

**DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO CUÁNTICO Y TIEMPOS DE VIDA
MEDIA DE FLUORESCENCIA EN SUSTANCIAS COLORANTES CON
APLICACIONES COMO FUENTES LÁSER.**

REGGY BRIEVA GARCÍA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2011

**DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO CUÁNTICO Y TIEMPOS DE VIDA
MEDIA DE FLUORESCENCIA EN SUSTANCIAS COLORANTES CON
APLICACIONES COMO FUENTES LÁSER.**

REGGY BRIEVA GARCÍA

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para obtener el título de
QUÍMICO**

**M.SC. RAFAEL CABANZO HERNÁNDEZ
DIRECTOR**

**PH.D. ENRIQUE MEJÍA OSPINO
CO - DIRECTOR**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2011

*A mis Padres, Amaury Brieva y Milanis García,
Que me educaron de la mejor manera como persona para que llegara
tan lejos como mis sueños
Que me inculcaron, que el valor de una persona está en lo que uno es,
no en lo que posee,
Que aceptan mis decisiones y nunca se reservan palabras de cariño,
aliento, ánimo y consejos.*

*A mis queridos hermanos Daulis y Melissa,
les agradezco todos los buenos momentos,*

*A mi compañero del alma Diego Torres y mi tío Jose Manuel,
por su apoyo y los buenos consejos que me han brindado.*

AGRADECIMIENTOS

Como autor de este trabajo quiero dar mis sinceros agradecimientos a:

A mi familia por su ejemplo, apoyo y voz en todas las etapas de mi vida.

A los docentes Rafael Cabanzo y Enrique Mejía por sus aportes, paciencia y orientación en el desarrollo de esta tesis de grado.

A todos los compañeros del laboratorio de espectroscopía atómica y molecular por su valiosa colaboración.

Así mismo a los compañeros que de una u otra forma me acompañaron, y me respaldaron en el desarrollo de mi vida universitaria.

A mi novia Fay Zuly Dueñez Ibarra por su amor, compañía y consejos que hicieron posible que alcanzara tan anhelada meta.

CONTENIDO

	PÁG.
INTRODUCCIÓN	13
1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS	15
1.1 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE	15
1.1.1 Generalidades	15
1.1.1.1 Regiones del espectro Ultravioleta-Visible	15
1.1.1.2 Características de las bandas de absorción en la región Ultravioleta-Visible	16
1.1.1.3 Colorantes	17
1.2 FOTOFÍSICA MOLECULAR	18
1.2.1 LA CONVERSIÓN INTERNA (CI)	20
1.2.2 EL CRUZAMIENTO ENTRE SISTEMAS (CES)	21
1.2.3 LA CONVERSIÓN EXTERNA (CE)	22
1.3 FLUORESCENCIA	22
1.3.1 CARACTERÍSTICAS DE LA EMISIÓN DE FLUORESCENCIA	22
1.3.2 VARIABLES QUE AFECTAN LA FLUORESCENCIA	25
1.3.3 FACTORES QUE AFECTAN LA MEDIDA DE LA INTENSIDAD DE FLUORESCENCIA	28
1.3.3.1 Efecto de filtro interno de emisión o autoabsorción	28
1.4 TIEMPO DE VIDA MEDIA Y RENDIMIENTO CUÁNTICO	29
2. PARTE EXPERIMENTAL	32
2.1 ESQUEMA EXPERIMENTAL	32
2.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRAS	33
2.3 DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE ESPECTROS ULTRAVIOLETA-VISIBLE Y ESPECTROS DE FLUORESCENCIA	33
2.3.1 ESPECTROFOTÓMETROS Uv-Vis	33

2.4	OBTENCIÓN DE ESPECTROS	33
2.4.1	ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ULTRAVIOLETA-VISIBLE	33
2.4.2	ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA EN ESTADO ESTACIONARIO	35
2.5	ADQUISICIÓN DE DATOS	37
2.6	PROCESAMIENTO DE DATOS	39
2.6.1	ESPECTROS DE ABSORCIÓN	39
2.6.2	ESPECTROS DE FLUORESCENCIA	41
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	44
3.1	CORRECCIÓN DE LOS ESPECTROS DE EMISIÓN DE FLUORESCENCIA	44
3.2	DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA DE FLUORESCENCIA	46
4.	CONCLUSIONES	50
5.	RECOMENDACIONES	51
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE FIGURAS

	PÁG.
Figura 1.1. Estructura química de un colorante de cumarina	17
Figura 1.2 Estructura química de un colorante de 1,4-bis-(5-fenil-oxazol-2)- benceno (POPOP)	18
Figura 1.3. Diagrama de energía de Jablonski	21
Figura 1.4. Espectro de fluorescencia y de absorción molar en función del número de onda de cumarina 30 en metanol	24
Figura 1.5. Principio de Franck Condon	25
Figura 2.1. Esquema metodológico	32
Figura 2.2. Espectrofotómetro UV-2401 PC	34
Figura 2.3 Estructura de sulfato de quinina	35
Figura 2.4. Espectrofluorímetro QM-40 <i>Photon technology international, Inc</i>	35
Figura 2.5. Módulo óptico	36
Figura 2.6. Espectro de absorción de cumarina 30, cumarina 07 y popop disueltos en acetona	38
Figura 2.7 Espectro de fluorescencia de sulfato de quinina en H ₂ SO ₄ 0.1 N y cumarina 30, cumarina07 y popop disueltos en acetona	38
Figura 2.8. Espectro de absorción de Cumarina 30 en los diferentes solventes	39
Figura 2.9. Espectro de absorción de Cumarina 07 en los diferentes solventes	39
Figura 2.10. Espectro de absorción de Popop en los diferentes solventes	40
Figura 2.11. Espectro de fluorescencia de cumarina 07 en los diferentes Disolventes	41
Figura 2.12. Espectro de fluorescencia de cumarina 30 en los diferentes Solventes	41
Figura 2.13. Espectro de fluorescencia de Popop en los diferentes solventes	42
Figura 2.14. Diagrama de Jablonski para fluorescencia con relajación solvente	43
Figura 3.1. Espectro de fluorescencia de sulfato de quinina corregido y no corregido	44

LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1. Rendimientos cuánticos de los colorantes en los distintos solventes	45
Tabla 3.2. Tiempos de vida media de cumarina 30 en los diferentes solventes	46
Tabla 3.3. Tiempos de vida media de cumarina 07 en los diferentes solventes	47
Tabla 3.4. Tiempos de vida media de popop en los diferentes solventes	47
Tabla 3.5. Corrimientos Stokes	48
Tabla 3.6. Energías del primer estado excitado en los diferentes solventes	49

RESUMEN

TÍTULO: DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO CUÁNTICO Y TIEMPOS DE VIDA MEDIA DE FLUORESCENCIA EN SUSTANCIAS COLORANTES CON APLICACIONES COMO FUENTES LÁSER. *

AUTOR

BRIEVA GARCÍA, Reggy **

PALABRAS CLAVES

FLUORESCENCIA, RENDIMIENTO CUÁNTICO, TIEMPO DE VIDA

DESCRIPCIÓN

En la presente tesis se trabajó uno de los principales intereses de la espectroscopia óptica molecular y del láser, como lo es el cubrimiento de la franja espectral más ancha posible con emisión láser; usando colorantes orgánicos como medios activos. Para ello se proponen los colorantes orgánicos cumarina y 1,4-bis-(5 fenil-oxazol-2)-benceno (*POPOP*) como medios activos para láseres de colorantes por presentar alta fluorescencia; por otra parte cuando estas sustancias se solubilizan en solventes orgánicos con diferente polaridad y carácter prótico presentan variaciones en parámetros fotofísicos tales como lo son el rendimiento cuántico de fluorescencia, y tiempo de vida media del estado singulete excitado, además, en sus espectros se presentan corrimientos en las bandas de absorción y emisión. En el presente trabajo se muestran las variaciones observadas en los espectros de absorción y emisión de fluorescencia además del comportamiento de éstas en los diferentes parámetros fotofísicos cuando se trabaja con cinco solventes los cuales son etanol, metanol, cloroformo, acetonitrilo y acetona; utilizando como referencia el estándar de sulfato de quinina 0,1 N. Los resultados presentaron colorantes con altos valores de rendimiento cuánticos y tiempos de vida que aumentan la posibilidad de usarlos en algunos solventes como potenciales medios activos para láseres de colorantes.

* Proyecto de Grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director Rafael Cabanzo Hernández.
Codirector Enrique Mejía Ospino.

SUMARY

TITLE: DETERMINATION OF THE QUANTUM YIELD AND LIFETIME OF FLUORESCENCE IN DYES WITH APPLICATIONS AS DYES LASER. *

AUTHOR

BRIEVA GARCÍA, Reggy. **

KEY WORDS

FLUORESCENCE, QUANTUM YIELD, LIFETIME

DESCRIPTION

In this paper work was one of the main interests of optical molecular spectroscopy and laser, as in the spectral band covering the widest possible laser emission, using organic dyes as active media. In this study proposes the organic dyes coumarin and 1,4-bis-(5 phenyl-oxazolyl-2)-benzene (*POPOP*) as active media for dye laser exhibit high fluorescence, and furthermore that these substances are solubilized in organic solvents with different polarity and protic character are variations in photophysical parameters such as are fluorescence quantum yield and average lifetime of singlet excited state, also their spectra show shifts in absorption and emission bands. In the present study shows the variations observed in the absorption spectra and fluorescence emission in addition to their behavior in the photophysical parameters when working with five solvents which are ethanol, methanol, chloroform, acetonitrile and acetone, used as standard reference quinine sulfate 0.1 N. The results showed dyes with high quantum yield values and lifetimes that increase the possibility of using them in some solvents as potential active media for dye lasers.

* Word Degree

** Sciences Faculty. Chemistry School. Directress Rafael Cabanzo Hernández.
Codirectress Enrique Mejía Ospino.

INTRODUCCIÓN

La palabra láser es un acrónimo de *Ligh Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, un proceso por el cual la energía eléctrica es convertida en energía lumínica. El concepto de emisión estimulada fue elaborado, en primer lugar por Albert Einstein en 1916, pero sólo hasta 1953 Charles Townes demostró prácticamente dicho principio. En 1960 un cristal de Rubí fue estimulado para producir luz láser, siendo utilizado inicialmente en medicina dentro del campo de la oftalmología ¹.

En muchos trabajos de investigación se ha mostrado que una forma de abordar el “Primer problema fundamental de interés común de la Espectroscopia Óptica Molecular y la Física del Láser”: El cubrimiento de la franja espectral más ancha posible con emisión láser; es usando colorantes como medios activos.²

Los compuestos orgánicos debido a sus propiedades ópticas-espectrales y fotoestabilidad han permitido que algunos de ellos hayan sido con éxito utilizados como medios activos de láseres sintonizables. De otro lado, La Física del Láser y la instrumentación electrónica dentro de sus áreas de investigación han desarrollado el campo perfecto para producir nuevas tecnologías³, así por ejemplo, La *Tecnología Láser* se ocupa de la implementación de láseres y sistemas basados en ellos⁴ con el propósito de ofrecer haces luminosos con características específicas para diversas aplicaciones y/o investigaciones en ciencias básicas.

Sin embargo debido a que los fenómenos fotofísicos ocurren en tiempos muy cortos, se hace más difícil y tedioso medir tiempos de vida de fluorescencia con los instrumentos que se cuenta actualmente para este fin, por otro lado el rendimiento cuántico de fluorescencia muestra la eficiencia del proceso fluorescente; la eficiencia cuántica en un solo paso es definida como el número de sucesos definidos que ocurren por fotón absorbido por el sistema. Se utiliza, también, en el sentido de una medida cuantitativa de la velocidad relativa de un

paso, dado que involucra a una especie con respecto a la suma de las velocidades de todos los procesos paralelos que consumen dicha especie⁵. Uno de los problemas de interés de la física del láser y la espectroscopia óptica es el desarrollo de láseres de colorantes confiables y de bajo costo a partir del uso de técnicas de instrumentación analítica, además estas propiedades los hacen muy atractivos para la industria.

No obstante, a través del tiempo se han hecho varios estudios sobre medios activos de colorantes como lo son la cumarina 503, cumarina 460, cumarina 409, rodamina 6G, entre otros, con los cuales se han cubierto todo el espectro visible, desde el cercano ultravioleta (365nm) al rojo (670 nm).⁶ En este trabajo se proponen otros colorantes como lo son la cumarina 30, cumarina 07 y popop, gracias a que estos pueden presentar buenos rendimientos cuánticos y largos tiempos de vida que los hacen útiles al momento de usarlos como medios activos para láseres sintonizables.

1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS

1.1. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE

1.1.1 GENERALIDADES

1.1.1.1 Regiones del espectro Ultravioleta-Visible

La región del espectro electromagnético que corresponde a las transiciones que involucran a electrones de la capa de valencia se extiende por longitudes de onda que van desde 100 a 1000nm (regiones ultravioleta-visible e infrarroja cercana). Sin embargo no toda esta zona es de igual utilidad para la elucidación de estructuras orgánicas⁷.

Por ejemplo, la región por debajo de 200 nm, conocida como ultravioleta lejano, es complicada de usar debido a que en esta región del espectro absorben las moléculas de N_2 , O_2 y Ar , de manera que es imprescindible trabajar con equipos evacuados (Ultravioleta de vacío).

La región ultravioleta cercano, de 200 a 400 nm, no presenta los inconvenientes del ultravioleta lejano, es práctico y eficaz en la determinación estructural de insaturación conjugada, aromaticidad o de ciertos grupos insaturados con pares de electrones libres (carbonilo, nitro, etc.). Se usa cuarzo en los materiales ópticos para trabajar con longitudes de onda inferiores a 350 nm, el vidrio en la región restante del ultravioleta cercano y en toda la región visible.

Las bandas de absorción presentes en la región de 400 hasta cerca de 800nm pertenecen a transiciones electrónicas de baja energía; no obstante, pueden presentarse ciertas transiciones electrónicas a longitudes de onda mayores de 800nm, pero no son usuales en los compuestos orgánicos.⁷

1.1.1.2 Características de las bandas de absorción en la región Ultravioleta-Visible

Las transiciones electrónicas en moléculas se presentan en forma de bandas anchas en un espectro de UV-visible, ya que se superponen transiciones electrónicas, vibracionales y rotacionales; con modificación simultánea de los niveles de energía. Por otro lado las bandas electrónicas con estructura fina vibracional y subestructura rotacional no bien resuelta es común en moléculas pequeñas en fase gaseosa, mientras que en moléculas más complejas la multiplicidad de los niveles vibracionales hace que el gran número de transiciones de similar energía produzca bandas de absorción continuas sin estructura fina vibracional evidente.

Las principales características de una banda de absorción son:

La posición de la banda, se da por la longitud de onda para la cual se observa la máxima intensidad, generalmente se expresa como λ_{\max}/nm o número de onda $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$.

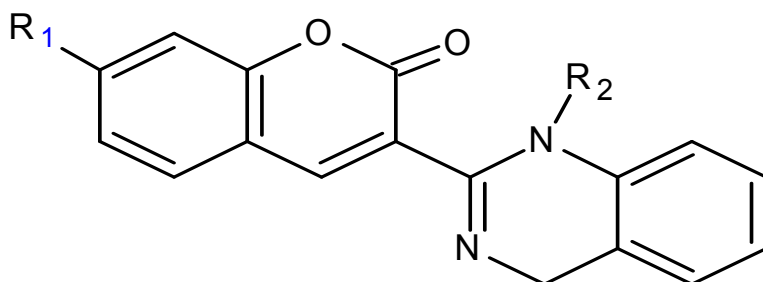
La intensidad de la banda de absorción corresponde al máximo valor del coeficiente de absorción molar. Se producen absorciones intensas cuando una transición es acompañada por un gran cambio en la distribución de cargas (ϵ_{\max} del orden de 10^4), por otra parte las transiciones con pequeño cambio en la distribución de cargas producen débiles bandas de absorción (ϵ_{\max} del orden de 10^2 o inferiores). Debido a los valores típicos de los coeficientes de absorción molar en el UV, es común trabajar con soluciones de concentraciones 10^{-3} a 10^{-5} molL⁻¹.

La anchura de la banda de absorción electrónica depende del número e intensidad de los componentes vibracionales de la transición correspondiente. La distribución de intensidades entre los componentes vibracionales de una transición electrónica depende de los cambios en la geometría de equilibrio del estado fundamental y los estados excitados y es interpretada sobre la base del Principio de Franck-Condon el cual se explica más adelante.

1.1.1.3 Colorantes

Este término sirve para denominar las moléculas orgánicas con enlaces dobles conjugados. Estas sustancias suelen ser moléculas muy complejas. Existen distintas clases de colorantes orgánicos, los cuales, según sus composiciones emiten desde 320 nm a los 1000 nm, siendo el visible su zona de operatividad por excelencia.⁸ (ej. los colorantes cumarinas y popop que presentan en su estructura el esqueleto de anillos bencénicos unidos a un átomo de oxígeno).

Figura 1.1. Estructura química de un colorante cumarina



Donde $R_1 = \text{H}, \text{NO}_2, (\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{N}$ y $R_2 = \text{CH}_3, \text{NO}_2$

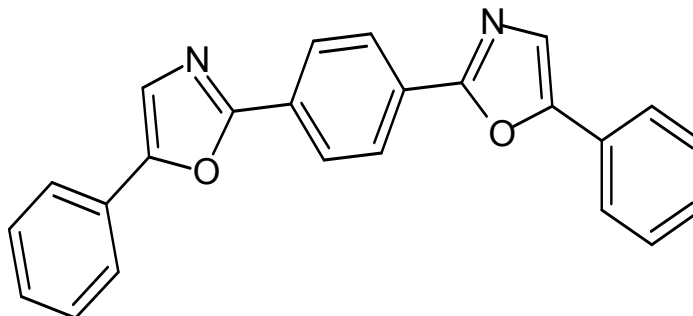
Cum 30 $R_1 = (\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{N}$ y $R_2 = \text{CH}_3$,

Cum 7 $R_1 = (\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{N}$ y $R_2 = \text{H}$

Fuente: El autor

Estos compuestos pertenecen a la familia de las benzopironas, y están compuestas por un anillo de benceno unido a un anillo de pirona, se dividen en alfa benzopironas (como es el caso de las cumarinas 7 y 30), y beta benzopironas, de los cuales los flavonoides son sus principales miembros.⁹

Figura 1.2. Estructura química de un colorante 1,4-bis-(5 fenil-oxazol-2)-benceno (POPOP)



Fuente: El autor

Se caracteriza por exhibir considerables desplazamientos de Stokes, además de presentar propiedades espectrales únicas de este tipo de compuestos, debido a la estructura y conformación asimétrica de sus moléculas en el estado fundamental y notable aplanamiento en su primer estado excitado.¹⁰ Además que presentan un alto rendimiento cuántico, esta clase de compuestos estéricamente impedido son muy útiles para el uso de diversas aplicaciones técnicas; entre ellas como medios activos para láser.

1.2 FOTOFÍSICA MOLECULAR

Cuando un fotón se acerca a una molécula se produce una perturbación, debida a la interacción entre dos campos eléctricos: uno asociado a la molécula y el otro, asociado al fotón. Éste fenómeno conduce a la absorción del fotón, el cual transfiere su energía a la molécula, promoviendo un cambio en la estructura electrónica de la misma, es decir, modificando el ordenamiento de los electrones en los orbitales moleculares de la configuración electrónica del estado basal.

La absorción del fotón envía al fluoróforo a un estado excitado singulete S_1, S_2, S_3, \dots . En la molécula, el estado electrónicamente excitado siempre será inestable comparado con el estado fundamental. Bajo esta situación, si no se cambia la estructura química de la molécula, ésta perderá su energía de excitación y volverá al estado fundamental, mediante un proceso fotofísicos, que difiere del proceso

fotoquímico porque no hay cambio en la estructura química, solo hay cambios en el estado electrónico de la molécula.

Hay diferentes vías posibles de desexcitación (ver el diagrama de Jablonski en la figura 1.3). La más favorable dependerá del tipo de molécula y de la naturaleza de los estados excitados implicados.

Estas vías de desexcitación suelen ser procesos muy rápidos y se pueden clasificar en dos categorías bien diferenciadas:

1.- *Procesos radiativos*: que implican la emisión de radiación electromagnética desde el estado electrónicamente excitado para regresar al estado electrónico fundamental.

2.- *Procesos no radiativos*: en los que la población del estado inicialmente excitado se transfiere a otro estado sin que le acompañe ninguna emisión de radiación cuando se pasa de un estado electrónico a otro. No obstante, este término también es usado para referir los procesos intramoleculares, en donde hay transiciones entre los estados electrónicos de la molécula individual en ausencia de perturbaciones externas (colisiones con otras partículas). Además estas relajaciones no radiativas suelen presentarse cuando la diferencia de energías entre niveles es muy pequeña y, ocurren, usualmente en una escala de tiempo mucho más corta que las transiciones radiativas.

Haciendo uso de los dos procesos mencionados anteriormente, se pueden distinguir dos tipos de transiciones radiativas: la fluorescencia y la fosforescencia.

La fluorescencia implica la emisión radiativa desde un estado excitado de igual multiplicidad que el estado inferior de la transición.⁵ En los estados excitados singulete ocurre la transición $S_1 \rightarrow S_0$, en donde un electrón en el orbital excitado, S_1 , está apareado con un electrón en el orbital basal, S_0 , sin producirse una modificación en la multiplicidad de espín. En consecuencia, la emisión fluorescente está permitida. Las velocidades de emisión están en el rango de los nanosegundos.

Por el contrario, si la multiplicidad de espín del estado que emite es diferente a la del estado inferior se produce la fosforescencia. De este modo, en el proceso de fosforescencia el estado triplete de menor energía es poblado, a menudo por un cruce entre sistemas desde el estado S_1 , y a continuación se puede observar la transición $T_1 \rightarrow S_0$, o la fosforescencia.

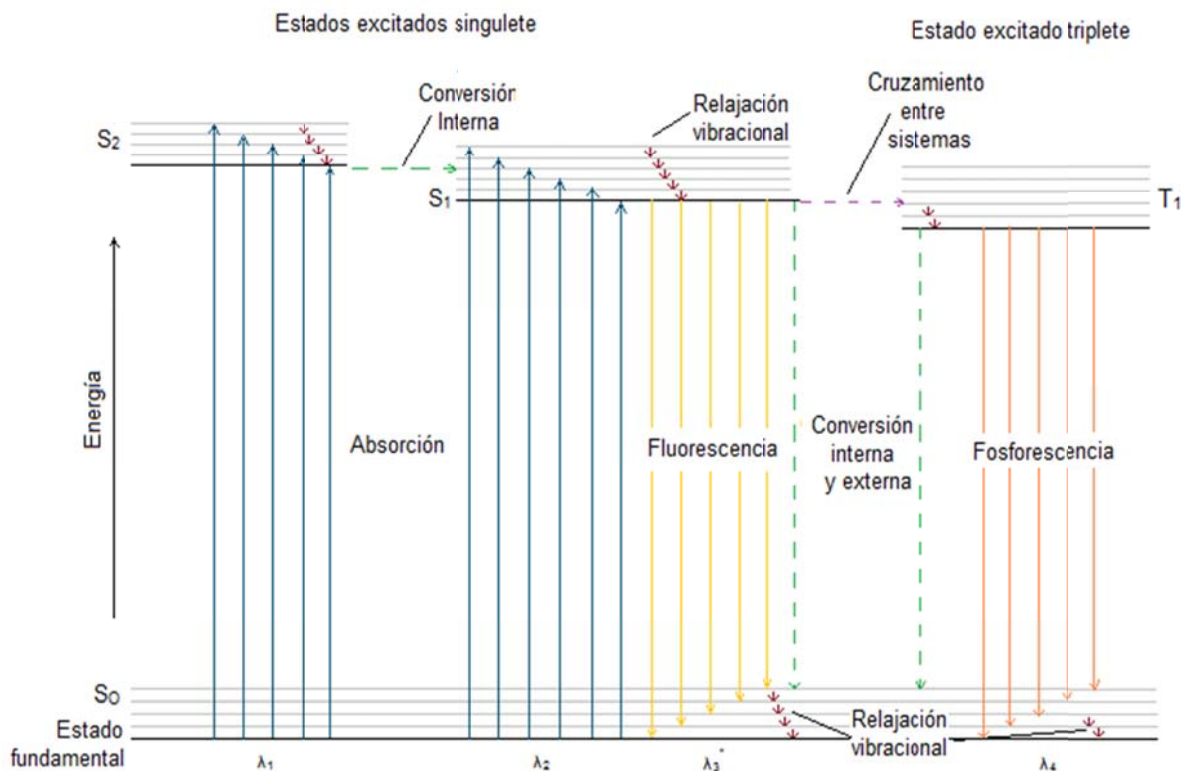
En el diagrama de Jablonski (figura 1.3), se observan las vías de relajación electrónica. Las líneas verticales corresponden a los procesos radiativos. Las líneas horizontal y punteada representan los procesos no radiativos, cruzamiento entre sistemas y conversión interna respectivamente, debido a que estas últimas ocurren en estados electrónicos que se encuentran muy próximos energéticamente, y normalmente son más probables que la pérdida de energía por fluorescencia desde un estado excitado más alto.

1.2.1 LA CONVERSIÓN INTERNA, (CI), describe procesos intramoleculares por los cuales una molécula pasa a un estado electrónico de más baja energía sin emisión de radiación. Esta conversión interna parece ser particularmente eficaz cuando dos niveles de energía electrónicos están suficientemente próximos para que haya un solapamiento de los niveles de energía vibracional y es normalmente más probable que la pérdida de energía por fluorescencia desde un estado excitado más alto.

La conversión interna puede también dar lugar al fenómeno de predisociación. En este caso, el electrón se mueve desde un estado electrónico más alto hacia un nivel vibracional superior de un estado electrónico más bajo en el que la energía vibracional es lo suficientemente grande como para provocar la ruptura del enlace. La predisociación se diferencia de la disociación en que esta última, la radiación absorbida excita al electrón de un cromóforo directamente a un nivel vibracional suficientemente alto para provocar la ruptura del enlace del grupo cromóforo; no incluye la conversión interna. Los procesos de disociación también compiten con los procesos de fluorescencia.¹¹

1.2.2 EL CRUZAMIENTO ENTRE SISTEMAS (CES), Este proceso es un poco más lento que los anteriores, durante este proceso, el espín de un electrón excitado se invierte dando lugar a un cambio en la multiplicidad del estado electrónico de la molécula.¹² Adicionalmente la desactivación de un estado electrónico excitado puede incluir la interacción y la transferencia de energía entre las moléculas excitadas y el disolvente u otros solutos; a estos procesos se les llama conversión externa y la evidencia de este se da por el marcado efecto que ejerce el disolvente sobre la intensidad de la fluorescencia, además, aquellas condiciones que tienden a reducir el número de colisiones entre partículas (baja temperatura y elevada viscosidad) tienden, generalmente, a aumentar la fluorescencia.

Figura 1.3 *Diagrama de energía de Jablonski: descripción esquemática de los diferentes procesos fotofísicos que pueden tener lugar tras la excitación inicial desde el estado fundamental*



Fuente: SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. y NIEMAN T. A. Principios de análisis instrumental.

1.2.3 LA CONVERSIÓN EXTERNA (CE), es el proceso en donde interactúan las moléculas excitadas con el disolvente u otros solutos. Las transiciones no radiativas desde los estados excitados, singulete y triplete, al estado fundamental involucran estas transiciones. En estas relajaciones electrónicas hay transferencia de energía acompañada de un aumento de temperatura en la solución, ya que el exceso de energía vibracional se pierde, como consecuencia de las colisiones que se presentan entre las moléculas excitadas y el solvente.

1.3 FLUORESCENCIA

La emisión espontánea de radiación electromagnética desde una entidad molecular excitada sin modificar su multiplicidad de espín, es llamada fluorescencia.⁵ El fotón de luz emitido corresponde a la diferencia de energía entre un estado electrónico excitado, nivel vibracional 0 (cero) y un estado vibracional particular del estado electrónico fundamental. El tipo más simple de fluorescencia es la que presentan los vapores atómicos diluidos. Las especies atómicas, generalmente, reemiten la radiación sin ningún cambio en la frecuencia de ésta, este tipo de fluorescencia se conoce como fluorescencia resonante o radiación de resonancia.

La espectroscopia de Fluorescencia es una técnica versátil y sensible para la identificación y cuantificación de numerosos compuestos de importancia en diferentes campos. Es una herramienta importante y se ha usado con alta exactitud en ciencias analíticas, del medio ambiente, biotecnología y ciencias biomédicas, incluyendo diagnóstico médico, secuenciación del ADN, análisis genético, entre otros.

1.3.1 CARACTERÍSTICAS DE LA EMISIÓN DE FLUORESCENCIA

La fluorescencia habitualmente exhibe varias características generales, aunque se conocen excepciones:

1. *Desplazamiento Stokes.* El estudio del diagrama de Jablonski evidencia que la energía de emisión es menor que la energía de absorción, es por esto, que la señal de fluorescencia se observa a menores energías. La causa habitual del desplazamiento de Stokes es la rápida relajación vibracional en el estado excitado que lo lleva a niveles vibracionales mas bajos del estado electrónico excitado. Así mismo, los fluoróforos generalmente decaen a niveles vibracionales elevados del estado fundamental (conversión interna), generando pérdidas de energía adicionales. Además de estos efectos, los fluoróforos pueden exhibir desplazamientos Stokes debido a efectos del solvente, reacciones en el estado excitado, formación de complejos y por transferencia de energía⁵. Una forma de determinar estos desplazamientos, con la ayuda de los espectros de absorción y emisión es utilizando la ecuación 1. Donde λ_2 y λ_1 corresponden a las longitudes de onda de emisión y absorción respectivamente.

$$\Delta\bar{\nu} = \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{\lambda_1 * \lambda_2} \quad (1)$$

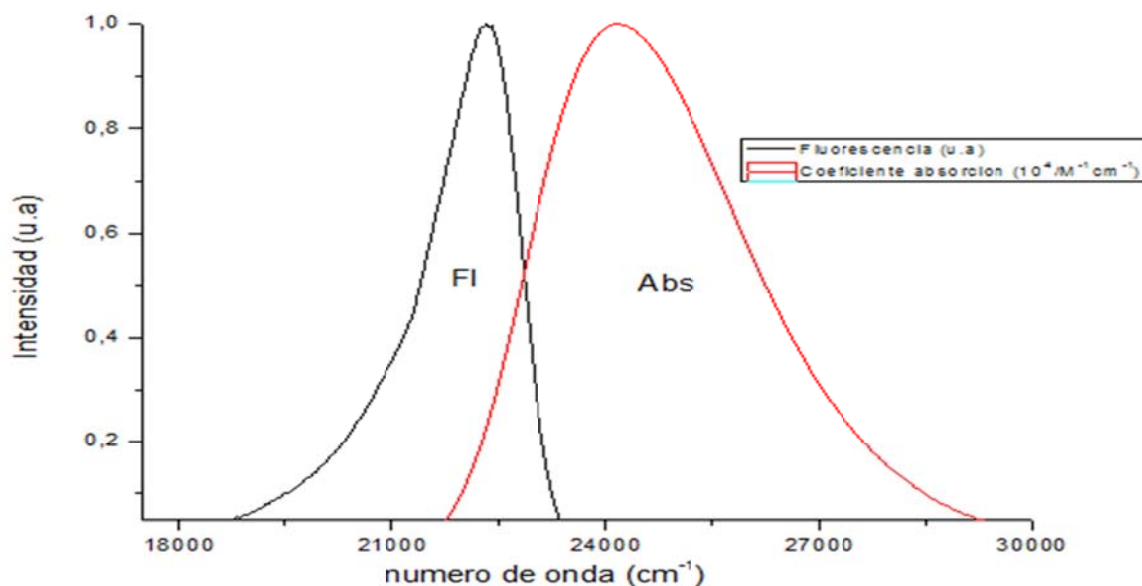
2. *El espectro de emisión de fluorescencia* de una sustancia se determina a partir de la variación de la intensidad de fluorescencia con la longitud de onda de emisión a una longitud de onda de excitación fija, esto quiere decir que es independiente de la longitud de onda de excitación.

Cuando la excitación se realiza a niveles electrónicos y vibracionales elevados el exceso de energía es rápidamente disipado, llevando al fluoróforo al nivel vibracional más bajo del primer estado electrónico excitado S_1 .

3. *Imagen especular.* Una consecuencia interesante del regreso a niveles vibracionales elevados del estado electrónico fundamental en la fluorescencia, es que el espectro de emisión generalmente es una imagen especular del espectro

de absorción. Se observan estas semejanzas, por que en principio la excitación electrónica no altera significativamente la geometría, (figura 1.4).

Figura 1.4. *Espectro de fluorescencia y de absorción molar en función del número de onda de cumarina 30 en metanol.*



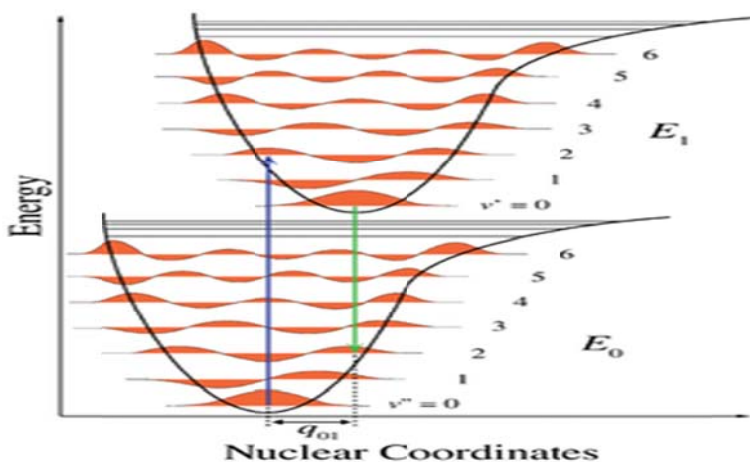
Fuente: El autor

Por otro lado tenemos el principio de Franck-Condon el cual dice “que la aproximación según la cual la transición electrónica más probable es aquella que tiene lugar sin cambios en la posición de los núcleos de la entidad molecular y de sus alrededores”.⁵ El estado resultante se denomina estado Franck-Condon, y la transición involucrada, transición vertical.

La formulación mecano-cuántica de este principio expresa que la intensidad de una transición vibracionales proporcional al cuadrado de la integral de solapamiento entre las funciones de onda vibracionales de los dos estados implicados en la transición. Entonces, si la absorción entre los niveles

vibracionales 0 y 2 (caso de la figura 1.5) es la más probable, la transición recíproca es también la más probable en emisión.

Figura 1.5 *Principio de Franck Condon*



1.3.2. VARIABLES QUE AFECTAN LA FLUORESCENCIA

Para hablar de las variables que afectan la fluorescencia no hay duda que la estructura molecular y el entorno químico son factores determinantes al momento de identificar si una sustancia es o no fluorescente, aunque existen otros factores que también afectan la intensidad de la fluorescencia, tales como:

1. *Rendimiento cuántico y tipo de transición.* Empíricamente se observa que el comportamiento fluorescente lo presentan con más frecuencia compuestos en los que la transición de más baja energía es del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ y no aquellos compuestos en los que la transición de menor energía es del tipo $n \rightarrow \pi^*$.¹¹

El mayor rendimiento cuántico asociado a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ se puede explicar de dos maneras. Primero, el coeficiente de absorción molar de una transición $\pi \rightarrow \pi^*$ es normalmente 100 a 1000 veces superior que para un proceso $n \rightarrow \pi^*$

y esta cantidad representa una medida de la probabilidad de transiciones en cada dirección. Así, el tiempo de vida media inherente asociado con una transición $\pi \rightarrow \pi^*$ es más corto (10^{-7} a 10^{-9} s comparado con 10^{-5} a 10^{-7} s para una transición $n \rightarrow \pi^*$).¹¹

La energía de cada electrón depende del orbital que ocupa, y a su vez la energía total del átomo es decir el nivel de energía depende de la distribución de los electrones en los orbitales disponibles, de esta forma se concibe el átomo como un arreglo de niveles de energía, donde el arreglo con la menor energía es llamado el estado fundamental y los estados de energía superior se denominan estados excitados, los cuales se alcanzan a través de fuerzas externas.

Las transiciones de un estado a otro ocurre cuando el átomo emite o absorbe energía, las transiciones a un nivel mayor pueden ser causadas por la colisión del átomo con un electrón libre o con un átomo excitado, mientras que las transiciones a un nivel mayor o un nivel menor de energía pueden ocurrir por la absorción o emisión de un fotón de luz respectivamente, la diferencia de energía entre dos estados cuando hay una transición está dada por:

$$h\nu = E_2 - E_1$$

Donde h es la constante de Planck, ν es la frecuencia del fotón y E_2 y E_1 son respectivamente las energías del estado final e inicial, a partir de esta ecuación se puede calcular el valor de la energía del primer estado excitado.

2. *Estructura*. La fluorescencia más intensa y la más útil es la que presentan los compuestos que contienen grupos funcionales aromáticos con transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ de más baja energía. La fluorescencia, por lo general, se presenta en moléculas aromáticas o que contengan varios enlaces dobles conjugados con un alto grado de estabilidad de resonancia, aunque los sustituyentes pueden alterar notablemente el grado de fluorescencia. La mayoría de hidrocarburos aromáticos

no sustituidos son fluorescentes en solución, la eficiencia cuántica normalmente aumenta con el número de anillos.

3. *Efecto de la rigidez estructural.* Empíricamente se encuentra que la fluorescencia se ve particularmente favorecida en moléculas que poseen estructuras rígidas. La falta de rigidez de una molécula probablemente provoca un aumento de la velocidad de conversión interna y el correspondiente aumento en la probabilidad de desactivación no radiante. Una parte de una molécula no rígida puede sufrir vibraciones y rotaciones de baja frecuencia con respecto a sus otras partes y tales movimientos indudablemente explican ciertas pérdidas de energía.

4. *Efecto de la temperatura y del disolvente.* El rendimiento cuántico de la fluorescencia disminuye en la mayoría de las moléculas al aumentar la temperatura, ya que crece el número de colisiones y por ende aumenta la probabilidad de desactivación por conversión externa. Una disminución en la viscosidad del disolvente también aumenta la probabilidad de la conversión externa y conduce al mismo resultado.

La polaridad del solvente también tiene influencia en la fluorescencia, debido al efecto hipsocrómico y batocrómico que el solvente ejerce sobre el compuesto.

Estos efectos batocrómico e hipsocrómico son desplazamientos del máximo de absorción de una banda a mayores o menores longitudes de onda respectivamente, debido a la introducción de un sustituyente, cambio de solvente o pH o cualquier otra causa.²

5. *Efecto del pH en la fluorescencia.* Los cambios en el pH del sistema también afectan la fluorescencia, siempre y cuando dichos cambios influyan en el estado de carga del fluoróforo. La fluorescencia de un compuesto aromático con sustituyentes ácidos o básicos en el anillo depende normalmente del pH. Tanto la

longitud de onda como la intensidad de la emisión son, probablemente diferentes para las formas ionizada y no ionizada del compuesto.²

6. *Efecto del oxígeno disuelto.* La presencia de oxígeno disuelto suele reducir la intensidad de la fluorescencia de una disolución. Este efecto puede ser el resultado de una oxidación de las especies fluorescentes inducida fotoquímicamente. Sin embargo, con más frecuencia el apagamiento tiene lugar como consecuencia de las propiedades paramagnéticas del oxígeno molecular, que favorecen el cruce entre sistemas y la conversión de las moléculas excitadas al estado triplete.²

1.3.3. FACTORES QUE AFECTAN LA MEDIDA DE LA INTENSIDAD DE FLUORESCENCIA

Frecuentemente se presentan distorsiones en las medidas de intensidad de la fluorescencia, esto se asocia a la polarización y presencia de impurezas en la muestra generando así el fenómeno de filtro interno (autoabsorción o de emisión), el cual también se encuentra asociado a la concentración de la misma.

1.3.3.1 Efecto de filtro interno de emisión o autoabsorción.

Cuando existe solapamiento entre los espectros de excitación y emisión de la muestra, a altas concentraciones puede producirse un efecto de reabsorción de la luz emitida que provoca un cambio en la forma del espectro de emisión en la región de solapamiento. Para evitar este efecto se trabajan con soluciones de absorbancia < 0.02 (medida con una cubeta de 1 cm de paso óptico) a la longitud de onda de excitación.

El estudio de las interacciones moleculares contribuye a la elucidación del mecanismo de acción de compuestos orgánicos; dichas interacciones se clasifican en primera instancia a interacciones no específicas, causadas por efectos de

polaridad-polarizabilidad y en segundo caso a interacciones específicas tales como puente de hidrógeno, transferencia de carga o interacciones electrón donador-aceptor.¹³

Típicamente el fluoróforo tiene un momento dipolar más grande en el estado excitado que en el estado fundamental. Después de la excitación, los dipolos del solvente se pueden reorientar o relajar alrededor del estado excitado, lo cual genera una disminución de la energía en este. Como la polaridad del solvente se incrementa, este efecto se hace mayor también, resultando en la emisión a energías más bajas o mayores longitudes de onda.

1.4. TIEMPO DE VIDA MEDIA Y RENDIMIENTO CUÁNTICO

El tiempo de vida media y el rendimiento cuántico son quizás las características más importantes de la fluorescencia. El rendimiento cuántico, también llamado eficiencia cuántica de fluorescencia es la relación entre el número de sucesos definidos que ocurren por fotón absorbido por el sistema⁵.

$$Q_0 = \frac{\text{Número de fotones}}{\text{Número de fotones absorbidos}} \quad (3)$$

Teniendo en cuenta los mecanismos de disipación, es evidente que el rendimiento cuántico de la fluorescencia (Q_0) para un compuesto se puede calcular a partir de las constantes de velocidad relativas de los procesos por los cuales la molécula se desactiva: fluorescencia (k_f), cruzamiento entre sistemas (k_i), conversión externa (k_{ec}), conversión interna (k_{ic}), predisociación (k_{pd}) o procesos de apagamiento (k_q); así, el rendimiento cuántico de un fluoróforo refleja una competencia entre la emisión de un fotón y los procesos no radiativos donde para simplificar se utiliza k_{nr} para referirse a los procesos no radiativos.¹⁴

$$Q_0 = \frac{K_f}{K_f + K_i + K_{ec} + K_{ic} + K_{pd} + K_q} = \frac{K_f}{K_f + K_{nr} + K_q} \quad (4)$$

La ecuación 5 es muy útil para la determinación del rendimiento cuántico en soluciones puesto que esta utiliza el rendimiento cuántico de referencia o parámetro, las áreas bajo la curva de los espectros de fluorescencia, los índices de refracción y las absorbancias tanto de las muestras como la de la referencia respectivamente.^{15,16}

$$\varphi_{f,x} = \varphi_{f,st} \cdot \frac{F_x}{F_{st}} \cdot \frac{f_{st}(\lambda_{ex})}{f_x(\lambda_{ex})} \cdot \frac{n_x^2}{n_{st}^2} \quad (5)$$

Otro parámetro importante es el tiempo de vida media de la fluorescencia (τ_0) de una entidad molecular, que decae en un proceso de primer orden, éste es el tiempo necesario para que la concentración de la entidad decrezca hasta 1/e de su valor original. Estadísticamente representa la esperanza de vida de la entidad; y es igual al recíproco de las sumas de las constantes de velocidad de todos los procesos que compiten con la emisión de radiación. Se define, a veces, un tiempo de vida para procesos que no son de primer orden. En tales casos el tiempo de vida depende de la concentración inicial de la identidad, o de un desactivador, por lo que sólo pueden definirse un tiempo de vida inicial o promedio. En estos casos debe llamarse tiempo de vida aparente. Ocasionalmente, se utiliza el término vida media ($\tau_{1/2}$), que representa el tiempo necesario para que la concentración de una entidad decrezca hasta la mitad de su valor original.⁵

Los tiempos de vida de la fluorescencia están cerca de los 10 ns, y se define como:

$$\tau_0 = \frac{1}{K_f + K_{nr} + K_q} \quad (6)$$

Las interacciones de los fluoróforos con el ambiente externo pueden afectar los procesos de decaimiento discutidos anteriormente; así mismos, la intensidad y el tiempo de vida de la fluorescencia son fuertemente influenciadas por el ambiente inmediato del fluoróforo. ¹⁷

$$K_f = \frac{1}{\tau_f^0} = \frac{\phi_f}{\tau_f} \quad (7)$$

Para muchas moléculas orgánicas luminiscentes, el espectro de fluorescencia es un espejo simétrico con el ancho de banda del espectro de absorción, cuando se representan como $\int F(\bar{\nu})d\bar{\nu} / \bar{\nu}^3$ y $\int \frac{\varepsilon(\bar{\nu})d\bar{\nu}}{\bar{\nu}}$. Son proporcionales al cuadrado de la absorción y el momento de emisión de transición, respectivamente.

$$\tau n_{(ns)} = \frac{1}{\Gamma} \quad (8)$$

Donde Γ representa el coeficiente de velocidad de fluorescencia y se puede calcular a partir de la ecuación 7. Los valores de Γ y K_f son iguales en un rango de tolerancia de más de 10%.

$$\Gamma (s^{-1}) \cong 2.88 \times 10^{-9} n^2 \frac{\int F(\bar{\nu})d\bar{\nu}}{\int \frac{F(\bar{\nu})d\bar{\nu}}{\bar{\nu}^3}} \int \frac{\varepsilon(\bar{\nu})d\bar{\nu}}{\bar{\nu}} \quad (9)$$

Donde $\varepsilon(\bar{\nu})$ es el coeficiente de absorción molar, $F(\bar{\nu})$ representa la distribución energética de los espectros de fluorescencia normalizados, n corresponde a los coeficientes de refracción de cada solvente ¹⁸.

Normalmente, es difícil cambiar la constante de velocidad de la fluorescencia k_f ; por esta razón, los procedimientos convencionales recurren a la modificación de la constante de velocidad de decaimiento no radiativo, k_{nr} y/o la constante de velocidad de procesos de apagamiento k_q (donde se involucran procesos intermoleculares que eliminan la fluorescencia) para obtener mejores rendimientos cuánticos. Por ejemplo, moléculas que en condiciones normales presentan bajo

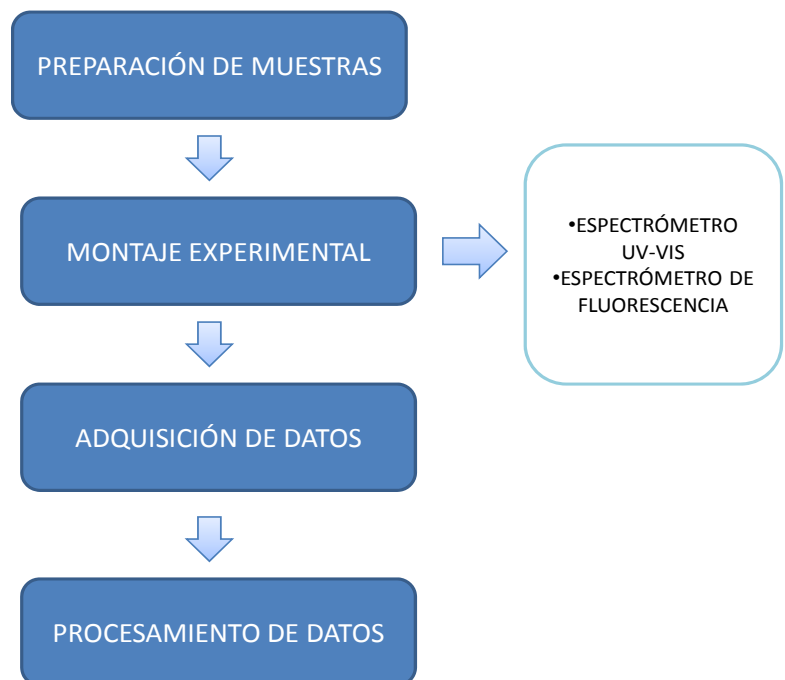
rendimiento cuántico, podrían presentar alto rendimiento cuántico y tiempos de vida más largos en soluciones congeladas o cuando están enlazadas a macromoléculas. Así, el rendimiento cuántico es tanto mayor cuanto más elevada sea la constante de velocidad de la fluorescencia y el valor límite correspondería a $Q=1$, cuando $k_{nr}+k_q$ sea infinitamente menor que k_f ^{4,5}.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 ESQUEMA EXPERIMENTAL

En la figura 2.1 se muestra un esquema metodológico de los pasos que se realizaron para el desarrollo del proyecto.

Figura 2.1 *Esquema metodológico.*



Fuente: El autor

2.2 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Los diferentes colorantes utilizados fueron previamente pesados en cantidades aproximadas a los 0,006 gramos y disueltos en los diferentes solventes como metanol, etanol acetona acetonitrilo y cloroformo. Las concentraciones fueron alrededor de 10^{-6} M, como se sugiere la literatura para realizar este tipo de análisis.

2.3 DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE ESPECTROS ULTRAVIOLETA-VISIBLE Y ESPECTROS DE FLUORESCENCIA

2.3.1 Espectrofotómetros UV-Vis

Para la obtención de espectros UV-Vis generalmente se utilizan espectrofotómetros de simple o doble haz, con elevado grado de automatización. En la Universidad Industrial de Santander se dispone de un espectrofotómetro que permite la digitalización de la información con muchas posibilidades de manipulación de la misma.

2.4. OBTENCIÓN DE ESPECTROS

2.4.1. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ULTRAVIOLETA-VISIBLE

Los espectros de absorción de las muestras se adquirieron en la zona de 250-500 nm en un espectrofotómetro ultravioleta-visible UV-2401PC, de doble haz y un monocromador (190-900 nm \pm 0.2 nm), con una velocidad de barrido de 100 nm/min a 23°C.

En la figura 2.2 se muestra el equipo de UV-Vis utilizado para la toma de los espectros.

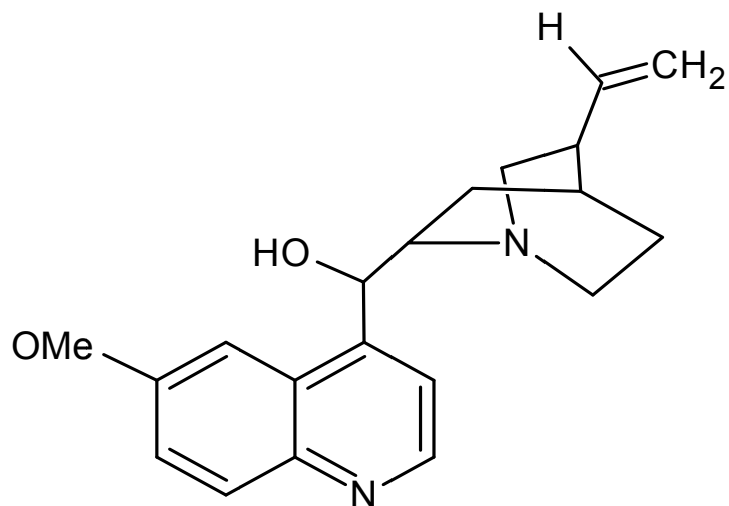
Figura 2.2. *Espectrofotómetro UV – 2401PC*



Fuente: El autor

Para las medidas se utilizaron cubetas de cuarzo (ST- 3/Q) de 1 cm^2 de área. Los espectros de absorción se adquirieron de forma rutinaria para garantizar que la intensidad de absorción estuviera alrededor de 0,02 en su longitud de onda de máxima absorción, muy similar a la intensidad mostrada por el estándar de sulfato de quinina (con un máximo de absorción en 347 nm), disuelto en ácido sulfúrico 0,1N.

Figura 2.3 Estructura de Sulfato de quinina

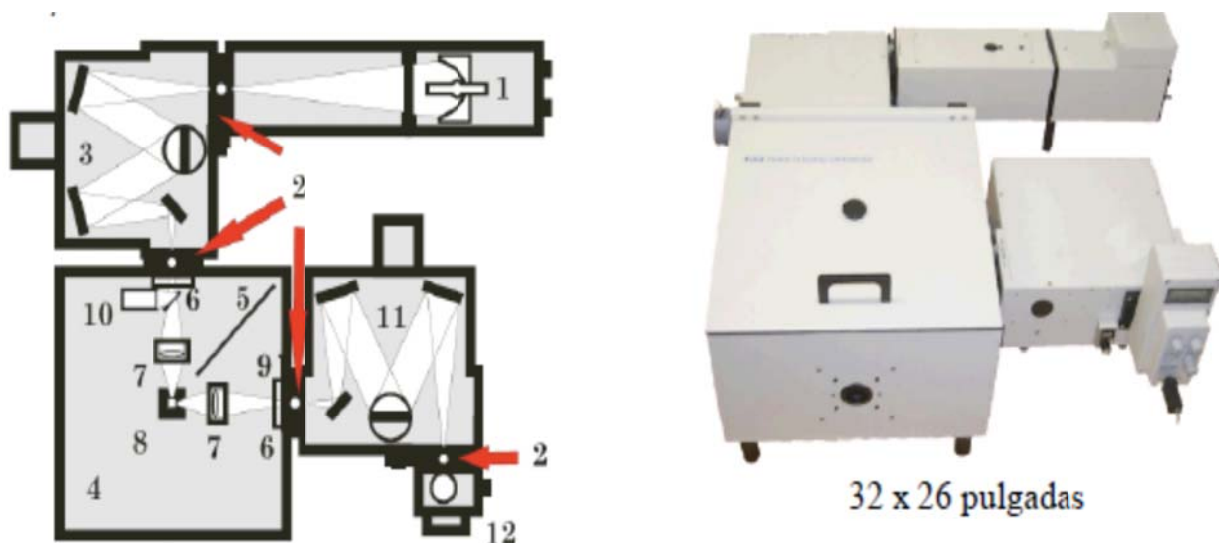


Fuente: El autor

2.4.2. ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA EN ESTADO ESTACIONARIO

Las toma de espectros de fluorescencia en estado estacionario se realizaron con un espectrofluorímetro PTI QM – 40, con un ancho de rendija de excitación (2nm), rendija de emisión (1nm), tiempo de integración (1 seg). En la Figura 2.4 se muestra el esquema espectrofluorímetro utilizado en este trabajo.

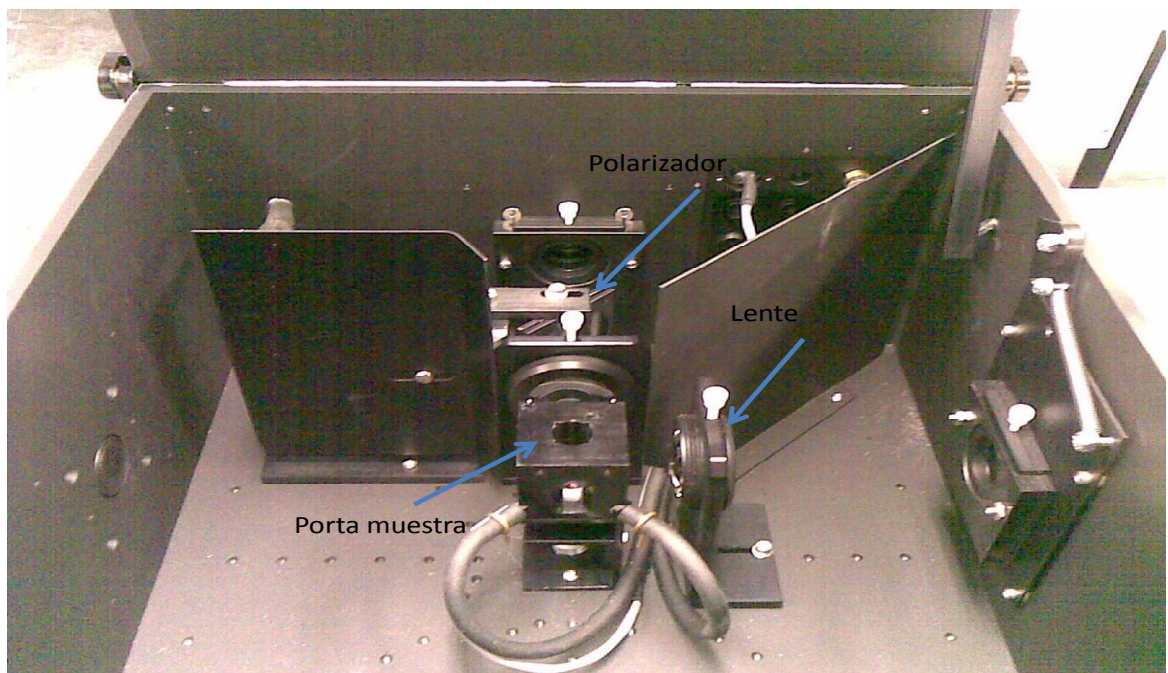
Figura 2.4 Espectrofluorímetro QM – 40 de Photon technology international, Inc.



1	Lámpara de arco
2	Hendidjas ajustables
3	Monocromador de excitación
4	Compartimiento de la muestra
5	"Baffle"
6	Soporte de filtros
7	Óptica de excitación/emisión
8	Porta celda
9	Obturador
10	Unidad de corrección de excitación
11	Monocromador de emisión
12	Detector

En la figura 2.5 se muestra el módulo óptico el cual está compuesto por un obturador, un polarizador, porta muestra y lentes focales.

Figura 2.5 *Módulo óptico*



Fuente: El autor

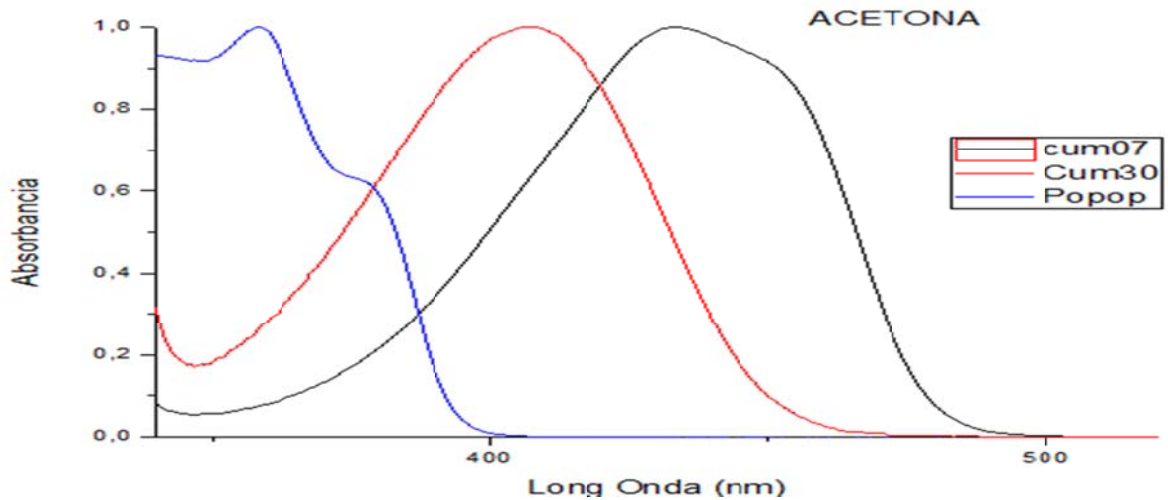
2.5. ADQUISICIÓN DE DATOS

La adquisición de datos consistió en tomar por medio de los espectros de ultravioleta las soluciones diluidas de los colorantes que presentaran mayor proximidad a la intensidad de absorción presentada por la solución del estándar de sulfato de quinina la cual era alrededor de 0,020, esto con el fin de garantizar que las muestras presentaran unas concentraciones cercanas al orden de la registrada por la muestra de referencia.

Posteriormente, a estas soluciones se les tomó el espectro de fluorescencia, principalmente al de la solución de sulfato de quinina, el cual se hacía primero y se comprobaba con los espectros de la literatura para garantizar que el perfil del espectro encontrado experimentalmente, presentara el mismo patrón del perfil mostrado en la teoría. Además se observó que tanto el rango de absorción que ese encontraba entre 315-355 nm presentando su máximo de absorción en 349 nm al igual que los encontrados en las bases de datos.

Al comprobar que el perfil del espectro de absorción y emisión de fluorescencia, eran similares a los obtenidos experimentalmente se procedió a obtener los espectros de las muestras de cumarinas y popop, estos se presentaron como en el del ejemplo mostrado en la figura 2.6 en el que se observa el espectro de absorción de cumarina 07, cumarina 30 y popop disueltos en acetona.

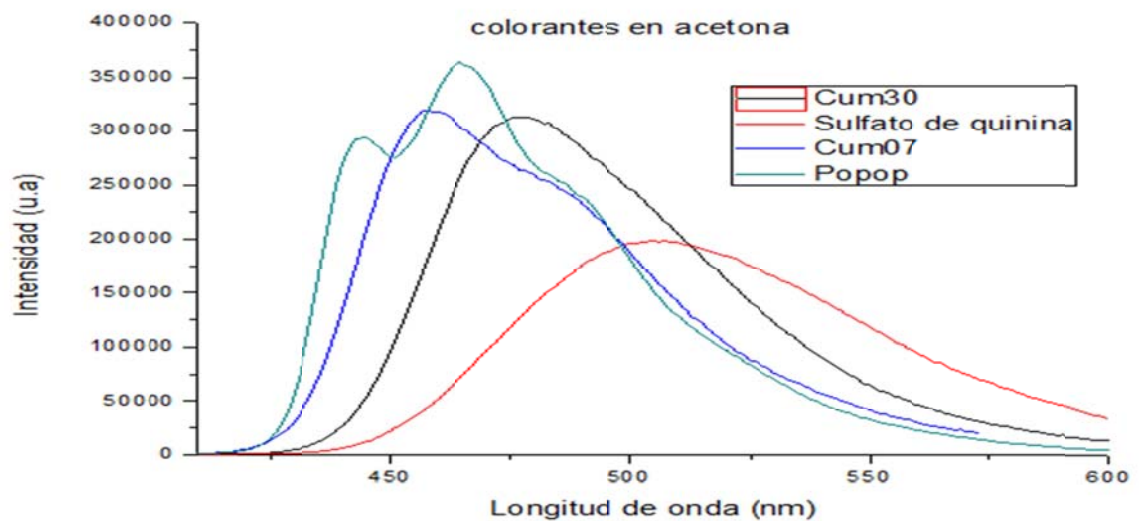
Figura 2.6. Espectro de absorción de cumarina 30, cumarina 07 y popop disueltos en acetona



Fuente: El autor

Del mismo modo posteriormente se tomaron los espectros de fluorescencia para todas las muestras que en su total fueron 3 disueltas en los 5 solventes, en la figura 2.7 se muestran los espectros de fluorescencia de cumarina 30, cumarina 07 y popop disueltos en acetona.

Figura 2.7 Espectro de fluorescencia de sulfato de quinina en H_2SO_4 0.1 N y cumarina 30, cumarina07 y popop disueltos en acetona



2.6. PROCESAMIENTO DE DATOS

2.6.1 ESPECTROS DE ABSORCIÓN

Figura 2.8. Espectro de absorción de Cumarina 30 en los diferentes solventes

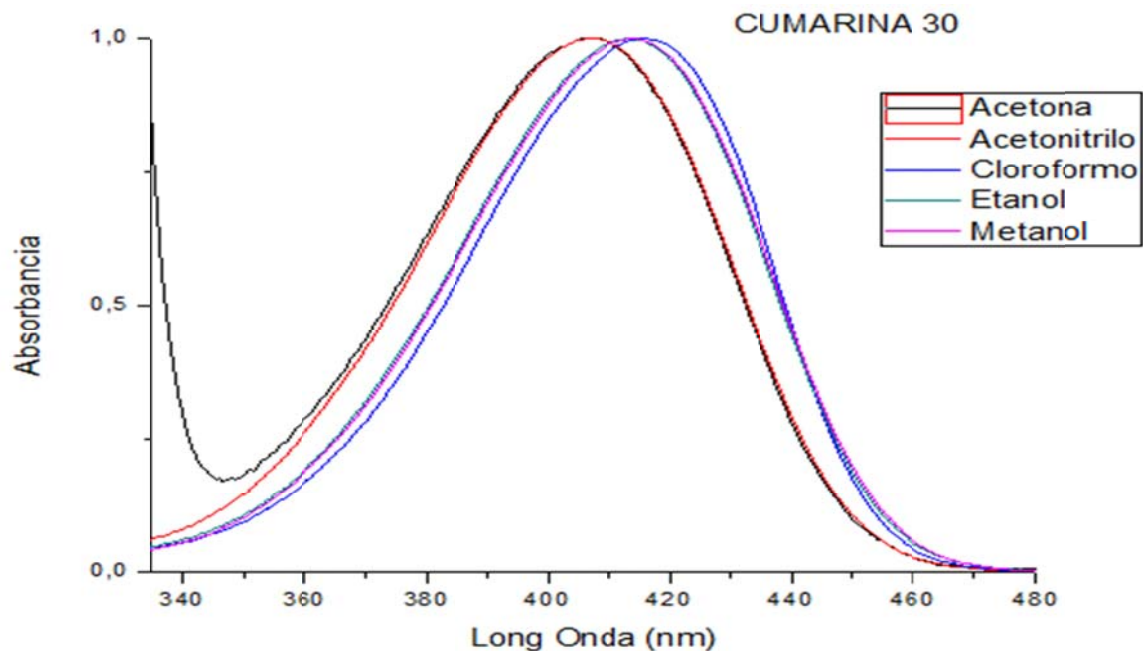


Figura 2.9. Espectro de absorción de Cumarina 07 en los diferentes solventes

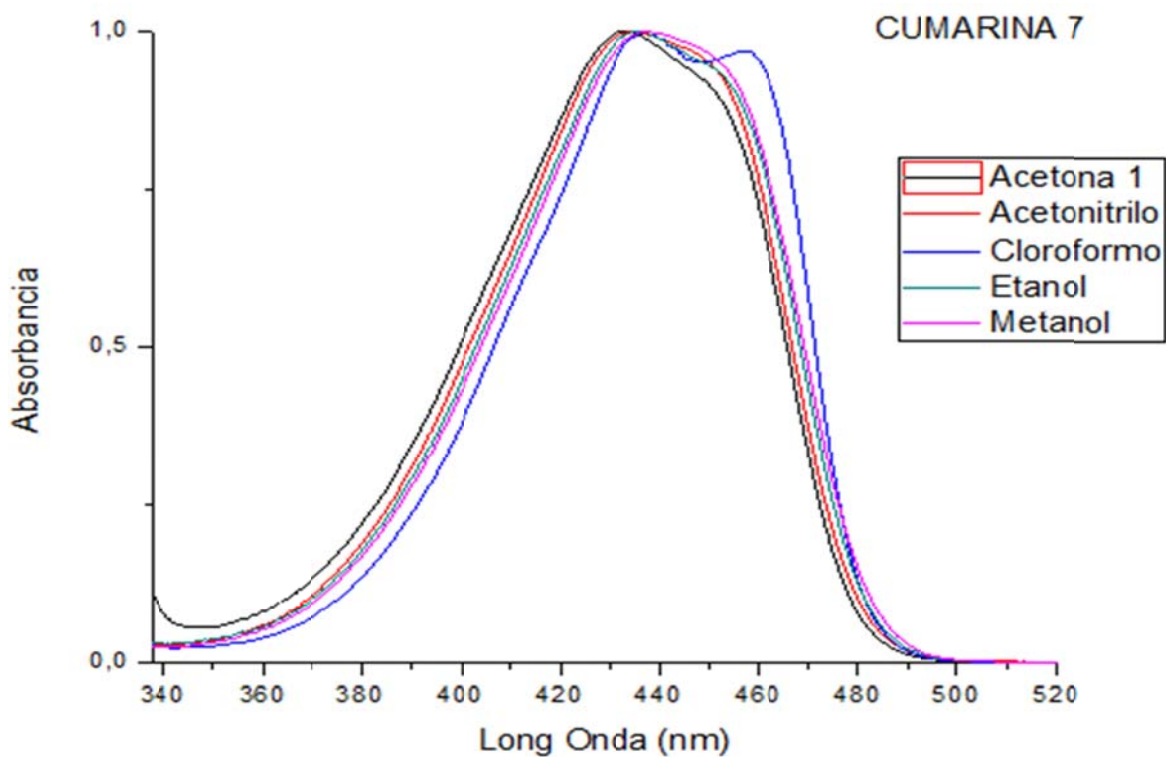
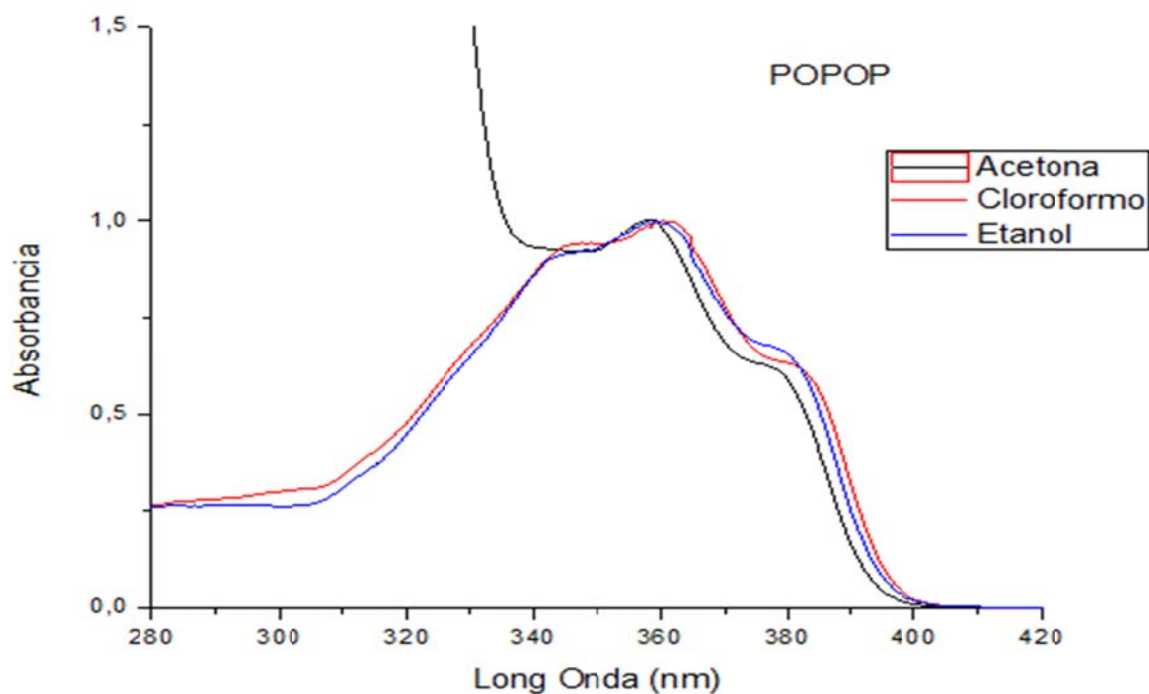


Figura 2.10. Espectro de absorción de Popop en los diferentes solventes



La posición e intensidad de las bandas de absorción observadas en los espectros U.V visible mostrados anteriormente de las muestras tratadas con los diferentes solventes, sufrieron importantes cambios con el solvente. Esto es explicable teniendo en cuenta las interacciones moleculares débiles soluto solvente. El efecto del solvente en el espectro electrónico de una molécula es denominado "solvatocromismo".¹

Estos corrimientos solvatocrómicos permiten detectar, separar y cuantificar las interacciones en las que puede participar el compuesto estudiado.

2.6.2. ESPECTROS DE FLUORESCENCIA

Figura 2.11. Espectro de fluorescencia de cumarina07 en los diferentes solventes

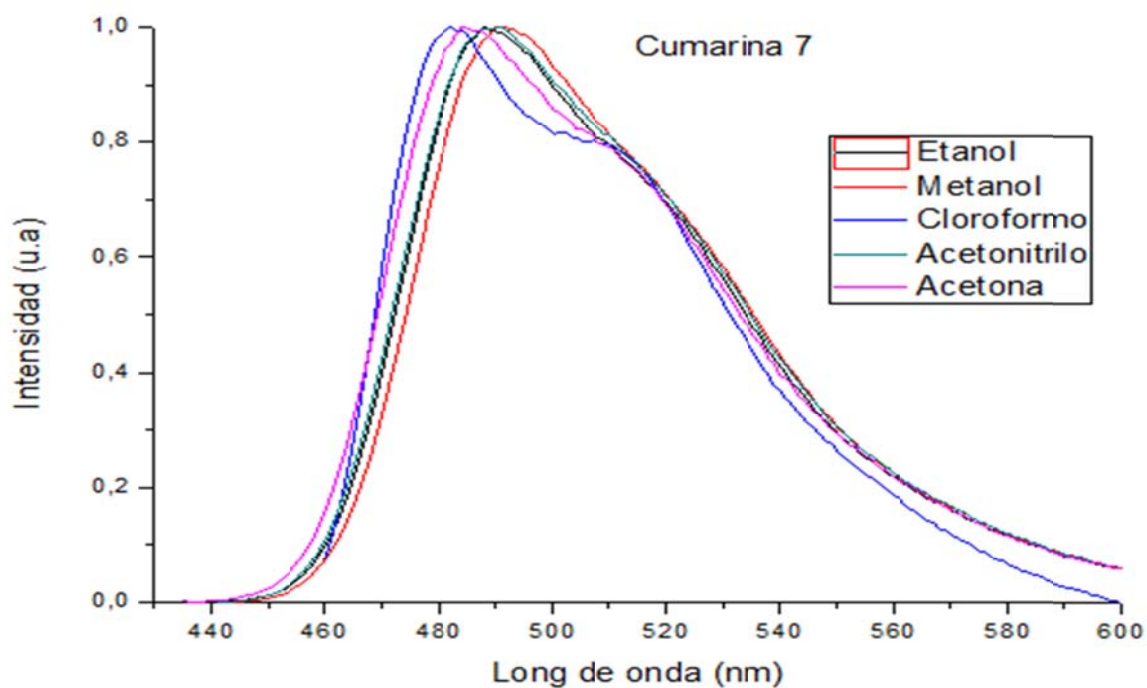


Figura 2.12. Espectro de fluorescencia de cumarina30 en los diferentes solventes

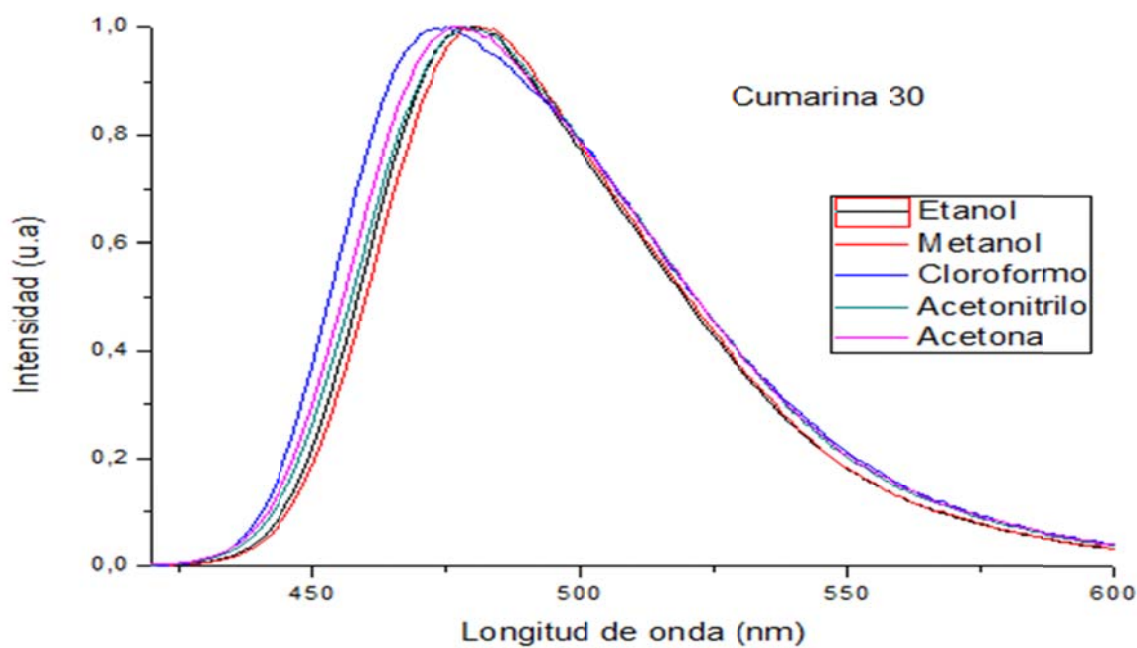
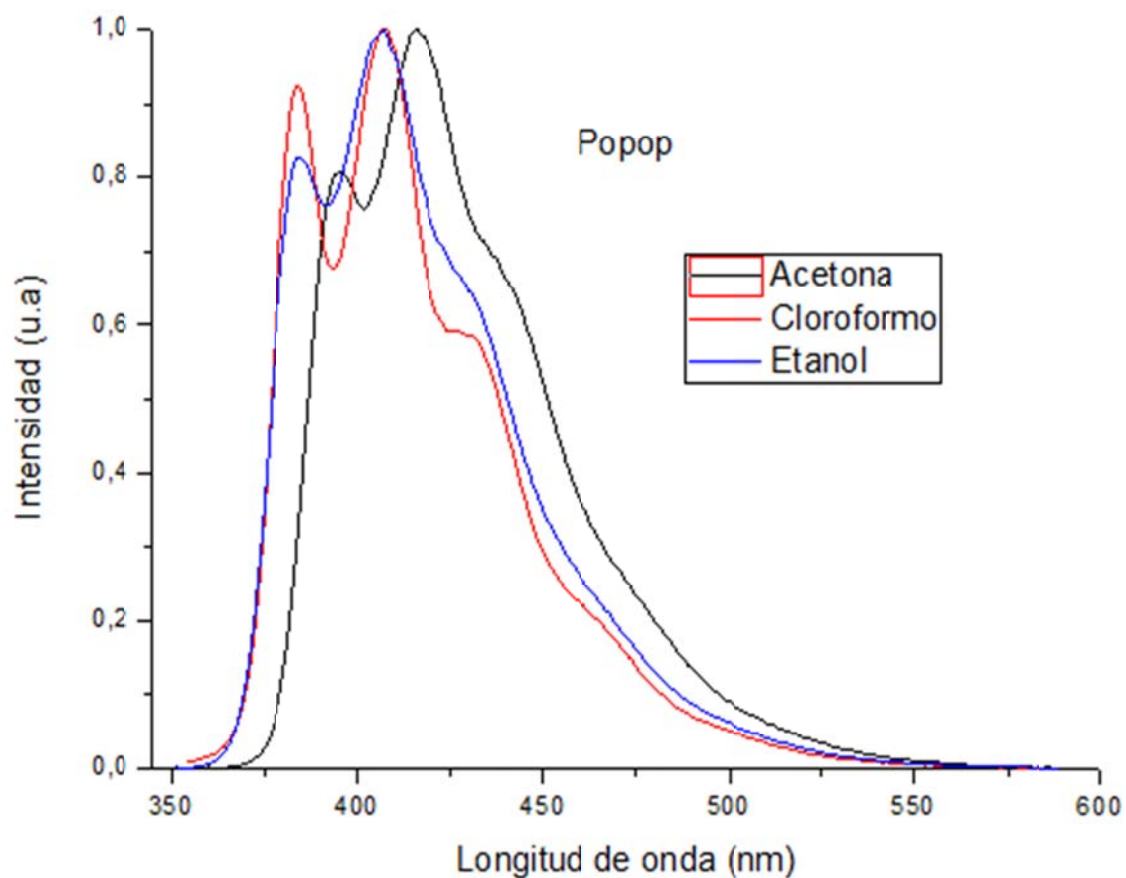
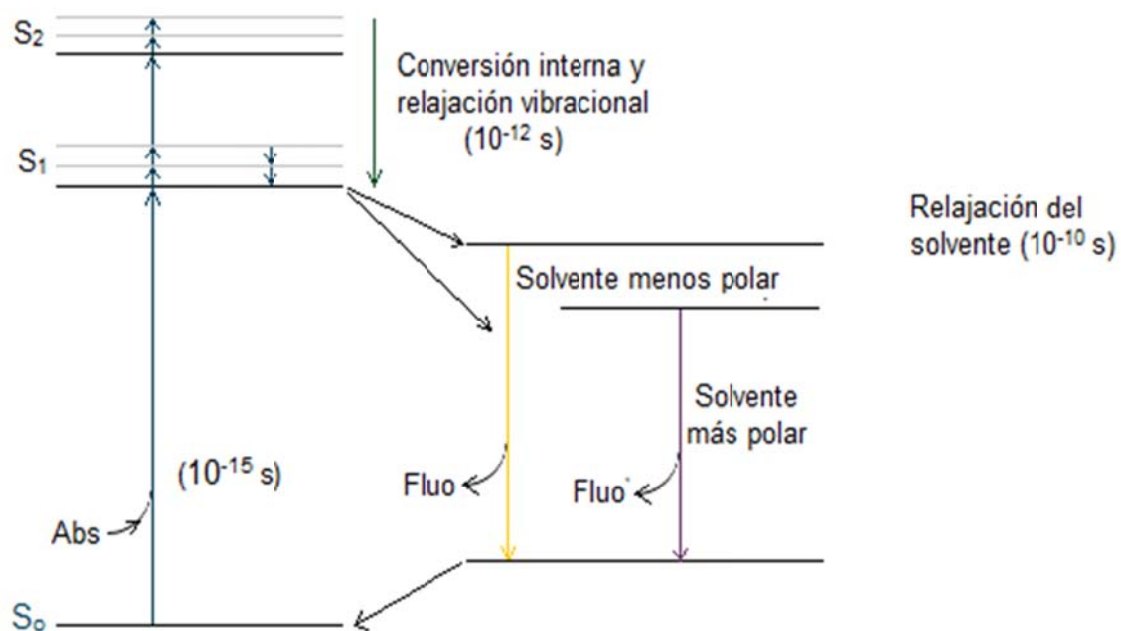


Figura 2.13. Espectro de fluorescencia de Popop en los diferentes solventes



Cuando un fluoróforo es excitado el exceso de energía vibracional es rápidamente cedido al solvente, para explicar de una forma más clara el efecto del solvente mostrado en los espectros de las figuras 2.11, 2.12 y 2.13 se muestra a continuación la figura 2.14 la cual consiste en el diagrama de Jablonski para fluorescencia con relajación de solvente, esta muestra que al ser más polar el colorante va a presentar mayor sensibilidad a los solventes polares, por tanto las moléculas no polares son mucho menos sensibles a la polaridad del solvente.

Figura 2.14. Diagrama de Jablonski para fluorescencia con relajación de solvente



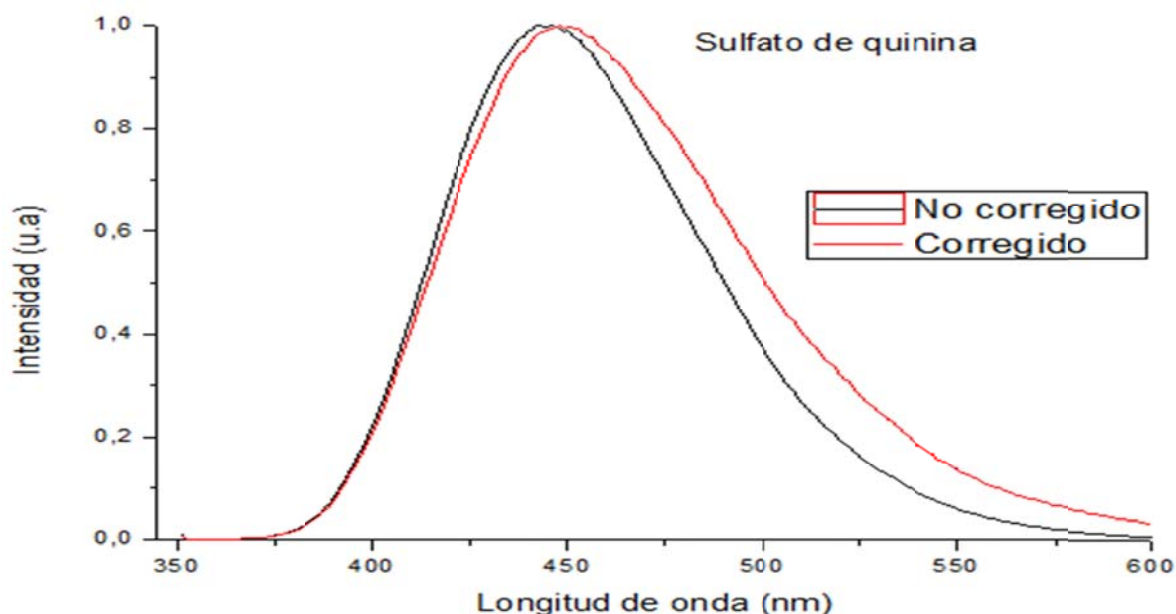
Fuente: LAKOWICZ, J.R. Principles of fluorescence spectroscopy.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1. CORRECCIÓN DE LOS ESPECTROS DE EMISIÓN DE FLUORESCENCIA

Los espectros de fluorescencia adquiridos en un espectrofluorímetro están distorsionados debido fundamentalmente a la dependencia con la longitud de onda de la respuesta del conjunto monocromador de emisión y fotomultiplicador detector del instrumento, Para evitar esto se hizo una corrección de los espectros de fluorescencia, realizar esto es imprescindible para la determinación de rendimientos cuánticos, integrales de solapamiento o para la comparación de espectros obtenidos con distintos espectrofluorímetros. Es por esto que a todos los espectros anteriormente mostrados se les hizo la corrección como es el caso de sulfato de quinina mostrado en la figura 3.1 en el que se observa la variación con la longitud de onda de los factores de corrección para los espectros de emisión adquiridos con el espectrofluorímetro utilizado en este trabajo.

Figura 3.1 *Espectro de fluorescencia de sulfato de quinina corregido y no corregido*



Fuente: El autor

El rendimiento cuántico del compuesto de referencia sulfato de quinina $3 \times 10^{-4}M$ es de 0,54. En la siguiente tabla se muestran los resultados de los cálculos de rendimientos con los colorantes estudiados. Utilizando la ecuación 5.

Tabla 3.1. Rendimientos cuánticos de los colorantes en los distintos solventes.

Colorante	Solventes	Índice de refr	$\lambda_{\max} \text{abs}$ (nm)	$\lambda_{\text{exc}}(\text{nm})$	$\lambda_{\max} \text{emisión}(\text{nm})$	Rendimiento cuántico
Cum30	Acetona	1,359	405	407	476	0,70
	Acetonitrilo	1,344	407	410	488	0,79
	Cloroformo	1,443	417	419	472	0,73
	Etanol	1,361	413	414	478	0,69
	Metanol	1,329	413	414	480	0,45
Cum07	Acetona	1,359	431	434	484	0,61
	Acetonitrilo	1,344	437	439	478	0,70
	Cloroformo	1,443	435-456	460	481	0,78
	Etanol	1,361	437	438	488	0,79
	Metanol	1,329	440	442	490	0,65
Popop	Acetona	1,359	357	358	415	0,70
	Acetonitrilo	1,344	X	X	X	X
	Cloroformo	1,443	361	362	417	0,71
	Etanol	1,361	360	361	425	0,85
	Metanol	1,329	X	X	X	X

Las celdas en las que se presentan X indican que en ese solvente no se disolvió la muestra.

3.2 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA DE FLUORESCENCIA

A partir del diagrama de Jablonski mostrado anteriormente en el que se muestran los procesos que compiten con la fluorescencia se puede determinar la constante de velocidad de fluorescencia (k_f) el cual depende de la intensidad de esta seguida del pulso de excitación al que sea sometido la muestra, así mismo este es inversamente proporcional al tiempo de vida natural.

En las tablas 3.2, 3.3 y 3.4 se muestran los tiempos de vida media en el orden de los nanosegundos, calculados a partir de la ecuación 9, con las áreas de los espectros de fluorescencia normalizados en función del número de onda y los espectros de $\frac{\epsilon(\bar{\nu})}{\bar{\nu}}$ y reemplazados en la ecuación 8 para los colorantes estudiados.

Tabla 3.2 Tiempos de vida media de cumarina 30 en los diferentes solventes.

	COUMARINA 30				
Solventes	Etanol	Metanol	Cloroformo	Acetonitrilo	Acetona
$\int F(\bar{\nu})d\bar{\nu}$	2741,98	2700,11	3046,71	2872,18	2942,68
$\int F(\bar{\nu})d\bar{\nu}/\bar{\nu}^3$	3,32E-10	3,29E-10	3,66E-10	3,49E-10	3,56E-10
$\int \epsilon(\bar{\nu})d\bar{\nu}/\bar{\nu}$	7875,13	6117,22	7644,89	6133,24	7139,75
$k_A (s^{-1})$	3,46 E08	2,55 E08	3,81 E08	2,63 E08	3,14 E08
$\tau (s)$	2,89E-09	3,92E-09	2,62E-09	3,81E-09	3,19E-09
$\tau (ns)$	2,89	3,92	2,62	3,81	3,19

Tabla 3.3 Tiempos de vida media de cumarina 07 en los diferentes solventes.

	COUMARINA 07				
Solventes	Etanol	Metanol	Cloroformo	Acetonitrilo	Acetona
$\int F(\bar{\nu})d\bar{\nu}$	2557,71	2527,35	2512,62	2613,36	2664,89
$\int F(\bar{\nu})d\bar{\nu}/\bar{\nu}^3$	3,37E-10	3,36E-10	3,24E-10	3,45E-10	3,47E-10
$\int \epsilon(\bar{\nu})d\bar{\nu}/\bar{\nu}$	9918,87	6605,39	3239,38	7229,24	3933,76
$k_A (s^{-1})$	4,01 E08	2,53 E08	1,50 E08	2,85 E08	1,60 E08
$\tau (s)$	2,49E-09	3,96E-09	6,64E-09	3,51E-09	6,23E-09
$\tau (ns)$	2,49	3,96	6,64	3,51	6,23

Tabla 3.4 Tiempos de vida media de popop en los diferentes solventes.

	POPOP	
Solventes	Etanol	Cloroformo
$\int F(\bar{\nu})d\bar{\nu}$	3606,85	3409,18
$\int F(\bar{\nu})d\bar{\nu}/\bar{\nu}^3$	2,82E-10	2,63E-10
$\int \epsilon(\bar{\nu})d\bar{\nu}/\bar{\nu}$	2686,45	2313,05
$k_A (s^{-1})$	1,83 E08	1,79 E08
$\tau (s)$	5,45E-09	5,56E-09
$\tau (ns)$	5,45	5,56

La sustancia que presenta el mejor comportamiento por su alto rendimiento y un tiempo de vida media considerable es el colorante popop disuelto en etanol, por lo que se puede proponer como un compuesto con potencial para ser usado como medio láser.

En la tabla 3.5 se presentan los corrimientos Stokes de los colorantes estudiados a partir de la ecuación 1.

Tabla 3.5 Corrimientos Stokes.

Colorante	Solventes	$\lambda_{\text{max}} \text{ absor}(\text{nm})$	$\lambda_{\text{max}} \text{ emisión}(\text{nm})$	corrimientos stokes (cm^{-1})
Cum30	Acetona	405	476	3682
	Acetonitrilo	407	488	4078
	Cloroformo	417	472	2794
	Etanol	413	478	3298
	Metanol	413	480	3379
Cum07	Acetona	431	484	2541
	Acetonitrilo	437	478	1963
	Cloroformo	435-456	481	2198
	Etanol	437	488	2391
	Metanol	440	490	2319
Popop	Acetona	357	415	3914
	Acetonitrilo	X	X	X
	Cloroformo	361	417	3720
	Etanol	360	425	4248
	Metanol	X	X	X

Los métodos experimentales presentados en este trabajo permiten identificar el efecto de la polaridad de solventes sobre los espectros de los colorantes orgánicos sobre todo para los de cumarinas por la notable polaridad que estos presentan en su estructura.

En la tabla 3.6 se muestran los valores del primer estado energético para los diferentes colorantes en los solventes trabajados, utilizando la ecuación 2.

Tabla 3.6 Energía del primer estado excitado. $E = \frac{hc}{\lambda}$

Colorante	Solventes	λ primer estado energético (nm)	E del primer estado excitado (eV)
Cum30	Acetona	441	2,81
	Acetonitrilo	445	2,79
	Cloroformo	447	2,78
	Etanol	448	2,77
	Metanol	450	2,76
Cum07	Acetona	470	2,64
	Acetonitrilo	470	2,64
	Cloroformo	475	2,61
	Etanol	469	2,65
	Metanol	471	2,63
Popop	Acetona	378	3,28
	Acetonitrilo	X	X
	Cloroformo	391	3,17
	Etanol	389	3,19
	Metanol	X	X

4. CONCLUSIONES

- Como el cloroformo es el disolvente que ejerce la menor energía de interacción molecular con las moléculas estudiadas, se puede concluir que en éste, alrededor del fluoróforo excitado de la cumarina y popop se forma una capa de solvatación estabilizada, y por lo tanto la influencia de las moléculas del disolvente sobre el momento dipolar permanente de los colorantes es pequeño. Por esta razón, el número de onda del máximo de absorción de los derivados de cumarinas y el colorante popop disueltos en cloroformo son más altos que en los otros disolventes.
- Los altos rendimientos cuánticos presentados por las moléculas estudiadas hacen prever su alto potencial como láseres de colorantes pero sus tiempos de vida cortos es probable que estos no puedan tener una gran aplicación como medios activos para láser con algunos solventes como el de cumarinas en etanol.
- La razón por la que el colorante popop presentó los rendimientos más altos es debido a su estructura, al alto grado de estabilidad de resonancia que este presenta al contener varios enlaces dobles conjugados, lo que hace que la mayoría de transiciones que esta presenta al ser excitado serían las $\pi \rightarrow \pi^*$ de más baja energía, aumentando así considerablemente su eficiencia cuántica.

5. RECOMENDACIONES

- Se recomienda hacer análisis con otro tipo de disolventes variando la escala de polaridad entre uno y otro para determinar el comportamiento de este tipo de moléculas con tratamientos similares a los realizados en este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHILDDS, STACY J. Laser-assisted transurethral of the prostate (TURP), Ed. Williams & Wilkins, Baltimor, MarylaRd (U.S.A.), 1993, p. 81.
2. V. V. GRUZINSKIY, M. A. SENYUK,, NEIRA B. OSCAR “Luminescent spectral and lasing properties of organic compounds with alternating phenyl, oxazole, and oxadiazole rings. En: Journal of Applied Spectroscopy, 1991, Vol. 54 N °4, 373- 376.
3. GRUZINSKIY VICTOR, SENIUK ALEXANDER AND NEIRA BUENO O. “New Active Media for a Blue Spectral Region”. En: Journal of Applied Spectroscopy, 1993, Vol. 58. No.1-2.
4. G.M. BARROW., Introduction to Molecular Spectroscopy. Nueva York. McGraw-Hill, 1962.
5. Glossary of terms used in photochemistry. S.E. Braslavsky y K.N. Houk. pure and applied Chemistry, 1998, Vol. 60, Num. 7, p. 1055-1106, IUPAC.
6. M. FERNÁNDEZ G. Y R. RANGEL R. Diseño y construcción de láseres de pigmento. En: *Rev. Mex. Fís*, 1990, Vol. 36, p. 118-130.
7. H.H.JAFFÉ, M. Orchin, *Theory and Application of UV Spectroscopy*, Wiley: New York 1962.
8. STEPANOV, B. I. y RUBINOV, A. N. En: *Sov. Phys. Usp*, 1968, Vol. 11 (3), p. 304-319.
9. OJALA T. Biological Screening of Plant Coumarins. PhD Thesis, University of Helsinki, Helsinki Finland, 2001.

10. A.O DOROSHENKO, A.V. KIRICHENKO, A.G. MITINA, O.A. PONOMARYOV, J. Photochem. Photobiol. A. En: Chem, 1996, Vol. 94, 1996 p. 15-26.
11. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. y NIEMAN T. A. Espectrometría de luminiscencia molecular. En: Principios de análisis instrumental. 5 ed. Madrid: Editorial McGraw Hill, 2001, p. 381-404.
12. SKOOG, D. A. and LEARY, J.J. Análisis Instrumental. 4 ed. Madrid: Editorial McGraw Hill, 1994.
13. CH. REICHARDT, *Solvents and Solvents Effects in Organic Chemistry*, 2nd ed., Weinheim: VCH, 1990.
14. LAKOWICZ, J.R. et al. Advances in Surface-Enhanced Fluorescence. En: Journal of Fluorescence, 2004, Vol. 14, No. 4, p. 425-441.
15. DEMAS, J.N. y CROSBY, G.A. En: Journal Physics Chemistry, 1971, Vol. 75, p. 991.
16. PARKER, C.A. y REES, W.T. En: Analyst, 1960, Vol. 85, p. 587.
17. LAKOWICZ, J.R. et al. Intensified Fluorescence. Photonics Spectra. Oct. 2001, p. 96-104.
18. F.P. SCHARER, "Dye Laser", *Topics in Applied Physics*, En: Springer-Verlag, 1990, Vol. 1, 3a. edición, , Berlin-Heidelberg.
19. LAKOWICZ, J.R. Principles of fluorescence spectroscopy. Springer. 3rd. Baltimore, Maryland, USA.(2006).