



Experimentos en el aula para la demostración de los fenómenos de fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia

Classroom experiments to demonstrate the phenomena of fluorescence, phosphorescence and chemiluminescence

Álvaro A. Amaya Vesga¹, Raúl Armando Gómez Tarazona¹, Yeisson Ricardo Mendoza Castellanos¹ y Astrid Carolina Carvajal Grimaldos¹

Recepción: 24/03/22
Aceptación: 21/06/22

Resumen

En el presente trabajo se lleva a cabo la explicación de diversos experimentos para la demostración didáctica de los fenómenos de fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia, empleando materiales de bajo costo y asequibles. Para el caso de la fluorescencia se dispuso de 3 experimentos, los cuales estaban basados en la fluorescencia de fluoresceína, cúrcuma y clorofila. Para la demostración de la fosforescencia se dispuso de un material comercial fosforescente con alto rendimiento cuántico. Finalmente, para el fenómeno de quimioluminiscencia, se dispuso de barras de luz de emergencia, las cuales contienen dos soluciones que, al mezclarse, reaccionan emitiendo luz.

Palabras clave

Fluorescencia, fosforescencia, quimioluminiscencia.

Abstract

In the present work, an explanation of the various experiments for the didactic demonstration of the phenomena of fluorescence, phosphorescence and chemiluminescence is carried out, using low-cost and accessible materials. In the case of fluorescence, 3 experiments were available, which were based on the fluorescence of turmeric, chlorophyll and fluorescein. Finally, for the chemiluminescence phenomenon, fishing light bars were available, which contain two solutions that, when mixed, produce the chemiluminescence phenomenon.

Keywords

Fluorescence, phosphorescence, chemiluminescence.

¹ Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias, Ciencias Básicas y Aplicadas Para la Sostenibilidad - CIBAS, Bucaramanga, Colombia.

Introducción

Las temáticas de luminiscencia molecular, las cuales están subdivididas en fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia, son tópicos ampliamente abordados en cursos de química analítica, ya que diversas técnicas analíticas se fundamentan en los principios de estos fenómenos (Bostick y Hercules, 1975; Resch-Genger et al., 2009; Skoog et al., 2014). Cuando se imparte un curso de química analítica en donde se abordan temáticas relacionadas a la luminiscencia molecular, resulta en muchos casos complejo brindar al estudiante ejemplos interactivos con el fin de que este pueda comprender los fenómenos de fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia. Por esta razón, en muchos cursos de química analítica el estudiante logra adquirir conocimientos básicos relacionados al uso y aplicación de técnicas basadas en luminiscencia molecular, pero no alcanza un mayor entendimiento sobre cómo se manifiesta este fenómeno en la realidad.

Debido a esta situación, en este trabajo se recopiló una serie de experimentos de fácil realización y con materiales de bajo costo, que puedan ser llevados a cabo en un aula de clase, con el fin de poder brindar al estudiante herramientas que le permitan apropiarse con mayor facilidad de los conocimientos relacionados a la luminiscencia molecular.

Para lograr un mejor entendimiento del contenido de este trabajo, se recomienda al lector realizar una revisión de los temas relacionados a la radiación electromagnética, espectro electromagnético, longitud de onda, entre otros. Estos conceptos pueden ser encontrados en libros de química general y química analítica (Sauer M. et al., 2011; Skoog et al., 2014).

Materiales y equipos

Las fuentes de luz azul y roja fueron elaboradas empleando una linterna led de uso convencional con filtros cromáticos de color rojo y azul, los cuales se elaboraron empleando dos cajas petri, las cuales fueron pintadas con marcador permanente del color deseado, en este caso, azul y rojo. Como fuente de luz UV se empleó una linterna led UV comercial de 9 leds.

Reactivos

Fluorescencia: Etanol al 70% v/v (etanol antiséptico), agua destilada, fluoresceína sódica comercial de uso oftalmológico de concentración 0,20% m/v, cúrcuma molida y hojas de espinaca.

Fosforescencia: Aceite de silicona comercial, y Polvo fosforescente marca Glow-Gorm®.

Quimioluminiscencia: Barras de luz “glowstick” comerciales, solución de peróxido de hidrógeno al 30% m/v. Esta solución puede ser reemplazada por peróxido de hidrógeno antiséptico (3,0% m/v) o concentraciones entre 30 y 3,0% m/v y acetato de etilo (Merck)

Fluorescencia

La fluorescencia se caracteriza por ser un fenómeno en el cual una muestra absorbe radiación electromagnética, y al mismo tiempo esta muestra emite radiación electromagnética a una longitud de onda mayor. Por ejemplo, la muestra podría absorber radiación electromagnética

de color azul y emitir radiación con longitud de onda característica del color verde. Otra característica importante de la fluorescencia es que la emisión de la luz producto de la fluorescencia perdura solo mientras la muestra es irradiada con la radiación de excitación (Bose et al., 2018; Resch-Genger et al., 2009). Una revisión más exhaustiva del fundamento del fenómeno de fluorescencia se podría realizar en el libro “Fundamentos de Química Analítica” (Sauer M. et al., 2011; Skoog et al., 2014).

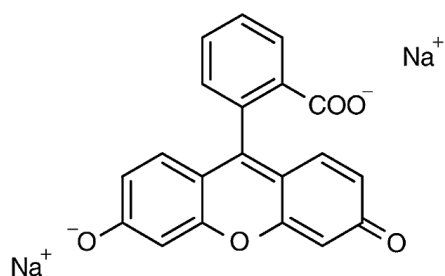
Para la demostración de este fenómeno en el aula se disponen de 3 experimentos de fácil realización y con materiales comerciales.

Experimento 1. Fluorescencia de la Fluoresceína

La fluoresceína es un compuesto químico fluorescente que presenta un rendimiento cuántico significativamente alto, comparado con otras sustancias fluorescentes (Skoog et al., 2014). Soluciones de fluoresceína sódica (en forma de sal) tienen diversas aplicaciones, por ejemplo, son usadas en medicina veterinaria con el fin de detectar alteraciones de la superficie corneal (Baraboglia, 2009). La estructura química de la fluoresceína se muestra en la Figura 1.

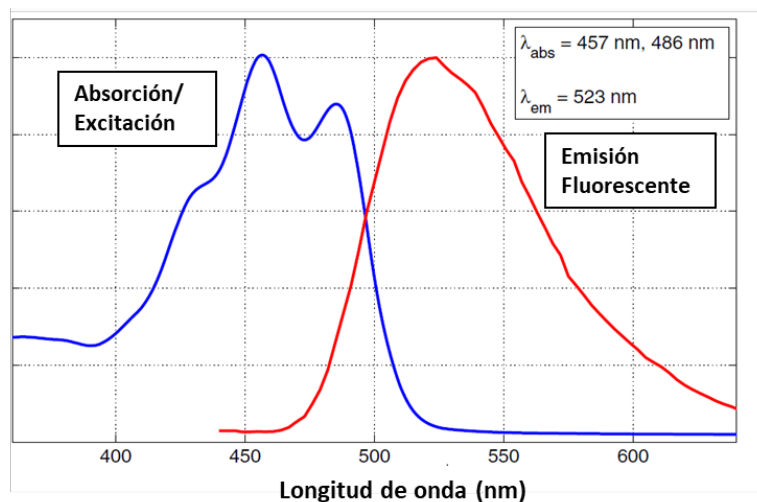
FIGURA 1.

Representación de la Fluoresceína sódica. Tomado de (Barbero et al., 2009) y modificado por el autor.



De acuerdo al espectro de absorción/emisión de la fluoresceína mostrado en la Figura 2, se puede discernir que este compuesto puede absorber radiación a longitudes de ondas correspondientes las regiones ultravioleta - azul y emitir radiación en la región del color verde (Kristoffersen et al., 2018).

FIGURA 2. Espectro de absorción/ emisión de la fluoresceína disuelta en etanol. Tomado de (Kristoffersen et al., 2018) y modificado por el autor.



Procedimiento experimental

Preparar una solución de fluoresceína sódica mediante dilución, adicionando de 3 a 6 gotas (o más si es necesario) de solución de fluoresceína sódica al 0,20% m/v en 25 mL de agua destilada previamente depositada en un tubo de ensayo. Seguidamente, llevar la

solución de fluoresceína a un lugar oscuro e irradiar con luz azul y posteriormente con UV (por separado) para poder observar el fenómeno con mayor claridad. Adicionalmente es recomendable irradiar la solución de fluoresceína con luz de color rojo con el fin de demostrar que, para estas longitudes de onda, la fluoresceína no presenta el fenómeno de fluorescencia.

Resultados

Los resultados obtenidos para la demostración de la fluorescencia de la fluoresceína se muestran en la Figura 3.a. Como se puede observar, la fluoresceína, al estar en contacto con la luz blanca del medio ambiente o expuesta a las lámparas de iluminación convencional, presenta un color verde similar al observado en el fenómeno de fluorescencia. Esto es debido a que la luz blanca está compuesta por todas las longitudes de onda del espectro electromagnético, por tal motivo, parte de esa radiación corresponde al color azul, y por lo tanto puede generar el fenómeno de fluorescencia en la muestra.

De acuerdo a la Figura 3.b, cuando la fluoresceína es irradiada con radiación de color rojo, no se aprecia el color verde característico con la intensidad que se observa cuando esta solución está expuesta a la luz blanca. Por el contrario, la solución da la apariencia de que fuese translúcida. Cuando la fluoresceína es irradiada con luz azul (ver Figura 3.c) y luz UV (ver Figura 3.d) se puede apreciar claramente el fenómeno de fluorescencia, manifestándose en un color verde intenso. La intensidad del color puede variar de acuerdo a la potencia de la fuente de radiación (Skoog et al., 2014), por tal motivo, la diferencia entre la intensidad de la radiación emitida observada en la fluoresceína cuando esta es irradiada con luz azul y con luz led negra, puede ser debido a la diferencia de potencia de la fuente de radiación, en donde se conoce de antemano que la potencia de emisión de la linterna led de luz UV es mayor que la radiación emitida por la fuente de luz azul.

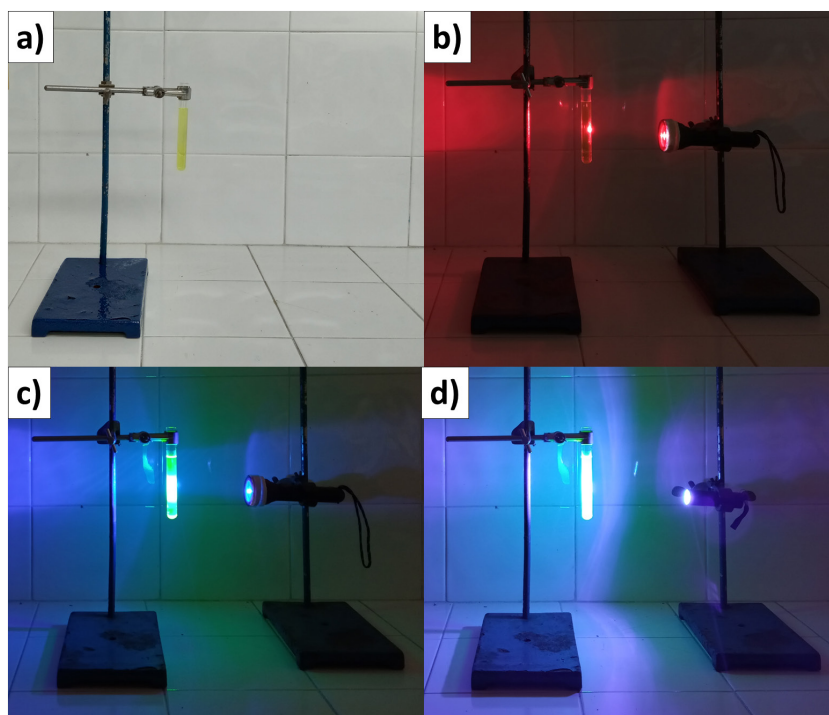
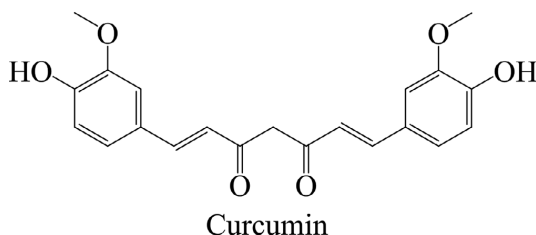


FIGURA 3. Resultados obtenidos en los experimentos realizados para la demostración del fenómeno de fluorescencia de la fluoresceína empleando a) luz blanca, b) luz roja, c) luz azul y d) luz UV.

Experimento 2. Fluorescencia de la cúrcuma

La cúrcuma es una planta herbácea originaria del continente asiático, la cual posee un color amarillo característico y es ampliamente usada en gastronomía. Uno de los componentes característicos de la cúrcuma es la curcumina, la cual es un compuesto que, debido a la presencia de enlaces dobles conjugados (ver Figura 4), presenta fenómenos de absorción de radiación en la región UV-VIS, lo cual causa el color amarillo característico de la cúrcuma (Alvis et al., 2012; Bengmark et al., 2009; Clapé Laffita Oneyda y Castillo Alfredo Alfonso, 2012).

FIGURA 4. Estructura química de la curcumina. Tomado de (Razavi et al., 2021) y ambientado por el autor.



Otra característica de la curcumina, y que muchas veces pasa desapercibida es la capacidad de presentar el fenómeno de fluorescencia de forma perceptible. La Figura 5 muestra el espectro de absorción/emisión de la curcumina.

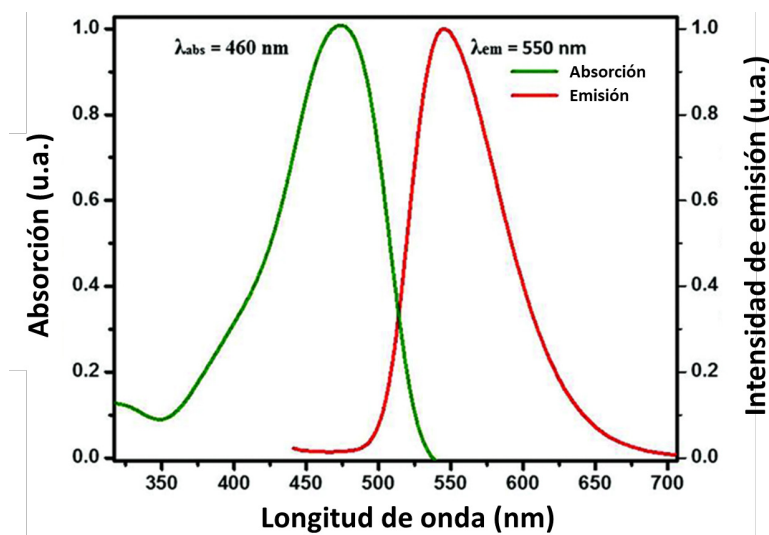


FIGURA 5. Espectro de absorción – emisión de curcumina. Tomado de (Ponnuvel et al., 2016) y modificado por el autor.

En este sentido, la cúrcuma tiene la capacidad de absorber radiación a 460 nm (máximo de absorción) y emitir radiación mediante el fenómeno de fluorescencia a 550 nm (máximo de emisión).

Procedimiento experimental

En un tubo de ensayo, verter aproximadamente 20 mL de etanol al 70% v/v. Seguidamente, adicionar una porción reducida de cúrcuma molida al tubo de ensayo (aproximadamente 0,5 g o más si es necesario) y dejar que esta se disperse espontáneamente por el solvente. Llevar el tubo de ensayo a un lugar oscuro para observar el fenómeno de fluorescencia empleando la linterna UV.

Resultados

Como se puede observar en la Figura 6, al ser irradiada la suspensión de cúrcuma en etanol al 70% v/v con luz UV, se observa el fenómeno de emisión fluorescente, el cual se manifiesta en un color verde brillante característico.

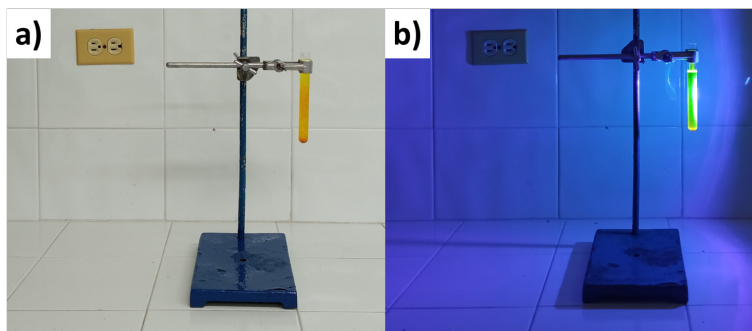


FIGURA 6. Experimento de fluorescencia de cúrcuma suspendida en etanol 70% v/v, irradiada con luz UV.

Experimento 3. Fluorescencia de Clorofila presente en hojas de espinaca

La clorofila es un componente esencial en diversos tejidos vegetales y es la causante del color verde característico de las plantas. La estructura molecular de la clorofila presenta cierta complejidad ya que involucra diversos grupos funcionales, cadenas carbonadas de gran tamaño, grupos aromáticos y un núcleo de Mg^{2+} ligado a átomos de nitrógeno (Mandal y Dutta, 2020).

Una de las características que suelen pasar desapercibidas en la clorofila es su capacidad de presentar el fenómeno de fluorescencia a un nivel perceptible. En la Figura 7 se muestra el espectro de excitación y emisión fluorescente de la clorofila.

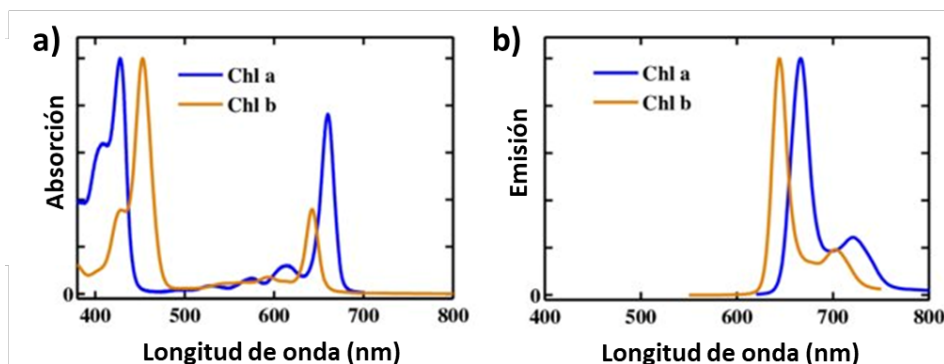


FIGURA 7. Espectro de a) absorción y b) emisión fluorescente de la clorofila alfa (amarillo) y beta (azul) disuelta en éter. Tomado de (Mammadov G., 2015) y modificado por el autor.

En este sentido, si un extracto concentrado de clorofila es irradiado con luz azul o UV, se podría observar en esta un color rojo producto de su emisión fluorescente (García-Pomar y Gutierrez-Contrera, 2015).

Procedimiento experimental

Tomar una porción de hojas de espinaca y colocarlas en una licuadora junto con una cantidad de etanol al 70% v/v (aprox 100 mL). Licuar por 1 minuto y posteriormente filtrar el extracto con un colador de tela. Una vez preparado el extracto de clorofila, transvasarlo

a un tubo de ensayo de vidrio. En un ambiente oscuro, irradiar con luz UV y con luz azul. Como producto de la emisión fluorescente, se debe observar un color rojo producto de la emisión fluorescente de la clorofila.

Resultados

Como se puede observar en la Figura 8.a, el extracto de clorofila presenta una coloración verde característica cuando esta es expuesta a la luz blanca. Sin embargo, como se observa en la Figura 8.b y c, cuando la clorofila es expuesta a luz UV o luz azul, esta presenta una coloración roja producto del fenómeno de fluorescencia.

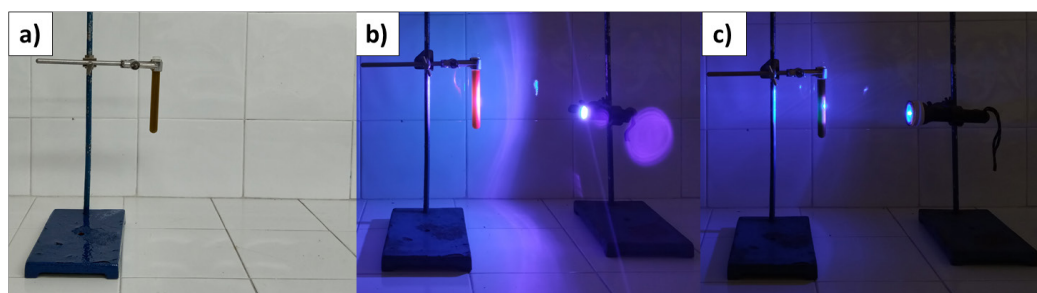


FIGURA 8. Vista del extracto de cúrcuma expuesto en a) luz blanca, b) luz UV y c) luz azul.

Fosforescencia

La emisión fosforescente se da también en sustancias que absorben radiación electromagnética. A diferencia de la emisión fluorescente, la emisión fosforescente se caracteriza porque la emisión de radiación electromagnética perdura unos segundos o minutos después de suspender la radiación de excitación. Sin embargo, al igual que en la emisión fluorescente, la emisión fosforescente se da a longitudes de onda más altas que la empleada en la radiación de excitación (Skoog et al., 2014).

La fosforescencia es un fenómeno que se presenta con poca frecuencia ya que son pocas las sustancias que exhiben este fenómeno. Para este experimento, se empleó un polvo fosforescente con marca comercial Glow-Gorm® de la casa fabricante Smooth-On, el cual es ampliamente usado en la fabricación de productos fosforescentes.

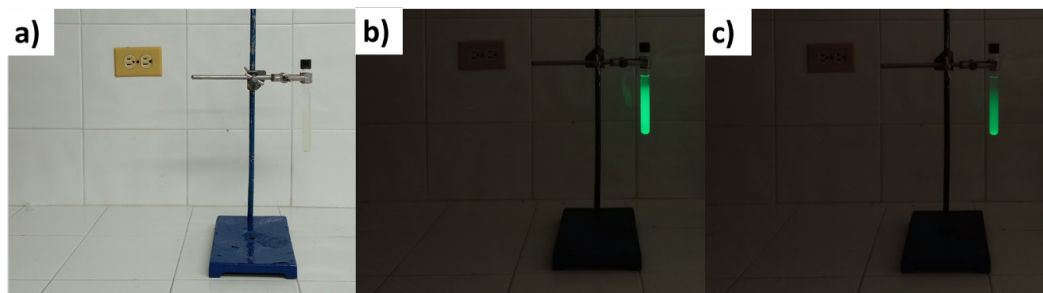
Procedimiento experimental

En un tubo de ensayo verter 25 mL de aceite de silicona y posteriormente una pequeña porción de producto fosforescente (aproximadamente 500 mg). Seguidamente agitar vigorosamente hasta formar una suspensión relativamente uniforme. Llevar el tubo a un lugar oscuro y posteriormente irradiar con luz UV por unos 30 segundos. Posteriormente suspender la fuente de irradiación y observar la emisión fosforescente por parte del producto.

Resultados

Como se puede observar en la Figura 9.a, el producto fosforescente presenta una coloración prácticamente blanca inicio de la prueba, sin embargo, después de irradiar la muestra por 30 segundos con luz UV, y subsecuentemente suspender la radiación de excitación, se puede observar la emisión de luz verde producto del fenómeno de fluorescencia presentado.

FIGURA 9. Emisión fosforescente a) antes de irradiación UV, b) después de 30 segundos de irradiación con luz UV y c) 2 minutos después de suspendida la irradiación con luz UV.



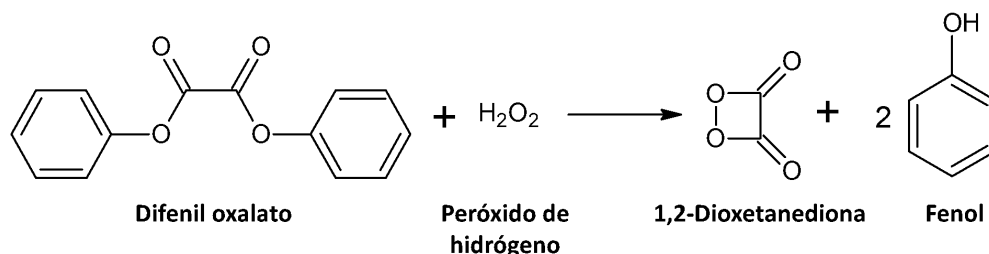
La emisión de radiación se logra mantener por más de 2 minutos, disminuyendo levemente la intensidad del color verde observado (ver Figura 9.c).

Quimioluminiscencia

La quimioluminiscencia es un fenómeno que, a diferencia de la fluorescencia y luminiscencia, no necesita de una fuente de radiación de excitación (Skoog et al., 2014). En el fenómeno de quimioluminiscencia, inicialmente tiene lugar una reacción química la cual da origen a un producto, el cual, al momento de ser generado, presenta un estado electrónico excitado. Cuando este producto formado retorna al estado basal, libera energía en forma de radiación electromagnética la cual puede ser ubicada en la región del espectro visible y, por ende, ser detectada por el ojo humano. En este sentido, se produciría el fenómeno de quimioluminiscencia (Christian G. et al., 2013; Skoog et al., 2014). Para este trabajo, se emplearon barras de luz de emergencia para demostrar didácticamente el fenómeno de quimioluminiscencia. Estas barras están compuestas de dos compartimientos, uno interno y otro externo, cada uno con una solución, las cuales, al mezclarse, emiten radiación luminosa producto del fenómeno de la quimioluminiscencia

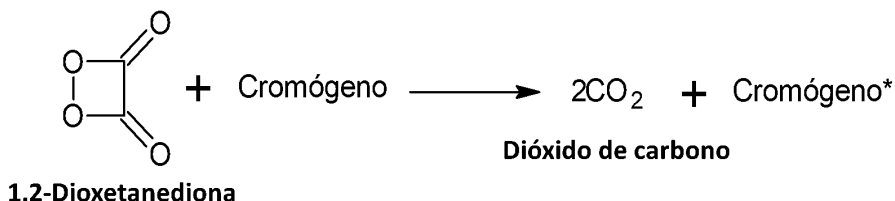
Usualmente, el líquido del compartimiento exterior consta de una solución de peróxido de hidrógeno. El líquido del compartimiento interior consta de una mezcla de difenil oxalato, salicilato de sodio (catalizador), uno o varios cromógenos y un solvente orgánico. Al doblarse la barra de luz, el compartimiento interno se rompe y el peróxido de hidrógeno queda en contacto con los componentes de la solución del compartimiento interior, dando lugar a la reacción mostrada en la Figura 10.

FIGURA 10. Reacción del difenil oxalato con peróxido de hidrógeno para la producción de fenol y la 1,2-Dioxetanediona (Kuntzleman et al., 2012).



En este paso se forma la 1,2-Dioxetanediona la cual se descompone espontáneamente a dióxido de carbono, sin embargo, durante este proceso, la 1,2-Dioxetanediona transfiere una determinada porción de energía al cromógeno principal (denominado como cromógeno), el cual pasa de un estado basal a un estado electrónico excitado (denominado como cromógeno*). Esta reacción se representa en la Figura 11.

FIGURA 11. Reacción de descomposición de la 1,2-Dioxetanediona a CO_2 , acoplada a la generación del cromógeno en estado excitado.



Finalmente, el cromógeno en estado excitado retorna a su estado basal emitiendo energía en forma de fotones de luz, causando así una emisión de luz, la cual es diferente dependiendo del cromóforo empleado. Esta reacción se representa en la Figura 12.

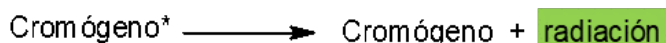


FIGURA 12. Liberación de energía en forma de radiación del cromógeno en estado excitado (cromógeno*) para la generación del cromógeno en estado basal.

Dependiendo del producto adquirido, las barras de luz pueden contener uno o varios cromóforos. Debido a que el cromógeno empleado suele ser información reservada por parte de las casas fabricantes, en este trabajo no se realizó una investigación exhaustiva para determinar la identidad de el o los cromóforos empleados.

Procedimiento experimental

Para llevar a cabo este experimento se usaron barras de luz de emergencias, comúnmente conocidas como “glowsticks” las cuales son de carácter comercial y de fácil acceso (ver Figura 13).



FIGURA 13. Barra de luz “glowsticks” comercial sin alterar (objeto superior) y cilindro de vidrio del compartimiento interno (objeto inferior).

Estas barras se componen básicamente de dos soluciones separadas por compartimientos, las cuales, al mezclarse, producen el fenómeno de quimioluminiscencia. Por tal motivo, la parte inicial de este experimento consiste en separar ambas soluciones de la barra. Con un bisturí, se debe abrir una apertura sobre la barra de luz de pesca, de modo que se pueda drenar completamente la solución ubicada en el compartimiento externo. Seguidamente, una vez drenada esta solución, se debe tomar la cápsula interior (ver Figura 13, objeto inferior), la cual suele ser de un material de vidrio, y con la ayuda de una lima metálica o unas pinzas, abrir una apertura que permita drenar la solución presente en el compartimiento interior. Se recomienda tener especial cuidado en este procedimiento ya que pueden salir expulsadas esquirlas de vidrio.

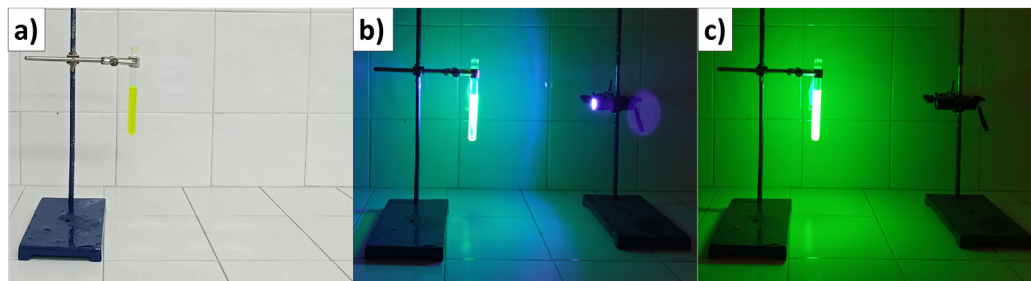
Una vez drenadas las soluciones de los compartimientos interno y externo de las barras de luz, estas deben ser guardadas en recipientes ámbar para su posterior uso.

Para llevar a cabo el experimento en el aula de clase, se debe disponer de un tubo de ensayo en el cual se debe verter cerca de 15 mL de acetato de etilo, el cual será empleado como solvente. Seguidamente, depositar el contenido completo de la solución del compartimiento interior y mezclar bien hasta homogenizar. Posteriormente adicionar el contenido del compartimiento exterior o una solución de peróxido de hidrógeno comercial o grado reactivo de concentración entre 3,0 y 30% m/v, hasta observar claramente el fenómeno de la quimioluminiscencia en un lugar oscuro para poder apreciar mejor la radiación emitida.

Resultados

Como se puede observar en la Figura 14.a, la solución del compartimiento interior del tubo de luz presenta una coloración verde brillante, la cual es producida debido a que esta por si sola, presenta el fenómeno de fluorescencia. Es importante resaltar que en la Figura 14, la solución del compartimiento interior fue diluida con 15 mL de acetato de etilo.

FIGURA 14. Solución del compartimiento interno del producto barras de luz a) expuesto a luz ambiente, b) expuesto a luz UV y c) después de adicionar solución de peróxido de hidrógeno al 30% m/v.



En la Figura 14.b se muestra la emisión fluorescente de la solución del compartimiento interior, cuando esta es irradiada con luz UV, observándose así un color verde brillante muy intenso similar al encontrado en la fluoresceína. La Figura 14.c fue tomada después de adicionar cerca de 2 mL de solución de peróxido de hidrógeno al 30% m/v, sin embargo, este mismo fenómeno se observa con soluciones comerciales de peróxido de hidrógeno y con la solución del compartimiento exterior.

Propuesta de evaluación de aprendizajes

Con el fin de llevar a cabo un proceso de evaluación de la asimilación de conceptos por parte del estudiante, se propone la siguiente dinámica expresada en la Tabla 1.

Concepto a evaluar	Dinámica de la evaluación	Resultado de aprendizaje esperado
Diferencia en el tiempo de emisión de luz entre la fluorescencia y la fosforescencia	El estudiante tomará un tubo que contiene una suspensión de la sustancia fosforescente y un tubo que contiene el extracto de espinaca. Seguidamente, expondrá al mismo tiempo ambos tubos a la luz UV por un periodo de 10 a 20 segundos y posteriormente apagará la fuente de radiación UV.	El estudiante observará como la emisión fluorescente desaparece mientras que la emisión fosforescente perdurará por unos segundos. Con base a esta información, el estudiante deberá especificar en cual tubo de ensayo se está produciendo el fenómeno de fluorescencia y en cual el fenómeno de fosforescencia. El estudiante deberá ser capaz de diferenciar el fenómeno de fluorescencia del fenómeno de fosforescencia, con base al tiempo que perdura la emisión de luz una vez apagada la fuente.

TABLA 1. Propuesta de evaluación de conceptos básicos relacionados con los fenómenos de fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia.

Efecto de la longitud de onda de irradiación sobre el fenómeno de la emisión fluorescente	El estudiante tomará el tubo que contiene alcohol al 70% v/v y seguidamente le adicionará una pequeña porción de cúrcuma e irradiará el tubo con luz azul y posteriormente con luz roja.	El estudiante observará que cuando la muestra es irradiada con luz azul, se producirá el fenómeno de emisión fluorescente (el cual se manifiesta por la presencia de un color verde brillante) mientras que cuando la muestra es irradiada con luz roja, no se observa este fenómeno. Con base a esta observación, el estudiante deberá estipular una longitud de onda representativa para la región del color azul y otra para la región del color rojo, y con base a esto, relacionar con cual longitud de onda se lleva a cabo el fenómeno de fluorescencia en la muestra irradiada.
Diferencia entre la longitud de onda de irradiación y de emisión en el fenómeno de fluorescencia	El estudiante tomará el tubo de ensayo que contiene el extracto de espinaca en etanol al 70% v/v. Seguidamente irradiará la muestra con luz UV y observará el color producido.	Una vez finalizada la irradiación del tubo de ensayo, el estudiante deberá ubicar en el espectro electromagnético, el color de la radiación de excitación usada y el color emitido por la muestra, con el fin de comprender la diferencia de la longitud de onda entre el color de la luz irradiada y la luz emitida. Con base a esto, el estudiante deberá poder concluir que la longitud de onda de la emisión fluorescente es mayor que la longitud de onda con la cual se irradia la muestra.

Para el procedimiento de evaluación, el docente podrá generar un formulario escrito donde se evalúen los conceptos mencionados en la Tabla 1, haciendo uso de preguntas abiertas, selección múltiple, u otro tipo de preguntas que considere pertinente.

Conclusiones

Los tópicos de fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia son temáticas de gran importancia en los cursos básicos de química analítica, sin embargo, su explicación en el aula puede resultar compleja si no se tiene una interacción adecuada con este

fenómeno. En este trabajo se puede evidenciar que estos fenómenos pueden ser fácilmente demostrados en el aula de clase, empleando materiales comerciales de fácil acceso, que no implican una gran inversión económica y riesgo por manejo de sustancias peligrosas. La puesta en práctica de estos experimentos en el aula a la hora de impartir estas temáticas a los estudiantes, les brindarán herramientas a los docentes para poder materializar los fenómenos de fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia, con el fin de lograr una mayor apropiación del conocimiento teórico y práctico por parte del estudiante.

Bibliografía

- Alvis, A., Arrazola, G., y Martinez, W. (2012). Evaluación de la actividad y el potencial antioxidante de extractos hidro-alcohólicos de Cúrcuma (*Cúrcuma longa*). *Informacion Tecnologica*, 23(2), 11-18. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642012000200003>
- Baraboglia, E. (2009). Uso de la fluoresceína en la práctica clínica veterinaria. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 10(3), 1-10. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63617318012>
- Barbero, N., Barni, E., Barolo, C., Quagliotto, P., Viscardi, G., Napione, L., Pavan, S., y Bussolino, F. (2009). A study of the interaction between fluorescein sodium salt and bovine serum albumin by steady-state fluorescence. *Dyes and Pigments*, 80(3), 307-313. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2008.08.006>
- Bengmark, S., Mesa, D., y Gil, A. (2009). Plant-derived health-the effects of turmeric and curcuminoids EFECTOS SALUDABLES DE LA CÚRCUMA Y DE LOS CURCUMINOIDES Resumen. *Nutr Hosp*, 24(3), 273-281.
- Bose, A., Thomas, I., y Abraham, E. (2018). Fluorescence spectroscopy and its applications: A Review. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis*, 8(1), 1-8. <https://doi.org/10.7439/ijapa.v8i1.4578>
- Bostick, D. T., y Hercules, D. M. (1975). Quantitative determination of blood glucose using enzyme induced chemiluminescence of luminol. *Analytical Chemistry*, 47(3), 447-452. <https://doi.org/10.1021/ac60353a039>
- Christian G., Dasgupta P., y Schug K. (2013). *Analytical Chemistry* (7th ed.). Wiley. <https://www.wiley.com/en-us/Analytical+Chemistry%2C+7th+Edition-p-9781118805169>
- Clapé Laffita Oneyda, y Castillo Alfredo Alfonso. (2012). Avances en la caracterización farmacotóxica de la planta medicinal *Curcuma longa* Linn. *MEDISAN*, 16(1), 97-114. <https://cutt.ly/8V1ho2M>
- García-Pomar, J. L., y Gutierrez-Contrera, R. (2015). Red fluorescence of chlorophyll. *Optica Pura y Aplicada*, 48(2), 93-97. <https://doi.org/10.7149/OPA.48.2.93>
- Kristoffersen, A. S., Erga, S. R., Hamre, B., y Frette, Ø. (2018). Testing Fluorescence Lifetime Standards using Two-Photon Excitation and Time-Domain Instrumentation: Fluorescein, Quinine Sulfate and Green Fluorescent Protein. *Journal of Fluorescence*, 28(5), 1065-1073. <https://doi.org/10.1007/s10895-018-2270-z>

- Kuntzleman, T. S., Rohrer, K., y Schultz, E. (2012). The chemistry of lightsticks: Demonstrations to illustrate chemical processes. *Journal of Chemical Education*, 89(7), 910–916. <https://doi.org/10.1021/ed200328d>
- Mammadov G. (2015). *Measurement of the Membrane Electric Field and the Swimming Behavior of Chlamydomonas reinhardtii: Experiments and Analytical Modeling*. <https://surface.syr.edu/etd/225/>
- Mandal, R., y Dutta, G. (2020). From photosynthesis to biosensing: Chlorophyll proves to be a versatile molecule. *Sensors International*, 1, 100058. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100058>
- Ponnuvel, K., Santhiya, K., y Padmini, V. (2016). Curcumin based chemosensor for selective detection of fluoride and cyanide anions in aqueous media. *Photochemical y Photobiological Sciences*, 15(12), 1536–1543. <https://doi.org/10.1039/C6PP00254D>
- Razavi, B. M., Ghasemzadeh Rahbardar, M., y Hosseinzadeh, H. (2021). A review of therapeutic potentials of turmeric (Curcuma longa) and its active constituent, curcumin, on inflammatory disorders, pain, and their related patents. In *Phytotherapy Research* (Vol. 35, Issue 12, pp. 6489–6513). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/ptr.7224>
- Resch-Genger, U., Hoffmann, K., y Pfeifer, D. (2009). *Simple Calibration and Validation Standards for Fluorometry* (pp. 1–31). https://doi.org/10.1007/978-0-387-88722-7_1
- Sauer M., Hofkens J., y Enderlein J. (2011). Basic Principles of Fluorescence Spectroscopy. In *Handbook of Fluorescence Spectroscopy and Imaging* (pp. 1–30). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9783527633500.ch1>
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., y Crouch, S. R. (2014). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (9th ed.). Estados Unidos, New York: Saunders College Pub.