



## Sommaire

	Page
1	1
2	1
3	1
4	2
4.1	2
4.2	2
4.3	2
4.4	2
4.5	2
4.6	2
4.7	2
5	2
5.1	2
5.2	6
5.3	6
6	6
6.1	6
6.2	7
6.3	8
7	8
8	8
9	8
10	8

iTech STANDARD PREVIEW  
(standards.itech.ai)

[ISO 9555-4:1992](https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/7604043b-ee40-4582-ba67-9425bb785086/iso-9555-4-1992)

<https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/7604043b-ee40-4582-ba67-9425bb785086/iso-9555-4-1992>

© ISO 1992

Droits de reproduction réservés. Aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation  
Case Postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse

Imprimé en Suisse

**Annexe**

<b>A</b>	Caractéristiques générales des traceurs fluorescents d'usage courant .....	<b>9</b>
----------	--	----------

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 9555-4:1992](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7604043b-ee40-4582-ba67-9425bb785086/iso-9555-4-1992)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7604043b-ee40-4582-ba67-9425bb785086/iso-9555-4-1992>

## Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 9555-4 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 113, *Mesure de débit des liquides dans les canaux découverts*, sous-comité SC 4, *Méthodes de dilution*.

L'ISO 9555 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Mesure de débit des liquides dans les canaux découverts – Méthodes de dilution en régime permanent utilisant des traceurs*:

- *Partie 1: Généralités*
- *Partie 2: Traceurs radioactifs*
- *Partie 3: Traceurs chimiques*
- *Partie 4: Traceurs fluorescents*

L'annexe A fait partie intégrante de la présente partie de l'ISO 9555.

## Introduction

L'ancienne série de normes ISO 555 a été subdivisée en fonction de la méthode utilisée in situ, c'est-à-dire la méthode d'injection à débit constant et la méthode par intégration (injection instantanée). Étant donné que le choix du traceur à utiliser in situ dépend souvent de la compétence de l'utilisateur et de l'équipement de laboratoire disponible, la nouvelle série de normes ISO 9555 est divisée en fonction du type de traceur utilisé. Ainsi, une telle division s'avèrera plus pratique pour l'utilisateur et permettra d'éviter les répétitions inutiles dans le texte des différentes parties.

L'ISO 9555 traite du mesurage de débits dans les canaux découverts, en régime permanent, par les méthodes de dilution utilisant des traceurs. Toutefois, ces méthodes peuvent être étendues au mesurage de débits variant lentement. Ces méthodes ne s'appliquent que lorsque les conditions d'écoulement assurent un mélange convenable de la solution injectée à l'ensemble de l'écoulement.

Pour le mesurage de débits très importants, toute méthode utilisant des traceurs peut être onéreuse en termes de coût de traceur et de durée de mesurage. Néanmoins, l'utilisation des traceurs minimise souvent les dangers pour le personnel pendant les fortes crues.

L'ISO 9555-1 présente les principes généraux des méthodes par injection à débit constant et par intégration (injection instantanée). L'ISO 9555-2, l'ISO 9555-3 et l'ISO 9555-4 traitent des aspects spécifiques de l'usage des traceurs radioactifs, chimiques et fluorescents, respectivement, ainsi que des procédés spécifiques d'analyse.

Ce plan a été retenu pour les raisons suivantes:

- faciliter les opérations ultérieures de mise à jour, les compléments ou révisions qui ne devraient concerner que l'ISO 9555-2, l'ISO 9555-3 ou l'ISO 9555-4;
- rendre le document plus pratique pour l'utilisateur qui est souvent conduit à choisir le traceur le plus approprié à l'équipement d'analyse disponible.

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 9555-4:1992

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7604043b-ee40-4582-ba67-9425bb785086/iso-9555-4-1992>

# Mesure de débit des liquides dans les canaux découverts — Méthodes de dilution en régime permanent utilisant des traceurs —

## Partie 4: Traceurs fluorescents

### 1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 9555 traite de l'utilisation de traceurs fluorescents dans le cadre des mesurages de débits par la méthode de dilution. Les appareils et procédés d'application sont exposés dans l'ISO 9555-1 et ne sont pas répétés ici, à l'exception de ceux qui sont spécifiques aux traceurs fluorescents.

Les traceurs fluorescents sont d'un emploi séduisant en raison des faibles quantités de traceur requises pour une mesure de débit. Certains traceurs fluorescents peuvent être détectés à des concentrations inférieures à 1 µg/l. Ils sont en outre faciles à manipuler et à doser.

### 2 Référence normative

La norme suivante contient des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente partie de l'ISO 9555. Au moment de la publication, l'édition indiquée était en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente partie de l'ISO 9555 sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer l'édition la plus récente de la norme indiquée ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 772:1988, *Mesure de débit des liquides dans les canaux découverts — Vocabulaire et symboles.*

### 3 Définitions

Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 9555, les définitions données dans l'ISO 772:1988 et les définitions suivantes s'appliquent.

**3.1 fluorescence:** Émission d'ondes électromagnétiques d'énergie caractéristique au moment où un atome ou une molécule passe d'un état d'excitation à un état énergétique plus faible. L'excitation peut être obtenue par exposition de la substance à un rayonnement d'énergie légèrement plus élevée (longueur d'onde plus courte) que celle de l'émission caractéristique, et cesse dès que la source extérieure est occultée.

**3.2 fluorimètre (à filtre):** Appareil équipé d'une lampe ou d'un moyen quelconque d'exciter un rayonnement fluorescent dans un échantillon, de filtres et d'un détecteur capable de mesurer les intensités de fluorescence relatives dues aux différentes concentrations de la substance dosée. Si les longueurs d'onde sont déterminées à l'aide d'un monochromateur, l'appareil est appelé spectrofluorimètre.

**3.3 extinction de fluorescence:** Diminution de l'intensité de fluorescence due à l'interaction des molécules colorées avec d'autres produits chimiques présents dans l'eau. L'extinction due à la concentration est un phénomène qui ressemble à l'extinction de fluorescence mais n'est pas une vraie extinction. C'est, au contraire, une diminution de la vitesse de montée de la courbe de lecture du fluorimètre alors que la concentration en colorant continue à augmenter par suite d'une augmentation

de la densité optique du colorant lui-même. L'extinction de concentration ne se produit qu'à des concentrations très élevées.

## 4 Traceurs utilisés

### 4.1 Généralités

Un certain nombre de colorants fluorescents ont été utilisés comme traceurs pour la mesure du débit dans les canaux découverts. Les eaux dans la gamme du cours d'eau ayant des fluorescences de fond plus faibles dans la gamme de longueurs d'onde de l'orange que dans celle dans la gamme du vert ou du bleu, la bande orange offre une sensibilité plus grande que les bandes verte ou bleue.

Six colorants fluorescents sont examinés ici pour la mesure de débit: fluorescéine et rhodamine B (voir 4.2 et 4.3) qui ont été beaucoup utilisées dans le passé mais ne sont plus recommandées pour les mesures de débit. Les quatre autres traceurs qui sont le jaune acide 7, la sulfo-rhodamine B, la pyranine et la rhodamine WT (voir 4.4 à 4.7) ont de bonnes propriétés pour la mesure de débit et seront étudiés dans le cours de la présente partie de l'ISO 9555. D'autres traceurs tels que l'éosine (rouge acide 87) n'ont pas encore fait l'objet de vastes études mais pourraient être employés dans l'avenir.

Les caractéristiques générales des traceurs fluorescents d'usage courant sont données sous forme de tableau dans l'annexe A.

### 4.2 Fluorescéine

La fluorescéine, quelquefois appelée fluorescéine de sodium, est l'un des plus anciens colorants utilisés comme traceur dans l'eau. Elle est toutefois extrêmement sujette à la dégradation photochimique et sa fluorescence peut varier lorsque le pH est inférieur à 6,5. Beaucoup de cours d'eau présentent par ailleurs une fluorescence de fond élevée similaire à celle de la fluorescéine. Ce colorant n'est donc pas recommandé pour la mesure de débit dans les canaux découverts.

### 4.3 Rhodamine B

La rhodamine B est également beaucoup utilisée comme traceur dans l'eau. Elle est toutefois facilement adsorbée sur les sédiments, les flacons d'échantillonnage et les matériels d'essai. On a également trouvé qu'elle présentait une certaine toxicité vis-à-vis des organismes aquatiques dans des conditions données. En général cependant, les concentrations élevées créant des problèmes de toxicité ne se rencontrent que pour des durées insignifiantes et juste au niveau du point d'injection du colorant. La rhodamine B n'est toutefois pas re-

commandée pour les mesurages du débit en raison des pertes élevées par adsorption qu'elle connaît.

### 4.4 Jaune acide 7

Le jaune acide 7 est aussi connu sous les noms de lissamine FF, de jaune de lissamine FP, de sulfoflamine brillante FF ou de jaune acide brillant 8G.

### 4.5 Sulfo-rhodamine B

La sulfo-rhodamine B est aussi connue sous les noms de rose brillant de pontacycle B, de rouge de lissamine 4B, de rhodamine kiton B', de rhodamine acide B'', de kénacide-G, et d'aminorhodamine-g extra.

### 4.6 Pyranine

La pyranine est aussi connue sous le nom de vert solvant 7.

### 4.7 Rhodamine WT

La rhodamine WT est très utilisée comme traceur dans l'eau alors que la sulfo-rhodamine B, le jaune acide 7 et la pyranine le sont moins.

## 5 Mesurage du traceur

### 5.1 Principes

L'analyse fluorimétrique ou fluorimétrie est fondée sur le phénomène physique appelé fluorescence.

La fluorescence résulte d'une suite presque instantanée de phénomènes se déroulant comme suit:

- a) absorption de l'énergie d'une source extérieure telle que soleil ou lampe à ultraviolet;
- b) excitation de certains électrons de la substance fluorescente les transférant sur des orbites plus élevées, c'est ce qu'on appelle «l'état excité»;
- c) émission d'énergie sous forme de photons (lumière) au moment où les électrons excités retournent à leur position normale ou «état fondamental».

L'énergie émise par fluorescence a presque toujours des longueurs d'onde plus longues et des fréquences plus basses que l'énergie absorbée en raison de la perte d'énergie subie au cours du processus (loi de Stokes). C'est sur cette propriété de spectre double, c'est-à-dire combinaison spécifique différente des spectres d'excitation et d'émission pour chaque substance fluorescente, que se fonde la fluorimétrie et c'est ce qui en fait un outil d'analyse précis et sensible.



La plupart des substances sont au moins légèrement fluorescentes. Cette fluorescence s'observe, la plupart du temps dans une gamme de longueurs d'onde située entre 200 nm et 800 nm, c'est-à-dire entre la lumière ultraviolette et la lumière visible. Les substances fortement fluorescentes transforment un pourcentage élevé d'énergie absorbée en énergie émise. Par un heureux concours de circonstances, la plupart des substances fortement fluorescentes le sont dans la partie du spectre comprise entre l'ultraviolet et le vert, alors que peu de substances, y compris les traceurs colorés recommandés pour la mesure de débit, sont fluorescentes dans la bande jaune-orange. Ces colorants sont fortement fluorescents dans les solutions diluées. Parmi les matières fluorescentes trouvées dans les cours d'eau, on peut citer les algues et d'autres produits organiques naturels, certains produits pétroliers et les agents d'avivage des couleurs dans les détergents de blanchissage.

L'intensité de la fluorescence est affectée à des degrés divers par certains facteurs physiques ou chimiques, tels que la nature du solvant, la concentration, la température, le pH, la dégradation photochimique ou l'extinction de la fluorescence.

Le fluorimètre est l'élément fondamental de l'équipement de mesure de la fluorescence. C'est un instrument qui donne une mesure relative de l'intensité de la lumière émise par un échantillon contenant une substance fluorescente, l'intensité de la lumière fluorescente étant proportionnelle à la quantité de substance fluorescente présente.

Un fluorimètre se compose de six éléments comme le montre la figure 1. Tous les fluorimètres disponibles dans le commerce sont construits sur le même principe de base.

La sensibilité du fluorimètre détermine la limite inférieure de détectabilité d'un colorant. La sensibilité de l'appareil et, par suite, son aptitude à détecter le colorant dépendent, pour un fluorimètre et un colorant donnés, des caractéristiques et des interdépendances des éléments optiques constituant l'appareil. En règle générale l'élément détecteur du fluorimètre est fixe ou difficile à démonter, mais la source d'énergie (ou de lumière) et les filtres colorés peuvent être adaptés au colorant utilisé pour donner des meilleurs résultats.

Il convient de noter qu'une plus grande sensibilité de l'appareil peut également accroître les effets indésirables du type perturbations de fond. Pour être utile, tout changement d'une partie de l'optique doit entraîner une amélioration de la détection du colorant.

L'objectif du choix de la lampe et du filtre coloré est d'obtenir une sensibilité maximale au colorant sans sacrifier la sélectivité. La sélectivité est la capacité d'isoler une partie du spectre de fluorescence du colorant de la fluorescence de fond qui peut perturber la mesure.

Les filtres colorés ont pour effet de limiter autant que possible la lumière parvenant au détecteur, à celle qui est rendue fluorescente par le produit colorant. Le choix du filtre doit se fonder sur:

- le spectre utile d'émission de la lampe;
- les caractéristiques du spectre de fluorescence du colorant;
- les interférences éventuelles avec la fluorescence des matériaux présents dans le cours d'eau;
- les interférences éventuelles avec la lumière diffusée par l'échantillon.

La figure 2 représente le graphique des spectres d'excitation et d'émission des colorants cités dans la présente partie de l'ISO 9555. L'annexe A indique les colorants choisis, leurs longueurs d'onde maximales d'excitation et d'émission, ainsi que d'autres caractéristiques de ces colorants.

L'association d'une lampe au xénon et d'un spectrofluorimètre produit une lumière de longueur d'onde appropriée pour l'excitation des colorants susmentionnés. Si le fluorimètre utilisé est à filtre, diverses lampes et filtres seront nécessaires selon les colorants. Certaines lampes à vapeur de mercure à basse pression donnent une lumière dont la longueur d'onde excite de façon convenable les colorants susmentionnés. Il convient toutefois de monter différents jeux de filtres.

Si le fluorimètre est équipé de filtres, le filtre primaire doit laisser passer un spectre maximal de la source de lumière coïncidant avec le spectre d'excitation du colorant tout en minimisant autant que possible le bruit de fond. Le filtre secondaire doit, lui, laisser passer autant de lumière émise que possible. Toutefois le spectre de lumière autorisé à passer au travers du filtre primaire ne doit pas présenter de recouvrement avec le spectre de lumière pouvant passer au travers du filtre secondaire. On peut à cet effet utiliser une combinaison de deux ou trois filtres donnant les caractéristiques requises d'un filtre primaire ou secondaire. Il n'est pas à négliger, cependant, que plus les filtres sont nombreux, plus la quantité de lumière pouvant les traverser diminue, ce qui fait augmenter le niveau minimal des concentrations détectables.