

## TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO Nº4

### ESPECTROS DE FLUORESCENCIA

#### Introducción

La utilización de las espectroscopías de fluorescencia se está incrementando de forma notable en los últimos años, tanto en laboratorios de investigación químicos y bioquímicos como en laboratorios de análisis.

El fenómeno de fluorescencia se caracteriza por un proceso de absorción de radiación que provoca que una molécula adquiera un estado excitado desde el cual puede relajarse emitiendo una radiación de mayor longitud de onda.

Fluoróforo es una molécula o parte de una molécula que emite fluorescencia después de ser excitada con luz. La intensidad y longitud de onda de la luz emitida dependerá tanto del fluoróforo como de su ambiente químico.

Para medir la fluorescencia se utiliza el siguiente esquema experimental: iluminación de una muestra, medida de la intensidad de luz que emite a 90° del haz de luz incidente para asegurar que estamos midiendo solamente la luz emitida, evitando la llegada al detector de luz incidente.

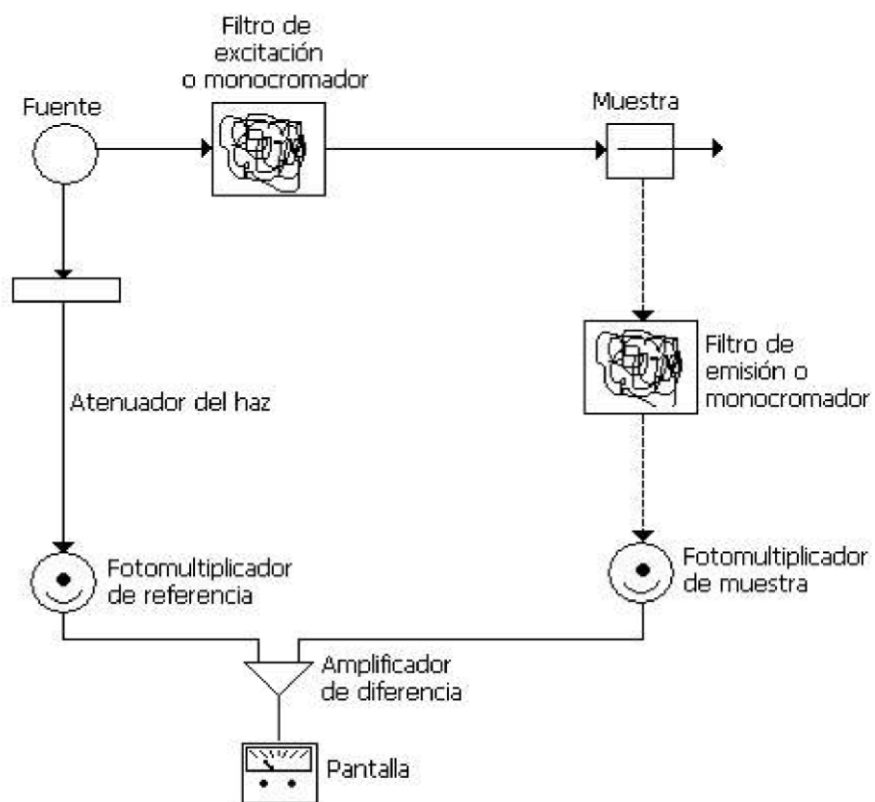


Figura 1. Componentes de un espectrofluorímetro

Al tener dos monocromadores se pueden hacer dos tipos de espectro:

- ESPECTRO DE EXCITACION: se fija el monocromador de emisión y se barre el de excitación.
- ESPECTRO DE EMISION: se fija el monocromador de excitación y se barre el de emisión.

En general, la forma del espectro de emisión es independiente de la longitud de onda de excitación aunque puede variar su intensidad. Además el espectro de emisión es la imagen especular del espectro de absorción. De la diferencia entre las bandas que presentan estos espectros puede obtenerse una medida de la diferencia de energías entre los niveles vibracionales de la molécula tanto en estado excitado como en el estado basal.

## TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 4

### Objetivos

Analizar el espectro de fluorescencia de una sustancia en disolución.

### Material y reactivos

Material: espectrofluorímetro, cubetas de fluorescencia de 1 cm de paso de luz, pipetas, frascos con tapón.

Reactivos: Etanol y disolución etanólica de 9,10 –dimetilantraceno (DMA).

### Procedimiento experimental

1. Registrar el espectro de absorbancia del DMA en disolución de etanol. Observar el espectro de absorción y seleccionar la longitud de onda de excitación. Para el compuesto en estudio se selecciona 250nm para realizar la excitación.
2. Medir el espectro de fluorescencia de la misma solución entre 260 y 550nm.

### Cálculos y gráficos

1. Graficar los espectros de absorbancia y de fluorescencia. Señalar los máximos de cada espectro.
2. Calcular el corrimiento de Stokes.
3. Transformar las longitudes de onda a números de onda y representar de nuevo el espectro.
4. Indicar a qué transiciones corresponden cada uno de los picos de absorción y fluorescencia del DMA y calcular la diferencia de energía de los niveles vibracionales tanto para el estado fundamental como para el estado excitado del DMA.

