaction avec les alcalins ajoutés lors de la préparation de l'indigo (la chaux) ou la présence d'oxygène, connu pour accélérer la dégradation des anthraquinones [29].

Par conséquent, les spectres de fluorescence évoluent en fonction de la disparition ou l'apparition des fluorophores modifiant les propriétés d'absorption au cours de la dégradation. L'interprétation des données est donc plus délicate, en particulier pour

les colorants organiques sensibles. La combinaison des résultats avec ceux obtenus en spectrométrie de réflectance permet de lever les ambiguïtés [14].

Conclusion

Les applications du LEDµSF pour l'étude des peintures et notamment pour l'identification de pigments et colorants présentent un intérêt certain dans les cas les plus simples (monocouches de pigment, peu de liant). Elles nécessitent de constituer une base de données de spectres de fluorescence de composés de référence. Dans les cas plus complexes (mélanges de matériaux), des traitements correctifs peuvent être appliqués aux données, quoique les protocoles dans ce domaine restent encore mal définis pour nos applications. Le développement de simulations de la fluorescence de produits purs frais, en mélange ou dégradés, permettrait de mieux comprendre les spectres.

Toutefois, les incertitudes peuvent être levées par des approches complémentaires : soit en jouant sur les longueurs d'onde des sources LED pour exciter sélectivement les fluorophores de l'espèce à identifier, soit en obtenant les spectres d'excitation par des fluorimètres classiques de laboratoire, soit en ayant recours à des techniques d'analyse élémentaires et moléculaires. En effet, l'expérience montre que la spectrofluorimétrie portable doit être intégrée dans une méthodologie analytique non invasive afin de confronter les résultats et les enrichir par des informations sur les matières organiques ou familles chimiques de composés organiques employés. C'est en cela que le LEDµSF est une technique complémentaire au FORS et aux spectrométries de fluorescence X et Raman.

Les résultats obtenus avec la première version du système portable présenté ici sont conformes à ceux obtenus avec les appareils de laboratoire. Notre collaboration avec Freiberg Instruments a permis de concrétiser les améliorations que nous avions testées en laboratoire, afin d'augmenter les possibilités, les champs d'application et un meilleur choix dans la longueur d'onde excitatrice. L'appareil produit et désormais commercialisé par cette société allemande propose plusieurs sources excitatrices et une LED blanche permettant à la fois la mesure de la fluorescence et de la réflectance.

Remerciements

Cette étude fait partie d'un projet soutenu par la Région Aquitaine, l'Université de Bordeaux-Montaigne / CNRS et le Cluster d'excellence LaScArBx. Ce projet a bénéficié du soutien de l'État français géré par l'Agence nationale de la recherche dans le cadre du programme « Investissements d'avenir » portant la référence ANR-10-LabX-52. Nous remercions les institutions culturelles de la Direction Régionale des Affaires Culturelles pour leur soutien et pour l'accès à la collection de manuscrits Marcadé ainsi que le conservateur du musée de Saragosse pour l'accès aux estampes japonaises de la collection Torralba.

Le projet LEDµSF a été sélectionné par le CNRS pour être exposé au Salon Innovatives SHS 2015, ce qui a donné lieu à de nombreux communiqués de presse. Un film de 3 minutes réalisé par le labex LaScArBx est disponible sur le web [12].

12. http ://www.iramat-crp2a.cnrs.fr/spip/ et https ://www.youtube.com/watch ?v=YdXTKyvNTxg.

Références

[1] B. Valeur, Invitation à la fluorescence moléculaire, de Boeck, Bruxelles, 201 pages, 2004.

[2] G. Stokes, « On the change of refrangibility of light », Philosophical transactions, vol. 142, p. 463-562, 1852.

[3] E.R. De La Rie, Fluorescence of paint and varnish layers (Part I), Studies in Conservation 27 (1982) 1–7. ; E.R. de La Rie, Fluorescence of Paint and Varnish Layers (Part III), Studies in Conservation 27 (1982) 102–108. doi :10.2307/1506145. ; E.R. de La Rie, Fluorescence of Paint and Varnish Layers (Part II), Studies in Conservation, 27 (1982) 65–69. doi :10.2307/1505989.

[4] A. Romani, C. Grazia, C. Anselmi, C. Miliani, BG. Brunetti, 2011, New portable instrument for combined reflectance, time-resolved and steady-state luminescence measurements on works of art. In : Pezzati L, Salimbeni R (eds) SPIE Proceedings vol. 8084 : O3A : Optics for Arts, Architecture, and Archaeology III. doi :10.1117/12.889529.

[5] C. Miliani, F. Rosi, B.G. Brunetti, A. Sgamellotti. "In Situ Noninvasive Study of Artworks : The MOLAB Multitechnique Approach". Accounts of Chemical Research. 2010. 43(6) : 728-738.

[6] G. Verri, C. Clementi, D. Comelli, S. Cather, F. Piqué, Correction of ultraviolet-induced fluorescence spectra for the examination of polychromy, *Appl. Spectrosc.* 62 (12), 1295-1302, 2008.

[7] A. Mounier, S. Lazare, G. Le Bourdon, C. Aupetit, L. Servant, F. Daniel, LEDµSF : A new portable device for fragile artworks analyses. Applications on medieval pigments, *MicroChemical Journal*, 126C, 480-487, 2016. DOI 10.1016/j.microc.2016.01.008.

[8] L. Simonot, M. Thoury, J. Delaney, Extension of the Kubelka-Munk theory for fluorescent turbid media to a nonopaque layer on a background, *Opt. Soc. Am.* 28 (7), 1349–1357, 2011.

[9] C. Clementi, B. Doherty, P.L. Gentili, C. Miliani, A. Romani, B.G. Brunetti, A. Sgamellotti, Vibrational and electronic properties of paintings lakes, *Appl. Phys.* A Mater. Sci. Process. 92, 25-33, 2008.

[10] A. Nevin, D. Anglos, S. Cather, A. Burnstock, The influence of visible light and inorganic pigments on fluorescence excitation emission spectra of egg-, casein- and collagen based painting media, *Appied Physics* A, Mater. Sci. Process. 92 (5), 69-76, 2008.

[11] M.M. Sousa, C. Miguel, I. Rodrigues, A. J. Parola, F. Pina, J. S. Seixas de Melo, M. J. Melo, A photochemical study on the blue dye indigo : from solution to ancient Andean textiles, Photochem. Photobiol. Sci. 7, 1353-1359, 2008.

[12] A. Pelagotti, L. Pezzati, Bevilacqua N., V. Vascotto, V. Reillon, C. Daffara, 2005, A study of UV fluorescence emission of painting materials, proceedings of the 8th Int. Conf. on "Non-Destructive Testing and Microanalysis for the Diagnostics and Conservation of the Cultural and Environmental Heritage".

[13] M. Derrick, J. Wright, R. Newman, 2017, Plant dye identification in Japanese woodblock prints, *Arnoldia 74/3*, 12-28.

[14] A. Mounier, G. Le Bourdon, C. Aupetit, S. Lazare, J. C. Biron, Perez-Arantegui, D. Almazan, F. Daniel, 2018, Red and blue colours on 18th-19th century Japanese woodblock prints. In situ analyses by spectrofluorimetry and complementary noninvasive spectroscopic methods, TECHNART 2017, *Micro Chemical Journal* 140, pp129-141, DOI : 10.1016/j.microc.2018.04.023.

[15] A. Mounier, G. Le Bourdon, C. Aupetit, L. Servant, F. Daniel, Hyperspectral imaging, spectrofluorimetry, FORS and XRF for the non-invasive study of mediaeval miniatures materials, Technart 2013, Heritage Science, 2 :24, 2014.

[16] M. Oujja, A. García, C.R. Romero, J. Vázquez de Aldana, P. Moreno, M. Castillejo, UV laser removal of varnish on tempera paints with nanosecond and femtosecond pulses, *Phys. Chem.* Chem. Phys. 13, 4625–4631, 2011.

[17] M. Oujja, M. Sanz, E. Rebollar, J.F. Marco, C. Domingo, P. Pouli, S. Kogou, C. Fotakis, M.

Castillejo, Wavelength and pulse duration effects on laser induced changes on raw pigments used in paintings, *Spectrochim. Acta* A 102, 7-14, 2013.

[18] A. Casini, F. Loti, M. Picollo, L. Stefani, A. Aldrovandi, Fourier transform interferometric imaging spectrometry : a new tool for the study of reflectance & fluorescence of polychrome surfaces, *Conserv. Sci.* 38, 248-252, 2002.

[19] P.L. Lang, M.V. Orna, L.J. Richwine, T.F. Mathews, R.S. Nelson, The visible and infrared microspectroscopic characterization of organic red pigments removed from three medieval byzantine manuscripts, *Microchemical Journal.* 46, 234-248, 1992.

[20] K. Stathopoulou, L. Valianou, A.L. Skaltsounis, I. Karapanagiotis, P. Magiatis, Structure elucidation and chromatographic identification of anthraquinone components of cochineal (Dactylopius coccus) detected in historical objects, *Anal. Chim. Acta* 804, 264-272, 2013.

[21] G. Accorsi, G. Verri, M. Bolognesi, N. Armaroli, C. Clementi, C. Miliani, A. Romani, The exceptional near-infrared luminescence properties of cuprorivaite (Egyptian blue), *Chem. Commun.*, 3392-3394, 2009.

[22] A. Mounier, L. Dayet, C. Belin, F. Daniel, Etude de la fluorescence des liants employés dans les dorures sur peintures murales médiévales. *Archéosciences – Revue d'archéométrie*, 35, 19-28, 2011.

[23] A. Mounier, C. Belin, F. Daniel, Spectrofluorimetric study of the ageing of mixtions used in the gildings of mediaeval wall paintings, *Environmental Science and Pollution Research* (ESPR), Vol.18, Issue 5, pp. 772-782, 2011.

[24] A. Mounier, « *Aurum, argentum et aliae res innumerabiles*, Les dorures dans les peintures murales médiévales du Sud-Ouest de la France ». Thèse de doctorat de l'Université Michel de Montaigne de Bordeaux, 460 pages, 2010.

[25] F. Pottier, A. Michelin, C. Andraud, F. Goubard, B. Lavédrine, 2018, Characterizing the Intrinsic Fluorescence Properties of Historical Painting Materials : The Case Study of a Sixteenth-Century Mesoamerican Manuscript, Appl Spectrosc. 72(4) : 573-583. DOI : 10.1177/0003702817747276.

[26] E. West FitzHugh, J. Winter, M. Leona, Pigments in later Japanese paintings, freer gallery of art occasional papers new series vol. 1 Smithsonian Institution Washington, D. C., 87 p, 2003.

[27] S. Sasaki, E. I. Coombs, Dayflower blue : Its appearance and lightfastness in traditional Japanese prints, Scientific research on the pictorial arts of Asia, in Proceedings of the Second Forbes Symposium at the Freer Gallery of Art, Edited by Paul Jett, John Winter, and BIytlie McCarthy, in association with the Freer Gallery of Art, Smithsonian Institution (2005) 48-56.

[28] D. Saunders & J. Kirby, Light-induced colour changes in red and yellow lake pigments, *National Gallery technical bulletin* vol. 15, 79-97, London, 1994.

[29] I. Degano, E. Ribechini, F. Modugno, M.P. Colombini, Analytical methods for the characterization of organic dyes in artworks and in historical textiles, Applied Spectroscopy Reviews, 44 :5, 363-410, 2009.