

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias

Escuela Profesional de Física Aplicada

“Determinación de espectros de emisión de colorantes orgánicos: Cumarina,  $\beta$ -caroteno y Curcumina; mediante espectroscopia laser para potenciales aplicaciones biológicas y médicas”.

TESIS

Presentada por:

Bach. Yuvidza Choque Ticona

Para optar el Título Profesional de:

LICENCIADO EN FÍSICA APLICADA

TACNA - PERÚ

2018

## ACTA DE SUSTENCION DE TESIS N° 323

En la ciudad de Tacna, en el auditorio de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, siendo las 11.30 h. del día 27 de diciembre del 2018; estando presente el jurado calificador nominado mediante Resolución de Facultad N° 9245-2018-FACI-UN/JBG, conformada por los siguientes docentes:

Dr. Daladier Miguel Castillo Cotrina	Presidente
MSc. Carlos Armando Polo Bravo	Miembro
Mgr. Carlos Alberto Zavaleta Caballero	Secretario

A continuación se dio lectura a la resolución correspondiente y también al artículo 22 del reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias.

Acto seguido, el presidente del jurado invito a la Bachiller: Yuvidza Choque Ticona a exponer la tesis titulada: "Determinación de espectros de emisión de colorantes orgánicos: Cumarina,  $\beta$ -caroteno y Curcumina; mediante espectroscopia láser para potenciales aplicaciones biológicas y medicas".

Siendo las 12.00 horas la tesista concluyo su exposición, luego se procedió a la formulación de preguntas por parte del jurado calificador. Terminando este proceso, se invitó a que los miembros del jurado emitan su calificación de acuerdo al reglamento. El promedio de la calificación dio el siguiente resultado: Aprobado por unanimidad, con el calificativo de sobresaliente (17), de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias.

Siendo las 12.20 horas, se dio por concluido el acto de sustentación de la tesis, firmando los señores miembros del jurado calificador, en señal de conformidad.

PRESIDENTE



---

Dr. Daladier Castillo Cotrina

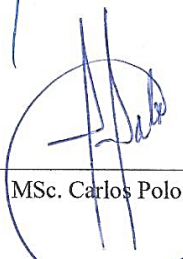
SECRETARIO



---

Mgr. Carlos A. Zavaleta Caballero

MIEMBRO



---

MSc. Carlos Polo Bravo

*Dedicado a mis padres y hermanas:*

*Juan, Elisa, Tere y Betsy.*

*Y en memoria de mis tíos*

*Oscar y Lola.*

**“La luz y la materia son entidades físicas simples, su aparente dualidad es fruto de la insuficiencia de nuestro lenguaje.”**

**W. Heisenberg**

**Conocer la esencia de la luz no es tarea de la física, su tarea es describir cómo se comporta la luz bajo ciertas condiciones. Y de esta forma se descubre y estudia que a veces se comporta como luz y a veces como partícula, pero “comportarse como” es muy distinto de “ser”.**

**Ignacio Martin Bragado**

*Toda intención sin acción...*

*es pura ilusión...*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por su guía, e infinita bendición.

A mis padres, por su amor y apoyo incondicional en todo momento.

A mis hermanas, por su paciencia y cariño.

A mis tíos, Winston, Julia F., Venita y Haydee por sus cuidados y cariño.

En especial, al grupo de investigación de Óptica y láseres (LYOL) de la UNT, dirigido por el Dr. Aldama quien me brindó sus conocimientos, su asesoría, su amistad y quien aceptó en hacer una estancia en el laboratorio (LYOL); Al Mgr. Jenrhy Agreda por su amistad, su apoyo y sus consejos; Al Mgr. Miguel Valverde por sus sugerencias y al Prof. Oswaldo Sanchez por permitirme el uso del laboratorio de Nanotecnología.

A grandes amigos, Hector, Diana y Carlos a quienes pude conocer y estrechar lazos fuertes de amistad, a la familia Rivera Rios por aceptarme como un miembro más de su familia y a todos los que pude conocer en la ciudad de Trujillo.

A mi asesor Dr. Antonio Tiburcio, quien me motivo a seguir la línea de óptica, al Mgr. Eduardo Rodriguez, por su apoyo en los trámites administrativos, a la Mgr. Edith Choque por su amistad y al Ing. Orlando Mariaca por sus consejos.

A la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann por impulsar el programa de "Concurso de financiamiento de tesis para optar el título de pregrado con fondos

del canon, sobre canon y regalías mineras 2016-I”, que me dio la oportunidad de realizar esta tesis.

A mis amigos de toda la vida Mirelly, Niven, Coral, David, Gunther, Mariella, Jesús, Lilian, Edgar, Jhon, Arturo y Gustavo con quienes compartí gratos momentos dentro y fuera de la UNJBG.

## RESUMEN

En esta tesis se presentan los espectros de emisión de colorantes orgánicos para determinar unas de las propiedades ópticas de estos materiales como es la fluorescencia. Las muestras en solución usadas en el desarrollo de este trabajo fueron caracterizadas mediante espectroscopia laser, siendo el arreglo experimental consistente de un mini espectrómetro y un diodo laser continuo a una longitud de onda de 450 nm en la región azul del espectro. Este arreglo experimental permite irradiar las muestras en solución, a diferentes concentraciones, para obtener los espectros de emisión correspondiente, complementando esta información mediante los espectros de absorción para determinar la región efectiva de cada colorante que es materia de estudio. Se determinó que en ambos casos la intensidad de emisión y absorción incrementan su intensidad debido a la presencia de cromóforos y fluoróforos que realizan los procesos antes mencionados. La importancia de este estudio radica en las potenciales aplicaciones médicas, por ejemplo en las terapias fotodinámicas, y en el campo biológico, como método de estudio para visualizar algunos problemas en algunas regiones de interés. Los efectos producidos por estos métodos espectroscópicos están relacionados a las bandas asociadas de absorción y emisión de los respectivos colorantes.

**Palabras claves:** Emisión, Absorbancia, colorantes orgánicos, laser de colorantes, fotodinámica.

## **ABSTRACT**

This thesis presents the emission spectra of organic dyes to determine some of the optical properties of these materials such as fluorescence. The samples in solution used in the development of this work were characterized by laser spectroscopy, being the experimental arrangement consisting of a mini spectrometer and a continuous laser diode at a wavelength of 450 nm in the blue region of the spectrum. This experimental arrangement allows the samples to be irradiated in solution, at different concentrations, to obtain the corresponding emission spectra, complementing this information by absorption spectra to determine the effective region of each dye subject of study. It was determined that in both cases the intensity of emission and absorption increase their intensity due to the presence of chromophores and fluorophore that perform the aforementioned processes. The importance of this study lies in the potential medical applications, for example in photodynamic therapies, and in the biological field, as a study method to visualize some problems in some regions of interest. The effects produced by these spectroscopic methods are related by the associated bands of absorption and emission of the respective dyes.

**Keywords:** Emission, Absorption, organic dyes, dye laser, photodynamic.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO 1 .....	6
DESCRIPCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	6
1.1    Formulación del problema.....	6
1.2    Justificación e importancia de la investigación .....	6
1.3    Objetivos .....	7
1.3.1.    Objetivos Generales .....	7
1.3.2.    Objetivos Específicos.....	7
1.4    Hipótesis .....	7
1.5    Variables.....	7
CAPÍTULO 2 .....	8
FUNDAMENTO TEÓRICO .....	8
2.1    Principios de la Espectroscopia .....	8
2.1.1    Espectroscopia.....	8
2.1.2    Espectro electromagnético .....	9
2.1.3    Espectroscopia UV- Visible.....	10
2.1.4    Interacción de la luz con la materia.....	10
2.1.5    Origen y estructuras .....	11

2.2	Análisis Cuantitativo .....	12
2.2.1	Absorción de la luz.....	12
2.2.2	Ley de Lambert – Beer.....	14
2.3	Espectro de Absorción.....	15
2.4	Espectro de Emisión .....	16
2.5	Espectro de Fluorescencia .....	17
2.5.1	Relación entre el espectro de absorción y emisión .....	19
2.6	Espectroscopia Laser .....	20
2.6.1	Láser.....	21
2.6.2	Principios de funcionamiento.....	23
2.7	Colorantes.....	24
2.7.1	$\beta$ -Caroteno.....	25
2.7.2	Cumarina.....	26
2.7.3	Curcumina.....	27
CAPÍTULO 3 .....		29
DISEÑO EXPERIMENTAL .....		29
3.1	Arreglos Experimentales .....	29
3.1.1	Espectros de absorbancia .....	29
3.1.2	Espectros de emisión.....	31

3.2	Procedimiento Experimental .....	32
3.2.1	Materiales .....	32
3.2.2	Preparación de las soluciones.....	33
3.2.3	Irradiación de muestras .....	34
3.2.4	Medidas de los espectros de absorbancia.....	34
3.2.5	Medidas de los espectros de emisión .....	35
CAPÍTULO 4 .....		37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....		37
4.1.	Espectros del $\beta$ -caroteno .....	37
4.1.1.	Espectros de absorbancia .....	37
4.1.2.	Espectro de emisión .....	38
4.2.	Espectros de la Cumarina .....	39
4.2.1.	Espectros de absorbancia .....	39
4.2.2.	Espectros de emisión.....	40
4.2.3.	Comparación .....	40
4.3.	Espectros de la Curcumina .....	41
4.3.1.	Espectros de Absorbancia .....	42
4.3.2.	Espectros de emisión.....	42
4.3.3.	Comparación .....	43

4.4. Discusión de Resultados.....	45
CAPÍTULO 5.....	48
CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS.....	48
5.1. Conclusiones .....	48
5.2. Sugerencias.....	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Regiones del espectro electromagnético.....	9
Figura 2. Fenómenos ópticos. ....	11
Figura 3. Energía absorbida entre niveles .....	13
Figura 4. Picos de absorción del $\beta$ -Caroteno. ....	16
Figura 5. Energía emitida entre niveles .....	17
Figura 6. Diagrama de niveles de cambio de energías,.....	19
Figura 7. Imagen especular de la Cumarina.....	20
Figura 8. Características del haz de luz láser .....	21
Figura 9. Partes de un Láser .....	22
Figura 10. Principios de funcionamiento del láser.....	24
Figura 11. Estructura molecular del $\beta$ -Caroteno .....	26
Figura 12. Estructura molecular de las Cumarinas .....	27
Figura 13. Estructura molecular de la Curcumina .....	28
Figura 14. Diagrama del sistema de absorción .....	29
Figura 15. Arreglo experimental para la obtención del espectro de absorbancia. 30	
Figura 16. Diagrama del sistema de emisión .....	31
Figura 17. Arreglo experimental para la obtención del espectro de emisión.....	32
Figura 18. Pesado de las muestras de colorantes orgánicos.....	33
Figura 19. Pasos para la preparación de la solución base. ....	33
Figura 20. Medida del espectro de absorbancia con la lámpara halógena. ....	34

Figura 21. (a) Fluorescencia del $\beta$ -caroteno. (b) Fluorescencia de la Cumarina. (c) Fluorescencia de la Curcumina.....	36
Figura 22. Espectro de absorbancia del $\beta$ -Caroteno. ....	38
Figura 23. Espectro de emisión del $\beta$ -Caroteno. ....	38
Figura 24. Espectros de absorbancia de la Cumarina. ....	39
Figura 25. Espectros de emisión de la Cumarina.....	40
Figura 27. Espectros de absorbancia de la Curcumina. ....	42
Figura 28. Espectros de emisión de la Curcumina.....	43
Figura 29. Picos máximos de la Curcumina .....	44

## INTRODUCCIÓN

El estudio de la interacción de la energía radiante con la materia ha desarrollado métodos y técnicas relacionadas a la fotofísica que permiten identificar las sustancias simples o complejas de sus espectros de absorción o emisión e identificando la cantidad de sustancia que interactuó en el análisis, denominando esta ciencia experimental como espectroscopia.

Estos métodos, en los últimos años, son mucho más eficientes gracias al surgimiento de nuevas tecnologías que han permitido integrar nuevas fuentes de radiación, como el uso del láser, el cual es una herramienta de investigación más poderosa de la ciencia moderna, sus aplicaciones están presentes en las telecomunicaciones, en la industria, en usos militares, en la conservación artística, en la medicina (Hecht, 2005) entre otras. Existen aplicaciones que no causan cambios físicos-químicos permanentes a diferencia de otras donde el cambio es definitivo. La adición de los colorantes orgánicos a esta técnica se da por las múltiples aplicaciones que tiene en la salud y su presencia en la dieta diaria del ser humano, debido a su presencia en productos vegetales y animales que le dan el color característico a cada uno de ellos.

La espectroscopia laser tiene bastantes aplicaciones en la biología y en la medicina. Algunas técnicas solo dependen de los efectos térmicos de la luz láser que al interaccionar con el tejido vivo provoca la elevación de temperatura en la zona irradiada, causando células fundidas o removidas con el fin de generar la auto

reparación del tejido; La terapia fotoquímica es otra técnica dependiente del efecto térmico y de una determinada longitud de onda. Otra aplicación es la fototermólisis, fototerapia o fotodinámica (TFD) selectiva usando agentes fotosensitivos en la destrucción de áreas localizadas de infección bacterial, o células dañadas individualmente como las células leucémicas o en el tratamiento de tumores. Este último tratamiento concentra ciertos agentes en zonas afectadas induciendo toxicidad localizada, vía radiación láser sintonizable provocando la luminiscencia de la región irradiada (Pérez, 1990). Este tipo de láser de colorante es usado también para el tratamiento de lesiones vasculares (Costela, García-Moreno, y Sastre, 2016), restauración cutánea no ablativa, tratamientos de cicatrices con excesivo borde en la herida inicial como son hipertróficas y quiloides, lesiones pigmentadas (Yu. et al., 2017), eliminación de tatuajes, tumoraciones cutáneas por el virus del papiloma humano, aplicaciones ginecológicas, fragmentación de cálculos renales o en revestimiento de algunos órganos (Robledo, 2016). Las aplicaciones en la biología proporcionan información útil de sustratos biológicos lo que puede servir de técnica de diagnóstico.

Uno de los primeros láseres sintonizables en aparecer son los láseres de colorantes, los cuales utilizan moléculas orgánicas en solución, generalmente líquidas, como medio activo de sintonía y están excitadas por láseres continuos o pulsados. Son utilizados como amplificadores debido a su elevada ganancia, lo que permite operarlos con longitudes activas muy cortas, los beneficios de poseer un medio activo líquido es la facilidad de operación, la posibilidad de hacer fluir el

colorante para evitar los efectos de calentamiento y descomposición, el recambio fácil y bajo costo.

El empleo del láser de colorante de onda continuo reduce el ancho de banda, también es posible emplear el láser de colorante con otro láser, provocando la reducción del ancho de banda de salida hasta en 99 %, manteniendo el 70 % de energía original, obteniendo un láser de colorante sintonizable con anchura de banda muy estrecha, logrando una amplia gama de longitudes de onda (Rami, 1991)

Basado en estos conceptos mencionados, la “Determinación de espectros de emisión de colorante orgánicos como el Cumarina,  $\beta$ -caroteno y la Curcumina por espectroscopia láser para potenciales aplicaciones biológicas y médicas”, trabajados en este tema de investigación de la presente tesis, permite definir las concentraciones adecuadas de los colorantes en estudio permitiendo obtener experimentalmente emisión sintonizable dentro del espectro electromagnético. Este trabajo tiene por objetivos:

- Determinar los espectros de emisión de colorantes orgánicos mediante espectroscopia laser bajo diferentes condiciones de trabajo.
- Cuantificar los principales parámetros físicos de las muestras en estudio para considerar sus potencialidades en procedimientos médicos y biológicos.

Este trabajo de tesis se ha dividido en cinco capítulos. El primer capítulo hace una descripción de los aspectos generales como los objetivos, el problema, la hipótesis, la justificación y variables de la investigación.

El segundo capítulo explica el fundamento teórico de los principios y técnicas espectroscópicas utilizadas durante su desarrollo.

El tercer capítulo describe los procedimientos y arreglos experimentales del diseño experimental utilizado.

El cuarto capítulo detalla los resultados obtenidos y la discusión de los mismos.

El quinto capítulo define las conclusiones y recomendaciones que se obtienen de esta tesis y finalmente las referencias bibliográficas.

Este trabajo fue desarrollado gracias al programa de “Concurso de financiamiento de tesis para optar el título de pregrado con fondos del canon, sobre canon y regalías mineras 2016-II” de la Universidad Nacional “Jorge Basadre Grohmann” y al Laboratorio de Óptica y Láseres (LOYL) del departamento de Física de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT).

## **GLOSARIO DE ABREVIATURAS**

C : Concentración

Cum : Colorante Cumarina o Coumarina.

Cur : Colorante Curcumina.

$\lambda$  : Longitud de Onda (nm).

$\lambda_{\max}$  : Longitud de onda máxima

$\lambda_{\text{Abs.}}$  : Longitud de onda de Absorción

$\lambda_{\text{exi.}}$  : Longitud de onda de Emisión

u. a.: Unidades Arbitrarias

UV-Vis: Ultravioleta visible

## CAPÍTULO 1

### DESCRIPCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

#### 1.1 Formulación del problema

¿De qué manera la determinación por espectroscopia láser de espectros de emisión de colorantes orgánicos puede potencializar aplicaciones médicas y biológicas?

#### 1.2 Justificación e importancia de la investigación

Hoy en día, una de las preocupaciones fundamentales del hombre es la alimentación saludable y equilibrada. Por esta razón, los alimentos han tomado una gran importancia, además de nutrir, aportan diferentes propiedades para el cuidado de la salud.

Para esto, se desarrollan diferentes investigaciones acerca de las concentraciones de compuestos orgánicos, con el fin de verificar y comprobar científicamente sus beneficios para su tratamiento y reducir el riesgo de enfermedades.

Los antioxidantes naturales, como la Cumarina,  $\beta$ -caroteno y la Curcumina, son compuestos orgánicos que presentan diferentes aplicaciones terapéuticas, intervienen en la prevención y control del crecimiento del cáncer, de enfermedades cardiovasculares, son antiinflamatorios y utilizados en el tratamiento de infecciones crónicas que afectan al ser humano, es por este motivo que la determinación de los espectros de emisión de los colorantes orgánicos mediante espectroscopia láser permitirá obtener datos experimentales que contribuyan a determinar potenciales aplicaciones en procedimientos médicos y biológicos.

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivos Generales**

Determinar los espectros de emisión de colorantes orgánicos: Cumarina,  $\beta$ -Caroteno y Curcumina; mediante espectroscopia láser.

#### **1.3.2. Objetivos Específicos**

- Determinar los espectros de emisión de colorantes orgánicos mediante espectroscopia láser bajo diferentes condiciones de trabajo.
- Cuantificar los principales parámetros físicos de las muestras en estudio para considerar sus potencialidades en procedimientos biológicos y médicos.

### **1.4 Hipótesis**

Si empleamos espectroscopia láser entonces podremos determinar los espectros de emisión de colorantes orgánicos.

### **1.5 Variables**

- **Identificación de las Variables**

Colorantes Orgánicos: Cumarina,  $\beta$ -caroteno y Curcumina.

Espectros de Emisión.

- **Caracterización de las variables**

Variable Independiente: Espectros de Emisión

Variables Dependientes: Colorantes Orgánicos

## **CAPÍTULO 2**

### **FUNDAMENTO TEÓRICO**

En este capítulo se da a conocer los conceptos necesarios sobre los principios y técnicas espectroscópicas utilizadas para este trabajo.

#### **2.1 Principios de la Espectroscopia**

##### **2.1.1 Espectroscopia**

La espectroscopia es una de las técnicas experimentales más utilizadas en la investigación, en el análisis cualitativo y cuantitativo de estructuras moleculares de compuestos orgánicos e inorgánicos basados en los fenómenos ópticos. Esta técnica es empleada en diferentes áreas como la astronomía, la física, la biología, las ciencias médicas, entre otras ciencias (Castellano y Zetina, 2015) .

La espectroscopia es la ciencia que estudia los espectros, consistentes en la interacción de la radiación electromagnética (luz) con la materia, compuesta por una serie de partículas denominados fotones que se propagan en el espacio por ondas que viajan a la velocidad de la luz, entonces cuando una molécula colisiona con un fotón puede absorber la energía de este, produciendo un aumento de energía de la molécula en una cantidad igual a la energía del fotón. Así, las radiaciones de mayor energía tienen mayor frecuencia o menor longitud de onda ( $\lambda$ ). Actualmente este concepto se ha ampliado incluyendo otras formas de energía como ondas acústicas, haces de partículas de electrones o iones (Cortez, 2017).

El análisis espectral que se realiza con esta técnica es por el cambio de dirección de la radiación incidente, permitiendo detectar la absorción o emisión de radiación

de ciertas energías y relacionar estas energías con los cambios de niveles implicado en las transiciones cuánticas de su estructura molecular. Esta variación se registra en forma espectro, definiéndose como la representación gráfica de la distribución de intensidades en función de su frecuencia o longitud de onda (Rubio y Segade, 1979).

### 2.1.2 Espectro electromagnético

El espectro de la radiación electromagnética se divide en varias regiones (Figura 1) que depende de los procesos y cambios energéticos implicados, determinando la naturaleza de la interacción con los átomos o moléculas.

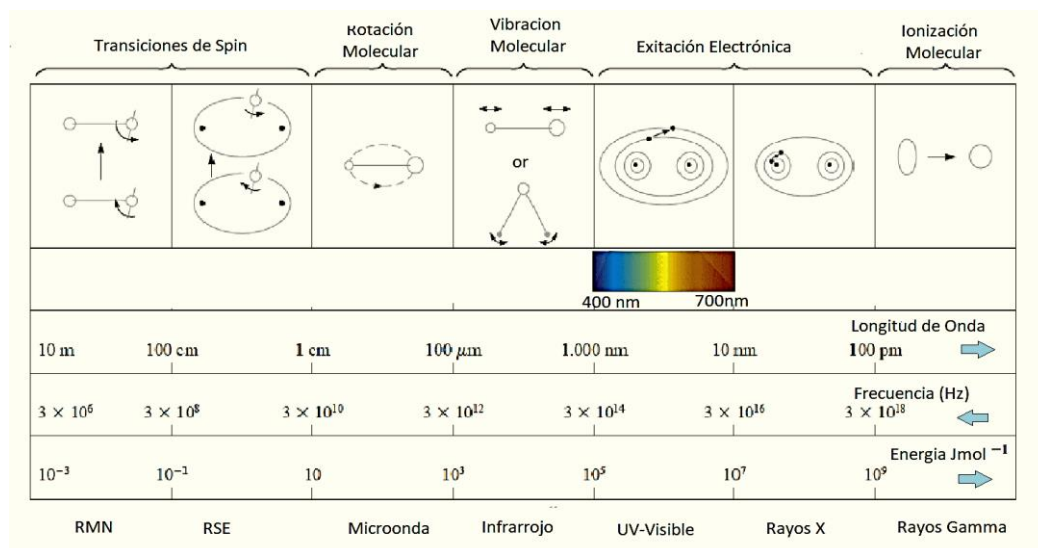


Figura 1. Regiones del espectro electromagnético. En este gráfico se describen las características de la radiación electromagnética como la longitud de onda, la frecuencia y energía. Los cambios en la distribución electrónica se producen en la región UV/ visible. (Banwell, 1983)

### **2.1.3 Espectroscopia UV- Visible**

La espectroscopía UV–Visible se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética, en el rango UV-Vis, que puede absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente.

Esta técnica mide las transiciones energéticas desde el estado basal a uno de mayor energía y constituye un análisis complementario a la espectroscopía de fluorescencia (Oña, 2017). La región UV se define como rango de longitudes de 195-400 nm. A causa de esto, no todos los grupos funcionales se pueden determinar con este método excepto de aquellos que poseen por lo menos un enlace doble en su estructura y los compuestos con dobles enlaces aislados, triples enlaces, grupos carbonilos, heteroátomos entre otros.

En la región visible se aprecia el color de una solución correspondiente a la longitud de onda de luz que transmite, no que absorbe. El color que absorbe es complementario al color que transmite. Por tanto, para realizar mediciones de absorción es necesario utilizar la longitud de onda en la que absorbe la luz la solución coloreada.

### **2.1.4 Interacción de la luz con la materia**

Cuando la radiación interacciona con la materia, dan lugar a varios fenómenos ópticos, descritos en la Figura 2, como reflexión, dispersión, absorbancia, fluorescencia/fosforescencia y también una reacción fotoquímica como absorción y rotura de enlaces (Owen, 2000).

Donde:

- $I_0$  : Incidente
- $I_R$  : Reflexión
- $I_D$  : Dispersión
- $I_T$  : Transmisión
- $I_A$  : Absorción

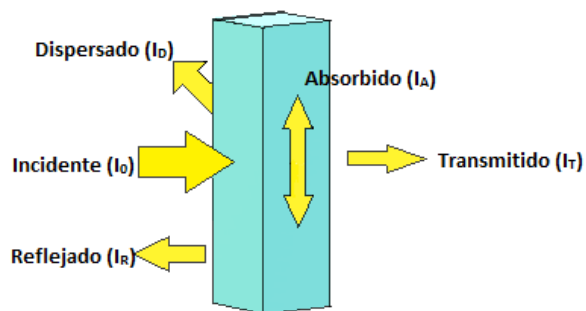


Figura 2. Fenómenos ópticos originados por la incidencia de luz sobre la muestra.

### 2.1.5 Origen y estructuras

Como la luz es una forma de energía, la absorción de la luz por la materia causa que aumente el contenido de energía de las moléculas (o átomos). La energía potencial total de una molécula se representa como la suma de tres componentes:

$$E_{\text{Total}} = E_{\text{Electrónica}} + E_{\text{Vibracional}} + E_{\text{Rotacional}} \quad (2.1)$$

- **Energía electrónica:** En las moléculas orgánicas, los electrones son distribuidos en diferentes niveles electrónicos llamados orbitales moleculares. Aquí los electrones se ubican en orbitales de menor energía dejando libres a los orbitales superiores, estos primeros orbitales enlazantes son los enlaces  $\sigma$  y  $\pi$ , los de mayor energía son los orbitales antienlazantes  $\sigma^*$  y  $\pi^*$ . Si en una molécula existen pares electrónicos libre ( $\eta$ ) son no enlazantes
- **Energía vibracional:** Es la energía cinética y potencial que poseen las moléculas debido al movimiento vibracional

- **Energía de rotación.** Es la energía cinética que poseen las moléculas debido a la rotación de su centro de gravedad alrededor de un eje.

La cantidad de energía que una molécula posee en cada forma es una serie de niveles o estados discretos. La diferencia de energía entre los diferentes estados separa la energía molecular en contribuciones individuales, presentando el siguiente orden:

$$E_{\text{Electrónica}} > E_{\text{Vibracional}} > E_{\text{Rotacional}} \quad (2.2)$$

En algunas moléculas y átomos, los fotones de luz tienen suficiente energía para causar transiciones entre los diferentes niveles. El orden y la magnitud de estas energías son muy diferentes, por lo que las radiaciones electromagnéticas absorbidas o emitidas debidas a cambios energéticos, son muy distintas en longitud de onda y frecuencia, pudiéndose obtener espectros característicos de la zona afectada (Owen, 2000).

Sin embargo en las moléculas, los niveles de energía vibracional y rotacional están superpuestos sobre los niveles de energía electrónica. Como pueden ocurrir muchas transiciones con diferentes energías, las bandas se ensanchan incluso es mayor en las disoluciones, debido a las interacciones disolvente-soluto.

## **2.2 Análisis Cuantitativo**

### **2.2.1 Absorción de la luz**

Cuando la muestra (analito) es estimulada perpendicularmente por una determinada longitud de onda de  $I_0$  de una fuente externa de radiación, parte de la

radiación incidente es absorbida  $I_a$ , por la sustancia que absorbe luz (cromóforo) y el resto es transmitida  $I_t$ .

$$I_o = I_a + I_t \quad (2.3)$$

El aumento de la energía interna de la molécula hace que su estado sea inestable, generando un decrecimiento de la intensidad incidente, por lo que rápidamente vuelve a liberar esa energía sobrante regresando a su estado inicial donde era más estable. A este estado base se denomina estado fundamental y el estado más energético se denomina estado excitado (Figura 3).

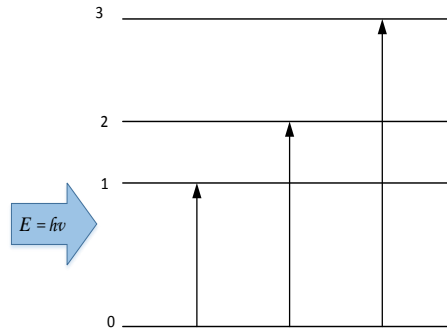
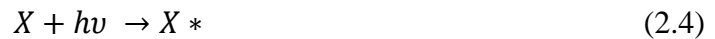


Figura 3. Energía absorbida entre niveles

Para que tenga lugar la absorción de radiación por la muestra es necesario que se cumplan las siguientes condiciones:

- Tiene que existir una interacción entre el campo eléctrico (también se puede utilizar la componente magnética) de la radiación y alguna carga eléctrica de la muestra.
- La energía del fotón incidente debe satisfacer exactamente los requerimientos de la energía cuantizada de la sustancia. Esto es, la energía

de la longitud de onda ( $\lambda$ ) del fotón absorbido debe ser igual a la diferencia de energía entre el nivel inicial y final de la sustancia.

$$\lambda = \frac{hc}{E_2 - E_1} \quad (2.5)$$

Donde  $E_1$  es el nivel de energía de la molécula antes de la absorción y  $E_2$  es el nivel de energía alcanzado durante la absorción (Hernandez y Pérez, 2002). El cambio entre niveles de energía se llama transición, representa la energía para mover un electrón de una órbita a otra.

### 2.2.2 Ley de Lambert – Beer

La ley de absorción, también conocida como ley de Lambert-Beer, dice cuantitativamente cómo la magnitud de la atenuación depende de la concentración de las moléculas absorbentes y la extensión del camino óptico sobre el cual ocurre la absorción. Para una solución con determinada concentración, cuanto más largo sea la longitud del camino óptico, más centros absorbentes estarán en el camino, y mayor será la atenuación. También, cuanto mayor sea la concentración de absorbentes, más fuerte será la atenuación.

La transmitancia (T) de una sustancia es la relación entre la cantidad de luz transmitida  $I_t$  y la cantidad de luz incidida  $I_o$ , así se tiene:

$$T = \frac{I_t}{I_o} \quad (2.6)$$

Dando como resultado la atenuación de la potencia del haz incidido como consecuencia de la interacción de los fotones y las moléculas absorbentes. Es así como la relación de la transmitancia y la concentración no es lineal, la energía

transmitida disminuye geométrica (exponencialmente) con la concentración C y con la distancia b recorrida a través de la disolución.

La absorbancia de la muestra indica la cantidad de luz absorbida por la muestra, definida por el logaritmo de  $T^{-1}$ , donde el haz transmitido es el haz del solvente entre el haz incidente de la solución, expresado como (Owen, 2000):

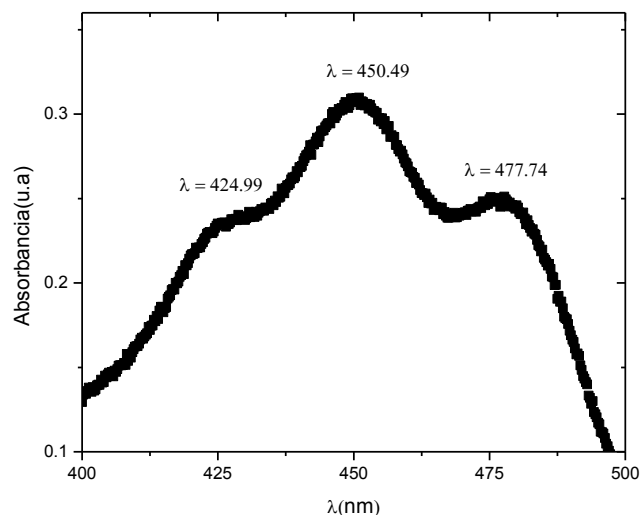
$$A = \log\left(\frac{1}{T}\right) = -\log T = -\log \frac{I_t (\text{Solvente})}{I_o (\text{Solución})} \quad (2.7)$$

Si la intensidad incidente y transmitida son iguales ( $I_0 = I_t$ ), A sería  $\log 1 = 0$ . Resultando la no absorbancia de la muestra. Entonces, la cantidad de luz absorbida dependerá de la distancia que atraviesa la luz a través de la solución del cromóforo y de la concentración del mismo.

### 2.3 Espectro de Absorción

Un espectro de absorción es la representación gráfica de la variación de la luz absorbida por una sustancia a diferentes longitudes de onda, el mismo que es característico para cada cromóforo o para la confirmación de su identidad, dependiendo de la estructura química (Ruales, 2015).

Del espectro de absorción, se determina el valor máximo de la longitud de onda ( $\lambda_{\max}$ ) al cual el cromóforo tiene mayor absorbancia, o también puede tener más de un pico de absorbancia, como se muestra en la Figura 4.

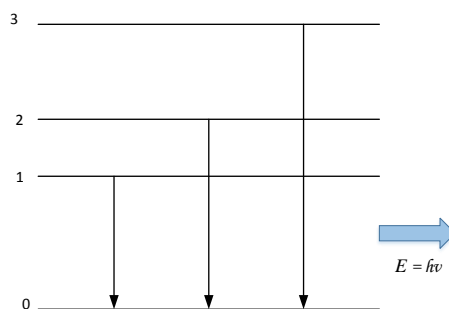


*Figura 4.* Picos de absorción del  $\beta$ -Caroteno. Se muestra que un compuesto puede tener más de un pico de absorción (Moreno, 2014)

## 2.4 Espectro de Emisión

El espectro de emisión se obtiene excitando adecuadamente las moléculas a uno o más niveles de energía, por exposición a una fuente de radiación electromagnética, térmica o eléctrica para que emita fotones, cuya intensidad se registra en función de su longitud de onda o de su frecuencia. La relajación para un nivel de energía más bajo o para el estado fundamental se produce con la liberación del exceso de energía en forma de radiación electromagnética (Figura 5), de calor o tal vez de ambos. La emisión se puede dar en forma de espectros continuos o discontinuos. El tiempo de vida de una especie excitada es generalmente transitoria de  $10^{-9}$  a  $10^{-6}$  s. (Skoog, West, Holler, y Crouch, 2005), (Hernandez y Pérez, 2002).





*Figura 5.* Energía emitida entre niveles

Tanto en sólidos y líquidos al tener sus átomos tan próximos sus espectros son continuos, esta propiedad permite utilizarlos como fuente de radiación en varias técnicas instrumentales.

## 2.5 Espectro de Fluorescencia

El fenómeno de fluorescencia se caracteriza por ser un proceso mediante el cual la molécula absorbe fotones, haciendo que los electrones sean excitados a niveles de mayor energía. Conforme los electrones se relajan a su estado fundamental, este puede transferir la energía en forma de calor o emitir radiación a una mayor longitud de onda con menor energía, este proceso produce la emisión de fluorescencia, que ocurre inmediatamente en  $10^{-7}$  -  $10^{-9}$ s. El tiempo de vida de la especie química capaz de fluorecer, es el fluoróforo, correspondiente al tiempo promedio entre el estado excitado y el fundamental; de acuerdo al tiempo del estímulo (Gore, 2000; Lakowicz, 2006).

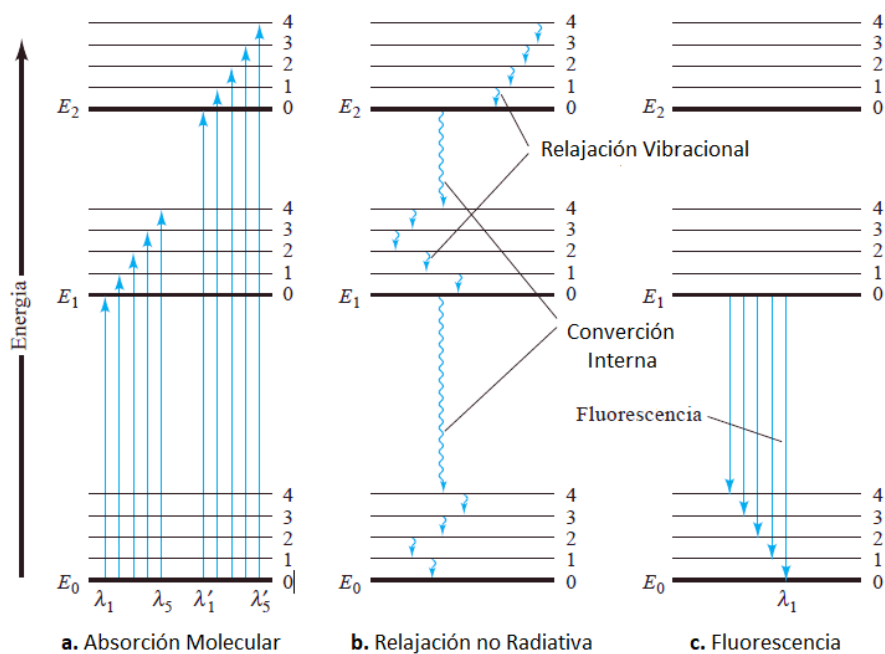
Este proceso se puede caracterizar por varios parámetros. Los más importantes entre ellos son la intensidad de fluorescencia a una longitud de onda dada, el

espectro de emisión (la dependencia de intensidad de emisión en la longitud de onda de emisión), rendimiento cuántico, tiempo de vida y la polarización (Hof, Hutterer, y Fidler, 2005)

En el diagrama de energía de Jablonski se muestran los procesos que ocurren entre la absorción y la emisión de la luz. Las flechas verticales hacia arriba corresponden al inicio del proceso de absorción, aquí se muestran tres niveles electrónicos de energía  $E_0$ ,  $E_1$  y  $E_2$ ;  $E_0$  es el estado fundamental,  $E_1$  y  $E_2$  son estados excitados. Cada uno de los estados electrónicos se presentan en cuatro niveles vibracionales excitados, la irradiación del fluoróforo con una radiación de banda  $\lambda_1$  y  $\lambda_5$  resulta con la población momentánea de los cinco niveles vibracionales del primer estado electrónico excitado,  $E_1$ . De forma similar, cuando las moléculas son irradiadas por longitudes de onda más corta de  $\lambda'_1$  y  $\lambda'_5$ , resulta el estado electrónico  $E_2$  transformándose momentáneamente en poblada.

Una vez excitada  $E_1$  o  $E_2$ , muchos procesos causan la pérdida del exceso de energía de la molécula como la relajación vibracional, relajación no radiante y la emisión fluorescente, como se ilustran en la Figura 6. La relajación vibracional, indicada por las flechas cortas onduladas, se produce durante las colisiones entre las moléculas excitadas y las moléculas del solvente, este último transfiere térmicamente la energía necesaria para regresar al estado basal. La relajación no radiante entre los niveles vibracionales más bajos y los niveles más altos de otro estado electrónico también puede ocurrir algunas veces la llamada conversión interna, señalada por las dos flechas onduladas largas. En la conversión interna para

pasar de un estado excitado a uno de menor energía de emisión se convierte en calor y no hay presencia de fotones, es mucho menos eficiente que la relajación vibracional de forma que el tiempo de vida medio de estado electrónico excitado está entre  $10^{-9}$  y  $10^{-6}$  s. La fluorescencia es otro proceso de relajación, este emite cuando las moléculas electrónicas excitadas se relajan a cualquiera de los estados vibracionales del estado basal.



*Figura 6.* Diagrama de niveles de cambio de energías, mostrando algunos cambios que ocurre durante la (a) absorción, (b) relajación no radiativa y (c) Fluorescencia (Skoog et al., 2005).

### 2.5.1 Relación entre el espectro de absorción y emisión

Cuando un haz de fotones incide sobre una molécula, produce una redistribución de cargas, a este fenómeno se le conoce como momento dipolar. Esta distribución de cargas polares da como resultado una vibración de los enlaces los

cuales dependen de la simetría de la molécula. Para que se dé este efecto debe haber una transferencia de energía (espectro de absorción- excitación) que posteriormente será liberada (espectro de emisión-fluorescencia), ambas imágenes son especulares uno del otro, tal como se muestra en la Figura 7.

Los patrones de absorción- emisión conllevan fotones con diferente energía emitida, los cuales sirven para identificar la molécula analizada. Una molécula cualquiera presenta varios modos de vibración que pueden ser simétricos o asimétricos con respecto a los elementos de simetría. Por tanto esta molécula presenta un pico con intensidad y posición única, lo cual sirve para cuantificarlos. (Valtierra y Reyes, 2005) A este principio se le conoce como la regla del espejo.

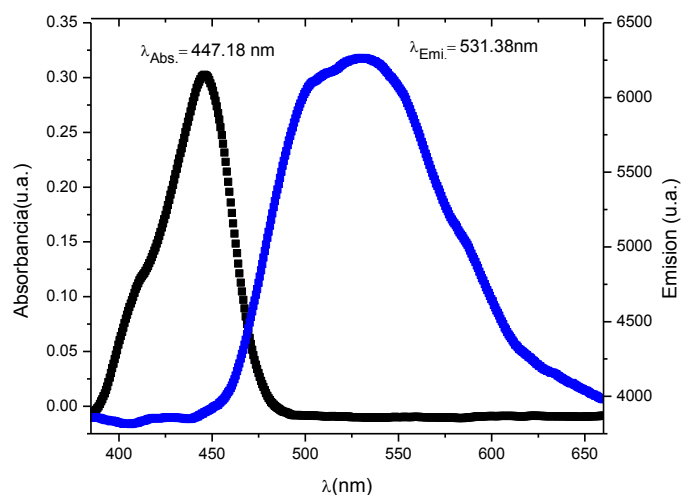


Figura 7. Imagen especular del espectro de absorción y emisión de la Cumarina.

## 2.6 Espectroscopia Láser

La espectroscopia laser es un conjunto de métodos y equipos que aprovechan las propiedades específicas de la emisión láser, como la monocromaticidad, coherencia, alta densidad espectral, unidireccionalidad y la energía otorgada a los

cuantos de luz no disminuye con la distancia, como se muestra en la siguiente Figura 8, a diferencia de otras fuentes luminosas (Martínez, 2010).



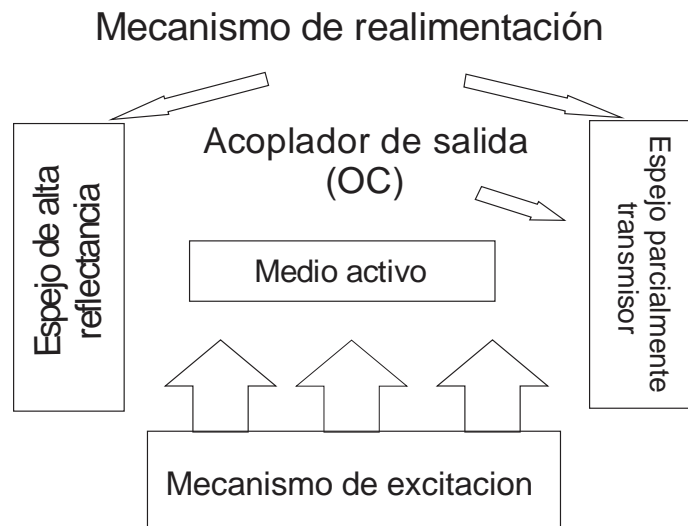
*Figura 8.* Características del haz de luz láser (Torró, 2008)

Esta técnica ha hecho posible aprovechar los métodos tradicionales de la espectroscopia ayudando a resolver nuevos problemas, que no se analizaban antes de la aparición el láser, con una adecuada resolución espacial y temporal, sensibilidad y selectividad (Pérez, 1990) .

### **2.6.1 Láser**

El láser es un emisor de radiación coherente, confinado en una cavidad resonante. La palabra laser proviene del ingles “Light amplification by stimulated emission of radiation” que significa amplificación de luz por emisión estimulada de radiación.

En principio, la mayoría de los láseres constan de tres partes (Figura 9): una fuente de bombeo, un medio activo, y una cavidad resonante.



*Figura 9. Partes de un Láser*

Para hacer un oscilador a partir de un amplificador, es necesario generar una retroalimentación positiva. En el caso de los láseres, la retroalimentación se obtiene colocando el medio activo entre dos espejos altamente reflejante (cavidad resonante). En este caso, los fotones viajan a una dirección ortogonal a los espejos, incide en uno de los espejos y regresa hacia el otro, vuelve a regresar a través del medio activo. Si uno de los dos espejos es parcialmente transparente, el haz podrá salir de la cavidad.

El proceso por el cual los átomos son excitados de un nivel a otro superior (para generar inversión de población) se conoce como bombeo (Pérez, 1990). Hay varias formas en las cuales puede ser realizado este proceso desde una pequeña corriente de semiconductores a descargas de gas y fuentes de plasma.

### **2.6.2 Principios de funcionamiento**

Los principios de funcionamiento de un láser son absorción, emisión estimulada, emisión espontánea e inversión de población observadas en la Figura 10.

En el caso de un evento de absorción, un fotón promueve el medio activo desde un estado de menor energía a un estado de mayor energía, donde el número de partículas que se encuentra en el estado excitado es muy pequeña e insignificante pero cuando el número de partículas en el estado excitado es mayor existe una inversión de población (Siano, 2008).

En la emisión espontánea, el estado excitado superior decae espontáneamente a un estado de menor energía y un fotón es emitido, muy independiente de alguna influencia externa, por tanto sus fotones se desplazan en distintas direcciones y fases, generándose una radiación monocromática incoherente.

La emisión estimulada es inversa al proceso donde los fotones estimulan un estado excitado para decaer a un estado de menor energía, emitiendo un fotón adicional (Suerbrey, 2000) idéntico al fotón estimulante con la misma energía, longitud de onda y la misma dirección de este. Ambos están en fase, produciendo un haz monocromático, direccional y coherente, característico del láser (Hecht, 2005).

La inversión de población se da cuando el estado excitado está más poblado que el estado de menor energía, condición necesaria para producir luz coherente (Marín Naranjo, 2006).

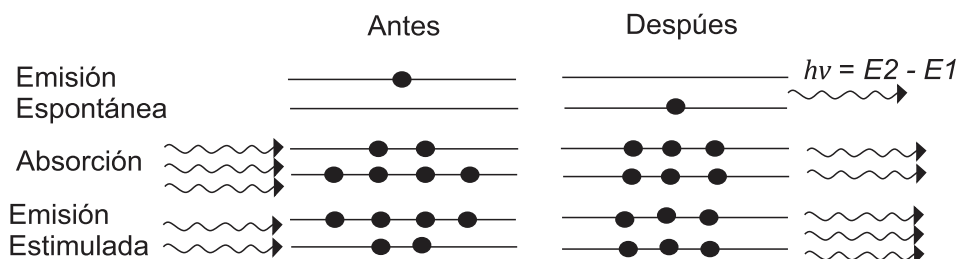


Figura 10. Principios de funcionamiento del láser, Emisión espontánea, absorción y emisión estimulada, donde E1 y E2 son las energías. (Electro-Optics Handbook, 2000)

## 2.7 Colorantes

Los colorantes orgánicos son moléculas que poseen enlaces dobles en su estructura química. Existen diferentes clases de colorantes orgánicos que al ser mezclados o disueltos con otras sustancias proporcionan una coloración característica. Estos se asocian en grupos con estructuras químicas similares como: Carotenoides, Cumarinas, Xantenos, Oxacinas, Cianinas, entre otras. Todos estos grupos de colorantes cubren un rango de emisiones de 320 nm a 1000 nm de la región visible.

Este fenómeno de coloración se debe a su intensa banda de absorción en el espectro visible. Cuando un fotón se aproxima a una molécula provoca una perturbación causada por la interacción del campo eléctrico del fotón hacia el campo eléctrico de la molécula, transfiriendo su energía y modificando la estructura electrónica, pasando de un estado basal a un estado excitado, sin alterar su estructura química (García, 2011).

En el caso de moléculas con varios enlaces dobles, las diferencias entre los niveles de energía se acortan y la energía es suficiente para promover las

transiciones electrónicas entre sus orbitales. Mientras más enlaces dobles presente, mayor es la longitud de onda y la intensidad de la banda de absorción.

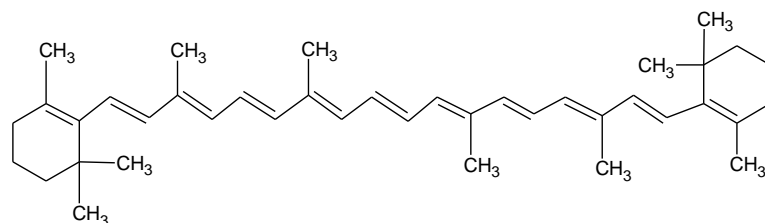
Debido a la interacción de las moléculas orgánicas con disolventes, se genera un ensanchamiento de los niveles de energía vibracional. Por consiguiente, se genera un espectro de banda sintonizable. Las disoluciones contienen bandas de emisión y absorción (Quispe, 2016).

Los colorantes utilizados para los láseres deben poseer las siguientes características (Sampedro, 2015) :

- Mínimo solapamiento entre las bandas de absorción y emisión.
- Altos rendimiento cuánticos de fluorescencia (0.5 – 1.0).
- Buena estabilidad química y fotoquímica.
- Baja absorción desde estados excitados.
- Baja probabilidad de cruce (ISC).

### **2.7.1 $\beta$ -Caroteno**

El  $\beta$ -Caroteno es un colorante orgánico, abundante en plantas y frutas de color rojo y anaranjado intenso. Forma parte de los carotenos, los cuales poseen un sistema extenso de enlaces dobles conjugados, sintetizados bioquímica a partir de ocho unidades de isopropeno con 40 carbonos y 56 hidrógenos ( $C_{40}H_{56}$ ) presentando una estructura molecular mostrada en la Figura 11; el  $\beta$ -Caroteno se distingue por ser isométrico por llevar dos anillos beta en ambos extremos y a medida que se extiende el sistema, la coloración se va acentuando, debido a la presencia de cromóforos en la molécula.



*Figura 11.* Estructura molecular del  $\beta$ -Caroteno

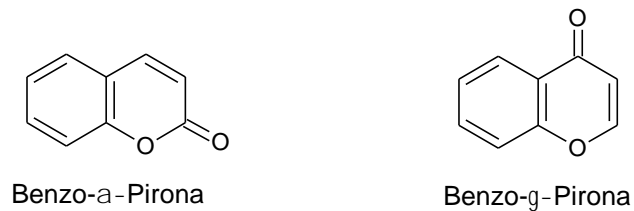
El espectro del  $\beta$ -Caroteno muestra su banda de absorción entre los 400-500 nm del espectro visible, debido a su absorbancia en el rango verde y azul, los colores reflejados o complementarios son el rojo y amarillo.

Debido a las diferentes propiedades que posee, estos colorantes se emplean en alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos. Los carotenos son antioxidantes, aumentan el sistema autoinmune y disminuye el riesgo de enfermedades degenerativas, cardiovasculares y la formación de cataratas (Assefa, 2017).

Entre los carotenos, el  $\beta$ -Caroteno es una fuente de provitamina A abundante en los alimentos. Entre ellos encontramos algunas variedades de zanahorias, calabazas, nueces, aceite de palmas, aceite de oliva, entre otras (Amaya, 1999).

### **2.7.2 Cumarina**

La Cumarina (C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) pertenece a la familia de las benzopironas. Su estructura consiste en un heterociclo bicíclico constituido por un anillo de benceno condensado a un anillo alfa-pirona, como se ve en la Figura 12. Se puede adherir diferentes grupos dadores, tales como hidroxilos, amino o alcoxi a cualquiera de los anillos, provocando una intensa fluorescencia debido al proceso interno de transferencia de carga inducido por la absorción de luz (Pacheco, 2017).



*Figura 12.* Estructura molecular de las Cumarinas (Benzopironas)

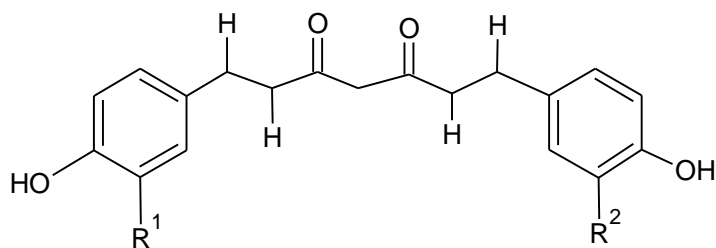
Este colorante se halla distribuido en grandes proporciones en el reino vegetal en plantas de vainilla, barbasco, fresas, canelas, entre otras (Aslam, 2010).

Sus bandas de absorción y emisión se hallan entre los 400-540 nm, en la región azul y verde del espectro visible, con una fluorescencia relativamente alta (Wagner, 2009).

La Cumarina presenta una amplia gama de actividades biológicas como diluyentes sanguíneos, vitamínicas hepaprotectores, antiinflamatorios, antioxidantes, antivirales, inhibidores enzimáticos, antibacterianos, anti-fúngicas y anti-tumorales. La cumarina puede ser tóxica cuando se usa en dosis altas durante un largo periodo (Pacheco, 2017).

### 2.7.3 Curcumina

La Curcumina ( $C_{21}H_{20}O_6$ ), es el principal polifenol curcuminoide hallado en la cúrcuma (curry), obtenido de la planta *Cúrcuma longa*. Su estructura química es simétrica y está constituida por dos anillos fenólicos conectados a un puente dicetónico alfa, beta-insaturado de 7 carbonos (González-Albadalejo et al., 2015; Mohammed, Rashid-Doubell, Cassidy, y Henari, 2017). Como se muestra en la Figura 13.



*Figura 13.* Estructura molecular de la Curcumina

La Curcumina es una molécula cromófora causante del color amarillo característico de los rizomas de esta planta, absorbe luz a una longitud de onda en un rango de 400-550 nm (Syafinara, Gomesha, Irwanto, Fareqa, y Y.M. Irwan, 2015).

La Curcumina tiene propiedades medicinales y farmacológicas como agente antiinflamatorio, antioxidante, contribuye al tratamiento de diferentes tipos de cánceres como el de sangre, piel, pulmones, páncreas, boca, intestinal y cuello uterino.

También es utilizada en el tratamiento de enfermedades biliares, úlceras, artritis, reumatismo, sinusitis, enfermedades cardiacas, colesterol, diabetes, enfermedades de Alzheimer, entre otras (Goel, Kunnumakkara, y Aggarwal., 2008; González-Albadalejo et al., 2015).

La importancia de los láseres de colorantes, donde se utilizan en diferentes proporciones, una gran variedad de moléculas orgánicas que absorben luz visible. Con esto se pueden obtener láseres que emitan radiación a diferentes longitudes de onda.

## CAPÍTULO 3 DISEÑO EXPERIMENTAL

En este capítulo se describe detalladamente los procedimientos y arreglos experimentales para la obtención de los espectros de absorbancia y emisión de los colorantes orgánicos empleados en esta investigación.

### 3.1 Arreglos Experimentales

Los arreglos experimentales desarrollados para la adquisición de los espectros de absorbancia y de emisión, son los mismos para los tres colorantes.

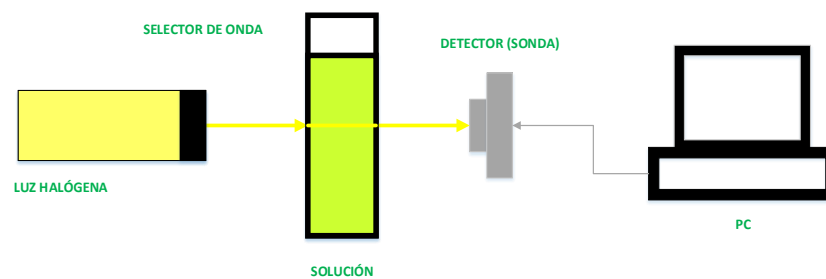
#### 3.1.1 Espectros de absorbancia

Para obtener el espectro de absorbancia se utilizó una fuente luminosa adecuada, del cual, se seleccionó una determinada  $\lambda$  incidida en la muestra enviando esta información a un transductor que transforma la información a una señal eléctrica para su registro, procesamiento y almacenamiento como se indica en el siguiente diagrama de la Figura 14.

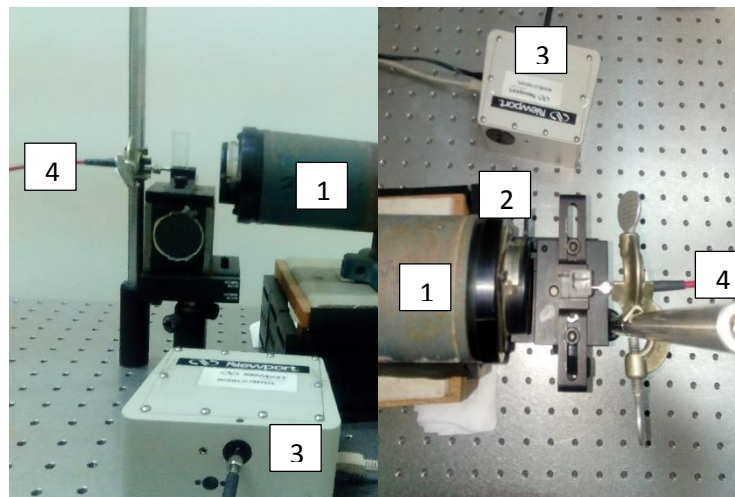


*Figura 14.* Diagrama del sistema de absorción

A continuación, en la Figura 15-a se muestra el diagrama del arreglo experimental para la obtención del espectro de absorción, y en la Figura 15-b el montaje del mismo arreglo en el laboratorio de Óptica y Láseres (UNT)



(a)



(b)

*Figura 15.* Arreglo experimental para la obtención del Espectro de Absorbancia. Arreglo Experimental para la Obtención del Espectro de Absorbancia. (a) Diagrama experimental. (b) Diferentes vistas fotográficas del montaje del arreglo, en el cual se utilizó como fuente de radiación una lámpara de halógeno (1), una rendija (2), un mini- espectrómetro (3-Newport modelo 78575PL), para la detección fibra óptica (4) y un dispositivo de lectura y proceso de datos.

### 3.1.2 Espectros de emisión

Para obtener el espectro de emisión, se dispuso del montaje del diagrama experimental que se muestra a continuación en la siguiente Figura 16.

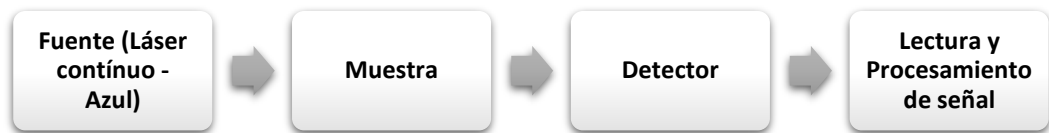
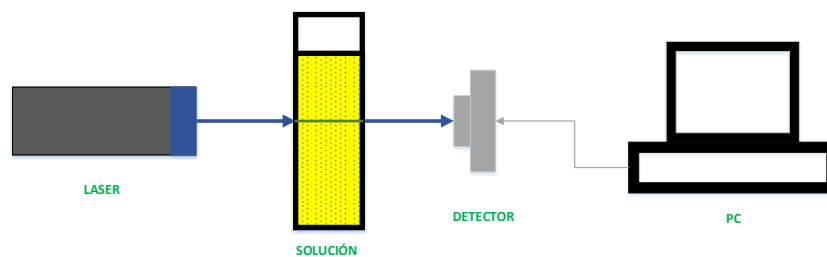
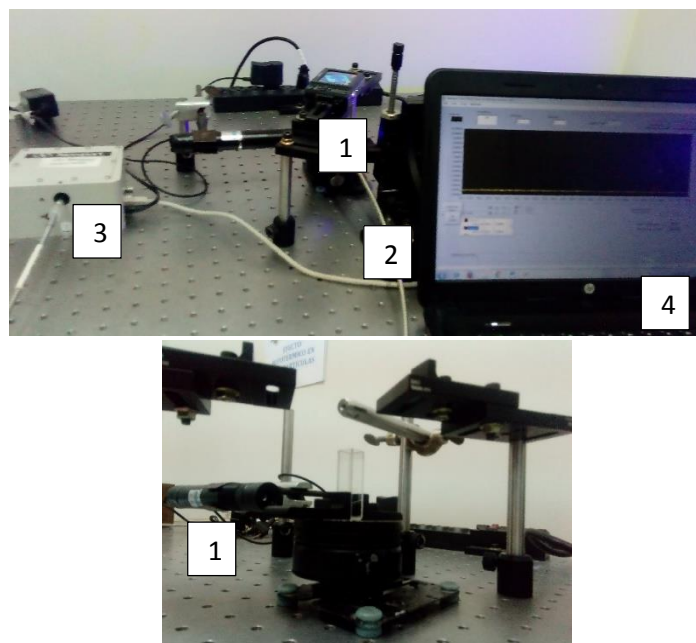


Figura 16. Diagrama del sistema de emisión

A continuación, en la Figura 17-a se muestra el diagrama del arreglo experimental para la obtención del espectro de emisión y la figura 17-b el montaje del mismo arreglo en el laboratorio de Óptica y Láseres (UNT)



(a)



b.

*Figura 17.* Arreglo experimental para la obtención del espectro de emisión. (a) Diagrama experimental. (b) Fotografías del montaje del arreglo experimental del espectro de Emisión, aquí se trabajó con un láser continuo como fuente de radiación (1), una sonda para la detección (2- fibra óptica), un mini- espectrómetro (3 - Newport modelo 78575PL) y un dispositivo (4- laptop) para la lectura y proceso de datos.

## 3.2 Procedimiento Experimental

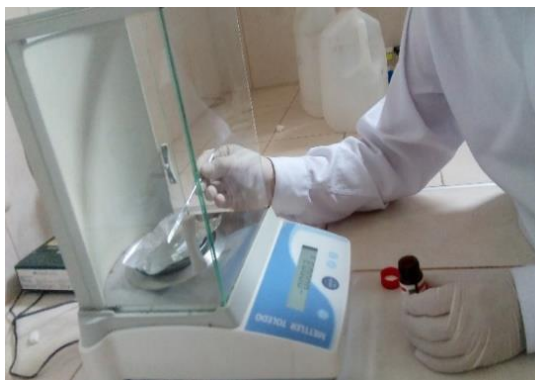
Los procedimientos experimentales realizados para la obtención de los espectros de absorbancia y de emisión, son los mismos para los tres colorantes.

### 3.2.1 Materiales

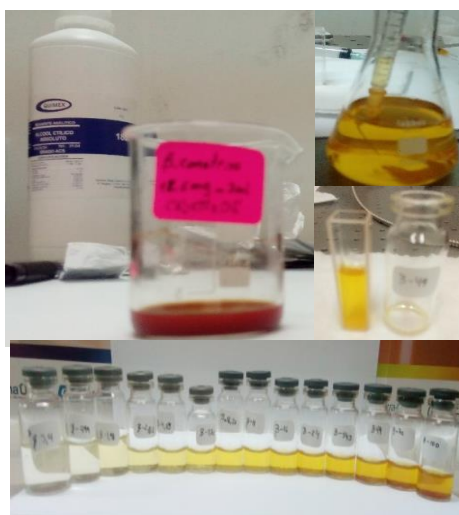
Los materiales utilizados para estas disoluciones son los colorantes orgánicos:  $\beta$ -caroteno, Cumarina y Curcumina como solutos, estos compuestos fueron adquiridos de la empresa Sigma-Aldrich; y como único solvente se usó etil o alcohol absoluto.

### 3.2.2 Preparación de las soluciones

Para la preparación de las muestras se tomó como base inicial 1 mg de colorante orgánico (Figura 18) en 10 mL de alcohol absoluto, dando como resultado una concentración inicial de 100 mg/L que se fueron degradando, como se observa en la Figura 19, para obtener un punto máximo de concentración.



*Figura 18.* Pesado de las muestras de colorantes orgánicos.



*Figura 19.* Pasos para la preparación de la solución base.

### 3.2.3 Irradiación de muestras

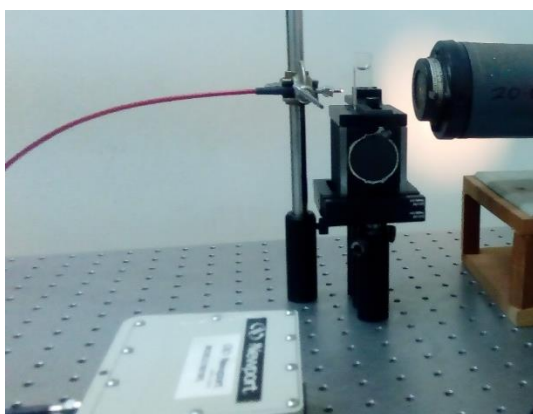
Una vez obtenidas las concentraciones se procedió a trabajar con los arreglos experimentales para llevar a cabo las medidas en la región del espectro electromagnético.

Se vertió la solución en una cubeta de vidrio de 10 mm de camino óptico, esta muestra fue irradiada por una fuente luminosa, produciendo que el colorante absorba dicha radiación la cual fue detectada por una sonda (fibra óptica) del mini-espectrómetro para capturar su espectro y así realizar su procesamiento.

Este trabajo de irradiación se hizo con cada una de las diferentes concentraciones, tanto para los espectros de absorbancia como de emisión.

### 3.2.4 Medidas de los espectros de absorbancia

Para los espectros de absorbancia de los tres colorantes se trabajó con luz halógena como fuente de irradiación (Figura 20). Se midieron en un intervalo de 350-550 nm, a una temperatura de 21 °C, para el procesamiento de datos se utilizó el software OriginPro2017.

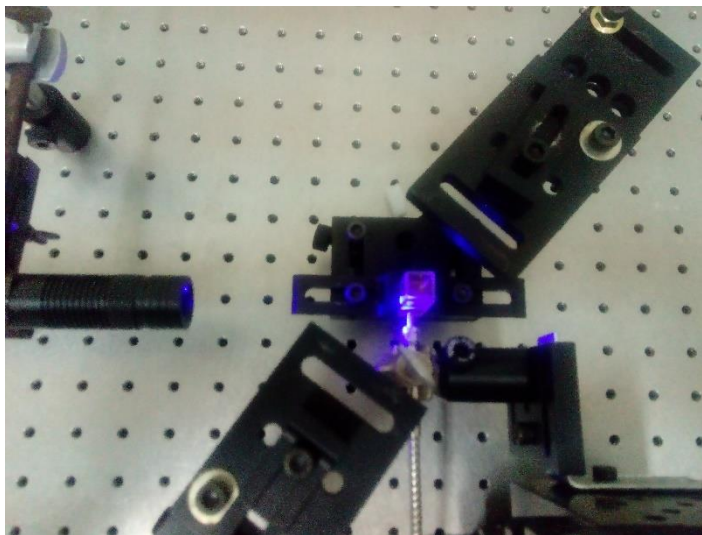


*Figura 20.* Medida del espectro de absorbancia con la lámpara halógena.

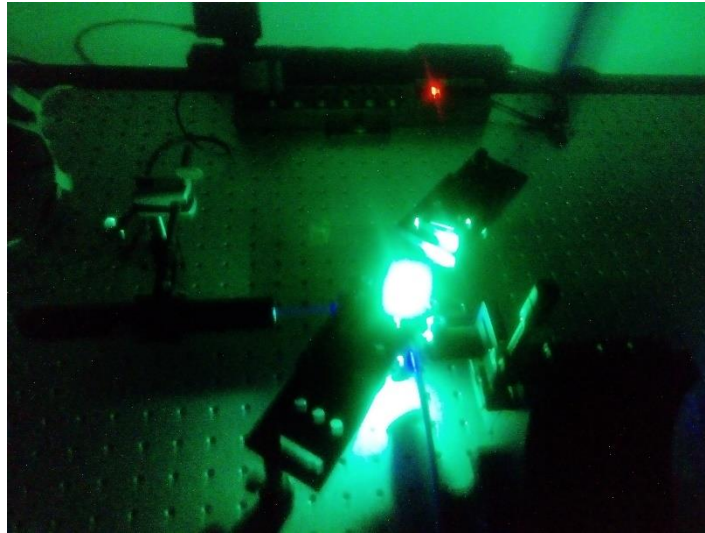
### 3.2.5 Medidas de los espectros de emisión

Para la obtención de los espectros de emisión, las muestras fueron excitadas con un láser azul de pulso continuo de 450 nm con 50 000 mW de potencia, los resultados obtenidos están en un rango de 450-650 nm a una temperatura ambiente de 21 °C y procesados en el software OriginPro2017.

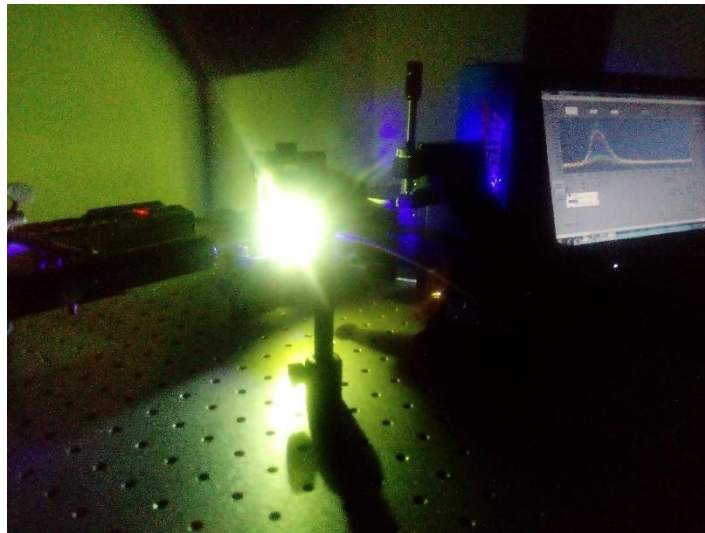
Una vez excitadas las muestras de cada colorante, este emitió un color característico durante cada fluorescencia (Figura 21). El  $\beta$ -caroteno florece en baja intensidad (Figura 21-a), la Cumarina emite un color amarillo verdoso (Figura 21-b) y la Curcumina un amarillo intenso (Figura 21-c) como se observa en las siguientes figuras.



(a)



(b)



*Figura 21.* (a) Fluorescencia del  $\beta$ -caroteno. (b) Fluorescencia de la Cumarina.  
(c) Fluorescencia de la Curcumina

## **CAPÍTULO 4**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En este capítulo se presentan los valores de absorbancia y emisión en función de sus longitudes de onda y concentración para diferentes muestras irradiadas de colorantes, de tal forma que las curvas experimentales obtenidas al ser procesadas por el software OriginPro2017 de los datos adquiridos por el software de adquisición de datos Newport Oriel Tracq Basic 1.6.6 son analizadas con el fin de conseguir los valores óptimos para su posterior aplicación.

#### **4.1. Espectros del $\beta$ -caroteno**

El  $\beta$ -caroteno es uno de los colorantes disueltos en etanol (99,6 % - pureza), con una concentración inicial de 100 mg/L degradándose hasta 0,49 mg/L, obteniendo un amplio rango de concentraciones para su análisis espectral de absorbancia y de emisión.

##### **4.1.1. Espectros de absorbancia**

Los datos conseguidos en la metodología experimental para la elaboración de los espectros de absorbancia del  $\beta$ -caroteno se muestran en la Figura 22, donde se observa diferentes curvas obtenidas con respecto a la intensidad de absorbancia en función de los valores de  $\lambda$  obteniendo un pico máximo de Absorbancia de 0,4438 u.a. en 100 mg/L.

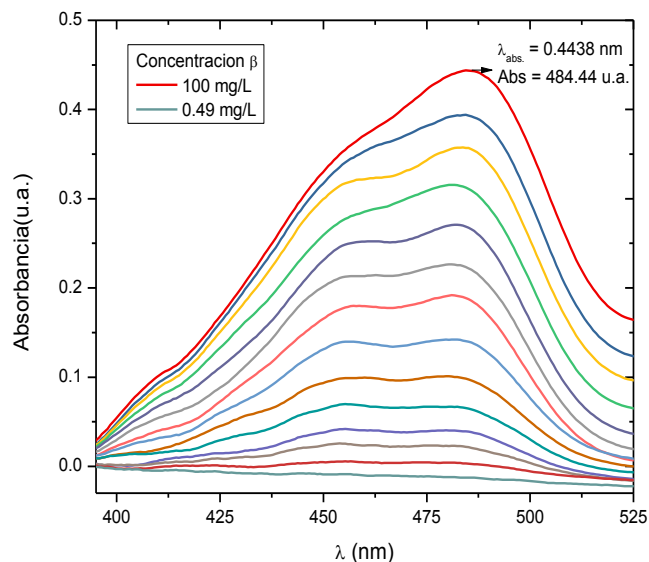


Figura 22. Espectro de absorbancia del  $\beta$ -Caroteno. Gráfica de  $\lambda$  en función a la intensidad de absorbancia.

#### 4.1.2. Espectro de emisión

En la figura 23 se observa el espectro de emisión con dos picos centrados en 487,50 nm y 517 nm irradiados por un diodo laser de 410 nm, se utilizó una solución de  $\beta$ -caroteno disuelto en THF, en una solución inicial de 4 g/L.

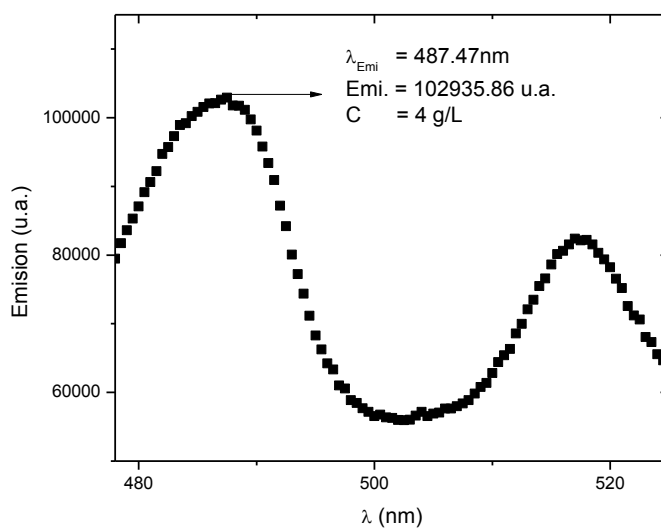


Figura 23. Espectro de emisión del  $\beta$ -Caroteno. Gráfica de la intensidad de emisión en función de  $\lambda$ .

## 4.2. Espectros de la Cumarina

La Cumarina es una molécula cromófora, disuelta en etanol (99,6 % - pureza), obteniendo una concentración inicial de 100 mg/L lo que fue diluyéndose hasta llegar a una mínima de 0,49 mg/L, obteniendo un amplio rango de concentraciones para su análisis espectral de absorbancia y de emisión.

### 4.2.1. Espectros de absorbancia

Los datos conseguidos en la metodología experimental para la elaboración de los espectros de Absorbancia de la Cumarina se muestran en la Figura 24, donde se observa diferentes curvas obtenidas con respecto a la intensidad de absorbancia en función de los valores de  $\lambda$  obteniendo un pico máximo de absorbancia de 0,2967 u.a. en 100 mg/L, también se observa un corrimiento de los máximos de absorción hacia bandas menores con mayor energía.

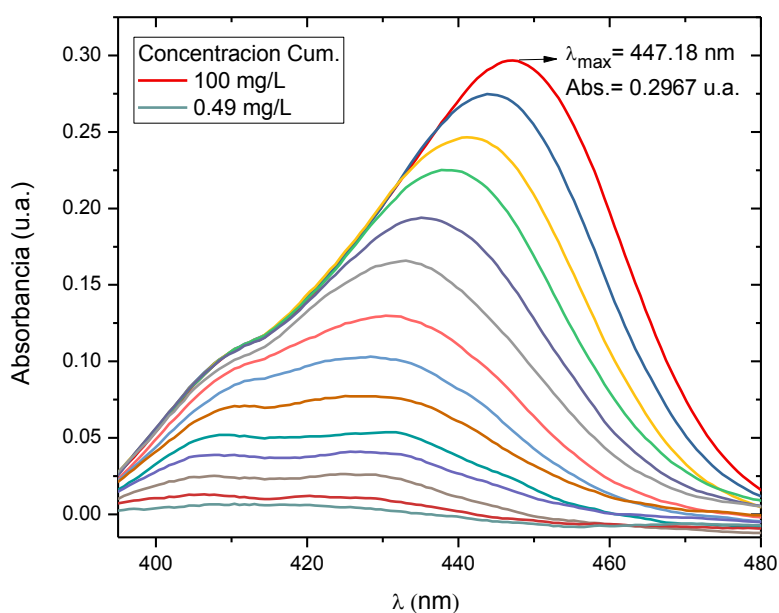


Figura 24. Espectros de absorbancia de la Cumarina, en función de la  $\lambda$  (nm) en etanol.

### 4.2.2. Espectros de emisión

Los datos conseguidos en el capítulo 3 para la elaboración de los espectros de Emisión de la Cumarina se muestran en la Figura 25, donde se observa diferentes curvas obtenidas con respecto a la intensidad de emisión en función de los valores de  $\lambda$  obteniendo un pico máximo de 6 248,83 u.a. en 100 mg/L sumándole un corrimiento hacia longitudes mayores con menor energía que dependerán del grado de concentración.

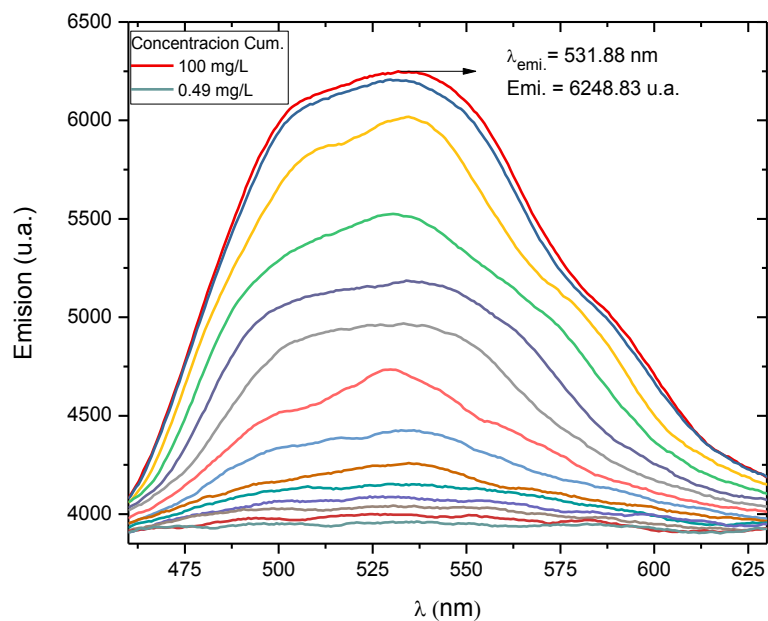
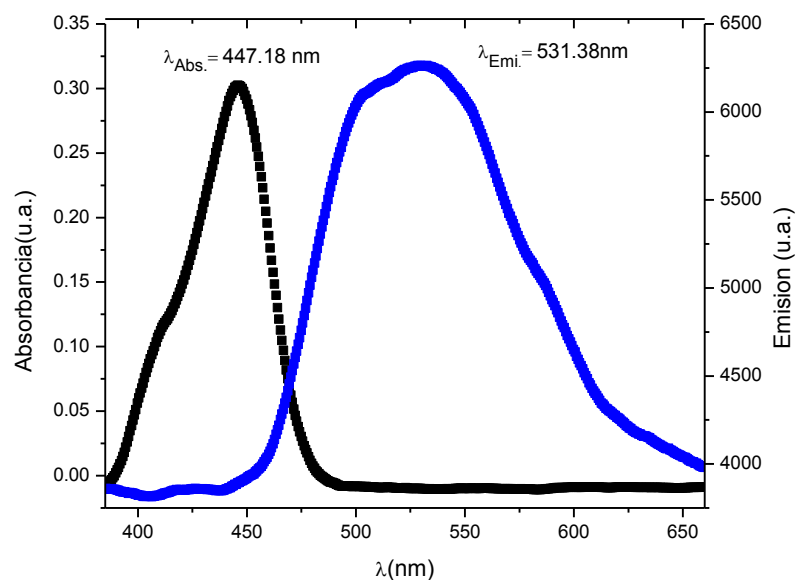


Figura 25. Espectros de emisión de la Cumarina, en función de la  $\lambda$ (nm) en etanol.

### 4.2.3. Comparación

En la Figura 26 se muestra los espectros smoothed de absorción y emisión de la Cumarina en etanol a una concentración de 100 mg/L generando un pico máximo de absorción 0,2967 u.a. y emisión 6 248,88 u.a.

La relación entre el espectro de emisión, donde el regreso al nivel vibracional basal del estado excitado es la fluorescencia, es similar al espectro de absorbancia, presentando una imagen especular debido a que la excitación electrónica no altera la geometría de ambos espectros, presentando un mínimo de solapamiento entre ellos. Cabe resaltar la  $\lambda_{emi}$  es totalmente independiente de la  $\lambda_{abs.}$ , debido a que la energía en la Absorción es mucho mayor a la emitida, de acuerdo al espectro de emisión, su tiempo de vida es mayor.



*Figura 26.* Picos máximos de la Curcumina, gráfica de la longitud de onda ( $\lambda$ ) en función a la intensidad de absorbancia y emisión

### 4.3. Espectros de la Curcumina

La Curcumina es una molécula cromófera, se disolvió en etanol; este analito presenta una concentración inicial de 100 mg/L y una mínima de 0,49 mg/L,

obteniendo un amplio rango de concentraciones para su análisis espectral de absorbancia y de emisión.

### 4.3.1. Espectros de Absorbancia

Los datos conseguidos en la metodología experimental para la elaboración de los espectros de absorbancia de la Curcumina se detallan en la siguiente Figura 27, donde se observa diferentes curvas con respecto a la intensidad de absorción en función de  $\lambda$  obteniendo un pico máximo de 0,4463 u.a. en 100 mg/L adicionando un corrimiento de los máximos hacia menos longitudes, logrando un ancho de banda de 445-480 nm.

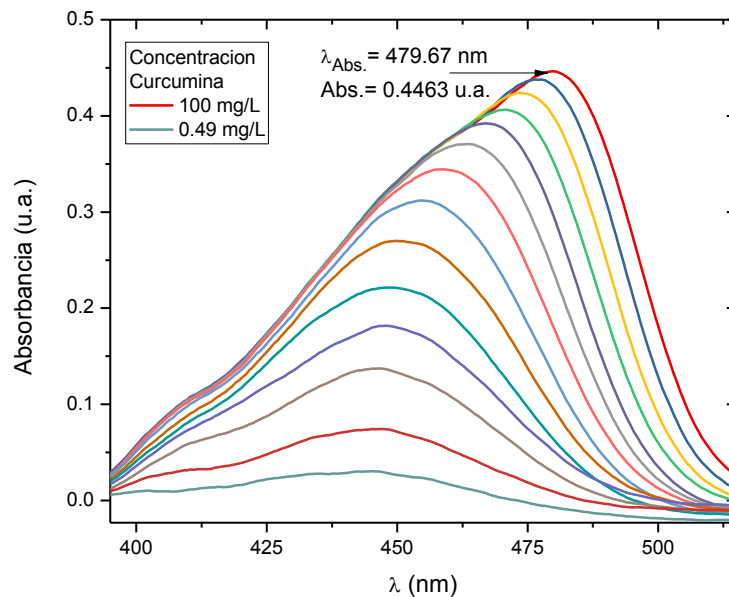


Figura 27. Espectros de absorbancia de la Curcumina, en función de la longitud de onda ( $\lambda$ ) en etanol.

### 4.3.2. Espectros de emisión

Los datos adquiridos en el capítulo 3 para la elaboración de los espectros de Emisión de la Curcumina se detallan en la Figura 28, donde se observa diferentes

curvas obtenidas con respecto a la intensidad de emisión en función de los valores de  $\lambda$  obteniendo un pico máximo de 6 641,47 u.a. en 11,76 mg/L adicionándole un corrimiento mínimo de los máximos de cada concentración con un ancho de banda centrado entre 561-558 nm.

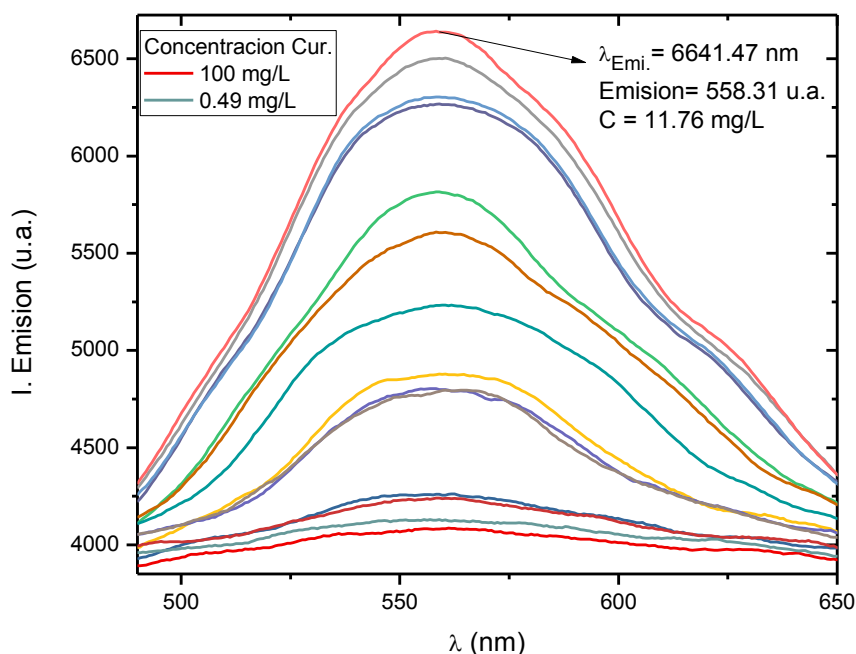


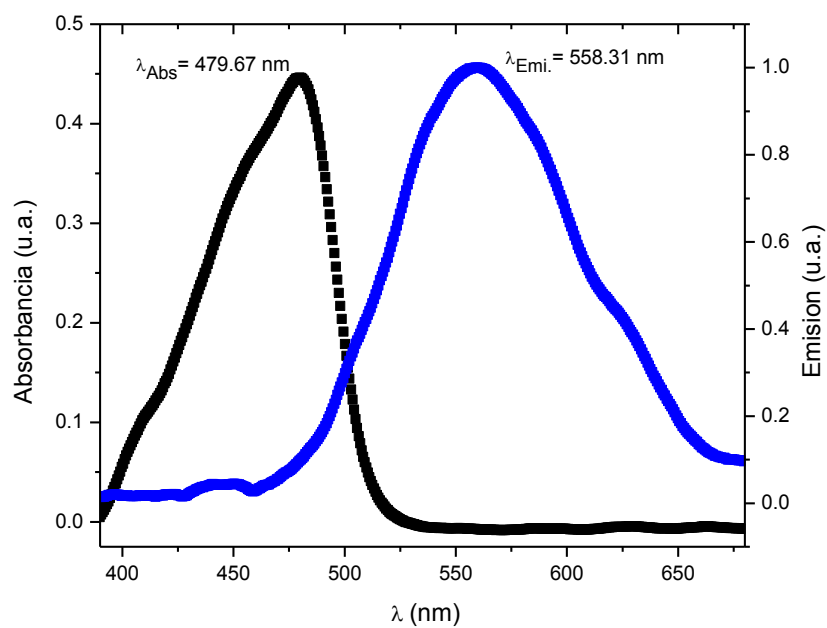
Figura 28. Espectros de emisión de la Curcumina en función de la longitud de onda ( $\lambda$ ) en etanol.

### 4.3.3. Comparación

En la Figura 29 se muestra los espectros en smoothed de absorbancia y emisión de la Curcumina disuelto en etanol a una concentración de 100 mg/L generando un pico máximo de absorbancia 0,344 u.a. y emisión 6 641,43u.a.

El espectro de emisión y el espectro de absorbancia muestran una imagen especular, presentando un mínimo de solapamiento entre ellas. Cabe resaltar que la energía

emisión es mucho menor que la absorbida, así como su tiempo de vida, generando que la  $\lambda_{\text{emi}}$  sea totalmente independiente de la  $\lambda_{\text{abs}}$ .



*Figura 29.* Picos máximos de la Curcumina, gráfica de  $\lambda$  en función de los picos máximos de intensidad de absorbancia y emisión

#### 4.4. Discusión de Resultados

Los resultados demostrados en este capítulo confirman la hipótesis inicial determinando los espectros de emisión de los colorantes orgánicos en estudio disueltos en etanol a diferentes concentraciones, originando un espectro de banda sintonizable pudiendo así encontrar una región efectiva de aplicación, para los tres colorantes: el  $\beta$ -caroteno, la Cumarina y la Curcumina, que de acuerdo al diagrama de Jabloski se puede apreciar que la variación de la energía emitida es mucho menor de la absorbida generando espectros de fluorescencia a bajas energías y con mayores longitudes de onda, este proceso es casi inmediato por lo que dura mientras este estimulada la muestra debido a la presencia de fluoróforos y enlaces dobles en su estructura molecular que las hace fluorecer con espectros de emisión característicos, en el caso de los espectros de absorbancia los responsables de su coloración son los cromóforos.

Al incidir un haz de fotones (luz láser) sobre la solución, se generó una redistribución de cargas polares en el interior de las moléculas en estudio provocando la vibración de sus enlaces que dependen de la simetría de la molécula, esto permitió cuantificarlas por presentar un pico de intensidad característico y una única posición.

En el caso del  $\beta$ -caroteno se identifican dos picos de 484,44 y otro de 462,71 nm este resultado es cercano al realizado por la tesis de análisis espectroscópico lineal (Moreno, 2014), donde se identifica tres espectros de absorción, dos

primarios y un secundario coincidentes con los encontrados; El uso de este colorante en láseres sintonizables es poco común. Para la espectroscopia de Absorción del  $\beta$ -caroteno se halló un pico máximo en 484 nm, se menciona que sus propiedades ópticas pueden variar al integrar nanotubos de carbono en su estructura resultando efectos geométricos y de polarización (Garcia, Ciofini, Fernandez-Gomez, y Adamo, 2013); a diferencia del estudio de (Assefa, 2017) que midió en el aceite de oliva utilizando el hexano como disolvente variando una mínima cantidad que está dentro del rango 470-483 nm y aquí sí se obtuvo su espectro de fluorescencia entre 420-750 nm del cual va a depender de la energía de excitación (Watanave, Takahashi, Nakahara, y Kushida, 1993), y de la polaridad del disolvente (Song, Sun, Yin, y Men, 2014), en ese caso se excitó con 359-675 nm. En otro estudio se menciona de la utilización de pulsos múltiples de laser ultrarrápidos permitiendo identificar el exceso de energía (Larsen et al., 2003).

Para la Cumarina, los espectros de emisión adquiridos en este estudio están comprendidos en un ancho de banda centrado que va desde los 500-550 nm y para el espectro absorbancia se da en el rango de 400-450 nm según la literatura consultada concuerdan con los resultados obtenidos, aunque hay pequeñas diferencias, esto se debe a las colisiones entre las moléculas de la Cumarina y del disolvente, además de la diferencia de la técnica aplicada por (John, Devi, Balachandran, & Babu, 2017). La relación del aumento o disminución de la intensidad de la fluorescencia va a depender de la polaridad o la temperatura de la concentración (Wang et al., 2018), (Babusca, Benchea, Dimitriu, y Dorohoi, 2017);

o la estructura molecular del colorante que adicionado a otros elementos logran un tiempo de vida mayor (Matta, Bahadur, Taniike, Van der Eycken, y Singh, 2017)

En el caso de la Curcumina, la región efectiva de sus espectros de emisión está en 11-8 mg/L con una longitud de onda entre 561-555 nm; y una longitud de onda de absorción entre 445-479 nm, estos valores están cercanos de los estudios comprendidos del colorante, como se indica la influencia del solvente generando variación en los picos de emisión (Moreno, 2014), (Eunice, Lucia, y Fabián, 2009) salvo que en estos estudios se adicionan nanopartículas ZnO mostrando una amplia banda de absorción UV (Sinha, De, y Ayaz, 2018) o el análisis de complejos a base de la Curcumina obteniendo mayor fotoestabilidad, es decir que presenta sensibilidad a la luz, gracias a su mayor rendimiento cuántico afectado por la polaridad **resultando** beneficioso en estudios *in vitro* y oncológicos (Mohammed et al., 2017). La influencia de la anisotropía de los disolventes con el soluto y la adición de la temperatura hacen que varíe su intensidad (Mondal, Ghosh, y Moulik, 2016), en otros la suma de nanopartículas de plata hacen que la temperatura de la solución se estabilice (Dhanya, 2017). La adición a tejidos biológicos da una mayor visión del resultado de absorción en aplicaciones farmacológicas de la Curcumina (Hao et al., 2017).

## CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

### 5.1. Conclusiones

De los resultados obtenidos a través de diversos ensayos aplicando esta técnica de espectroscopia láser, se logró obtener los espectros de emisión y de absorción para las concentraciones de cada colorante e identificando los siguientes valores:

Para el  $\beta$ -caroteno, disuelto en alcohol etílico a 99,6 % de pureza, queda definida a una concentración de 100 mg/, con un pico de intensidad de emisión de 4 240 u.a. para una longitud de onda ( $\lambda_{\max}$ ) de 442.45 nm y al irradiar con un diodo de 410 nm se obtiene un pico de 487 nm con una intensidad de 102 935.86 u.a en 4g/L y con una intensidad de absorción de 0,4488 u.a. con una longitud de onda de 455 nm.

La concentración de Cumarina, disuelto en alcohol etílico a 99,6 % de pureza, queda definida a una concentración de 100 mg/L, con un pico de intensidad de emisión de 6 248,02 u.a. con longitud de onda ( $\lambda_{\max}$ ) de 531,88 nm; e intensidad de absorción de 0,3014 u.a. a una longitud de onda máxima de 447,18 nm como muestra en el capítulo 4 de resultados y discusiones.

La concentración del colorante Curcumina, disuelto en alcohol etílico a 99,6 % de pureza, queda definida a una concentración 11,76 mg/L con una longitud de onda de 558,31 nm de emisión a 6 641 u.a. y su intensidad de absorción de 0,3444 u.a.

con una longitud de onda a 457,97 nm, encontrando una región efectiva que va desde el 8,23-16,81 mg/L

Como se ha podido demostrar con los resultados de la técnica utilizada, se ha comprobado y verificado con la literatura, llegando a la conclusión que en cantidades adecuadas resulta beneficiosa. Las aplicaciones de los láseres de colorantes en biología, con el estudio cinético de la reacción biomédica de moléculas biológicas así como en microscopia fluorescente. Las aplicaciones médicas dermatológicas como terapias fotodinámicas, fototermólisis, tratamiento de lesiones vascular, restauraciones cutáneas, tratamiento de cicatrices hipertróficas y quiloides, eliminación de tatuajes, lesiones pigmentadas, tumoraciones cutáneas benignas, aplicaciones ginecológica, para el diagnóstico de tejidos, donde se desee sintonizar la longitud de onda. El uso de estos antioxidantes en cantidades adecuadas sirve como antiinflamatorio, en el tratamiento de infecciones, para prevenir y controlar el crecimiento del cáncer.

## 5.2. Sugerencias

- Debido al estudio realizado por encontrar las concentraciones adecuadas de los colorantes en mención, un trabajo a futuro podría ser calcular el tiempo de vida y la eficiencia cuántica para su posterior caracterización de forma más efectiva; y para obtener mayor resolución de las bandas de fluorescencia se podría utilizar un láser pulsado.
- Una de las posibles aplicaciones, es poder realizar la combinación de láser de colorantes con nanopartículas obteniendo así mayor eficiencia en sus propiedades ópticas como la absorción, la fluorescencia y transferencia de energía. También puede ser un análisis futuro la combinación de ambos o más colorantes determinando una longitud de onda sintonizable distinta o igual a las estudiadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Assefa, T. T. (2017). *Investigation of Chlorophyll and Beta Carotenoids inedible oils by absorption and fluorescence spectroscopy*. (Degree of Master of Science in Physics), Addis Ababa University, Ethiopia.
- Babusca, D., Benchea, A. C., Dimitriu, D. G., & Dorohoi, D. O. (2017). Spectral and Quantum Mechanical Characterization of 3-(2-Benzothiazolyl)-7-(Diethylamino) Coumarin (Coumarin 6) in Binary Solution. *Analytical Letters*, 50(17), 2740-2754. doi:10.1080/00032719.2017.1300589
- Banwell, C. N. (1983). *Fundamentals\_of\_Molecular\_Spectroscopy Molecular Spectra I*
- Brieva Garcia, R. (2011). *Determinación del rendimiento cuántico y tiempos de vida media de fluorescencia en sustancias colorantes con aplicaciones como fuentes láser*. (Químico Pre-Grado), Universidad de Santander, Bucamaranga.
- Castellano, M. A. G., & Zetina, L. M. M. (2015). La espectroscopia y su tecnología: Un repaso histórico y su importancia para el siglo XXI. *Latin-American Journal of Physics Education*, 9.
- Cortez, P. M. (2017). *Espectroscopia de infrarrojo para todos* Retrieved from [https://ciatej.mx/files/divulgación/divulgación\\_5a43b7c09fdc1.pdf](https://ciatej.mx/files/divulgación/divulgación_5a43b7c09fdc1.pdf)
- Costela, A., García-Moreno, I., & Sastre, R. (2016). In A. m. d. l. l. d. t. o. J. Duarte (Ed.), *Tunable Laser Applications* (3 ed., pp. 227-243). New York.

- Dhanya, N. P. (2017). Non linear optical investigations of silver nanoparticles synthesised by curcumin reduction. *Optical Materials*, 73, 384-387.  
doi:10.1016/j.optmat.2017.08.026
- Electro-Optics Handbook*. (2000). R. W. Waynant & M. N. Ediger (Eds.),
- Eunice, R. V., Lucia, D. C. A., & Fabián, L. R. d. (2009). Caracterización espectroscópica y cromatográfica de curcumina extraída de los rizomas de Cúrcuma (cúrcuma longa L.) Cultivada en el departamento del Quindío. *Revista de Investigación Quindío*, 19, 18-22.
- Garcia, G., Ciofini, I., Fernandez-Gomez, M., & Adamo, C. (2013). Confinement Effects on UV-Visible Absorption Spectra: beta-Carotene Inside Carbon Nanotube as a Test Case. *J Phys Chem Lett*, 4(8), 1239-1243.  
doi:10.1021/jz400254h
- Goel, A., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal., B. B. (2008). Curcumin as 'Curecumin'. *Biochemical Pharmacology*, 75, 787-809.  
doi:10.1016/j.bcp.2007.08.016
- González-Albadalejo, J., Sanz, D., Claramunt, R. M., Lavandera, J. L., Ibon Alkorta, & Elguero, J. (2015). Curcumin and curcuminoids: chemistry, structural studies and biological properties. [Curcumina y curcuminoides: química, estudios estructurales y propiedades biológicas]. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia-Spain*, 81, 278-310.
- Gore, M. G. (2000). *Spectrophotometry & Spectrofluorimetry* n. Edition (Ed.)

- Hao, C., Xu, G., Wang, T., Lv, Z., Zhu, K., Li, B., . . . Sun, R. (2017). The mechanism of the interaction between curcumin and bovine serum albumin using fluorescence spectrum. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, *11*(1), 140-145. doi:10.1134/s1990793117010043
- Hecht, B. H. J. J. E. J. (2005). *Introduction to Laser Technology* doi:10.1002/0471723126
- Hernandez, L. H., & Pérez, C. G. (2002). Introducción a los Métodos Ópticos de Análisis (1ra ed., pp. 33-39). Barcelona, España: Ariel.
- Hof, M., Hutterer, R., & Fidler, V. (2005). <Fluorescence Spectroscopy in Biology> Springer Series on Fluorescence (Book 3), Vol. 3. O. S. Wolfbeis (Ed.)
- John, J., Devi, R. S., Balachandran, S., & Babu, K. V. D. (2017). Synthesis, spectral characterization and thermal analysis of rubrocurcumin and its analogues. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, *130*(3), 2301-2314. doi:10.1007/s10973-017-6582-z
- Kinza Aslam, M. K. K., Nazish Jahan and Sofia Nosheen. (2010). Synthesis and applications of coumarin. *Pakistan Journal of pharmaceutical science*, *23*.
- Lakowicz, J. R. (2006). *Principles of fluorescence spectroscopy* (pp. 1- 94).
- Larsen, D. S., Papagiannakis, E., van Stokkum, I. H. M., Vengris, M., Kennis, J. T. M., & van Grondelle, R. (2003). Excited state dynamics of  $\beta$ -carotene explored with dispersed multi-pulse transient absorption. *Chemical Physics Letters*, *381*(5-6), 733-742. doi:10.1016/j.cplett.2003.10.016

- Marín Naranjo, L. D. (2006). *Introducción al Láser y su aplicación práctica en la óptica moderna*. Costa Rica.
- Martínez, R. O. (2010). Ciencia y Desarrollo. Retrieved from <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/243/Articulos/espectroscopia-laser.html>
- Matta, A., Bahadur, V., Taniike, T., Van der Eycken, J., & Singh, B. K. (2017). Synthesis, characterisation and photophysical studies of oxadiazolyl coumarin: A new class of blue light emitting fluorescent dyes. *Dyes and Pigments*, *140*, 250-260. doi:10.1016/j.dyepig.2017.01.050
- Mohammed, F., Rashid-Doubell, F., Cassidy, S., & Henari, F. (2017). A comparative study of the spectral, fluorometric properties and photostability of natural curcumin, iron- and boron- complexed curcumin. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, *183*, 439-450. doi:10.1016/j.saa.2017.04.027
- Mondal, S., Ghosh, S., & Moulik, S. P. (2016). Stability of curcumin in different solvent and solution media: UV-visible and steady-state fluorescence spectral study. *J Photochem Photobiol B*, *158*, 212-218. doi:10.1016/j.jphotobiol.2016.03.004
- Moreno, J. A. T. (2014). *Análisis Espectroscópico Lineal y No Lineal de Antioxidantes:  $\alpha$ -Tocoferol,  $\beta$ -Caroteno y Curcumina*. (Doctor en Ciencias), Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Mérida, Yucatán, México.
- Oña, D. R. F. (2017). <Diseño y construcción de un prototipo de un Espectrofotómetro>. Universidad Central de Ecuador, Quito - Ecuador.

- Owen, T. (2000). *Fundamentos de la espectroscopia UV- visible moderna* (pp. 2-28, 58-62).
- Pacheco, M. E. (2017). *Desarrollo de sensores fosforescentes en estado liquido a temperatura ambiente. Aplicación al análisis de cumarinas*. (Tesis Doctoral), Universidad Nacional de la Plata, Argentina.
- Quispe, F. A. P. (2016). *Efecto de la energía del pulso laser de la fuente de bombeo óptico sobre la energía del pulso laser emergente de la rodamina B y B6*. (Tesis de Pre-Grado), Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo - Perú.
- Robledo, H. (2016) *Guía Médica Avanzada de la Ciencia del Láser* (pp. 354-355).
- Rodriguez-Amaya, D. B. (1999). *Carotenoides y preparación de alimentos: La retención de los carotenoides Provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados* Universidade Estadual de Campinas-Brasil, Campinas-Brasil.
- Ruales Davila, E. (2015). *Diseño, construcción y automatización de un Espectrofluorímetro: Aplicacion en el análisis de Riboflavina en multivitamínicos*. (Química Pre-grado), Universidad San Francisco de Quito, Quito Retrieved from <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/4381> Available from Repositorio Digital USFQ
- Rubio, M., & Segade, O. (1979). *Espectroscopia: Estructura y espectros atómicos* (Alhambra Ed.). Madrid-España.

- Sampedro, G. D. (2015). *Nuevos sistemas de colorantes orgánicos para aplicaciones láser y biofotónicas*. (Tesis Doctoral), Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- Siano, S. (2008). In M. S. M. S. R. Salimbeni (Ed.), *Principles of laser cleaning in conservation*: Brussels.
- Silva Pérez, A. (1990). *Espectroscopía de Fluorescencia Láser en Leucocitos de Humano*. (Maestro en Ingeniería Biomédica Tesis de Maestría), Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa, México. Retrieved from [http://tesiuami.izt.uam.mx/uam/asp/ver\\_texto.php?recno=599&documento=UAM0599.PDF](http://tesiuami.izt.uam.mx/uam/asp/ver_texto.php?recno=599&documento=UAM0599.PDF)
- Sinha, D., De, D., & Ayaz, A. (2018). Performance and stability analysis of curcumin dye as a photo sensitizer used in nanostructured ZnO based DSSC. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 193, 467-474. doi:10.1016/j.saa.2017.12.058
- Skoog, West, Holler, & Crouch. (2005). <*Fundamentos de Química Analítica*> THOMSON (Ed.) (pp. 670-699).
- Song, W., Sun, C., Yin, W., & Men, Z. (2014). Influence of temperature on the vibration and electron absorption spectra of all-trans- $\beta$ -carotene. *Optik - International Journal for Light and Electron Optics*, 125(20), 6131-6135. doi:10.1016/j.ijleo.2014.06.145
- Suerbrey, R. (2000). *Electro-Optics Handbook*. In R. W. W. M. N. Edinger (Series Ed.) McGraw-Hill Optics and Electro-Optical Engineering Retrieved from

<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.383.144&rep=rep1&type=pdf> doi:10.1.1.383.144

- Syafinara, R., Gomesha, N., Irwanto, M., Fareqa, M., & Y.M. Irwan. (2015). Potential of purple cabbage, coffee, blueberry and turmeric as nature based dyes for dye sensitized solar cell (DSSC). *Energy Procedia*, 79, 799-807.
- Valtierra, D. J. M., & Reyes, D. C. F. (2005). La Simetría Molecular. *Conciencia Tecnológica*, núm. 27-30.
- W., Y., H., Y., Y., C., Y., Q., H., C., Y., J., . . . X., L. (2017). In Vivo Investigation of the Safety and Efficacy of Pulsed Dye Laser with Two Spot Sizes in Port-Wine Stain Treatment: A Prospective Side-by-Side Comparison. *Photomed Laser Surg*, 35. doi:10.1089
- Wagner, B. D. (2009). The use of Coumarins as Environmentally-Sensitive Fluorescent probes of heterogeneous inclusion systems. *Molecules*. doi:10.3390
- Wang, K.-P., Lei, Y., Chen, J.-P., Ge, Z.-H., Liu, W., Zhang, Q., . . . Hu, Z.-Q. (2018). The coumarin conjugate: synthesis, photophysical properties and the ratiometric fluorescence response to water content of organic solvent. *Dyes and Pigments*, 151, 233-237. doi:10.1016/j.dyepig.2018.01.004
- Watanave, J., Takahashi, H., Nakahara, J. i., & Kushida, T. (1993). Subpicosecond dynamic Stokes shift in P-carotene solution probed by excitation energy dependence of fluorescence spectrum. *Chemical Physics Letters*, 213, number 3, 4.

“Determinación de espectros de emisión de colorantes orgánicos: Cumarina,  $\beta$ -Caroteno y Curcumina; mediante espectroscopia laser para potenciales aplicaciones biológicas y médicas”.



---

Dr. Jose Antonio Tiburcio Moreno  
Asesor de Tesis



---

Bach. Yuvidza Choque Ticona  
Autor de Tesis