

Tesis de Posgrado

Procesos fotofísicos de ftalocianinas, porfíricenos y cianinas en solución

Negri, Ricardo Martín

1991

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Negri, Ricardo Martín. (1991). Procesos fotofísicos de ftalocianinas, porfíricenos y cianinas en solución. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2407_Negri.pdf

Cita tipo Chicago:

Negri, Ricardo Martín. "Procesos fotofísicos de ftalocianinas, porfíricenos y cianinas en solución". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1991.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2407_Negri.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

TESIS DOCTORAL

**"PROCESOS FOTOFISICOS DE FTALOCIANINAS,
PORFICENOS Y CIANINAS EN SOLUCION"**

RICARDO MARTIN NEGRI

**DIRECTORES: DRA. SILVIA E. BRASLAVSKY
DR. ENRIQUE SAN ROMAN**

**DEPARTAMENTO DE QUIMICA INORGANICA, ANALITICA
Y QUIMICA FISICA**

1991

*Tesis .
2407 .
ej. 2 .*

La tesis que se presenta fue realizada en el Laboratorio de Fotoquímica del Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física (DQIAQF) de la facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA), con excepción del primer año, durante el cual las tareas se efectuaron con lugar de trabajo en el Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA, La Plata) debido a que el DQIAQF no contaba en ese momento con los elementos necesarios para el desarrollo de las mismas. El período de trabajo fue comprendido entre 1987 y 1991, y la investigación fue financiada por la Universidad de Buenos Aires, CONICET, y la fundación Volkswagenwerk.

El trabajo se realizó con la dirección de la Dra. Silvia E. Braslavsky y del Dr. Enrique A. San Román, y contó con la orientación permanente brindada por el Dr. Pedro F. Aramendía.

Algunos de los resultados que se presentan ha sido publicados:

- R.M.Negri, A.Zalts, E.A.San Román, P.F.Aramendía y S.E.Braslavsky (1991) Photochem.Photobiol., 53, 317.

- S.Nonell, P.F.Aramendía, K.Heihoff, R.M.Negri y S.E.Braslavsky (1990) J.Phys.Chem., 94, 5879.

Agradezco a todos los compañeros del DQIAQF y de INIFTA que me acompañaron y brindaron su amistad durante el período de la tesis, ayudándome, dirigiéndome en el trabajo, o compartiendo momentos.

Particularmente agradezco a las siguientes personas:

- A Pedro Aramendía por su ayuda cotidiana, por las medidas de flash fotólisis, y por la paciencia.
- A Anita Zalts y Marta Daraio porque sintetizaron la ftalocianina que utilicé.
- A Mónica González por permitirme el uso del equipo de flash fotólisis
- A Josefina Awruch por la síntesis de H_2TPP

Quiero agradecer muy especialmente a la gente del primer piso de INIFTA por su sincera amistad y apoyo incondicionales, y por los mismos motivos a mis compañeros de los grupos de fotoquímica y de electroquímica del DQIAQF.

Agradezco a mis directores, a la Dra. Silvia Braslavsky por su dedicación y apoyo, y al Dr. Enrique San Román, por su colaboración para concretar este trabajo.

<u>INDICE:</u>	Página
CAPITULO 1: Introducción	1
CAPITULO 2: Descripción de la instrumentación	4
2.1 Métodos fototérmicos	5
2.2 Lente térmica estacionaria	7
2.3 Puesta a punto	13
2.3.1 Características instrumentales	13
2.3.2 Controles	16
2.4 Fluorescencia estacionaria	16
2.5 Fotólisis flash	18
CAPITULO 3: Ftalocianina carboxilada de cinc.	20
3.1 Introducción	21
3.2 Materiales y métodos	25
3.3 Resultados y discusión	27
3.3.1 Fluorescencia estacionaria	27
3.3.2 Mediciones de lente térmica	29
3.4 Conclusiones	33
CAPITULO 4: Porfíricos.	36
4.1 Introducción	36
4.2 Materiales y métodos	38
4.3 Resultados	39
4.4 Cumulen-Porfíricos	41
4.5 Conclusiones	41

	Página
CAPITULO 5: Cianinas.	46
5.1 Introducción	47
5.2 Modelos	51
5.2.1 Superficies de energía potencial	51
5.2.2 Energías de activación	52
5.2.3 Constantes de velocidad	55
5.3 Materiales y métodos	60
5.3.1 Cianinas	60
5.3.2 HPLC	60
5.3.3 Solventes	61
5.3.4 Soluciones	61
5.3.5 Absorción	62
5.3.6 Fluorescencia	62
5.3.7 Fotólisis Flash	62
5.4 Resultados de medidas de absorción	65
5.5 Resultados de fluorescencia y fotólisis flash	71
5.5.1 DOCI	71
5.5.2 DTDCI	85
5.5.3 DODCI	92
5.5.4 DTDCI	92
5.5.5 HIDCI	98
5.5.6 DOTCI	102
5.6 Conclusiones	106

CAPITULO 6: Lente térmica estacionaria en los distintos sistemas estudiados: diferencias, mejoras y limitaciones.	112
6.1 Sistemas de un solo componente. Tratamiento de errores	113
6.2 Sistemas en equilibrio de dimerización	114
6.3 Empleo de referencias fluorescentes	115
6.4 Método de LTE en la determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia de cianinas	116
CAPITULO 7: Conclusiones generales	118
REFERENCIAS	120

INDICE DE FIGURAS

Capítulo 2

- 2.1: Equipo de lente térmica estacionaria (LTE)
- 2.2: Señal de lente térmica, θ , en función del tiempo
- 2.3: Envolvente del haz láser en LTE
- 2.4: θ en función de la posición de la muestra
- 2.5: Circuito del fotodiodo

Capítulo 3

- 3.1: Ftalocianina carboxilada de cinc (ZnTCPc)
- 3.2: Espectro visible de ZnTCPc en mezclas H₂O/DMF, para una dada concentración
- 3.3: Espectro visible de ZnTCPc en 30% H₂O/DMF, a distintas concentraciones
- 3.4: Espectro de emisión de ZnTCPc
- 3.5: ZnTCPc: I_f vs. γ y γ_M , en 30% H₂O/DMF
- 3.6: ZnTCPc: θ vs. γ en DMF pura
- 3.7: ZnTCPc: θ vs γ en 30% H₂O/DMF

Capítulo 4

- 4.1: Porfíricos: estructura y espectro de absorción de PO
- 4.2: Porfíricos: θ vs. γ
- 4.3: Cumulen-porfíricos: estructura y espectro de absorción de CU
- 4.4: Cumulen-porfíricos: θ vs. γ

Capítulo 5

- 5.1: Estructura de las cianinas
- 5.2: Superficies de energía potencial

- 5.3: Espectros de absorción y de emisión corregido de DOCI (5.3.a) y de DTDCI (5.3b) en EtOH 95%
- 5.4: Espectros de absorción y de emisión corregido de DODOCI (5.4a) y de DTDCI (5.4b) en EtOH 95%
- 5.5: Espectros de absorción y de emisión corregido de HIDCI (5.5a) y de DOTCI (5.5b) en EtOH 95%
- 5.6: Absorbancia vs. T (DTDCI)
- 5.7: DOCI: ϕ_f vs. T, en la serie de alcoholes
- 5.8: DOCI: Isotermas de ϕ_f vs. η
- 5.9: DOCI: $\ln(\phi_f^{-1}-1)$ vs. $1/T$ en MeOH
- 5.10: DOCI: $\ln(\phi_f^{-1}-1)$ vs. $1/T$ en DecOH
- 5.11: DOCI: $\ln(\phi_{p\ rel}/\phi_f)$ vs. $1/T$
- 5.12: DOCI: Valores relativos de ϕ_p y ϕ_f en OcOH
- 5.13: DOCI: ΔA_o vs. V^2
- 5.14: DOCI: Estado excitado: gráfico de isoviscosidad
- 5.15: DOCI: Energías de activación vs. E_η
- 5.16: DOCI: Estado excitado: Constantes reducidas vs. η
- 5.17: DOCI: Estado excitado: $\ln k^*$ vs $\ln \eta$
- 5.18: DOCI: Estado fundamental: Constantes reducidas vs. η
- 5.19: DOCI: Estado fundamental: $\ln k$ vs. $1/T$
- 5.20: DOCI: Espectro diferencia
- 5.21: DTDCI: ϕ_f vs. T, en la serie de alcoholes
- 5.22: DTDCI: Isotermas de ϕ_f vs. η
- 5.23: DTDCI: $\ln(\phi_f^{-1}-1)$ vs. $1/T$ en MeOH
- 5.24: DTDCI: $\ln(\phi_f^{-1}-1)$ vs. $1/T$ en DecOH
- 5.25: DTDCI: ΔA_o vs. V^2
- 5.26: DTDCI: Estado excitado: Constantes reducidas vs. η
- 5.27: DTDCI: Estado fundamental: Constantes reducidas vs. η
- 5.28: DTDCI: Isotermas: $\ln k_{pN}$ vs. $\ln \eta$
- 5.29: DTDCI: Espectro diferencia
- 5.30: DTDCI: ϕ_f vs. T, en la serie de alcoholes
- 5.31: DTDCI: Isotermas de ϕ_f vs. η
- 5.32: DTDCI: $\ln(\phi_f^{-1}-\phi_{fmax}^{-1})$ vs. $1/T$ en MeOH

- 5.33: DTDCI: $\ln(\phi_{p \text{ rel}}/\phi_f)$ vs. $1/T$
- 5.34: DTDCI: Estado excitado: Constantes reducidas vs. η
- 5.35: DTDCI: Estado fundamental: Constantes reducidas vs. η
- 5.36: HIDCI: ϕ_f vs. T , en la serie de alcoholes
- 5.37: HIDCI: Isoternas de ϕ_f vs. η
- 5.38: HIDCI: Estado excitado: Constantes reducidas vs. η
- 5.39: HIDCI: Estado fundamental: Constantes reducidas vs. η
- 5.40: DOTCI: ϕ_f vs. T , en la serie de alcoholes
- 5.41: DOTCI: Isoternas de ϕ_f vs. η
- 5.42: DOTCI: Estado excitado: Constantes reducidas vs. η
- 5.43: DOTCI: Estado fundamental: Constantes reducidas vs. η

INDICE DE TABLAS

- 3.1: Constantes de dimerización a 25 °C, y coeficientes de absorción del dímero de ZnTCPc en mezclas H₂O/DMF

- 4.1: Parámetros fotofísicos de PO y TPrPO

- 5.0: Propiedades de los solventes empleados en el capítulo 5.
- 5.1: Comparación de valores medidos de ϕ_f con valores de bibliografía
- 5.2: Longitud de onda de máxima absorción (λ_a) y emisión (λ_e), en la serie de n-alcoholes

- 5.3: DOCI: Parámetros dependientes del solvente
- 5.4: DOCI: Parámetros independientes del solvente

- 5.5: DTCI: Parámetros dependientes del solvente
- 5.6: DTCI: Parámetros independientes del solvente

- 5.7: DTDCI: Parámetros dependientes del solvente
- 5.8: DTDCI: Parámetros independientes del solvente

- 5.9: HIDCI: Parámetros dependientes del solvente
- 5.10: HIDCI: Parámetros independientes del solvente
- 5.11: DOTCI: Parámetros independientes del solvente
- 5.12: DOTCI: Parámetros dependientes del solvente
- 5.13: Parámetros fotofísicos en forma comparativa, de las cianinas estudiadas
- 5.14: Parámetros asociados con las superficies de energía potencial

LISTADO DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

- P_0 : potencia radiante incidente
- P_a : potencia radiante absorbida
- γ : fracción de flujo fotónico absorbido
- γ_M, γ_D : fracción de flujo fotónico absorbido por monómero y dímero, respectivamente.
- A: absorbancia
- ϵ : coeficiente de absorción decádico molar
- ϕ_f : rendimiento cuántico de fluorescencia
- ϕ_{ci} : rendimiento cuántico de fosforescencia
- ν : frecuencia de radiación
- λ : longitud de onda
- β : variación de densidad de energía radiante en el centro del haz, relativa al valor estacionario, en LTE.
- $\theta: \sqrt{1+2\beta} - 1$: medida del efecto de LTE
- n: índice de refracción
- K_d : constante de dimerización
- $[M]$: concentración de monómero
- $[D]$: concentración de dímero
- T: temperatura absoluta
- η : viscosidad
- ϕ_{fmax} : valor máximo de ϕ_f como función de T

k_f : constante de emisión de fluorescencia
 k_{ci} : cte. de conversión interna no activada
 k : (en cap. 5): ctes. velocidad en la isomerización
 k^* : ctes. reducidas
 $\phi_{p\ rel}$ (en cap. 5): rend. cuánticos relativos de fotoisomerización
 E_η : energía de activación de viscosidad
 E_a, E_{Nt}, E_{PN} : energías de activación de Arrhenius

LISTA DE COMPUESTOS ESTUDIADOS

-ZnTCPC: diamida de ftalocianina tetracarboxilada de cinc
-PO: porfíceno
-TPrPO: tetrapropil porfíceno
-CU: cumulen-porfíceno
-THCU: tetrahydro-cumulen-porfíceno
-DTCI: dietil-tia-carbocianina (I^-)
-DOCI: dietil -oxo-carbocianina (I^-)
-DTDCI: dietil-tia-dicarbocianina (I^-)
-DODCI: dietil-oxo-dicarbocianina (I^-)
-HIDCI: hexametil-indo-dicarbocianina (I^-)
-DOTCI: dietil-tia-tricarbocianina (I^-)
-DTTCI: dietil-tia-tricarbocianina (I^-)

Resumen

En el presente trabajo de tesis se estudiaron diversas propiedades fotofísicas de ftalocianina tetracarboxilada de cinc (ZnTCPc), porfíricos y cianinas en solución, los cuales son de gran interés en fotobiología. En el caso de ZnTCPc y de los porfíricos se empleó la técnica de lente térmica estacionaria (LTE) para determinar rendimientos cuánticos de fluorescencia. La construcción y puesta a punto del equipo de LTE constituyó el primer objetivo del trabajo.

En los estudios realizados con ZnTCPc el principal objetivo fue determinar la influencia del equilibrio de dimerización sobre las propiedades fluorescentes. Se emplearon las técnicas de LTE y fluorescencia estacionaria.

La determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia de porfíricos mediante LTE formó parte complementaria de un estudio más amplio de determinación de parámetros del primer estado triplete.

En el caso de las cianinas se estudió el proceso de fotoisomerización de un conjunto de estos compuestos, en una serie de n-alcoholes primarios, prestando particular atención al efecto de la viscosidad y la temperatura. Para ello se emplearon en forma combinada experiencias de fotólisis flash convencional y espectrofluorometría estacionaria. Se analizó la influencia de la viscosidad sobre las constantes de velocidad en función de los modelos usualmente propuestos.

INTRODUCCION

CAPITULO 1: Introducción

El objetivo central del presente trabajo de tesis es estudiar el comportamiento fotofísico de determinados compuestos, los cuales debido a sus particulares propiedades fotofísicas y espectroscópicas son de gran interés en el área de la fotobiología. Estos compuestos son ftalocianina carboxilada de cinc, porfíricos y cianinas, los cuales presentan intensa absorción de radiación visible, principalmente en el rojo, y son altamente fluorescentes.

La determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia de compuestos que absorben y emiten radiación en las zonas roja e infrarroja cercana del espectro, presenta diversos inconvenientes mediante los métodos tradicionales. Estos inconvenientes se deben a la inexistencia de espectrofluorómetros comerciales adecuados para medir en dicha región, y a las dificultades para obtener buenas sustancias patrones de fluorescencia (1). Los métodos denominados fototérmicos, salvan dichos inconvenientes y permiten la determinación precisa de parámetros fotofísicos en esa zona espectral (2,3). Por este motivo se decidió como primer objetivo del trabajo de tesis, la instrumentación de un equipo de lente térmica estacionaria (cap.2), para aplicarlo a la medición de rendimientos cuánticos de fluorescencia de ftalocianinas y porfíricos en solución.

Las ftalocianinas y porfíricos absorben radiación de longitud de onda superior a 600 nm, zona que coincide con la ventana óptica de los tejidos biológicos, y por lo tanto, son de potencial utilidad en fotomedicina como marcadores fluorescentes de tumores y en el tratamiento fotodinámico del cáncer (4,5). En esta área podrían llegar a reemplazar a las porfirinas ya que poseen una absorción mucho más alta entre 600 y 700 nm. La aplicación de estos compuestos en fotobiología depende en primer lugar de la eficacia de los distintos procesos fotofísicos con que se desactivan los estados excitados luego de la absorción de luz.

Por otra parte, en el caso de las ftalocianinas existe gran interés por la obtención de nuevos derivados, con el fin de optimizar los parámetros

fotofísicos. Estos derivados se obtienen variando grupos sustituyentes como es el caso de derivados sulfonados y carboxilados, cambiando el ión metálico complejado centralmente, y/o las moléculas que constituyen los complejantes adicionales del ión metálico. La capacidad de fotogenerar oxígeno singlete ($O_2(^1\Delta_g)$), uno de los posibles compuestos activos en fototerapia, ha sido estudiada para algunas ftalocianinas carboxiladas sintetizadas recientemente (6,7). Aun considerando las dificultades inherentes a la extrapolación de resultados en solución a experiencias "in vivo", la caracterización fotofísica global en medio homogéneo es indispensable como punto de partida. En este contexto se encuadra la determinación de los parámetros luminiscentes en fase orgánica del monómero y del dímero de un nuevo derivado carboxílico, ftalocianina carboxilada de cinc.

Los porfíricos fueron sintetizados por primera vez en 1986 (8), y una primera evaluación de sus propiedades espectroscópicas ha sugerido que se estudie su potencialidad como marcadores fluorescentes y como sensibilizadores en terapia fotodinámica (9). En este trabajo se aplica el método de lente térmica para determinar rendimientos cuánticos de fluorescencia de porfíricos en el marco de una nueva metodología para estudiar varias propiedades fotofísicas, la cual evita dificultades adicionales usuales en el caso de compuestos con tiempos de fluorescencia relativamente largos (10).

Las cianinas constituyen una familia de colorantes polimetínicos de gran aplicación en biofísica como sondas fluorescentes de propiedades de biomembranas (11-13). Aquí estudiamos el proceso de fotoisomerización de una serie de cianinas simétricas, combinando técnicas de fluorescencia y de fotólisis flash. El énfasis está puesto en la corroboración de los modelos teóricos usualmente propuestos para isomerizaciones, pero que hasta ahora no habían sido verificados en forma sistemática en función de la estructura del compuesto.

Finalmente en el capítulo 6 se analizan y discuten detalladamente las características diferentes que aparecen en el empleo de LTE en cada uno de los sistemas estudiados.

DESCRIPCION DE LA INSTRUMENTACION

CAPITULO 2: Descripción de la instrumentación.

Como se indicó en el capítulo 1, el primer objetivo del trabajo de tesis fue la implementación de un equipo de lente térmica estacionaria (LTE), con el fin de emplearlo en la determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia de ftalocianinas y porfíricos. Por este motivo en las tres primeras secciones del presente capítulo se detallan los fundamentos del método y las características del equipo instrumentado.

En las secciones 2.4 y 2.5 se describen los equipos de fluorescencia estacionaria y de fotólisis flash, empleados en el presente trabajo.

2.1 Métodos fototérmicos

Los métodos fototérmicos son un conjunto de técnicas de medición que encuentran gran aplicación a la determinación de parámetros fotofísicos y están basados en los efectos térmicos producidos por la degradación de la radiación absorbida en energía no radiativa.

Para que se produzca un fenómeno fototérmico es necesario no sólo que haya absorción de la radiación incidente por la molécula, sino también que ésta transfiera al medio parte de la energía absorbida en forma de calor. Una molécula con exceso de energía que se desactiva principalmente mediante procesos radiativos (fluorescencia y/o fosforescencia), o por reacciones químicas, producirá un débil efecto fototérmico debido exclusivamente a los corrimientos de Stokes, a la excitación a niveles vibracionales superiores, o a la variación de entalpía de la reacción química. Cuando una muestra recibe radiación electromagnética, la potencia radiante incidente es parcialmente reflejada en las paredes de la celda, otra parte es absorbida por la muestra, y el resto se transmite pasando a través de la celda. La energía absorbida por unidad de tiempo, P_a , es una fracción, γ , de la potencia total incidente sobre la muestra, P_o :

$$P_a = \gamma P_o . \quad (2.1)$$

pudiendo calcularse γ a partir de la absorbancia, A de la muestra:

$$\gamma = 1 - 10^{-A} \quad (2.2)$$

A su vez la energía absorbida puede liberarse mediante los procesos indicados anteriormente:

$$P_a = P_f + P_p + P_r + P_t \quad (2.3)$$

en donde P_f , P_p , P_r y P_t indican la potencia liberada mediante fluorescencia, fosforescencia, potencia acumulada por especies químicas, y calor liberado hacia el solvente, respectivamente. Este balance de energía puede expresarse en términos de los rendimientos cuánticos (ϕ) de cada proceso, y de la fracción de energía disipada como calor (ϕ'_t):

$$1 = (\langle \nu_f \rangle / \nu_{exc}) \phi_f + (\langle \nu_p \rangle / \nu_{exc}) \phi_p + (\Delta E / h\nu_{exc}) \phi_r + \phi'_t \quad (2.4)$$

donde ν_{exc} , $\langle \nu_f \rangle$ y $\langle \nu_p \rangle$ son la frecuencia de excitación, fluorescencia y fosforescencia (estas dos últimas como valores medios ponderados en el rango espectral de emisión). ΔE es la diferencia de energía entre los estados fundamentales del fotoproducto (suponiendo que se forma solamente uno) y la especie que absorbe.

El factor responsable de los efectos fototérmicos es P_t :

$$P_t = \phi'_t P_a = \phi'_t \gamma P_0 \quad (2.5)$$

el cual puede finalmente expresarse en términos de los rendimientos cuánticos de los procesos que compiten con la liberación de calor, o sea ϕ_f , ϕ_p y ϕ_r , usando la igualdad (2.4). Por ejemplo, para el caso de una solución que no fosforesce ni reacciona fotoquímicamente, se obtiene:

$$P_t = (1 - (\langle \nu_f \rangle / \langle \nu_{exc} \rangle) \phi_f) \gamma P_0 \quad (2.6)$$

o bien en función de la longitud de onda del láser, $\lambda_1 = c/\nu_{exc}$, y media de emisión fluorescente, $\langle \lambda_f \rangle = c/\langle \nu_f \rangle$ ($c =$ velocidad de la luz) :

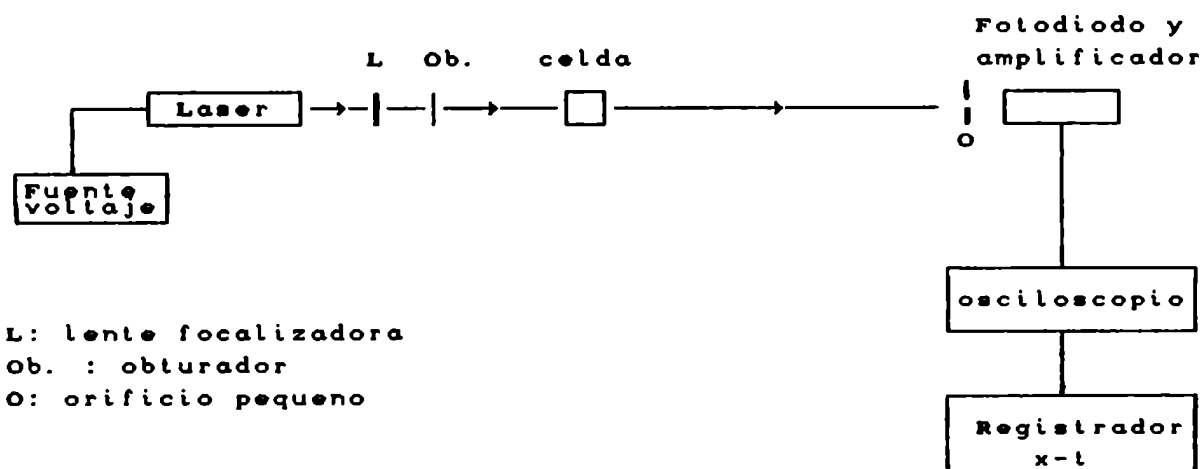
$$P_t = (1 - (\lambda_1 / \lambda_f) \phi_f) \gamma P_o \quad (2.7)$$

2.2 Lente térmica estacionaria

El método de "lente térmica estacionaria" (LTE) es un método fototérmico que se basa en el cambio de índice de refracción de la muestra debido al aumento de temperatura provocado por la disipación de energía (2,14). Estas variaciones de índice de refracción producen a su vez cambios en el diámetro del haz de excitación. En el caso de líquidos puros y soluciones la muestra se convierte generalmente en una lente divergente, pues el índice de refracción disminuye con la temperatura, y el haz se desfocaliza hasta que llega a un estado estacionario. En LTE el haz de excitación es un haz láser continuo que hace a la vez de haz de análisis, a diferencia del método de lente térmica resuelto en el tiempo (LTRT) en el cual la excitación la produce un pulso láser, y el haz de análisis es un láser continuo que no debe ser absorbido por la muestra (15).

La desfocalización del haz se puede seguir midiendo el cambio de irradiancia en su centro. El esquema del dispositivo construido se observa en la figura 2.1, y es igual al descrito por Magde y colaboradores (2, 16).

Figura 2.1: Equipo de lente térmica estacionaria.



El equipo consta de un láser de helio-neón que opera en modo TEM₀₀. Cuando se abre el obturador, y debido a que el haz láser posee una distribución espacial de densidad de energía no uniforme, se desarrolla un gradiente espacial de temperatura en la zona de absorción. Esto induce cambios locales de la densidad de la muestra y un gradiente de índice de refracción. Para la mayoría de los líquidos el índice de refracción disminuye con el aumento de la temperatura, y por lo tanto la lente formada es divergente. El haz transmitido empieza entonces a desfocalizarse. El haz de luz incide sobre un fotodiodo luego de pasar por un pequeño orificio ubicado en el centro del haz a distancia de la muestra. La señal de salida del fotodiodo se conduce hacia un osciloscopio con memoria digital. Una señal típica de LTE en función del tiempo se observa en la figura 2.2, en la cual el voltaje de salida del fotodiodo es en todo instante proporcional a la densidad de energía en el centro del haz.

La curva que se observa en la figura 2.2 representa la señal obtenida en función del tiempo. Antes de abrir el obturador, el voltaje en el fotodiodo es un valor constante denominado "voltaje oscuro", V_{osc} . A tiempo cero se permite el pasaje de luz y el voltaje alcanza el valor V_0 . Dado que el haz se desfocaliza, la densidad de energía radiante en su centro disminuye monótonamente hasta alcanzar el estado estacionario (a tiempo "infinito"), y el voltaje toma el valor $V(\infty)$.

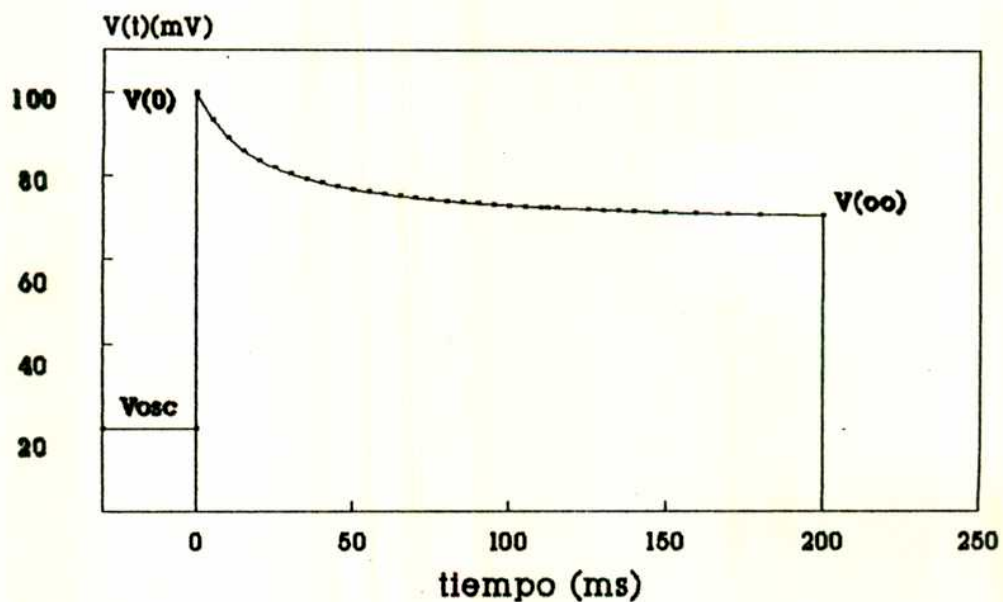
El cambio de densidad de energía en el centro del haz, relativo a su valor estacionario, β , se puede calcular midiendo los voltajes V_{osc} , V_0 y $V(\infty)$:

$$\beta = (V_0 - V(\infty)) / (V(\infty) - V_{osc}) \quad (2.8)$$

β depende de una serie de factores:

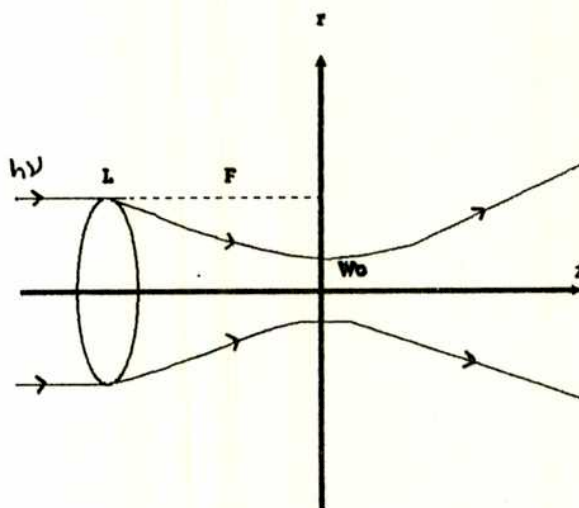
-Factores instrumentales: Diámetro del haz, longitud de la celda que contiene a la muestra, lentes ubicadas antes de la celda, modo de propagación del haz (ej. TEM₀₀), diámetro del orificio, velocidad de obturación, y distancias relativas entre los distintos componentes.

Figura 2.2
Señal de LTE en función del tiempo.



Violeta de Cresilo en MeOH.
 $A(633 \text{ nm})=0.085$, $t_c=60 \text{ ms}$, $\Theta=0.4$

FIGURA 2.3
ENVOLVENTE DEL HAZ



$$I(r)=I_0 \exp(-2r^2/w^2)$$

L:LENTE FOCALIZADORA
 F:DISTANCIA FOCAL
 w_0 :RADIO DEL HAZ EN $Z=0$

-Propiedades termoelásticas de la solución: El efecto de lente térmica depende de dos propiedades termoelásticas del sistema: la variación de índice de refracción con la temperatura, dn/dT , y la conductividad térmica, K . La señal será mayor cuanto mayor sea dn/dT (en valor absoluto). Por otra parte, cuanto menor sea K el transporte de calor hacia afuera de la zona irradiada será menor, y el gradiente de temperatura será mayor, con el consiguiente aumento de la señal.

-Propiedades fotofísicas y espectroscópicas de la solución: la señal será mayor cuanto mayor sea la absorbancia de la solución a la longitud de onda de excitación y cuanto menores sean los rendimientos cuánticos de luminiscencia (fluorescencia y fosforescencia) y de formación de fotoproductos (reacciones fotoquímicas). Es decir cuanto mayor sea la potencia térmica relativa P_t/P_0 (ecuación (2.3)).

La teoría matemática del efecto de lente térmica ha sido desarrollada en varios trabajos (16-19). Las principales hipótesis formuladas, que son necesarias para el uso analítico del efecto, se pueden resumir de la siguiente forma:

i) El camino óptico recorrido por el haz al atravesar la muestra debe ser pequeño para poder aplicar las aproximaciones matemáticas de lente delgada.

ii) La potencia del láser no debe ser demasiado alta para evitar la aparición de aberraciones ópticas y corrientes convectivas.

iii) La solución debe ser diluida a fin de evitar absorción total del haz o aberraciones y para simplificar la dependencia de β con γ , considerando solamente términos de hasta segundo orden en γ .

iv) El láser debe operar en modo TEM_{00} . y entonces la distribución espacial de intensidad, $I_z(r)$, es gaussiana:

$$I_z(r) = I_z(r=0) e^{-2r^2/\omega^2} \quad (2.9)$$

donde r es la coordenada radial, z la coordenada a lo largo del camino óptico del haz, y ω el parámetro de la distribución (fig.2.3).

La señal de LTE, β , depende de la distancia de la muestra a la posición donde se encuentra la cintura del haz, o sea la posición donde el haz es de menor diámetro. En el dispositivo utilizado se ha colocado una lente convergente (L, fig. 2.1) de distancia focal f_L , antes del obturador, de tal forma que la cintura del haz se encuentra prácticamente sobre el foco de L. El origen de la coordenada z , se ha elegido en dicha posición, en la cual el parámetro ω toma su menor valor, ω_0 . Dovichi y Harris obtuvieron una expresión para β en función de z (20,21):

$$\beta = \beta_{\max} \cdot z \cdot z_R / (z^2 + z_R^2) \quad (2.10)$$

donde z_R es la distancia de Rayleigh, o distancia confocal:

$$z_R = \pi \omega_0^2 / \lambda_L \quad (2.11)$$

y β_{\max} es el valor máximo de β como función de z .

Si se consideran las anteriores hipótesis es posible describir al sistema mediante ecuaciones ópticas de primer orden. Por lo tanto tendrá sentido definir una distancia focal, $f(t)$, función del tiempo, asociada a la lente formada. Esta distancia se puede calcular utilizando los métodos ópticos usuales, si se conoce la expresión para el aumento de temperatura en función de las coordenadas espaciales dentro de la muestra (22):

$$f(t) = f(\infty) (1 + (t_c/2t)) \quad (2.12)$$

donde t_c es la constante de tiempo (2):

$$t_c = \omega^2 \rho C_p / 4 K \quad (2.13)$$

y $1/f(\infty)$ representa la "potencia" de la lente:

$$1/f(\omega) = P_t (-dn/dT) / K \pi \omega^2 \quad (2.14)$$

en donde ω es el parámetro de la distribución en la posición de la celda, ρ es la densidad de la solución, y C_p el calor específico a presión constante.

Si la celda se ubica en la distancia z_R , el voltaje $V(t)$ está dado por:

$$V(t) - V_{osc.} = (V_0 - V_{osc.}) \left(1 - \theta / (1 + t_c/2t) + (\theta / (1 + t_c/2t))^2 \right)^{-1} \quad (2.15)$$

en donde se han despreciado términos de orden superior, y donde:

$$\theta = (-dn/dT / \lambda_L K) P_t = \alpha P_t \quad (2.16)$$

$$\alpha = -dn/dT / \lambda_L K \quad (> 0) \quad (2.17)$$

Las últimas igualdades revelan el origen del efecto de LTE en los procesos fototérmicos descritos en la sección anterior.

La relación entre β y θ se obtiene evaluando la expresión de $V(t)$ a tiempo infinito:

$$\beta = \theta + 1/2 \theta^2 \quad (2.18)$$

o bien:

$$\theta = \sqrt{1 + 2\beta} - 1 \quad (2.19)$$

Sin embargo para valores de $\beta \leq 0.3$ es:

$$\theta \cong \beta \quad (2.20)$$

Las ecuaciones (2.8), (2.16) y (2.22) permiten relacionar los datos experimentales con los parámetros fotofísicos de la sustancia que absorbe luz.

Si se trabaja con soluciones diluidas, el parámetro termoelástico α puede considerarse una propiedad del solvente independiente del soluto. Por lo tanto se lo puede calcular midiendo β para una solución de referencia, en el mismo solvente y con las mismas condiciones experimentales. Si se utiliza una referencia calorimétrica, la cual disipa en forma no radiativa toda la energía absorbida, se obtiene:

$$\theta_s / \theta_r = P_t^s / P_{abs}^r \quad (2.21)$$

donde los índices s y r se refieren a la solución incógnita y a la referencia calorimétrica respectivamente. Para una solución que no fosforesce ni reacciona químicamente, P_t^s se reemplaza por la expresión (2.7), y P_{abs}^r por (2.1), con lo cual:

$$(\theta_s / \gamma_s) / (\theta_r / \gamma_r) = (P_o^s / P_o^r) (1 - \phi_f^s \lambda_L / \langle \lambda_f^s \rangle) \quad (2.22)$$

Los cocientes θ/γ se calculan mediante las pendientes de las rectas experimentales θ vs. γ , y si la potencia radiante incidente es la misma para muestra y referencia ($P_o^s = P_o^r$), la expresión (2.22) permite calcular ϕ_f^s .

2.3 Puesta a punto

2.3.1 Características instrumentales:

Todo el sistema fue montado sobre un banco óptico apoyado sobre un bloque de granito, descansando a su vez en una plancha de poliestireno expandido a fin de evitar vibraciones mecánicas. Como fuente de luz se utilizó un láser de helio-neón (632.8 nm) (Laser Optics), de potencia de salida entre 1 y 1.5 mW, y se verificó su operación en modo TEM₀₀.

Para utilizar como lente focalizadora (L, fig.2.1) se probó con distintas lentes convergentes. Finalmente se decidió emplear lentes plano-convexas, con incidencia sobre la cara plana, luego de verificar que eran las que introducían menos deformaciones en el haz transmitido. Se

utilizó una lente de distancia focal 80 mm para optimizar las distancias sobre el banco óptico. La lente fue colocada 10 mm después de la salida del láser, cuidando que las reflexiones del haz en sus caras y en las de la celda no entraran en la cavidad láser.

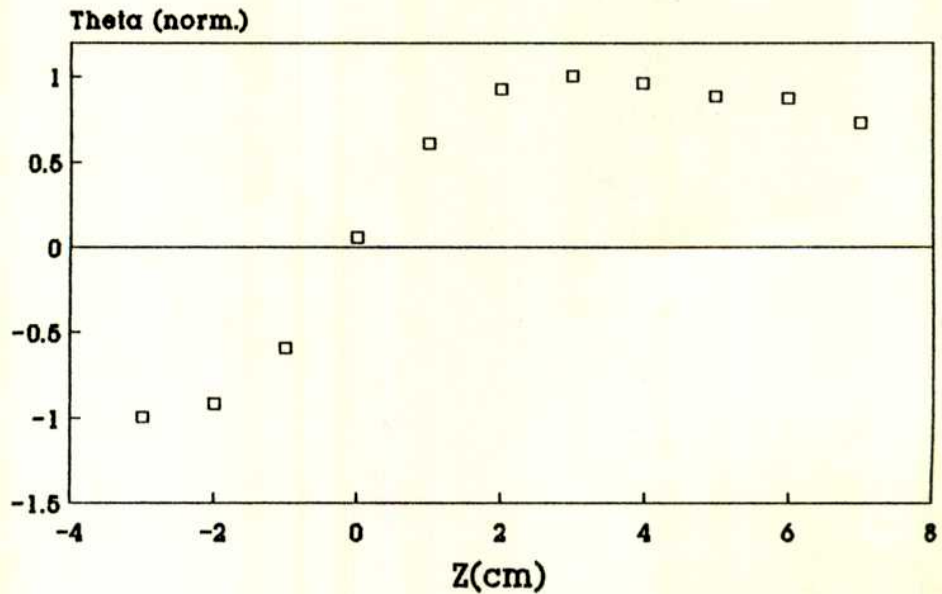
En el foco de la lente se colocó un obturador de cámara fotográfica (1/125), accionado manualmente. También se probaron otros tipos de obturadores, del tipo de los empleados en experiencias de irradiación estacionaria. La señal β es la misma en todos los casos, si la velocidad de obturación es suficientemente rápida con respecto a t_c (típicamente t_c entre 20 y 100 ms)

La celda con la muestra fue ubicada a la distancia de Rayleigh del foco de la lente. La posición exacta, en cada caso, fue hallada midiendo θ en función de z (fig 2.4). Para ubicar la celda sobre el banco óptico se construyó un soporte de acrílico, con tornillos que permiten también su ajuste y orientación. Se evitó la incidencia exactamente perpendicular del haz sobre las caras debido a que generaba figuras de interferencia. El ángulo de incidencia fue, sin embargo, siempre muy cercano a 90° .

El detector, junto con el orificio fue colocado en el extremo del banco óptico, aproximadamente a 1,5 m de la muestra. Como detector se empleó un fotodiodo (Silicon Corp. SD 444-2), que incluye un amplificador operacional. El fotodiodo junto con el circuito de polarización fue incluido en un gabinete metálico, y montado sobre el banco óptico. La alimentación, provista por dos baterías de 9 V, y las resistencias de realimentación ("metal-film"), se incorporaron en otro gabinete fuera del banco óptico. El circuito de amplificación utilizado se muestra en la figura 2.5.

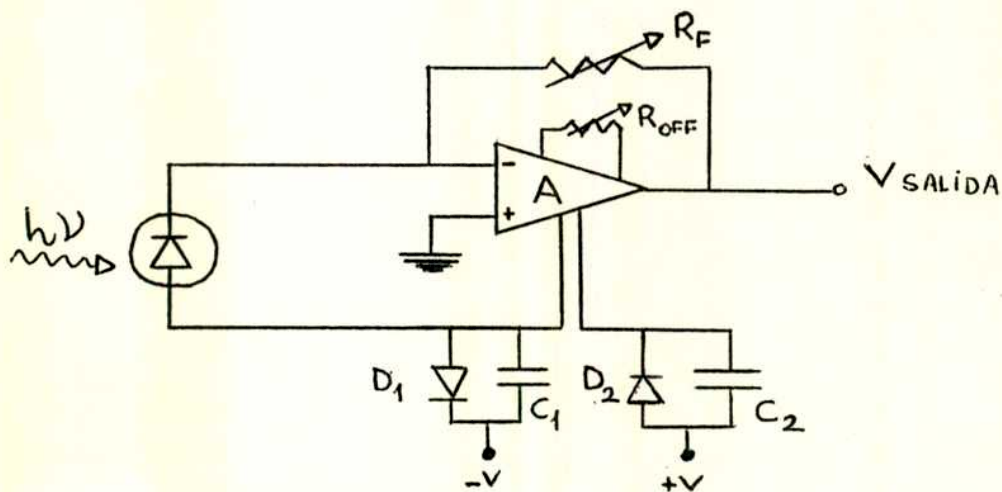
La diferencia $V_0 - V(\infty)$ fue medida directamente del osciloscopio digital (o en algunos casos empleando el registrador X-t). Los valores de $V(\infty)$ y V_{osc} se midieron con un voltímetro digital conectado a la salida del amplificador. Para cada solución el valor definitivo de θ es un promedio sobre aproximadamente diez repeticiones.

Figura 2.4
LTE: Theta vs. Z



Violeta de Cresilo en MeOH
A(633 nm) = 0.085

Figura 2.5
Circuito implementado de polarización y salida de fotovoltaje.



R_F = resistencia de realimentación (variable).

C_1, C_2 : capacitores de protección (1 pF)

D_1, D_2 : diodos de protección

$R_{off.}$ = resistencia de control de offset

A : amplificador diferencial

$\pm V$: polarización (9 V)

2.3.2 Controles

Se realizaron variadas pruebas con distintos solventes y soluciones. La señal de LTE fue observada en soluciones de ditizona, violeta de cresilo, rodamina 101, cloruro y sulfato de cobre. Se emplearon distintos solventes: etanol, metanol, cloroformo, benceno y agua. Para los solventes puros se verificó $\theta = 0$, dado que no absorben a la longitud de onda del láser. En general, bajo similares condiciones experimentales, las señales en benceno resultaron ser las más intensas, y en medio acuoso las más débiles. Esto se corresponde con el hecho de que el parámetro $\kappa (= dn/dT/\lambda_L K)$ disminuye con la polaridad del solvente (23).

La distancia de Rayleigh resultó independiente del compuesto y del solvente, y dependiente de los elementos ópticos usados. Empleando la lente plano convexa descrita, z_R resultó levemente dependiente de la alineación general del sistema, obteniéndose un valor promedio $z_R = 30$ mm con el cual se calcularon (eq. 2.11) ω_0 y ω : $\omega_0 = 0.08$ mm, $\omega = 0.12$ mm.

El funcionamiento correcto del equipo fue verificado midiendo el rendimiento cuántico de fluorescencia de violeta de cresilo en metanol, utilizando sulfato de cobre como referencia calorimétrica. Las absorbancias fueron medidas con un espectrofotómetro Varian, modelo Cary 2300, para cada solución y se emplearon compuestos y solvente de calidad analítica. Para muestra y referencia se obtuvieron relaciones lineales de θ vs. γ , en el rango de absorbancias menores que 0.15 a 632.8 nm. Para absorbancias mayores se observaron desviaciones de la linealidad. Se obtuvo $\phi_f = 0.57 \pm 0.05$ para violeta de cresilo (ClO_4^-) en metanol a temperatura ambiente. El valor obtenido coincide, dentro del error, con el informado por Magde y Brannon (0.54 ± 0.04) (2).

2.4 Fluorescencia estacionaria

Se realizaron mediciones de fluorescencia estacionaria en el estudio de las propiedades fotofísicas de ftalocianina carboxilada de cinc y de las cianinas. En ambos casos se empleó un espectrofluorómetro Perkin Elmer LS5

que utiliza una lámpara pulsada de xenón (8 watts) y posee un contador de Rodamina 101 en etilenglicol para corregir fluctuaciones de intensidad de la lámpara en el intervalo espectral 220-620 nm. Se empleó siempre una misma celda de fluorescencia (cuarzo, camino óptico para la absorción: 10 mm, para la emisión: 4 mm), termostatizable por circulación de agua desde un termostato-criostato Lauda RC6. En las medidas realizadas a bajas temperaturas se saturó el compartimiento con nitrógeno en forma continua para impedir que las paredes de la celda se empañaran. La temperatura se midió dentro de la celda con una resistencia de platino calibrada a ± 0.1 °C. En todas las mediciones se utilizó el mismo ancho de ranura para los monocromadores de excitación y emisión (ancho de banda espectral: 2.5 nm)

Los espectros de emisión fueron corregidos, multiplicando para cada longitud de onda los valores de intensidad de fluorescencia medidos, $I_L(\lambda)$, por una función de corrección, $K(\lambda)$, (24). Esta función corrige la lectura obtenida por efectos debidos a la respuesta espectral del fotomultiplicador de emisión y de transmisión de los elementos ópticos, ancho de banda del sistema, etc. La corrección es en número de fotones.

Los rendimientos cuánticos de fluorescencia a 25 °C se obtuvieron relativos a Rodamina 101 en EtOH 95% ($\phi_f = 1$, (25)), mediante la relación:

$$\frac{\phi_f^s}{\phi_f^r} = (n_s/n_r)^2 (a_s/a_r) (1 - 10^{-A_r}) / (1 - 10^{-A_s}) \quad (2.23)$$

donde los subíndices s y r se refieren a la muestra a determinar y a la referencia respectivamente.

n = índice de refracción del solvente a 25 °C y a la longitud de onda de de emisión.

A = absorbancia de la solución a la longitud de onda de excitación (medida espectrofotométricamente).

\underline{a} = área total bajo el espectro de emisión corregido:

$$\underline{a} = (1/f) \int I_L(\lambda) K(\lambda) d\lambda \quad (2.24)$$

En esta expresión λ es la longitud de onda de emisión, f es el factor de amplificación del espectrofluorómetro, I_L es la lectura directa que da el equipo, y K es la función que corrige el espectro de emisión cuando se lo expresa o representa en función de la longitud de onda de emisión. $I_L(\lambda)$ es directamente proporcional al factor de ganancia, f , y es mayor cuanto mayor es la emisión de la solución a esa longitud de onda, y por lo tanto aumenta con la absorbancia de la solución a la longitud de onda de excitación. Los valores de a fueron calculados, conociendo $K(\lambda)$, por el método de integración de Simpson.

Con el fin de verificar el funcionamiento del equipo y las hipótesis empleadas se midieron rendimientos cuánticos de fluorescencia para varios compuestos cuyos valores han sido informados anteriormente en la bibliografía (ver capítulo 5, sección 5.3.6.). En todos los casos se obtuvo concordancia con los valores informados.

En todas las determinaciones de rendimientos cuánticos de fluorescencia se emplearon soluciones de absorbancia máxima menor que 0.05.

2.5 Fotólisis flash

En el estudio de las cianinas se empleó el equipo de fotólisis flash convencional (Xenon Co., modelo 720C) que posee el INIFTA (26). El equipo posee dos lámparas colineales de xenón con emisión entre 250 y 600 nm (emisión máxima a 450 nm), y la detección es por espectrofotometría de absorción. El haz de análisis proviene de una lámpara de tungsteno de 250 W, el cual atraviesa la muestra colocada en una celda de vidrio de 12 cm de camino óptico provista de una camisa para termostatación. El monocromador (Bausch y Lomb, alta intensidad) se acopla directamente con un fotomultiplicador y la señal se observa en un osciloscopio digital (Leader LBO-5825) conectado a un registrador X-Y (Houston Instruments).

Las muestras fueron termostatazadas por circulación de agua desde un termostato-criostato, y la temperatura se midió con una resistencia de

platino calibrada a ± 0.1 °C. La energía de la excitación (E_{flash}) se varió controlando el voltaje (V) aplicado sobre los capacitores de descarga ($C=5\mu\text{F}$), entre 1 y 5 kV, siendo E_{flash} proporcional a $(1/2)CV^2$. Se verificó que la distribución espectral no cambia por los cambios mencionados de energía.

FTALOCIANINA
CARBOXILADA DE CINC

CAPITULO 3: Ftalocianina carboxilada de cinc.

3.1 Introducción

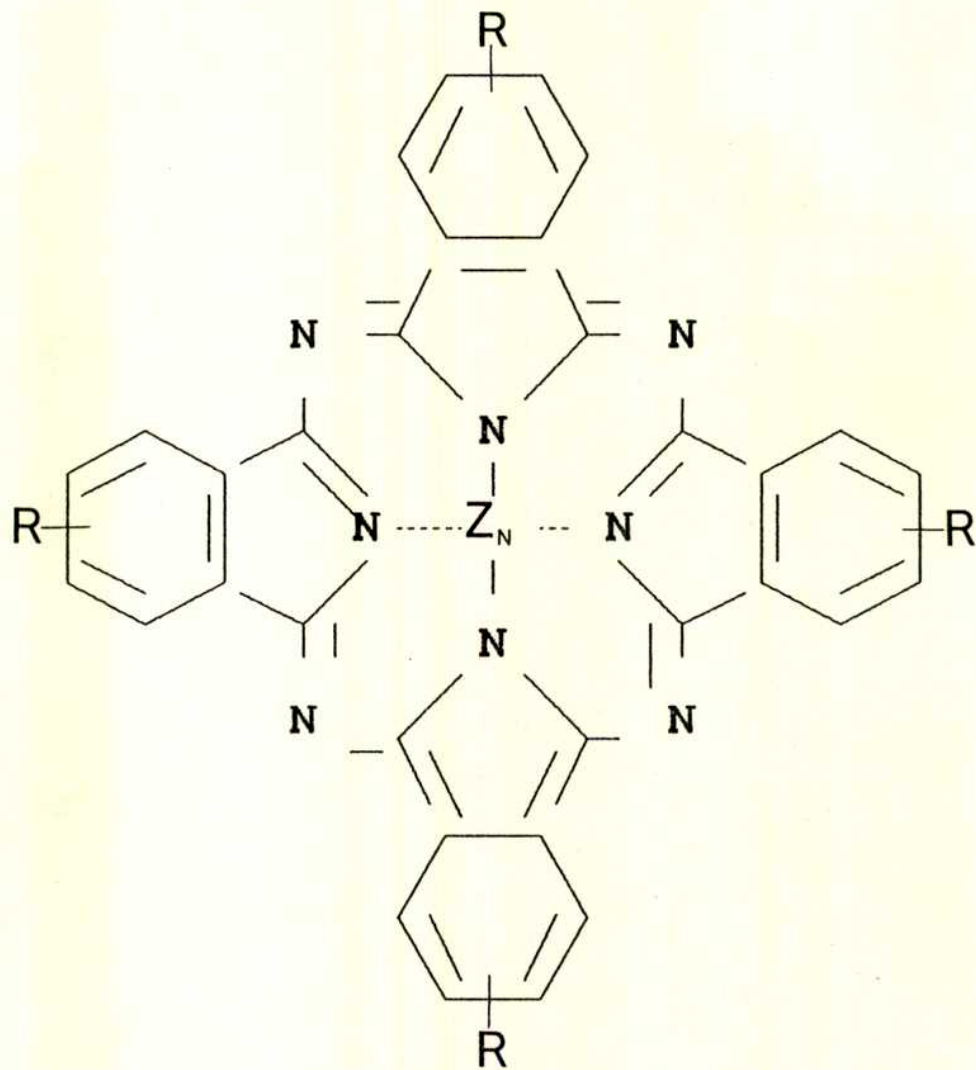
El efecto de la agregación sobre las propiedades fotofísicas es particularmente importante para poder evaluar el empleo de las ftalocianinas en procesos de interés biológico, ya sea como sondas de propiedades de biomembranas o como sensibilizadores en procesos de transferencia de energía o carga. Este estudio es importante si se considera la gran tendencia de las ftalocianinas a formar agregados aún en soluciones muy diluídas ($< 10^{-6}$ M) (27), y que dichos efectos sobre la fluorescencia y la energía de los estados excitados no han sido cuantificados. Debido a su afinidad por el colorante, las biomembranas ejercen un efecto concentrador del mismo.

En este trabajo se estudia el efecto de la dimerización sobre la fluorescencia de la diamida de ftalocianina tetracarboxilada de cinc (ZnTCPC, fig. 3.1) en dimetilformamida (DMF) y en mezclas de DMF con agua. Se eligió DMF debido a la solubilidad de las ftalocianinas carboxiladas en este solvente, aunque debemos señalar que sus propiedades en DMF y en dimetilsulfóxido son muy similares. También se obtuvieron algunos resultados en piridina, un típico solvente aductor (complejante). El empleo de mezclas con agua se debe a la conocida tendencia a la agregación que la mayoría de los colorantes presentan en medio acuoso.

En los estudios que aquí se informan se han utilizado resultados obtenidos por la Lic. Anita Zalts del grupo de fotoquímica del Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA), (28), relacionados con la dimerización de ZnTCPC en DMF y en sus mezclas con agua, los cuales se resumen a continuación:

El espectro de absorción de ZnTCPC en diversas mezclas H_2O/DMF , a una concentración fija de ZnTCPC se observa en la figura 3.2. Con el aumento

Figura 3.1
ZnTCPC



R = -COOH , -CONH₂

del porcentaje de agua se destaca la fuerte disminución del pico a 685 nm y la aparición de una nueva banda alrededor de 640 nm (los porcentajes son v/v).

Por otra parte, a una composición de solvente fija, el espectro de absorción cambia con la concentración de ZnTCPc. En la figura 3.3 se observa esta dependencia para el caso de una mezcla con 30% de H₂O, destacándose la presencia de dos puntos isobésticos en 665 y 710 nm y una región isobéctica alrededor de 615 nm. Estas características se mantienen dentro del rango de concentración 10⁻⁷ - 10⁻⁵ M, mientras que a concentraciones mayores los puntos isobésticos tienden a desaparecer (ver el espectro a 4.4 10⁻⁵ M en la figura 3.3) debido probablemente a la formación de agregados superiores.

Estos cambios espectrales fueron interpretados (28) suponiendo un equilibrio de dimerización para concentraciones inferiores a 10⁻⁵ M, con una constante de dimerización K_d:

$$K_d = [D]/[M]^2 \quad (3.1)$$

y que la absorbancia por unidad de camino óptico, A, de las soluciones en ese intervalo está dada por:

$$A = \epsilon_M[M] + \epsilon_D[D] \quad (3.2)$$

donde ϵ_M y ϵ_D son los coeficientes de absorción molar de monómero y dímero respectivamente (a la longitud de onda particular elegida para las observaciones); M y D son las concentraciones molares de ambas especies, debiéndose considerar también el balance de masa:

$$C_o = [M] + 2[D] \quad (3.3)$$

donde C_o es la concentración analítica de ZnTCPc.

Figura 3.2
ZnTCPC: Espectro de absorción
C = 24 μM

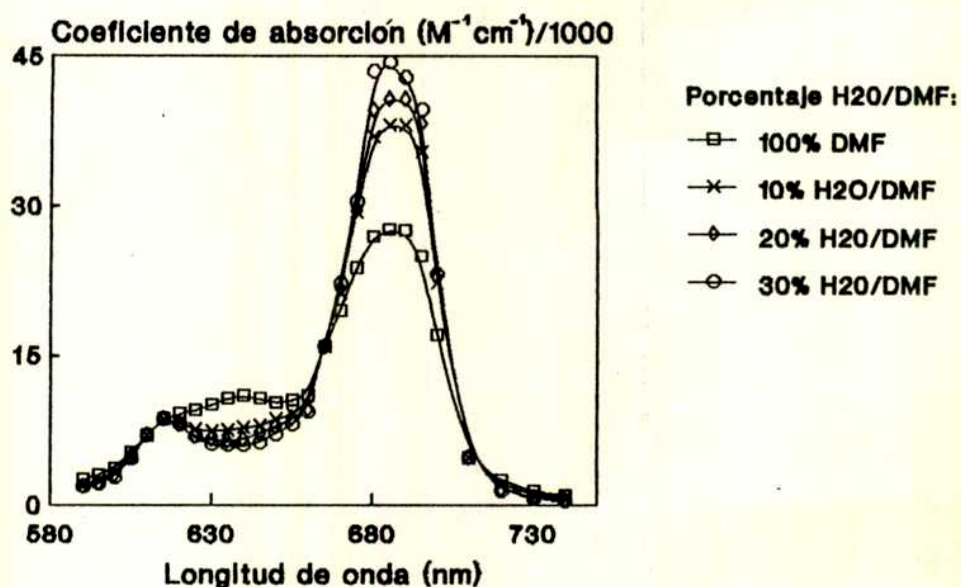
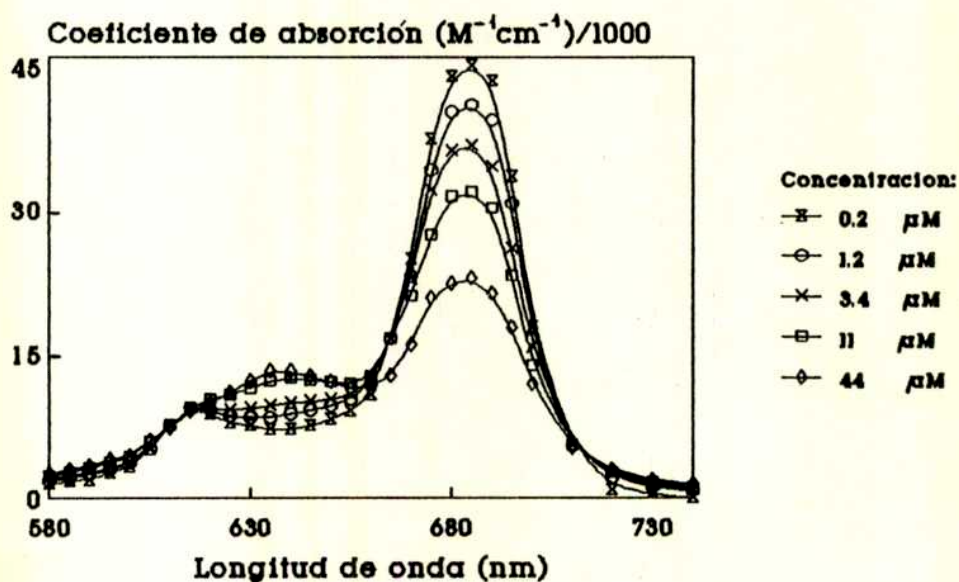


Figura 3.3
ZnTCPC: Espectro de absorción
en la mezcla 30% H₂O/DMF



Los estudios basados en la espectroscopía de absorción sobre la banda Q (600-800 nm) de ZnTCPc (28), revelan que el intervalo de concentración analítica donde tiene validez la ley de Lambert-Beer se extiende hasta 10^{-5} M en DMF pura, mientras que en la mezcla con 20% de agua los dímeros están presentes aún en soluciones de concentración $2 \cdot 10^{-6}$ M, y en 30% H_2O/DMF existen en todo el intervalo de concentraciones.

El espectro del monómero no cambia con el agregado de agua hasta las mezclas de 20%, y es el mismo que en piridina, siendo $\epsilon_M = 4.45 \times 10^4$ $M^{-1} cm^{-1}$ a 685 nm (máximo de absorción del monómero). El espectro de absorción del monómero no pudo ser medido directamente en la mezcla con 30% de H_2O , y se supuso igual que en los demás solventes.

Estos estudios han permitido obtener los valores de K_D en varias mezclas H_2O/DMF , y también los valores de ϵ_D en la banda Q para dichas mezclas (Tabla 3.1).

TABLA 3.1 Constantes de dimerización a 25 °C, y coeficientes de absorción del dímero a 685 nm y 633 nm, en mezclas H_2O/DMF .

% H_2O (v/v)	K_D/M^{-1}	$\epsilon_D/M^{-1} cm^{-1}$ (685 nm)	$\epsilon_D/M^{-1} cm^{-1}$ (633 nm)
0	1.4 10^3	4.0×10^4	8.0×10^3
10	5.7 10^3	4.0×10^4	14.2×10^3
20	11.0 10^3	4.0×10^4	23.0×10^3
30	190 10^3	4.0×10^4	26.7×10^3

3.2. Materiales y métodos

-Ftalocianina de cinc

Fue sintetizada, purificada y caracterizada en nuestro grupo de investigación (28), siguiendo el método original de Weber y Busch (29),

aunque con modificaciones similares a las utilizadas para obtener ftalocianina tetracarboxilada de cobre (6). El compuesto obtenido fue identificado como la diamida de la ftalocianina tetracarboxilada de cinc (7, 28).

-Solventes y compuestos

En todos los casos se emplearon solventes de grado analítico: Metanol (Merck), Dimetilformamida y Piridina (Mallinkrodt). Se destiló Dimetilformamida (DMF) a presión reducida en un evaporador rotatorio. El agua fue destilada y luego purificada por un sistema de filtros Millipore Super-Q. Cloruro de cobre (II) (Mallinkrodt, grado analítico) y violeta de cresilo (ClO_4^-) (Exciton, calidad láser) se utilizaron tal como fueron provistos sin purificaciones adicionales.

-Soluciones

Se utilizaron soluciones frescas, y se midieron sus absorbancias inmediatamente después de la preparación. Salvo en los casos en que se especifica, las mediciones fueron realizadas con soluciones aireadas. El porcentaje de H_2O en DMF se considera siempre en volumen.

-Absorción

Los espectros de absorción fueron registrados en un espectrofotómetro Carl Zeiss DMR 11 (ancho de banda 1 nm). Las mediciones de absorbancia para las experiencias de lente térmica se midieron en un espectrofotómetro Cary 2300, todas en idénticas condiciones (1 nm de ancho de banda).

-Lente térmica

El dispositivo es el descrito en el capítulo 1, empleando una lente plano-convexa de 8 cm de distancia focal. Como referencia calorimétrica se utilizó en todos los casos CuCl_2 . Se emplearon celdas de cuarzo de 10 mm. de camino óptico, provistas con una camisa externa para circulación de agua para termostatación. Las soluciones fueron termostatazadas a 25 ± 1 °C empleando un criostato-termostato Lauda RC6.

-Fluorescencia

Los espectros de fluorescencia se obtuvieron en un espectrofluorómetro Perkin Elmer LS5, descrito en la sección 2.4. Se empleó una celda de fluorescencia de 1 cm de camino óptico para la absorción y 0.4 cm para la emisión, con el fin de disminuir posibles efectos debidos a la autoabsorción. Las medidas se realizaron a temperatura ambiente (25 ± 3)°C, con soluciones aireadas.

3.3 RESULTADOS Y DISCUSION

3.3.1 Fluorescencia

Se registraron espectros de fluorescencia de ZnTCPC en piridina, DMF y mezclas H₂O/DMF, dentro del rango de concentración 10^{-7} - 5×10^{-6} M. La banda de fluorescencia se extiende entre 650 y 800 nm. La distribución espectral fue independiente de la longitud de onda de excitación (dentro de la banda Q), de la concentración analítica, y del solvente. Al saturarse las soluciones con O₂ se observó una disminución de solamente un 5% (dentro del error experimental) en la intensidad de la fluorescencia (fig.3.4).

El rendimiento cuántico de fluorescencia, ϕ_f , se define por la igualdad (3.4):

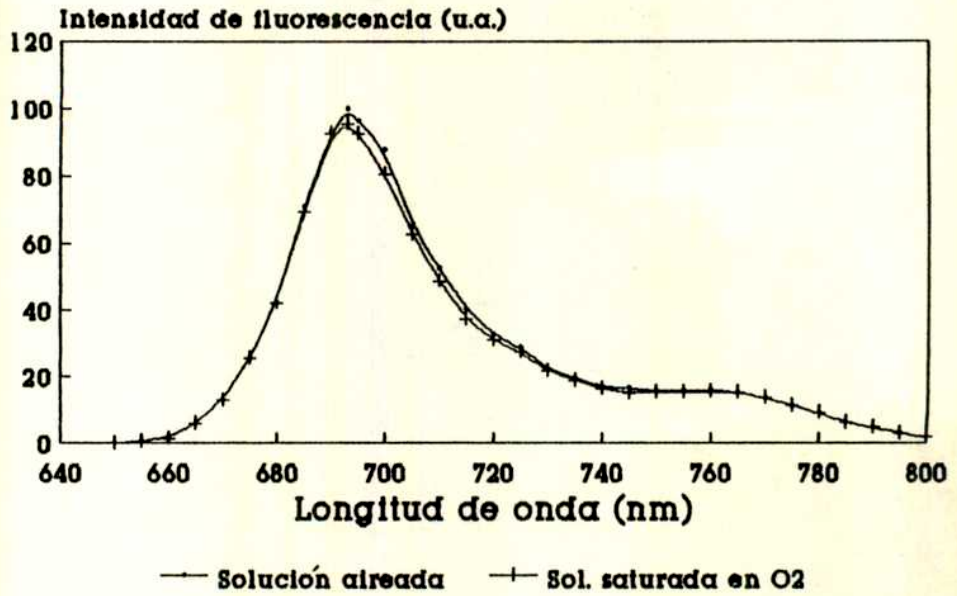
$$\phi_f = N_f h\nu_{exc} / (P_o \gamma) \quad (3.4)$$

donde N_f es el número de fotones emitidos por segundo, ν_{exc} es la frecuencia de la radiación de excitación, P_o es la potencia de la radiación incidente, y $\gamma = 1 - 10^{-A}$ es la fracción de radiación absorbida por la muestra.

Debido a que la distribución espectral es siempre la misma, N_f es proporcional a la intensidad de fluorescencia en el máximo de emisión, I_f (en unidades arbitrarias):

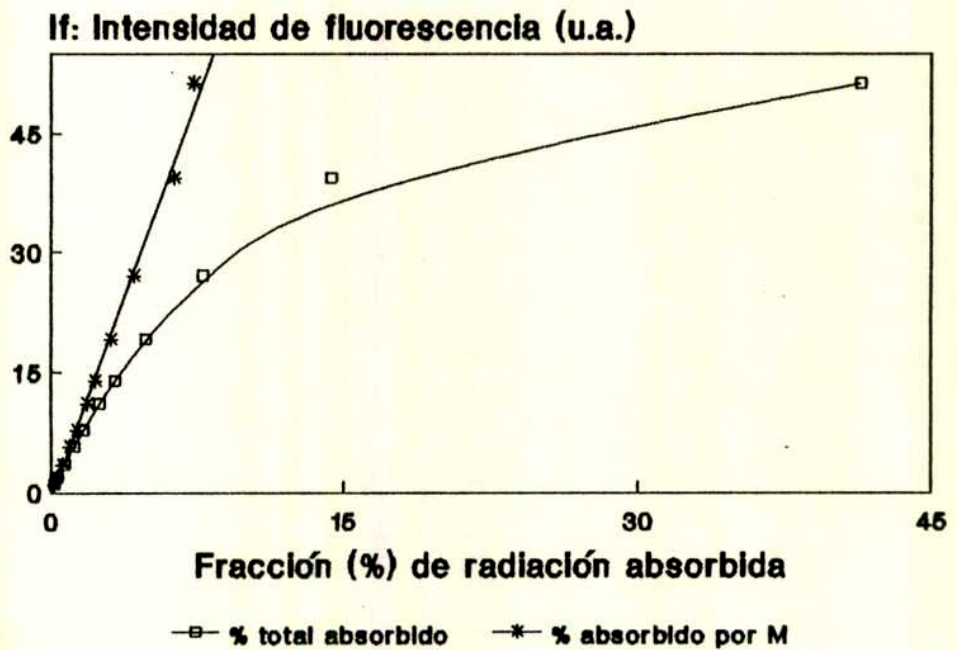
$$I_f = k \phi_f \gamma \quad (3.5)$$

Figura 3.4
ZnTCPC: Espectro de emisión corregido



Exc.: 615 nm. C=1.0 μ M

Figura 3.5



Exc.: 615 nm

donde k es un factor de proporcionalidad dependiente solo de ν_{exc} , P_0 y de factores instrumentales.

Para ϕ_f constante se espera obtener una relación lineal entre I_f y γ . Esta relación lineal fue verificada en el intervalo de valores de γ usados para las soluciones de ZnTCPc, para el caso de perclorato de violeta de cresilo en etanol, el cual tiene también una banda de emisión angosta en el rojo, pero no forma agregados en dicho solvente.

Los valores de I_f fueron medidos para soluciones de ZnTCPc en las mezclas H_2O/DMF , para iguales valores de γ . Para el caso de 0 y 10% no se observaron diferencias, pero para porcentajes mayores de H_2O , I_f decrece. El efecto fue más pronunciado para el caso de 30% de H_2O , para el cual se encontró una relación no lineal entre I_f y γ (fig.3.5). Estos hechos pueden interpretarse sobre la base de la dependencia de K_d con el contenido de agua y de un diferente comportamiento fluorescente de monómero y dímero.

Para soluciones en 30% H_2O/DMF , se verifica una relación lineal cuando se utiliza la fracción de luz absorbida solamente por el monómero, γ_M , dada por la ecuación (3.6), en lugar de γ (fig. 3.5):

$$\gamma_M = \gamma \epsilon_M [M] / (\epsilon_M [M] + \epsilon_D [D]) \quad (3.7)$$

Esto indica que solamente la especie monómero de ZnTCPc decae radiativamente, mientras que los dímeros se desactivan exclusivamente mediante procesos no radiativos.

3.3.2 Mediciones de Lente Térmica

El dispositivo de lente térmica fue utilizado para medir valores absolutos de ϕ_f . Los valores de γ fueron medidos espectrofotométricamente para cada solución a 632.8 nm.

Como se indicó en el capítulo 2, si ϕ_f es constante (independiente de la concentración) se espera una relación lineal entre θ y γ . Se consideran

dos casos: ZnTCPc en (a) piridina, DMF, y 10% H₂O/DMF; (b) mezclas de DMF con 20 y 30% de H₂O.

a) Soluciones de ZnTCPc en piridina, DMF, y mezclas de 10% H₂O/DMF.

El intervalo de concentraciones considerado para ZnTCPc fue 10⁻⁶-10⁻⁵ M. De esta forma la fracción de luz absorbida por el dímero a la longitud de onda de excitación ($\lambda_1 = 632.8$ nm) fue siempre menor que el 9% de γ . En este caso los efectos de la dimerización sobre ϕ_f son despreciables y su valor es constante e igual al rendimiento cuántico de fluorescencia del monómero, ϕ_{fM} . Los experimentos de lente térmica concuerdan con dicha observación, obteniéndose gráficos lineales para θ vs. γ (fig. 3.6)

Para los tres solventes se obtuvieron valores de ϕ_{fM} coincidentes dentro del error, determinados a partir de las pendientes de cuadrados mínimos de los gráficos θ vs. γ : $\phi_{fM} = 0.32 \pm 0.04$ (DMF), $\phi_{fM} = 0.31 \pm 0.04$ (10% H₂O/DMF) $\phi_{fM} = 0.33 \pm 0.04$ (piridina). Estos valores coinciden también con los informados para otras ftalocianinas de cinc en soluciones diluidas; p.ej.: 0.3 y 0.32 para ZnPc y ZnPcTS respectivamente (30), y 0.5 para ZnPc en etanol (31).

La invariancia de ϕ_{fM} y de los espectros de absorción y de emisión con el solvente y con el contenido de agua hasta las mezclas con 10% en soluciones diluidas, indican que las características fotofísicas del monómero son independientes del solvente.

b) Soluciones de ZnTCPc en las mezclas de 20 y 30% H₂O/DMF.

El intervalo de concentraciones para ZnTCPc fue 10⁻⁶-10⁻⁵M y 5x10⁻⁷-5x10⁻⁶M para 20 y 30% respectivamente. Las fracciones porcentuales de intensidad de luz absorbida por los dímeros a λ_1 fueron mayores que el 6 y 20% respectivamente, calculadas usando los valores de K_d y ϵ_D de la tabla 3.1.

En la figura 3.7 se muestra el gráfico de θ vs. γ para soluciones de

Figura 3.6
ZnTCPc: LTE en 100% DMF

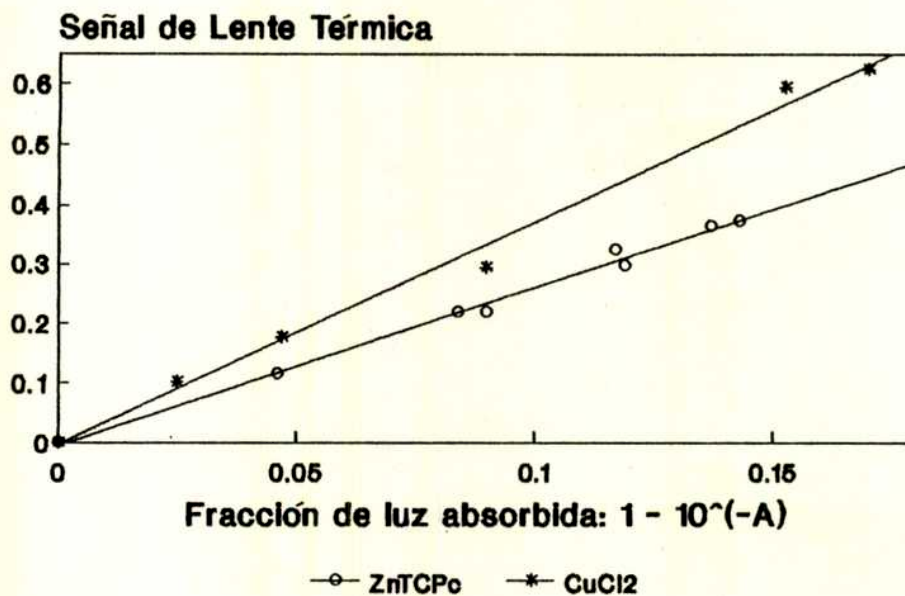
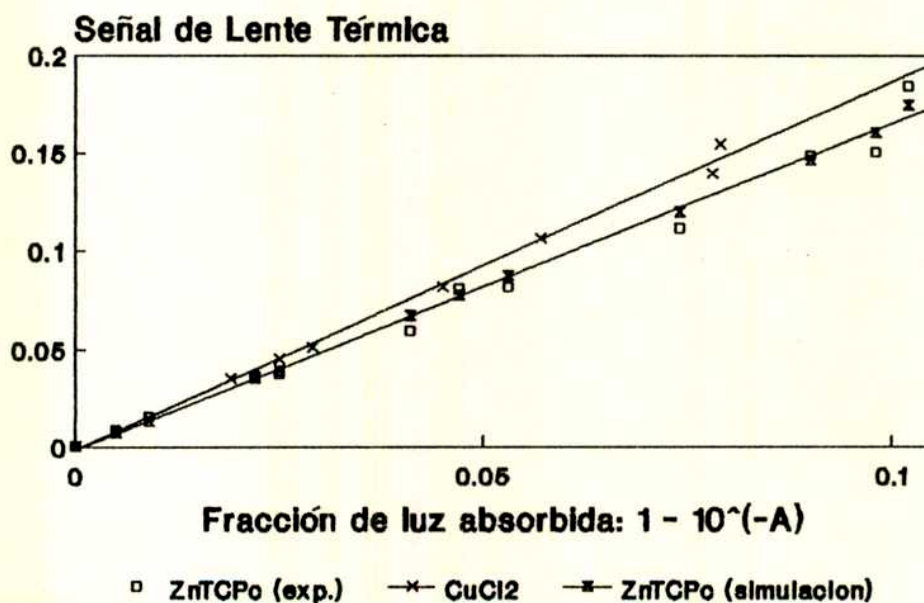


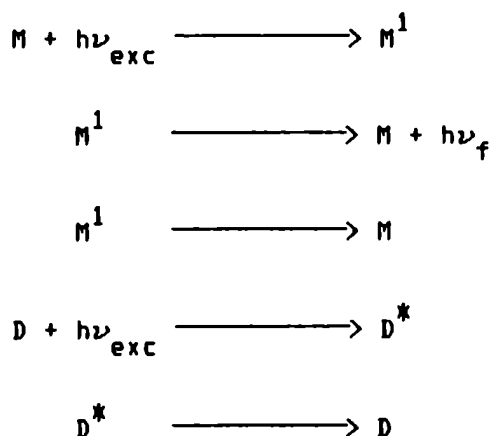
Figura 3.7
ZnTCPc: LTE en 30% H2O/DMF



CuCl₂ y ZnTCPC para el caso de la mezcla 30% H₂O/DMF, obteniéndose un gráfico similar para la mezcla con 20% de H₂O.

Si bien estos gráficos parecen ser lineales, se obtienen valores inferiores para ϕ_f si se aplica el método habitual de las pendientes (eq.2.22): $\phi_f = 0.23 \pm 0.04$ y $\phi_f = 0.18 \pm 0.04$ para los casos de 20 y 30 % respectivamente. Considerando que la proporción monómero/dímero no es constante sobre el rango de concentración analizado, que los dímeros no fluorescen, y que absorben una fracción apreciable de la radiación total absorbida, estos rendimientos de fluorescencia deben considerarse sólo como valores medios sobre dicho rango de concentración.

El planteo correcto en este caso debe realizarse teniendo en cuenta el esquema cinético general:



donde M representa al monómero en el estado fundamental, M^1 su primer estado singlete excitado, D al dímero y D^* su primer estado excitado. ν_f indica la frecuencia de fluorescencia, y se ha descartado el proceso de emisión fosforescente debido a que, a temperatura ambiente y en solución, las ftalocianinas poseen rendimientos cuánticos de fosforescencia menores que 10^{-2} (32).

El rendimiento cuántico de fluorescencia de la solución, ϕ_f , se define formalmente mediante la igualdad (3.4). De la misma forma ϕ_{fM} se define por una expresión análoga, pero con N_{fM} y γ_M en lugar de N_f y γ . Teniendo

en cuenta que los dímeros no fluorescen, es $N_{fM} = N_f$ y por lo tanto resulta:

$$\phi_f = \phi_{fM} \gamma_M / \gamma \quad (3.8)$$

Y recordando la ecuación (2.16):

$$\theta = \kappa (1 - \phi_f \lambda_1 / \lambda_f) \gamma P_0 \quad (3.9)$$

se obtiene, reemplazando (3.8) en (3.9):

$$\gamma - \theta / (\kappa P_0) = \phi_{fM} \gamma_M \lambda_1 / \lambda_f \quad (3.10)$$

De esta forma se calculó ϕ_{fM} a partir de las pendientes de cuadrados mínimos de los gráficos de $\gamma - \theta / (\kappa P_0)$ vs. $\gamma_M \lambda_1 / \lambda_f$ (eq.3.10), empleando la ecuación 3.7 junto con los datos de la tabla 3.1 para calcular los valores de γ_M . Los valores obtenidos fueron $\phi_{fM} = 0.28 \pm 0.04$ para la mezcla con 20% de H_2O y $\phi_{fM} = 0.4 \pm 0.1$ para 30% de H_2O . El valor $\phi_{fM} = 0.32 \pm 0.04$ obtenido en el caso (a) cae dentro del rango de los valores simulados de ϕ_{fM} en el caso (b). Este hecho, juntamente con la invariancia de los espectros de absorción y de emisión del monómero en las mezclas con mayor contenido de agua (idénticos a los espectros del monómero en las soluciones de piridina, DMF y 10% H_2O /DMF), refuerza el concepto de la independencia de las propiedades del estado excitado del monómero de ZnTCPc con el solvente. En la figura 3.7 fueron representados, para comparación, valores simulados de θ utilizando $\phi_{fM} = 0.32$, en el caso de 30 % de H_2O .

3.4 Conclusiones

Los estudios de fluorescencia estacionaria y de LTE confirman el comportamiento de las soluciones de ZnTCPc como el de un sistema de monómeros y dímeros en equilibrio, para concentraciones menores que $10^{-5} M$.

Las medidas de fluorescencia estacionaria muestran que la emisión proviene exclusivamente de la especie monómero. Los estudios de LTE indican que el rendimiento cuántico de fluorescencia del monómero es independiente de la naturaleza y composición del solvente, lo cual se corresponde con la observación de que también lo es su espectro de absorción.

El valor obtenido $\phi_{fM} = 0.32 \pm 0.04$ indica que moléculas de ZnTCPC podrían utilizarse como marcador fluorescente de tejidos, si se las pudiera vehiculizar adecuadamente. Estudios recientes efectuados con ZnTCPC en medio micelar indican que los monómeros, en dicho medio, son también muy eficientes en la generación de oxígeno singlete ($\phi \cong 0.7$, (6)). Por lo tanto la utilización de ZnTCPC en forma monomérica tendría la ventaja de trabajar con un sistema que actúe simultáneamente como marcador y como agente sensibilizador.

El método de LTE puede emplearse en el estudio de las propiedades luminiscentes de monómeros y dímeros en equilibrio, tal como se describió en el presente capítulo. Para ello el sistema debe cumplir determinadas condiciones y el análisis de los resultados debe a su vez realizarse con ciertas precauciones.

El primer requisito para la aplicación de LTE en este caso es el de poder determinar el rendimiento cuántico de fluorescencia del monómero, ϕ_{fM} . La medición de ϕ_{fM} debe realizarse en un solvente en donde la constante de dimerización, K_d , sea suficientemente baja con el fin de efectuar determinaciones sobre un intervalo de concentraciones extendido, sin que influya la presencia de dímeros. En el caso de ZnTCPC esta condición se cumple en solventes complejantes como piridina y dimetilformamida pura (100 % DMF). ϕ_{fM} debe satisfacer también el requisito dado en la ecuación (6.6) (capítulo 6).

Si se considera un medio en donde K_d es mayor (por ej. aumentando el porcentaje de H_2O), se observa que el rendimiento cuántico de fluorescencia efectivo de la solución disminuye con la concentración y ϕ_f

es en este caso función de la concentración total. Por lo tanto la señal de LTE, θ , no varía linealmente con la fracción de luz absorbida, γ . Sin embargo este apartamiento del comportamiento lineal puede no ser detectado experimentalmente (ver figura 3.7).

Para las menores concentraciones ($\gamma \leq 0.025$), θ toma los valores más bajos, y los puntos correspondientes a la muestra y a la referencia no son distinguibles. Para concentraciones intermedias (γ entre 0.03 y 0.08) dichos valores se pueden distinguir. El apartamiento de la linealidad en la curva θ vs. γ para la muestra no es detectable en ese intervalo, pero si se calcula ϕ_f con el procedimiento habitual (suponiendo una relación lineal) se obtiene un valor inferior a ϕ_{fM} . Los valores de θ para la muestra se aproximan a los de la referencia para valores de γ mayores que 0.08, aunque la curvatura sigue sin manifestarse pues el error absoluto de θ es mayor en este intervalo.

Por otra parte los parámetros termoelásticos de las mezclas con agua, incluidos en la constante κ (ec.2.16) se hacen cada vez más desfavorables para las determinaciones fototérmicas cuando aumenta el contenido de H_2O (3). Por ejemplo, manteniendo las mismas condiciones experimentales, κ es aproximadamente la mitad en las mezclas 30 % H_2O /DMF que en DMF puro. Por lo tanto cuando se hacen determinaciones en mezclas conteniendo agua, los efectos de la agregación son aún menos detectables debido a la pérdida de sensibilidad de los métodos fototérmicos. En estos casos puede ser necesario el uso de láseres de mayor potencia con el fin de aumentar la sensibilidad de la detección.

PORFICENOS

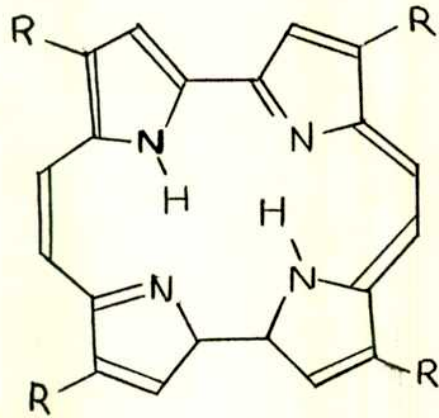
CAPITULO 4: Porfíricos

4.1. Introducción

El porfírico (PO) y sus derivados constituyen una familia de colorantes sintetizados por primera vez en 1986 por Vogel y colaboradores (8, 33) y son isómeros estructurales de las porfirinas (fig. 4.1). Sin embargo, en comparación con las porfirinas, la banda Q de absorción en el visible aparece muy desplazada hacia el rojo (fig.4.1). Esto favorece en principio su empleo como sensibilizadores de oxígeno singlete en la terapia fotodinámica de tumores, pues dicha zona de absorción coincide con la de mayor transmitancia de los tejidos biológicos. La aplicación de porfíricos en experimentos "in vivo" con ratas ha sido informada con resultados positivos (34).

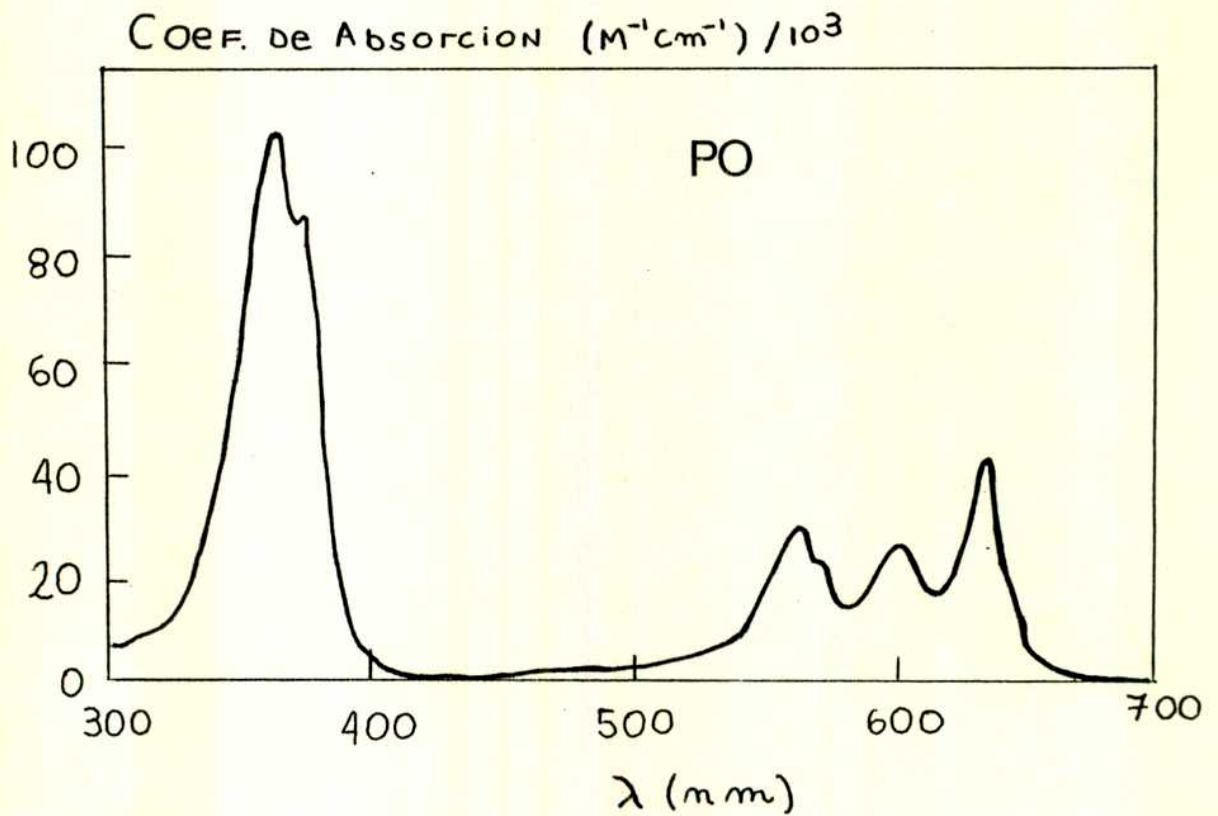
Algunas propiedades espectroscópicas y fotofísicas han sido informadas anteriormente (35). Sin embargo en dichos trabajos la determinación de parámetros del estado triplete, basada en el método de conversión completa por flash fotólisis (36), presentó inconvenientes originados en que el tiempo de vida de fluorescencia del compuesto (10 ns) es comparable a la duración del pulso láser de excitación (20 ns). Esto impide que luego de la excitación el sistema se encuentre completamente en el estado triplete, y por lo tanto el valor calculado para $\Delta\epsilon_T = \epsilon_T - \epsilon_S$ resultará una cota inferior al valor real. Si el valor calculado se emplea conjuntamente con el método comparativo de Bensasson (37) para obtener el rendimiento cuántico de cruce entre sistemas $-\phi_T-$ el valor obtenido es una cota superior. Por lo tanto se decidió desarrollar una metodología distinta para medir ϕ_T . Esta alternativa se basa en la combinación de métodos fototérmicos (optoacústica y LTE) con la medición de luminiscencia infrarroja. La optoacústica láser (38-40) se basa en la medición de las ondas acústicas que se generan en una muestra por acción de un pulso láser. La intensidad del primer máximo de la onda se determina con un detector piezoeléctrico colocado en un plano paralelo al haz de excitación. La señal se origina en el calor liberado hacia el medio. La amplitud de la señal puede correlacionarse con la fracción de calor "rápido" (α), o sea

FIGURA 4.1



PO: R = H

TP_r-PO: R = CH₂CH₂CH₃



proveniente de relajaciones no radiativas más rápidas que el tiempo de tránsito de la onda acústica a través del diámetro del haz ($\tau'_a = 2R/v_a$, R = radio del haz láser, v_a = velocidad del sonido en la muestra), del orden de 10^{-7} s. La conservación de la energía se puede expresar mediante una igualdad análoga a la ecuación 2.4:

$$1 = \alpha + \phi_f (\nu_f / \nu_L) + (E_T / h \nu_L) \phi_T \quad (4.1)$$

α es proporcional a la intensidad del primer máximo de la onda y a parámetros termoelásticos de la solución, pudiéndose conocer empleando una referencia calorimétrica (41).

Por otra parte, el desarrollo reciente de los detectores de germanio ha permitido la medición de espectros de fosforescencia en el infrarrojo cercano, aún para soluciones a temperatura ambiente, posibilitando la determinación de E_T , la energía del estado triplete (42,43). En este trabajo las medidas luminiscencia IR y de optoacústica fueron realizadas por integrantes del grupo de investigación que dirige la Dra. S.E. Braslavsky en el Instituto Max Planck de Química de Radiaciones, Mülheim, República Federal de Alemania.

El cálculo de ϕ_T mediante optoacústica, utilizando la ec. (4.1), es muy dependiente de ϕ_f para el caso de sistemas muy fluorescentes. Por lo tanto se empleó LTE con el fin de obtener una medida independiente de ϕ_f de PD y su derivado tetra-n-propilporfíceno (TPrPO). Estas experiencias fueron realizadas como parte integrante de este trabajo de tesis a fin de corroborar la exactitud de valores obtenidos precedentemente (35).

4.2 Materiales y métodos

Los porfícenos empleados fueron sintetizados y purificados en el laboratorio del Dr. E. Vogel (Universidad de Colonia, Colonia, R.F.A.). Como compuesto de referencia para LTE se usó meso-tetrafenilporfirina (H_2 TPP), sintetizada y purificada por la Dra. Josefina Awruch, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. El solvente empleado fue benceno, Merck, PA.

Las absorbancias se midieron en un espectrofotómetro Varian, modelo Cary 2300, y todas las medidas se realizaron a temperatura ambiente. El equipo de LTE empleado es el descrito en el capítulo 2. Todas las muestras fueron deaereadas por burbujeo de argón.

4.3 Resultados

En este caso se empleó H₂TPP como compuesto de referencia calorimétrica. H₂TPP posee las características necesarias para ser utilizado como tal: absorción a la longitud de onda del láser de helio-neón, estabilidad térmica y fotoquímica, no forma agregados en el intervalo de concentraciones de la experiencia, y se conocen con precisión sus parámetros fotofísicos en benceno. Por otra parte no es indispensable el uso de referencias no fluorescentes, como fue la práctica en las experiencias del capítulo 2. El balance de energía se puede realizar para muestra y referencia en forma análoga a la descrita en el capítulo 2. El valor de ϕ_f se calcula mediante la igualdad 4.2 (ver capítulo 6), suponiendo $\phi_p \ll \phi_f$ (lo cual se justifica por los resultados obtenidos):

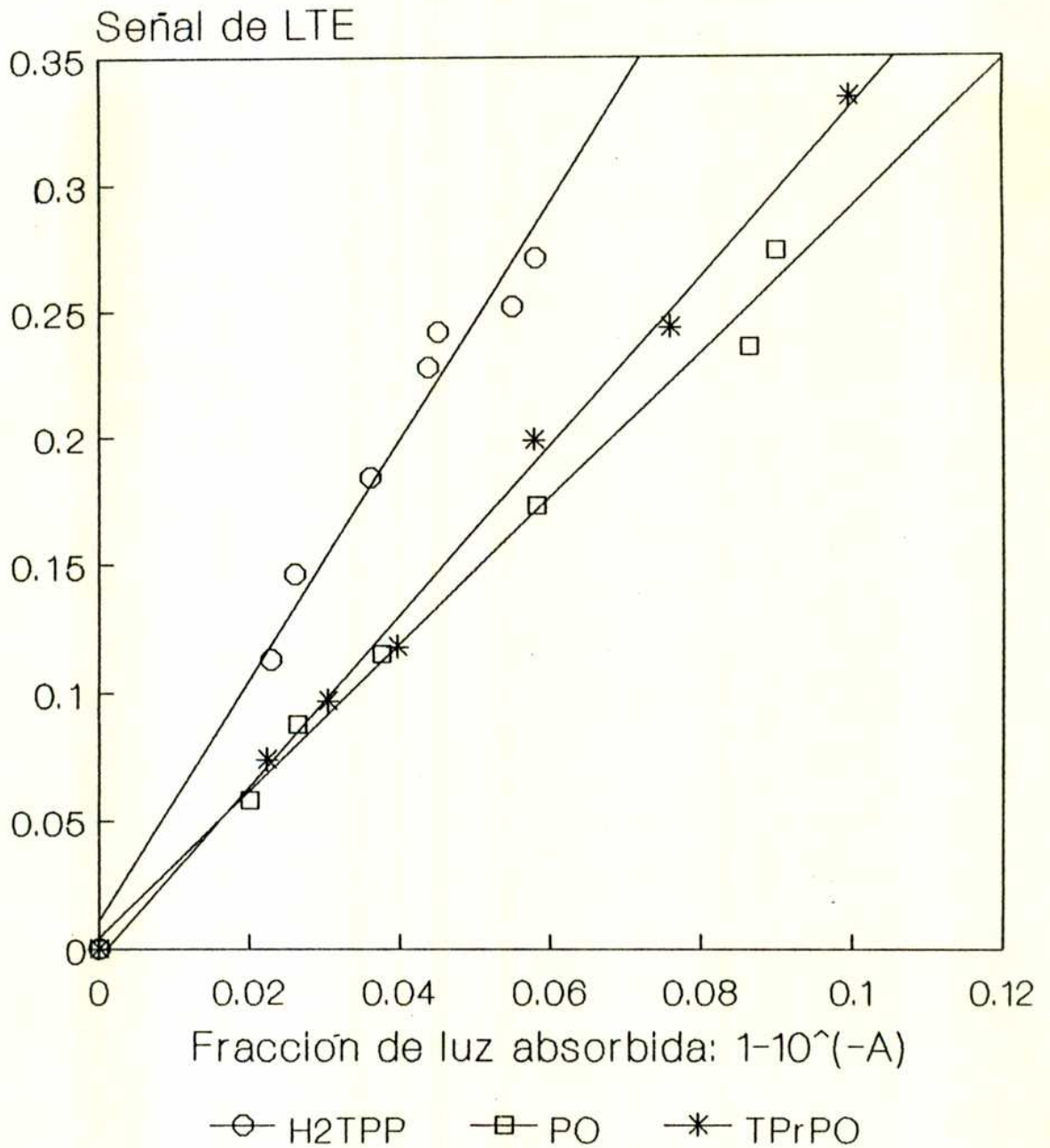
$$\phi_f^s = \langle \lambda_f^s \rangle / \lambda_L (1 - (1 - \phi_f^r \lambda_L / \langle \lambda_f^r \rangle) (m^s / m^r)) \quad (4.2)$$

donde los supraíndices s y r se refieren a la muestra (porficeños) y referencia (H₂TPP) respectivamente, $\lambda_L = 632.8$ nm, $\lambda_f = 567$ nm para H₂TPP y $\lambda_f = 650$ nm para PO y TPrPO; m indica la pendiente de los gráficos de θ vs. γ . El rendimiento cuántico de fluorescencia de H₂TPP en benceno ha sido informado (44): $\phi_f^r = 0.04$.

Los resultados se registran en la figura 4.2. Para $\theta > 0.4$ se observaron desviaciones del comportamiento lineal, por lo cual se restringieron las mediciones al rango de menores absorbancias. Las pendientes del gráfico 4.2 fueron calculadas por cuadrados mínimos, con las cuales se obtuvo $\phi_f = 0.44 \pm 0.06$ para PO, y $\phi_f = 0.38 \pm 0.06$ para TPrPO.

Los valores hallados confirman los obtenidos previamente (35) y fueron integrados a la estrategia de determinación de parámetros de estado triplete de PO y TPrPO (10) (ec.(4.1)).

Figura 4.2: PO y TPrPO
LTE



solvente: benceno

4.4 Cumulen-Porficenos

Los cumulen-porficenos (cumuleno : CU; tetrahidrocumulen-porficeno: TrHCU) son derivados más complejos de los porficenos (fig.4.3), cuyos espectros de absorción y estructura se observan en la figura 4.3. Estos compuestos fueron sintetizados por primera vez en el laboratorio del Dr.E.Vogel en el año 1990, por lo cual es de interés una primera evaluación de sus parámetros fotofísicos con el objetivo de compararlos con los de los porficenos y determinar relaciones entre las propiedades fotofísicas y la estructura molecular.

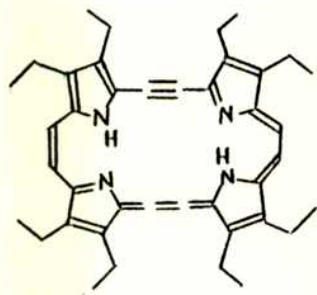
Los espectros de absorción de CU y TrHCU se encuentran más desplazados hacia el rojo que en el caso de los porficenos, y la emisión fluorescente ocurre ahora en una zona espectral en donde no es posible utilizar espectrofluorómetros comerciales corregidos para determinar valores de ϕ_f en la forma usual (1, 24). Sin embargo, debido a que los cumulen-porficenos absorben radiación de 633 nm (emisión del láser de He-Ne), es posible emplear el equipo de LTE desarrollado para medir sus rendimientos cuánticos de fluorescencia.

Las mediciones de LTE se realizaron con el equipo descrito en el capítulo 2, utilizando H₂TPP como referencia para ambos cumulen-porficenos. En todos los casos se empleó benceno como solvente (Merck, PA). En la figura 4.4 se representa θ vs. γ . De la forma usual se obtuvieron los siguientes valores: $\phi_f = 0.12 \pm 0.08$ para CU, y $\phi_f = 0.08 \pm 0.08$ para TrHCU.

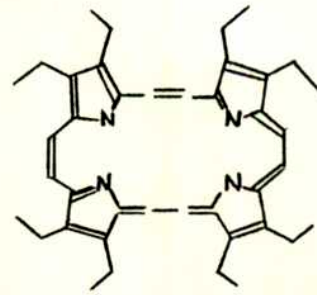
4.5 Conclusiones

Los valores de ϕ_f obtenidos para Po y TPrPO (0.44 y 0.38 resp.), junto con los datos provenientes de optoacústica y emisión IR, permiten calcular los rendimientos cuánticos de cruce entre sistemas, ϕ_T . El rendimiento cuántico de conversión interna, ϕ_{ci} , (relajación vibracional) se puede calcular entonces por diferencia: $\phi_{ci} = 1 - \phi_f - \phi_T$. Los valores obtenidos se presentan en la tabla 4.1:

FIGURA 4.3



CU



T-HCU

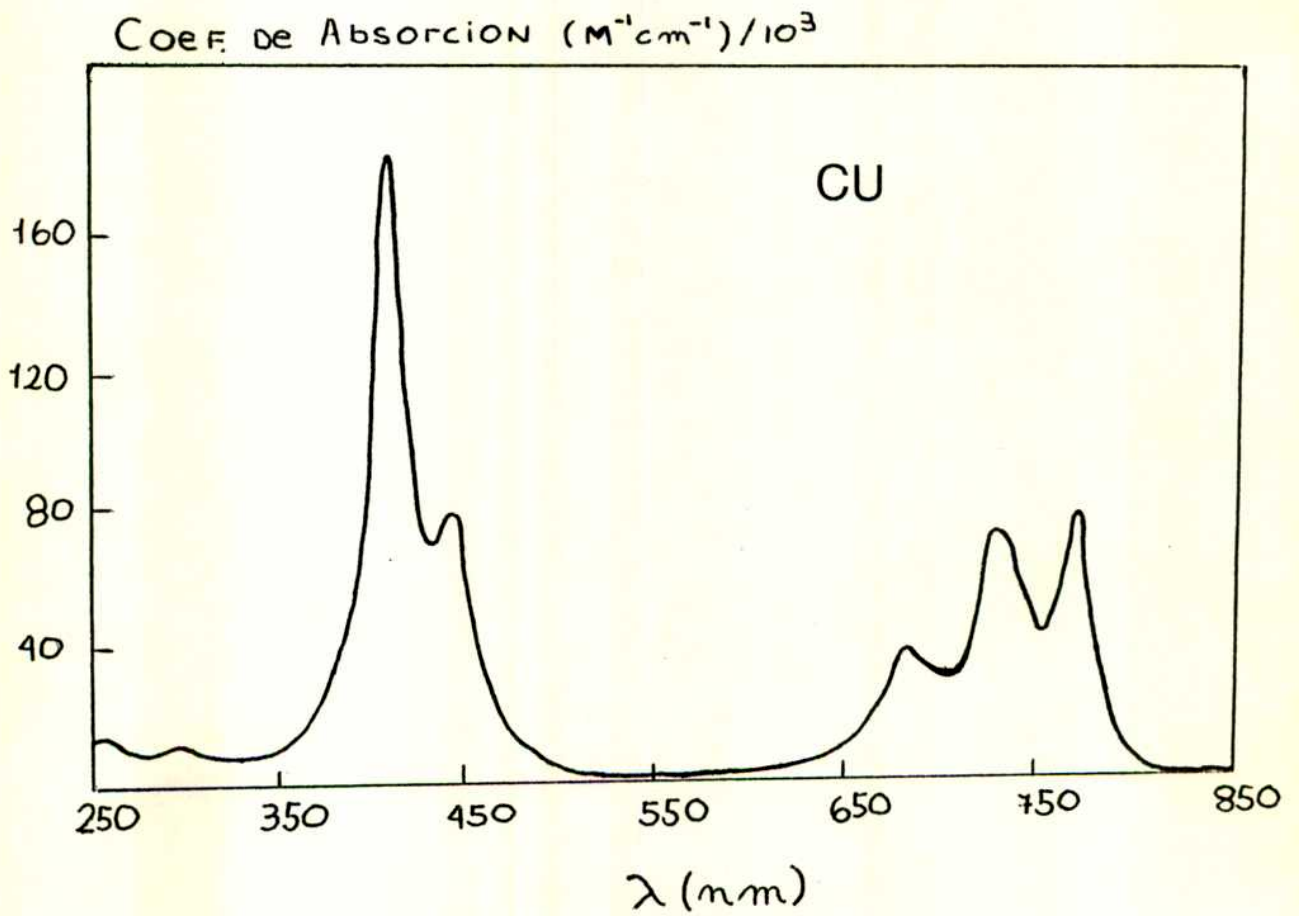


Figura 4.4
Cumulen-Porticenos

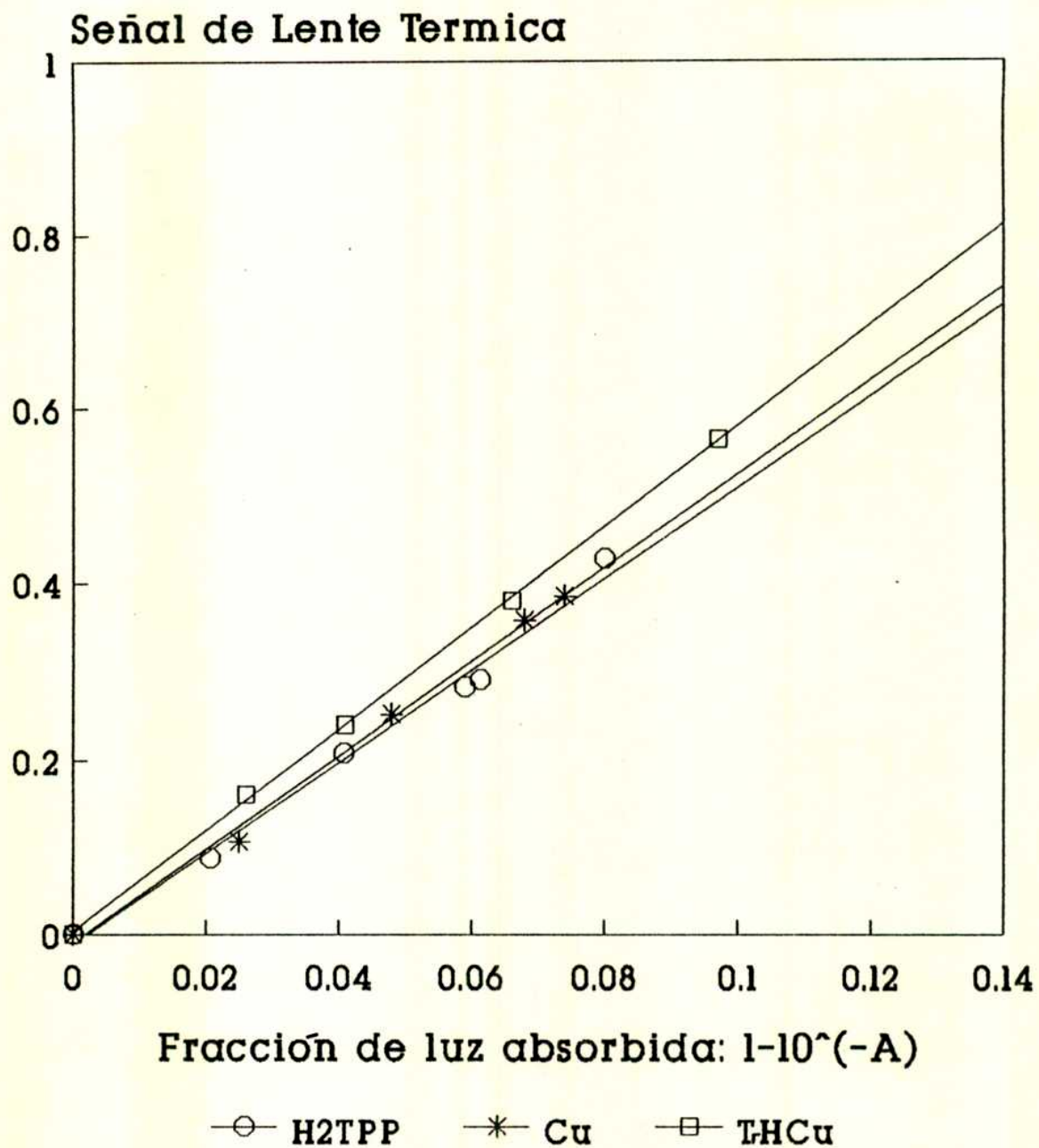


TABLA 4.1: Parámetros fotofísicos de PO y TPrPO en benceno.

	PO	TPrPO
ϕ_f	0.44 ± 0.06	0.38 ± 0.06
ϕ_T	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1
ϕ_{ci}	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.2
ϕ_{Δ}	0.34 ± 0.05	0.36 ± 0.03

En la tabla 4.1 aparece también el rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete, ϕ_{Δ} , medido en el laboratorio de la Dra. S.E.Braslavsky en Mülheim (10) (los valores de también son tomados de referencia (10)).

En comparación con las porfirinas los porfíricos presentan valores de ϕ_f más elevados: $\phi_f \simeq 0.4$, mientras que $\phi_f \leq 0.15$ para las porfirinas no metálicas en solventes aromáticos (30,44,45). Por otra parte, los valores de ϕ_T son comparativamente menores para los porfíricos, lo cual se puede atribuir al aumento en el rendimiento cuántico de fluorescencia, dado que los valores de ϕ_{ci} son similares a los reportados para las porfirinas (40). Aún con los relativamente altos valores de ϕ_f , los valores de ϕ_{Δ} de los porfíricos son suficientemente importantes como para considerar la aplicación de los mismos en terapia fotodinámica de tumores.

Definiendo $S_{\Delta} = \phi_{\Delta}/\phi_T$ se obtiene $S_{\Delta} = (1.1 \pm 0.1)$ para PO, y $S_{\Delta} = (1.0 \pm 0.1)$ para TPrPO, en coincidencia con los valores informados para tripletes aromáticos $\Pi-\Pi^*$ de bajas energías (46). La formación de $O_2(^1\Delta_g)$ vía el estado singlete de porfírico se excluye pues la diferencia de energía entre el primer estado singlete excitado y el estado triplete es menor que la energía del $O_2(^1\Delta_g)$. Por lo tanto un valor de $S_{\Delta} \simeq 1$ indica en este caso que el estado triplete se desactiva prácticamente en forma completa en su interacción con oxígeno, vía formación de $O_2(^1\Delta_g)$.

La estrategia desarrollada en el estudio de los porfíricos, basada en la combinación de diversas técnicas, es particularmente importante para el caso de sustancias cuyas propiedades fotofísicas o espectroscópicas dificultan el uso de técnicas convencionales en el área de fotoquímica. Esto ocurre para sustancias con alta absorción en la zona de 300-400 nm, bajas energías de triplete y/o tiempos de vida de fluorescencia largos. La absorción entre 300 y 400 nm impide la irradiación en esa banda de sustancias que induzcan la producción de tripletes (sensibilizadores de triplete) debido a la superposición de la absorción de ambos compuestos. La baja energía de triplete dificulta la obtención de compuestos con estados excitados de energía menores que puedan actuar como desactivadores eficientes del estado triplete. Muchos de los compuestos estudiados como posibles sensibilizadores de $O_2(^1\Delta_g)$ en el tratamiento fotodinámico del cáncer exhiben estas propiedades.

En el caso de los cumulenos, los valores de ϕ_f son del orden del error experimental (los cuales se discutirán en el capítulo 6), por lo cual sólo es posible informar una cota superior de su valor.

CIANINAS

CAPITULO 5: Cianinas

5.1 Introducción

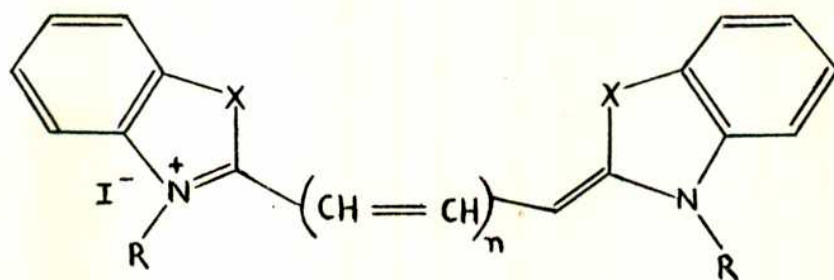
Las cianinas constituyen una familia de colorantes polimetínicos ampliamente utilizados en diversas áreas tecnológicas e industriales, principalmente en el desarrollo de láseres (47,48) y en la industria fotográfica (49,50). El mayor interés en fotobiología está dado por la similitud estructural de las cianinas con una variedad de compuestos naturales (por ejemplo con pigmentos intervinientes en el proceso de visión) (51), y por su uso como sondas fluorescentes de propiedades de biomembranas (11,12,13). En la figura 5.1 se representa la estructura molecular de las cianinas más comunmente empleadas.

Las cianinas presentan gran solubilidad en alcoholes, alta absorción de radiación en el visible ($\epsilon \simeq 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y en general son intensamente fluorescentes. Además de estas propiedades, que son comunes a la mayoría de los colorantes, las cianinas se caracterizan por presentar isomerización trans-cis fotoinducida (fotoisomerización) (52). La absorción de luz visible desde el estado fundamental de la forma térmicamente estable (N), conduce a la misma al primer estado singlete excitado (^1N), mediante una transición $\pi \rightarrow \pi^*$. Desde este estado la cadena polimetínica puede rotar alrededor de alguna de las uniones carbono-carbono que la componen, dando lugar a la formación de un fotoisómero (P).

Se ha observado (53,54) que el rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_f) de las cianinas disminuye al aumentar la temperatura. Esto implica la existencia de por lo menos un proceso activado en competencia con la fluorescencia, dado que la constante de emisión de fluorescencia espontánea (k_f) no depende de la temperatura. La fotoisomerización se considera entonces como el proceso activado que compite con otros posibles mecanismos de desactivación del estado ^1N , entre ellos fluorescencia y conversión interna no activada.

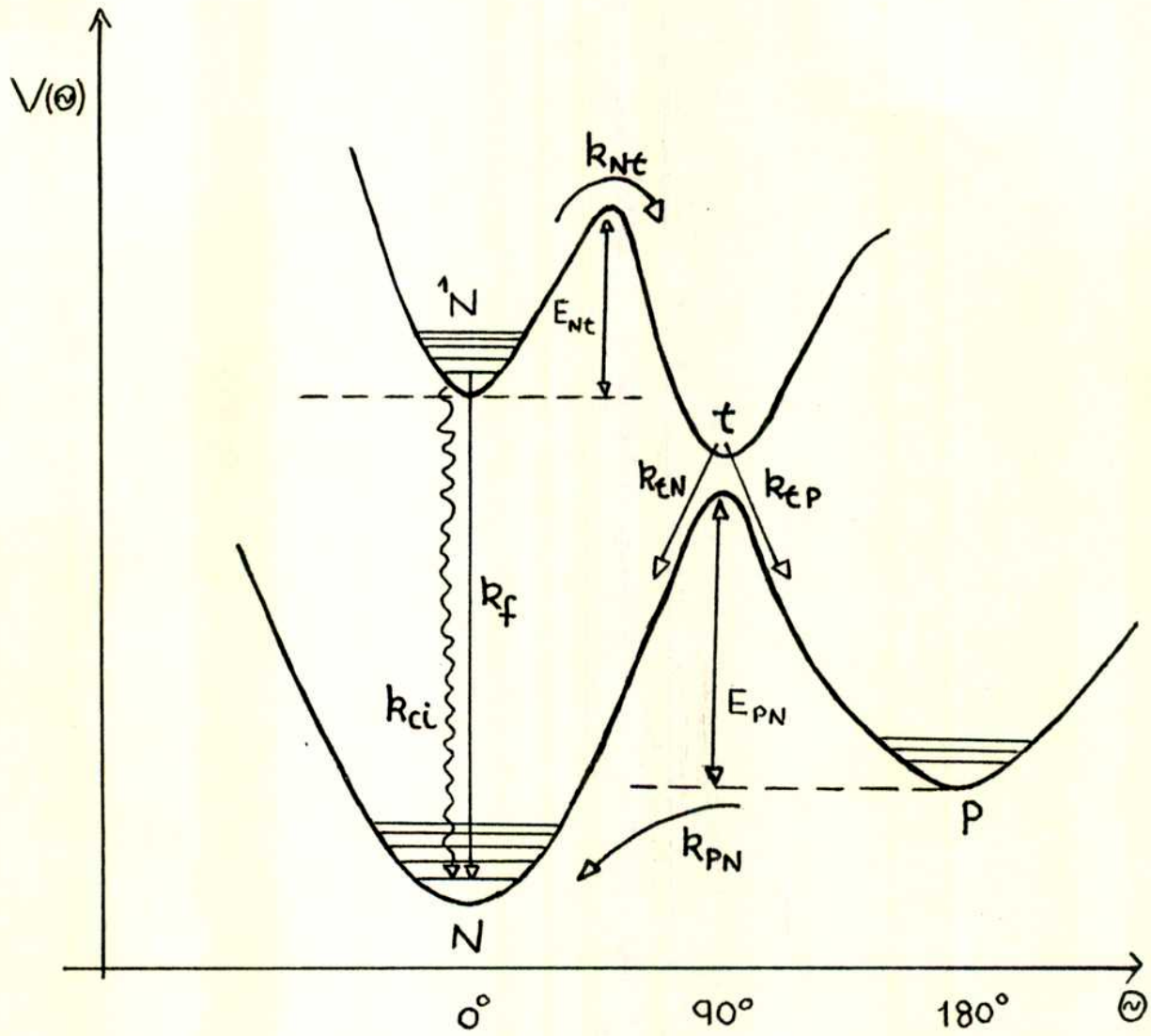
Finalmente, mucho más lentamente, la especie P retorna a la forma normal N:

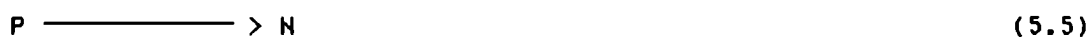
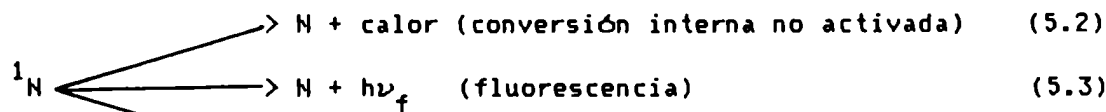
FIGURA 5.1



Cianina	n	X	R
DTCI	1	S	C ₂ H ₅
DTDCI	2	S	C ₂ H ₅
DTTCI	3	S	C ₂ H ₅
DOCI	1	O	C ₂ H ₅
DODCI	2	O	C ₂ H ₅
DOTCI	3	O	C ₂ H ₅
HIDCI	2	C(CH ₃) ₂	CH ₃

FIGURA 5.2





El rendimiento cuántico de cruce entre sistemas singlete-triplete ha sido medido para muchas cianinas (52,55,56), siendo en todos los casos menor que el 3%, por lo cual dicho proceso no se incluye en este esquema.

Los procesos ${}^1N \longrightarrow P$ y $P \longrightarrow N$ son procesos activados cuyas constantes de velocidad son fuertemente dependientes de la temperatura y del solvente (54, 57-63). La dependencia con el solvente está dada principalmente por el efecto que la viscosidad de éste ejerce sobre la rotación molecular, aunque también puede haber efectos relacionados con la constante dieléctrica o interacciones específicas entre solvente y soluto (63). La determinación de estos efectos es de suma importancia para el empleo de las cianinas como materiales para láser. En la técnica denominada "mode-lock" (64) las cianinas son responsables de la generación de pulsos láser en el rango de picosegundos, proceso en el cual influye significativamente la presencia de fotoisómeros (65). El objetivo del presente trabajo es caracterizar estos procesos fotofísicos en un conjunto de cianinas simétricas en una serie de n-alcoholes primarios, prestando particular atención al efecto de la temperatura y de la viscosidad del medio.

En la figura 5.1 se representa la estructura molecular de las cianinas estudiadas, junto con la nomenclatura habitual con que se las designa. La elección de las cianinas indicadas fue dada por el interés en determinar como varían las propiedades fotofísicas con cambios regulares de la estructura molecular. Por ejemplo en la serie DDCI-DODCI-DOTCI se puede

analizar la influencia del largo de la cadena polimetínica, mientras que el efecto del sustituyente en el grupo terminal indólico aparece al comparar DOCI con DTCl, etc. (fig.5.1).

En la sección 5.2 se describen los modelos y las ecuaciones que se utilizan en la descripción de las distintas propiedades y parámetros fotofísicos. En 5.3 se describen los métodos experimentales empleados. En las secciones 5.4 y 5.5 se presentan en forma detallada los resultados obtenidos para cada compuesto, con el fin de destacar las particularidades de cada uno. El procedimiento utilizado se describe exhaustivamente para el primer compuesto analizado, DOCI, mientras que para los restantes se indican los resultados finales. En 5.6 se comparan las distintas cianinas y se discuten los principales resultados.

5.2 Modelos

5.2.1 Superficies de energía potencial

La mayoría de los modelos que se han planteado para describir el proceso de fotoisomerización proponen el pasaje previo desde el estado excitado plano 1N hacia un estado en donde los grupos funcionales de los extremos se encuentran a 90° por rotación alrededor de alguna unión de la cadena polimetínica (66-71). La estructura molecular en este estado "torsionado" (t) (figura 5.2) ya no es plana como en las formas N y P. Este estado "no espectroscópico" sufre una rápida transición no radiativa hacia la superficie de energía potencial del estado fundamental, donde encuentra un máximo. Desde allí puede desactivarse mediante dos caminos. Una posibilidad es que prosiga con la rotación iniciada, dando lugar a la formación del fotoisómero P luego de completar una rotación total de 180° . La segunda posibilidad es que la molécula retorne desde t a la forma normal N sin formación de fotoisómero. Estos dos procesos ($t \rightarrow P$ y $t \rightarrow N$) no son activados y compiten entre sí con distinta probabilidad.

Luego de la absorción de luz la forma normal N se recupera entonces mediante tres procesos posibles:

a) Conversión interna no activada desde 1N ($^1N \longrightarrow N$). Este proceso compite con la fluorescencia y con el pasaje hacia el estado t.

b) Retorno desde t a N, sin formación de fotoisómero.

c) Reconversión del fotoisómero a N ($P \longrightarrow N$). Este proceso también es una isomerización, pero la evolución se desarrolla sobre la superficie potencial del estado fundamental (fig. 5.2), involucrando la misma coordenada que el proceso $^1N \longrightarrow t \longrightarrow P$.

El proceso c) ocurre con posterioridad a los otros dos, y en escalas de tiempo mucho mayores. Por ejemplo, la conversión interna y el pasaje $^1N \longrightarrow t$ ocurren en la escala del tiempo de vida del estado singulete 1N , del orden del nanosegundo, mientras que la reconversión $P \longrightarrow N$ suele hallarse en el orden de microsegundos a milisegundos.

En la figura 5.2 se esquematizan los procesos indicados mediante una representación unidimensional de superficies de energía potencial, en términos de la coordenada de rotación Θ . En la descripción siguiente se consideran por separado la isomerización desde el estado excitado ($^1N \longrightarrow t \longrightarrow P$) y la isomerización de reconversión en el estado fundamental ($P \longrightarrow N$).

5.2.2 Energías de activación.

Estado excitado

La energía de activación E_{Nt} puede obtenerse midiendo los rendimientos cuánticos de fluorescencia (ϕ_f) y de fotoisomerización (ϕ_p), de la siguiente forma (fig. 5.2):

El rendimiento cuántico de fluorescencia está dado por:

$$\phi_f = \frac{k_f}{k_f + k_{ci} + k_{Nt}} = k_f \tau_s \quad (5.6)$$

donde: k_f = cte. de emisión fluorescente, k_{ci} = cte. de conversión interna no activada, k_{Nt} = cte. de velocidad del proceso $N \rightarrow t$, y $\tau_s = 1/(k_f + k_{ci} + k_{Nt})$ es el tiempo de vida del estado 1N . Por lo tanto la suma de las constantes de desactivación no radiativas de 1N , normalizadas por k_f es igual a $\phi_f^{-1} - 1$:

$$\phi_f^{-1} - 1 = \frac{k_{ci}}{k_f} + \frac{k_{Nt}}{k_f} \quad (5.7)$$

Si:

$$k_{Nt} = A_{Nt} \exp(-E_{Nt}/RT) \quad (5.8)$$

entonces la energía de activación aparente total involucrada en dichos procesos no radiativos está dada por:

$$\frac{-R \, d \ln(\phi_f^{-1} - 1)}{d \, 1/T} = \frac{k_{Nt}}{k_{ci} + k_{Nt}} E_{Nt} \quad (5.9)$$

Como se observa en la ec. (5.9) la existencia de conversión interna no activada ($k_{ci} \neq 0$) implica que la pendiente de $\ln(\phi_f^{-1} - 1)$ en función de $1/T$ no sea igual a E_{Nt} , y sea en cambio menor y dependiente de la temperatura a través de k_{Nt} . A altas temperaturas $k_{Nt} \gg k_{ci}$ y la pendiente alcanza el valor E_{Nt} . Pero a bajas temperaturas se hace importante k_{ci} frente a k_{Nt} y la curva tiende a una asíntota horizontal.

Por lo tanto los gráficos de Arrhenius del tipo $\ln(\phi_f^{-1} - 1)$ vs. $1/T$ no permiten obtener, en el caso general, los valores de E_{Nt} . Una primera alternativa es representar $\ln(\phi_f^{-1} - \phi_{fmax}^{-1})$ vs. $1/T$, donde,

$$\phi_{fmax} = \frac{k_f}{k_f + k_{ci}} \quad (5.10)$$

que verifica la relación:

$$\frac{1}{\phi_f} - \frac{1}{\phi_{f \max}} = \frac{k_{Nt}}{k_f} \quad (5.11)$$

$\phi_{f \max}$ es el máximo valor que puede tomar ϕ_f y se puede obtener, para cada solvente, midiendo el rendimiento cuántico de fluorescencia a muy bajas temperaturas. Si k_f no depende de la temperatura, entonces, según la igualdad (5.11), es:

$$\frac{-R d(\ln(\phi_f^{-1} - \phi_{f \max}^{-1}))}{d(1/T)} = E_{Nt} \quad (5.12)$$

Sin embargo no siempre es posible conocer $\phi_{f \max}$ con suficiente exactitud. Una segunda posibilidad para obtener valores de E_{Nt} consiste en medir el rendimiento cuántico de fotoisomerización, ϕ_p , en función de la temperatura, dado que:

$$\phi_p = \phi_f \cdot \frac{k_{tP}}{k_{tP} + k_{tN}} \cdot \frac{k_{Nt}}{k_f} \quad (5.13)$$

y por lo tanto, suponiendo razonablemente que k_{tP} y k_{tN} no dependen de la temperatura, se obtiene:

$$-R d \ln(\phi_p / \phi_f) / d(1/T) = E_{NT} \quad (5.14)$$

En el presente trabajo se calculan valores de E_{Nt} por los dos métodos: ec.(5.12) y (5.14), y luego se comparan los valores obtenidos.

De (5.13) también se obtiene la energía de activación aparente para la fotoisomerización:

$$-R d \ln(\phi_p) / d(1/T) = E_{NT} (\phi_f / \phi_{f \max}) \quad (5.15)$$

De (5.15) no es posible obtener valores de E_{Nt} pues ϕ_f varía con T, pero dicha igualdad destaca el hecho de que cuanto más alejado esté ϕ_f de

ϕ_{fmax} más difícil será detectar experimentalmente variaciones de ϕ_p con T.

Estado fundamental

La isomerización $P \longrightarrow N$ es un proceso mucho más lento que la isomerización desde el estado excitado, y se puede observar directamente el decaimiento del fotoisómero a la forma normal mediante fotólisis flash. De esta manera se miden tiempos de vida del fotoisómero (τ_{PN}) y constantes de velocidad, $k_{PN} = 1/\tau_{PN}$, en función de la temperatura. Las energías de activación, E_{PN} , en cada solvente se obtienen mediante las relaciones:

$$k_{PN} = A_{PN} \exp(-E_{PN}/RT) \quad (5.16)$$

$$E_{PN} = -R \frac{d(\ln k_{PN})}{d(1/T)} \quad (5.17)$$

5.2.3 Constantes de velocidad.

Los procesos de isomerización de cianinas implican desplazamientos y rotaciones de gran amplitud de diferentes partes de la molécula. Por lo tanto, las constantes de velocidad de estos procesos son, en principio, fuertemente dependientes del solvente. Si se considera al solvente como un medio continuo, éste ejerce un efecto de disminución de la velocidad de rotación por un efecto de fricción. El modelo más comúnmente utilizado para describir estos procesos es el modelo de Kramers (72), el cual, bajo ciertas hipótesis, da una expresión para la constante unimolecular de isomerización, k, para el pasaje sobre una barrera de activación E_0 , desde un estado inicial, a un estado final (fig.5.2). La fuerza de fricción instantánea, $F_r(t)$, que el medio ejerce sobre el movimiento molecular al tiempo t, está dada por $F_r(t) = -\xi(\eta) v(t)$ donde v es la velocidad del desplazamiento, y $\xi(\eta)$ es el coeficiente de fricción relacionado directamente con el coeficiente de viscosidad, η . Entonces:

$$k(\eta, T) = \frac{\omega_0}{4\pi \omega' \tau_v} \left(\sqrt{1 + (2\omega' \tau_v)^2} - 1 \right) \exp(-E_0/RT) \quad (5.18)$$

donde ω_0 es la frecuencia vibracional asociada con la curvatura del pozo de potencial del estado inicial, ω' es la frecuencia asociada con la curvatura en el máximo de la barrera de potencial (fig.5.2), y τ_v es el tiempo de relajación de la velocidad del grupo rotante sobre la coordenada de reacción (73,74):

$$\tau_v = \frac{\mu}{\zeta} \quad (5.19)$$

donde μ es la masa efectiva del grupo rotante.

La fórmula de Kramers alcanza el denominado "límite de Smoluchowsky", o límite difusional, o límite de altas viscosidades, cuando $(\omega' \tau_v) \ll 1$:

$$k(\eta, T) \simeq (\omega_0/2\pi) \omega' \tau_v \exp(-E_0/RT) \quad (\omega' \tau_v \ll 1) \quad (5.20)$$

Las principales hipótesis implicadas en la validez de la fórmula de Kramers (72) son a) que $E_0 \gg RT$, con lo cual el pasaje sobre la barrera es un proceso de difusión lenta cuasiestacionaria, b) que el sistema posee un único grado de libertad dado por la coordenada de rotación, Θ (problema unidimensional), y c) que el proceso es Markoviano. Un proceso de Markov (74) es aquel en que la fuerza ejercida por el solvente mediante colisiones aleatorias actúa sobre el sistema en tiempos muy cortos, es decir que se relaja en tiempos mucho menores que τ_v , y por lo tanto no existe correlación entre las fuerzas que actúan sobre el sistema en dos instantes distintos de la evolución. En otras palabras, que la velocidad de cruce sobre la barrera es suficientemente lenta como para permitir que el solvente pueda acomodarse al movimiento del sistema instantáneamente, y que por lo tanto no haya efectos de histéresis (sistemas con memoria). Matemáticamente esto significa que la fricción ζ es la misma durante toda la evolución, o sea, es una constante independiente del tiempo.

En el modelo hidrodinámico (67,72,73) se supone que ξ es proporcional a la viscosidad macroscópica del solvente, η : (K: cte. de proporcionalidad)

$$\xi = K \eta \quad (\text{modelo hidrodinámico}) \quad (5.21)$$

Con esta hipótesis adicional la expresión de Kramers se puede escribir de la forma :

$$k(\eta, T) = A \frac{\eta}{B} \left(\sqrt{1 + (B/\eta)^2} - 1 \right) \exp(-E_0/RT) \quad (5.22)$$

$$A = \omega_0 / 2\pi \quad (5.23)$$

$$B/\eta = 2\omega' \tau_v \quad (5.24)$$

El modelo de Kramers puede fallar en la descripción de los resultados experimentales por varias razones. En primer lugar el modelo hidrodinámico (ec. 5.21) puede no ser válido, y se han propuesto varias expresiones para la fricción ξ en función de la viscosidad del medio (75) y de propiedades microscópicas del sistema molecular (73). Otras posibilidades son la falla en la descripción unidimensional (76) o en la hipótesis de Markov (77). Por ejemplo, la hipótesis markoviana puede fallar cuando el pasaje sobre la barrera de activación ocurre en escalas de tiempos muy cortas (picosegundos), siendo posible en ese caso una correlación entre las fuerzas a dos tiempos diferentes.

Una descripción alternativa es el denominado modelo empírico (66, 77):

$$k(\eta, T) = \frac{D}{\eta^a} \exp(-E_0/RT) \quad (5.25)$$

donde "a" es el llamado "parámetro empírico", D es un factor de amplitud, y η es la viscosidad macroscópica del solvente (en cP). A su vez η en los solventes orgánicos más comunes depende de la temperatura mediante una

relación del tipo de Arrhenius:

$$\eta = \eta_0 \exp(E_\eta/RT) \quad (5.26)$$

donde η_0 es la viscosidad límite a altas temperaturas, y E_η la energía de activación de viscosidad. Por lo tanto la expresión empírica (5.25) toma la forma:

$$k(\eta, T) = D (\eta_0)^{-a} \exp(-(E_0 + aE_\eta)/RT) \quad (5.27)$$

Según el modelo empírico entonces la energía de activación de Arrhenius E_a ($=E_{Nt}$ o E_{PN}) está dada por:

$$E_a = E_0 + aE_\eta \quad (5.28)$$

El término aE_η representa la influencia del solvente, y E_0 la contribución intrínseca de la isomerización, independiente del solvente, asociada con propiedades estructurales de la molécula (capacidad de libre rotación de los enlaces, repulsión entre orbitales moleculares de los grupos terminales, etc.).

En los dos modelos considerados en esta sección la única influencia del solvente se manifiesta en la fricción viscosa; no se consideran interacciones específicas soluto-solvente. Todos los otros parámetros de los modelos (ω_0 , ω' , τ_v , a , E_0) son propios de la molécula en estudio.

La contribución intrínseca, E_0 , se puede calcular a partir de k , en diferentes solventes a distintas temperaturas, y realizando gráficos de isoviscosidad. Las ecuaciones (5.18), (5.22) ó (5.25) se pueden reescribir en la forma:

$$k(\eta, T) = k^*(\eta) \exp(-E_0/RT) \quad (5.29)$$

donde k^* es una función solo de la viscosidad. Para una viscosidad fija η se calculan las temperaturas a la cual cada solvente de la serie tiene esa

dada viscosidad, y luego las constantes k a esa temperatura para cada solvente. La energía intrínseca se puede obtener entonces de la pendiente de $\ln k$ vs. $1/T$ (gráfico intersolvente), y el valor obtenido es independiente de la expresión que luego se considere para $k^*(\eta)$ (Kramers, empírico, etc.).

$k^*(\eta)$ se denomina "constante de velocidad reducida" y sus valores se pueden calcular una vez conocidas las constantes de velocidad y el valor de E_0 :

$$k^*(\eta) = k(\eta, T) \exp(E_0/RT) \quad (5.30)$$

Los valores de $k^*(\eta)$ se pueden ajustar según los modelos de Kramers y empírico, tanto para la isomerización desde el estado singlete excitado, $^1N \rightarrow t$, como para la isomerización $P \rightarrow N$ sobre la superficie potencial del estado fundamental.

Los valores de los parámetros A y B del modelo de Kramers (ec. 5.22) que mejor ajustan los valores de las constantes reducidas según dicho modelo se pueden obtener representando k^*/η vs. $(k^*\eta)^{-1}$, a partir de la relación:

$$k^*/\eta = A^2 (k^*\eta)^{-1} - 2A/B \quad (5.31)$$

la cual se obtiene combinando (5.22) y (5.29). Con los valores de A y B se calculan ω_0 y el producto $(\omega_0 \tau_v)$ evaluado para $\eta = 1$ cP.

El parámetro empírico "a" se obtiene de la pendiente de $\ln k^*$ vs $\ln \eta$ (ec. (5.30) y (5.25)) utilizando simultáneamente los valores obtenidos en todos los solventes a todas las temperaturas. Se pueden realizar también dos verificaciones adicionales del valor de "a", las cuales sin embargo dan errores mayores. La primera posibilidad es realizar isotermas de $\ln k$ vs $\ln \eta$, variando η por cambio del solvente, y calcular "a" de la pendiente (ec.(5.25)) Otra posibilidad es representar la energía de activación de Arrhenius, E_a , medidas para cada solvente en función de E_η y calcular "a" y E_0 usando la expresión (5.28) Este cálculo sólo da estimaciones de "a" y E_0 debido a los pocos puntos disponibles (igual al número de solventes empleados.)

5.3 Materiales y métodos

5.3.1 Cianinas

Se utilizaron cianinas producidas por Lambda Physics o Exciton, calidad láser, sin purificaciones adicionales. La pureza de estos compuestos se verificó por cromatografía en placa y por HPLC. Las cromatografías en placa se realizaron con metanol (Merck, PA) sobre sílica gel, y todos las siembras corrieron con una sola mancha de color uniforme e igual al correspondiente color en solución. Las cianinas no corrieron en placas de fase reversa.

Salvo DOTCI todas las cianinas empleadas resultaron térmica y fotoquímicamente estables entre 0 y 70 °C, en todos los solventes. Las soluciones de DOTCI se descomponen significativamente, en forma térmica, a temperaturas mayores que 35 °C. La velocidad de descomposición es mucho mayor en decanol.

5.3.2. HPLC

Se hicieron corridas de HPLC para todas las cianinas utilizadas, con el fin de verificar su pureza. Se empleó un equipo Shimadzu LC-6A con detección espectrofotométrica en el visible y UV cercano, con las siguientes condiciones de trabajo:

Solvente: Metanol (Sintorgan p/HPLC), parcialmente desgasado por sonicación.

Columna: Si 60, 5 µm; 25 cm de largo, 4,6 cm de diámetro.

Volumen inyectado: 20 microlitros, en todos los casos.

Flujo: 4 mL/min, en todos los casos.

Presión sobre la columna: resultó estable, con valores entre 80 y 90 bar.

Tiempos de retención: entre 15 y 20 min, según la sustancia.

Detección: espectrofotométrica en el visible y UV. DOCI: 485 Y 300 nm; DTDCI: 555 y 300 nm; DTDCI: 650 y 325 nm; HIDCI: 640 y 325 nm; DOTCI: 680 y 335 nm.

Los picos se obtuvieron en un registrador X-t. En todos los casos se observó la presencia de un solo pico.

5.3.3 Solventes

Todos los solventes: etanol 95% (EtOH 95%), metanol (MeOH, Merck PA), pentanol (PeOH, BDH), octanol (OcOH, Eastman) y decanol (DecOH, Fluka) fueron destilados sobre columna a presión normal. Las temperaturas de ebullición coincidieron con valores de tablas (78) dentro del error experimental.

Los valores de viscosidad, índice de refracción, y coeficientes de dilatación térmica en las distintas condiciones de trabajo fueron obtenidas de bibliografía (79) y se resumen en la tabla 5.0.

Tabla 5.0: Propiedades de los solventes empleados.

	η (25°C) (cP)	E_{η} (kJ/mol)	n	α (K ⁻¹)	β (K ⁻²)
MeOH	0.55	10.4	1.32	$1.18 \cdot 10^{-3}$	$1.56 \cdot 10^{-6}$
EtOH 95%	1.26	15.7	1.36	$1.05 \cdot 10^{-3}$	
PeOH	3.73	21.7	1.40	$8.90 \cdot 10^{-4}$	$1.14 \cdot 10^{-6}$
OcOH	7.53	24.1	1.43	$7.81 \cdot 10^{-4}$	$1.35 \cdot 10^{-6}$
DecOH	11.54	26.4	1.435		

η : viscosidad; E_{η} : energía de activación de viscosidad; n: índice de refracción; α y β se definen a partir de la expresión: $V = V_0 (1 + \alpha t + \beta t^2)$ donde V es el volumen a la temperatura t (grados centígrados) y V_0 es el volumen a 0°C.

5.3.4 Soluciones

Se emplearon siempre soluciones frescas, preparadas inmediatamente antes de medir, excepto en las experiencias de fotólisis flash que fueron

preparadas con un día de anticipación. Las soluciones no fueron desgasadas, y se trabajó siempre con concentraciones menores que 5×10^{-5} M para evitar posible dimerización de las cianinas.

5.3.5 Absorción

Los espectros de absorción y las absorbancias medidas a longitud de onda fija fueron obtenidas en un espectrofotómetro Varian, modelo Cary 2300 (doble haz), siempre bajo las mismas condiciones: camino óptico= 10 mm, ancho de banda= 1 nm, tiempo de respuesta= 1 seg. , velocidad de barrido espectral= 0.5 nm/s, referencia espectrofotométrica: solvente. En algunos casos se utilizó un espectrofotómetro Carl Zeiss DMR 11 (doble haz, 1,5 nm de ancho de banda). Las determinaciones se hicieron a temperatura ambiente, no observándose variaciones significativas de absorbancia entre 20 y 27 °C.

Se midieron los coeficientes de absorción a la longitud de onda del máximo para cada cianina en MeOH, PeOH, OcOH y DecOH. Para ello en cada caso se preparó una solución concentrada en EtOH, en donde se conoce de bibliografía el coeficiente de absorción (80) y se inyectaron volúmenes de 0.1 ml de esta solución en un matraz de 5 ml, que se llenó luego con el solvente particular. Midiendo espectrofotométricamente las absorbancias de las dos soluciones en la posición de los respectivos máximos se obtiene el coeficiente de absorción en el nuevo solvente.

5.3.6 Fluorescencia

Las medidas de rendimientos cuánticos de fluorescencia a 25 °C se realizaron de la manera descrita en el capítulo 2, sección 2.4. Los valores de ϕ_f a temperatura distintas de 25 °C se calcularon mediante la relación:

$$\phi_f(T) = (I_L(T) / I_L(25 \text{ } ^\circ\text{C})) \phi_f(25 \text{ } ^\circ\text{C}) \quad (5.32)$$

donde $I_L(T)$ e $I_L(25 \text{ } ^\circ\text{C})$ se midieron en las mismas condiciones instrumentales.

La ec. (5.32) supone que no se produce cambio en la distribución espectral con T. Esto se verificó para todas las sustancias. También se verificó que para rodamina 101 en EtOH el rendimiento cuántico de fluorescencia no varía con la temperatura. También se determinó ϕ_f para compuestos cuyos valores han sido informados anteriormente. La comparación entre los valores medidos en este trabajo y los de bibliografía se observa en la tabla 5.1:

Tabla 5.1: Comparación de valores de ϕ_f medidos con valores de bibliografía.

Compuesto	Solvente	T(°C)	ϕ_f (medido)	ϕ_f (bibliografía)	Referencia
CV (*)	MeOH	25	0.52	0.54	(2)
DODCI	MeOH	20	0.39	0.36	(54)
DODCI	EtOH	25	0.42	0.42	(81)
DODCI	PeOH	20	0.54	0.58	(54)
DODCI	DecOH	20	0.73	0.68	(54)
DTCI	MeOH	25	0.06	0.05 (**)	(82)
DTDCI	MeOH	20	0.32	0.36	(83)

(*): Violeta de cresilo. (**): solvente: 1:1 MeOH:EtOH, temperatura no especificada.

El error en el valor de ϕ_f es difícil de evaluar debido a los muchos factores que influyen en su determinación (intensidad de fluorescencia, integración del espectro de emisión, función de corrección, absorbancias, ϕ_f de la referencia, etc.; ver capítulo 2, sección 2.4). Sin embargo, en base a diversos estudios realizados (84) se considera que el error porcentual de ϕ_f calculado por el método comparativo se encuentra entre 5 y 10 %, siendo mayor para los menores valores de ϕ_f .

Todas las determinaciones espectrofluorométricas fueron realizadas bajo las condiciones experimentales descritas en la sección 2.4.

5.3.7 Fotólisis flash:

Los valores relativos de ϕ_p se pueden obtener a su vez, mediante experiencias de fotólisis flash. La variación de absorbancia de la solución luego de la excitación flash, extrapolada a tiempo cero y medida a una dada longitud de onda de observación λ_{ob} , es proporcional a ϕ_p . Esta variación de absorbancia, ΔA_o , debida a la formación de fotoisómero, es también proporcional a la energía del flash, para bajas energías de excitación

$$\Delta A_o(T) = \text{cte. } \phi_p(T) E_{\text{flash}} \quad (5.33)$$

Por lo tanto, para una dada temperatura T , se pueden calcular valores relativos de $\phi_p(T)$ a partir de la pendiente de ΔA_o vs. E_{flash} :

$$\phi_p \text{ rel.} = \frac{\phi_p(T)}{\phi_p(T')} = \frac{(\Delta A_o/E_{\text{flash}})_T}{(\Delta A_o/E_{\text{flash}})_{T'}} \quad (T' = \text{cte.}) \quad (5.34)$$

Las medidas para DTCl y DOCl se realizaron en INIFTA con el equipo de fotólisis flash convencional descrito en el capítulo 2, sección 2.5, en donde también se describen las condiciones experimentales. La celda con la muestra se rodeó con celofanes que actúan como filtros para atenuar la intensidad de la excitación, con el fin de que E_{flash} se encuentre en el intervalo en donde es lineal con ΔA_o . Se empleó una celda de 12 cm de camino óptico, salvo para DOCl y DTCl en DecOH (camino óptico= 1 cm).

Las medidas de fotólisis flash para DTDCI, HIDCl, y DOTCl fueron realizadas por P.F.Aramendía en el Instituto Max Planck de Química de Radiaciones (Mülheim, RFA), empleando un láser de Nd-YAG (15 ns), debido a que los tiempos de vida de los fotoisómeros (del orden de microsegundos) no se pudieron determinar con el equipo de fotólisis flash convencional disponible en INIFTA (tiempo de resolución del orden de milisegundos).

Los compuestos DOCl y DTCl pudieron ser medidos en INIFTA pues los tiempos de vida de fotoisómero son del orden de varios milisegundos. En todos los casos se verificó que los decaimientos de P a N fueron de orden uno. Esto permitió la medida directa de k_{PN} . También se obtuvieron los espectros diferencia para ambos compuestos en los distintos alcoholes.

5.4 Espectros de absorción y de emisión de fluorescencia

En las figuras 5.3 a 5.5 se observan los espectros de absorción y de emisión de fluorescencia (corregidos, ver sección 2.4) en el visible de las seis cianinas estudiadas, en EtOH 95%, a 25 °C. Cuando se aumenta el largo de la cadena de los alcoholes se observa un corrimiento de los espectros hacia el rojo, sin cambios en la distribución espectral. Además se verificó que, para cada compuesto, el coeficiente de absorción en la longitud de onda del máximo es el mismo en todos los alcoholes empleados.

En la tabla 5.2 se representan las longitudes de onda de máxima absorción y emisión para cada una de las cianinas en los distintos alcoholes. En la tabla 5.13 (sección 5.6) se registran los valores de k_f calculados mediante la relación de Strickler y Berg (85). Para cada cianina los valores de k_f resultaron iguales, dentro del error, en cada solvente.

TABLA 5.2: Longitudes de onda de máxima absorción (λ_a) y emisión (λ_e), en nanómetros, en la serie de n-alcoholes:

	DOCI		DTCI		DODCI		DTDCI		HIDCI		DOTCI	
	λ_a	λ_e	λ_a	λ_e	λ_a	λ_e	λ_a	λ_e	λ_a	λ_e	λ_a	λ_e
MeOH	483	498	557	572	483	498	653	673	638	658	682	708
EtOH	485	500	557	573	485	500	656	675	642	663	688	714
PrOH	488	502	564	576	488	502	659	680	645	667	693	715
OctOH	490	505	566	579	490	505	662	684	648	669	696	720
DecOH	493	506	569	580	493	506	664	683	648	669	700	722

La posición del máximo de absorción no cambia con la temperatura (T) en el rango estudiado, ni tampoco la distribución espectral. Sin embargo se observa disminución en la absorbancia (A) de las soluciones al aumentar la temperatura. En la figura 5.6 se representa $A(T)/A(25^\circ\text{C})$ vs. T para DTCI en

Figura 5.3a: DOCI
Espectros de absorción y de
emisión corregido.

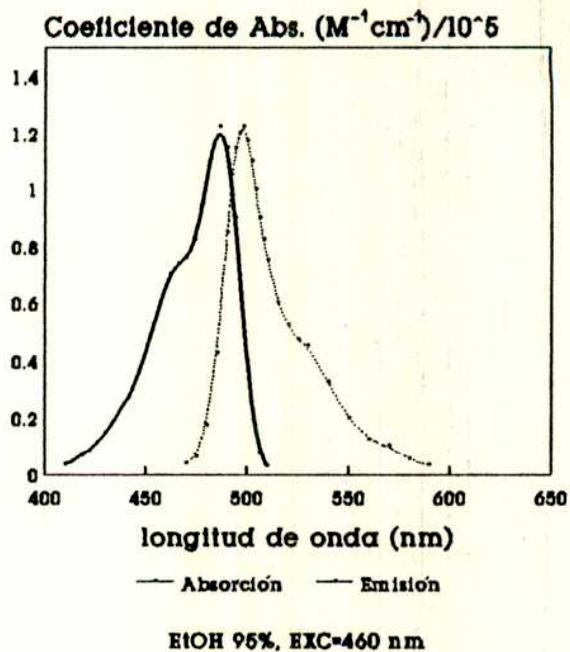


Figura 5.3b: DTCl
Espectros de absorción y de
emisión corregido.

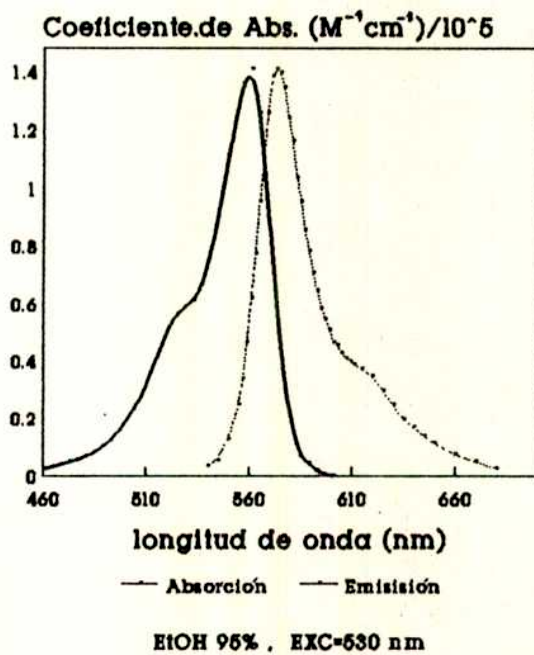


Figura 5.4a: DODCI
Espectros de absorción y de
emisión corregido

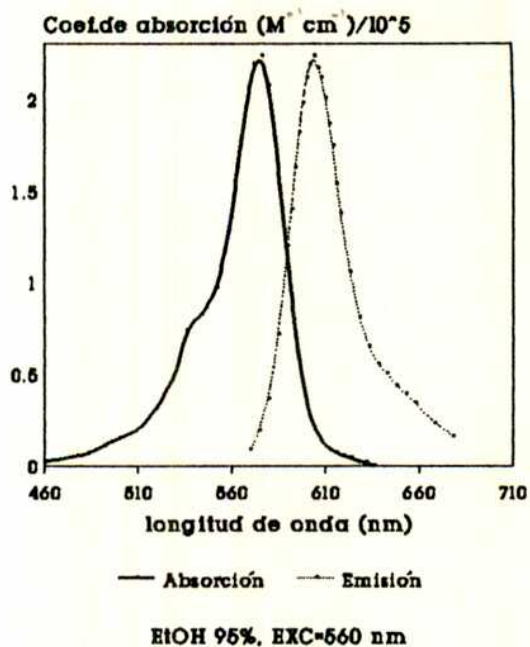


Figura 5.4b: DTDCI
Espectros de absorción y de
emisión corregido

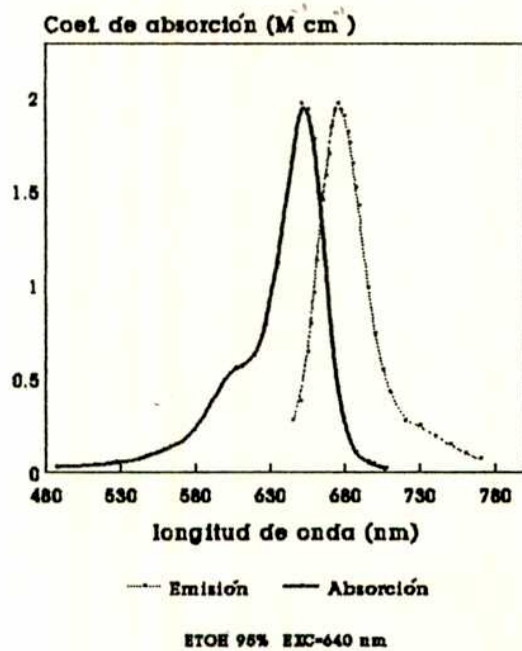


Figura 5.5a: HIDCI
Espectros de absorción y de
emisión corregido

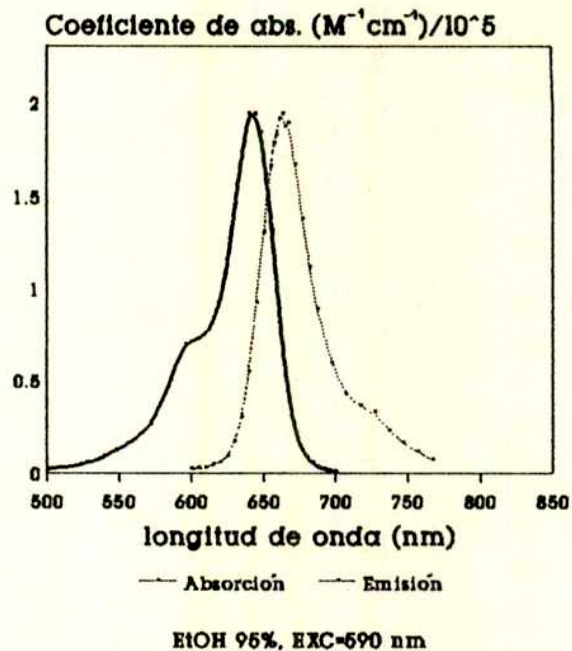


Figura 5.5b: DOTCI
Espectros de absorción y de
emisión corregido

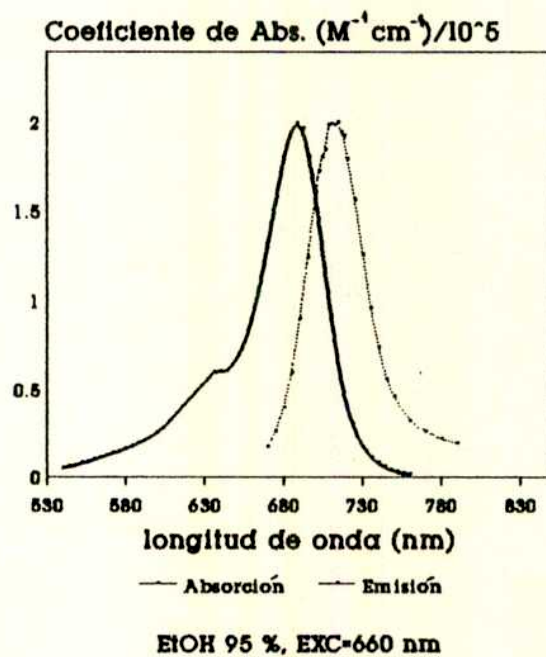
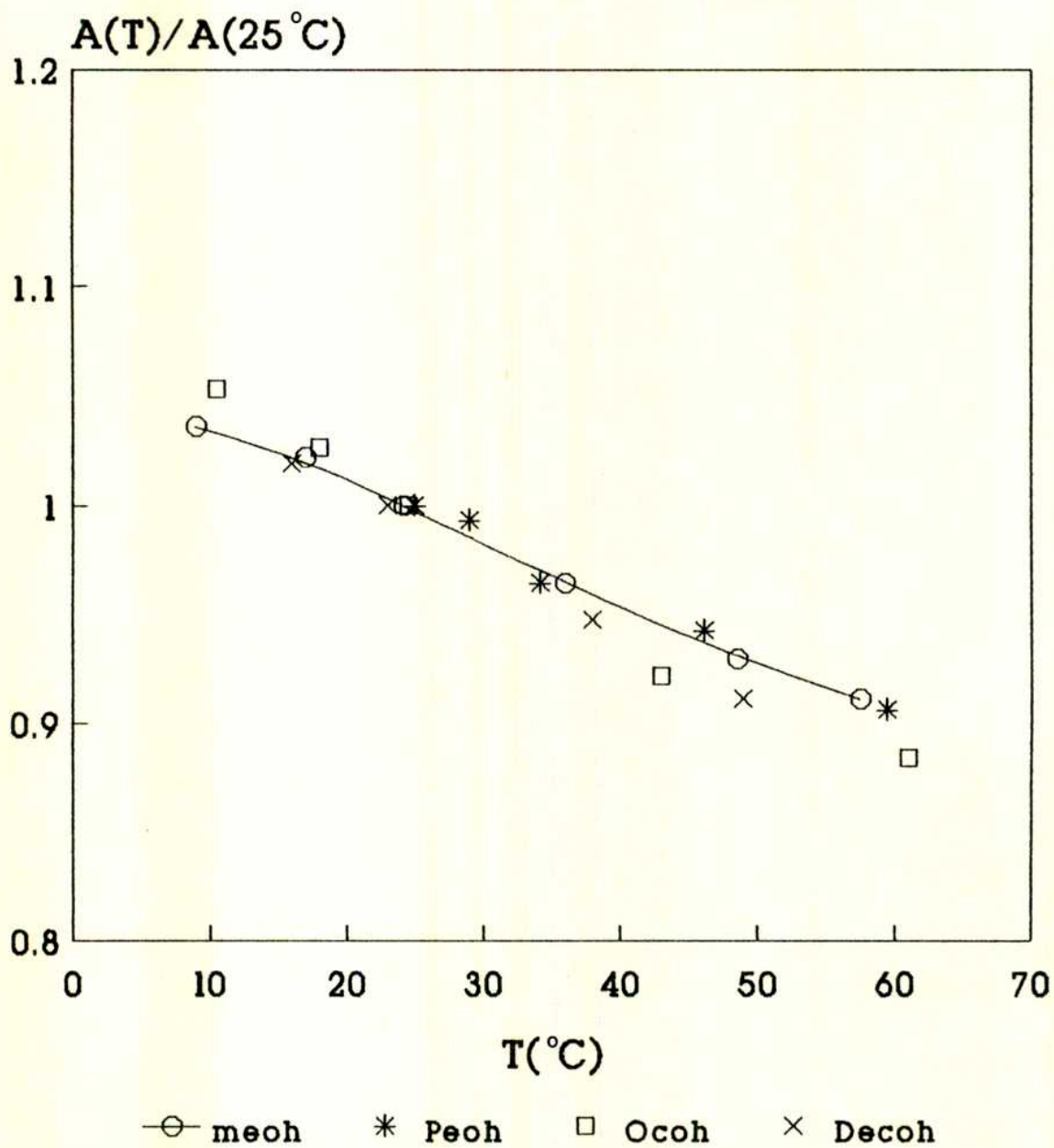


Figura 5.6
DTCl: Absorbancia vs. T



Medidas en el máximo de absorción
en cada caso.

los distintos alcoholes, medidas en el máximo de absorción. Para los demás compuestos se obtienen gráficos similares. En todos los casos si se lleva al sistema a la temperatura original se obtiene el valor de absorbancia inicial, verificándose un comportamiento reversible.

En el rango de 10 a 60 °C, la variación porcentual de absorbancia es de un 10 a 15% según el compuesto y el solvente. Aproximadamente un 5% del cambio en la absorbancia se debe a la expansión térmica del solvente, lo cual produce una disminución de la concentración al aumentar la temperatura. Este efecto es significativo en el caso de los alcoholes considerados pues poseen altos coeficientes de dilatación térmica ($\approx 10^{-3} \text{K}^{-1}$, tabla 5.0). El porcentaje restante de disminución de absorbancia podría atribuirse a la presencia, junto con la forma mayoritaria plana, de posibles isómeros con coeficientes de absorción menores y menos estables termodinámicamente (por ejemplo, isómeros conformacionales de estructura no plana), cuya concentración aumenta al incrementarse la temperatura (86).

Sin embargo, dado que el espectro disminuye en forma proporcional con la temperatura, el espectro diferencia no coincide con el registrado en fotólisis flash (figuras 5.20 y 5.29 para DOCI y DTCI) por lo que el fotoisómero es diferente de estos posibles isómeros térmicos.

La amplitud de variación de la absorbancia que queda luego de tener en cuenta la dilatación del solvente es de 5 a 10 % dependiendo de la sustancia y del solvente. En este rango no es posible obtener conclusiones cuantitativas del posible equilibrio.

La variación de absorbancia con la temperatura puede influir en la determinación de ϕ_f a temperaturas distintas de 25 °C, si se emplea la ec.(5.32) sin corregir por la diferente absorbancia de la muestra a la temperatura T con respecto a 25 °C, a la longitud de onda de excitación (A). La corrección puede realizarse multiplicando los valores obtenidos mediante la ec. (5.32) por el factor $A(25^\circ\text{C})/A(T)$ (suponiendo $1 - 10^{-A} \cong 2.303 A$, para $A \leq 0.05$, sección 2.4). Sin embargo, en el intervalo de temperaturas considerado, la corrección es típicamente del orden del 5 %. Esta variación no tiene mayor efecto en los cálculos de las energías de activación.

El efecto de la temperatura sobre la absorbancia puede influir en la determinación de ϕ_p rel pues el factor de proporcionalidad en (5.33) contiene la absorbancia de la muestra en el intervalo de longitudes de onda de la excitación. Valen similares consideraciones que para el cálculo de ϕ_f , pero además debe considerarse que la dispersión de los valores es mayor (por ej., ver las rectas de ΔA_o vs. E_{Flash} en la figura 5.13).

5.5 Resultados de fluorescencia y fotólisis flash

Para cada uno de los compuestos y solventes se midieron valores de ϕ_f en el intervalo máximo de temperaturas entre 0 y 70^o C. En general el rango fue mas estrecho y limitado por congelamiento del solvente (DecOH, 7^oC) o ebullición del mismo (MeOH, 62^o C), o descomposición térmica de la muestra en el caso de DOTCI (ver sección 5.5.6.). Con iguales salvedades las medidas de fotólisis flash se realizaron entre 0 y 65^o C (salvo para DOCI y DTICI en donde el rango fue entre 18 y 60^o C). Siempre se observó aumento de ϕ_p con T, salvo en DTICI (ver sección 5.5.2). En todos los casos se observó aumento de ϕ_f al disminuir la temperatura, o al aumentar la viscosidad del solvente a temperatura constante.

5.5.1 DOCI

Estado excitado

- Rendimientos cuánticos de fluorescencia :

Los valores de ϕ_f a 25^oC se midieron excitando las muestras a 460 nm. Para las demás temperaturas se midió I_L a 510 nm, relativa a su valor a 25^o C. En la figura 5.7 se representa ϕ_f en función de la temperatura en cada solvente. En OcoH y DecOH, a las temperaturas más bajas, los valores calculados por (5.32) fueron corregidos por la variación de la absorbancia con la temperatura, alcanzándose valores cercanos a 1. Por otra parte, si se representan isotermas de ϕ_f en función de η (fig.5.8), en donde la variación de η se debe exclusivamente al cambio de solvente, se observa que los valores de ϕ_f alcanzan, a viscosidades altas, un valor de saturación

Figura 5.7
 DOCI: fluorescencia vs. T

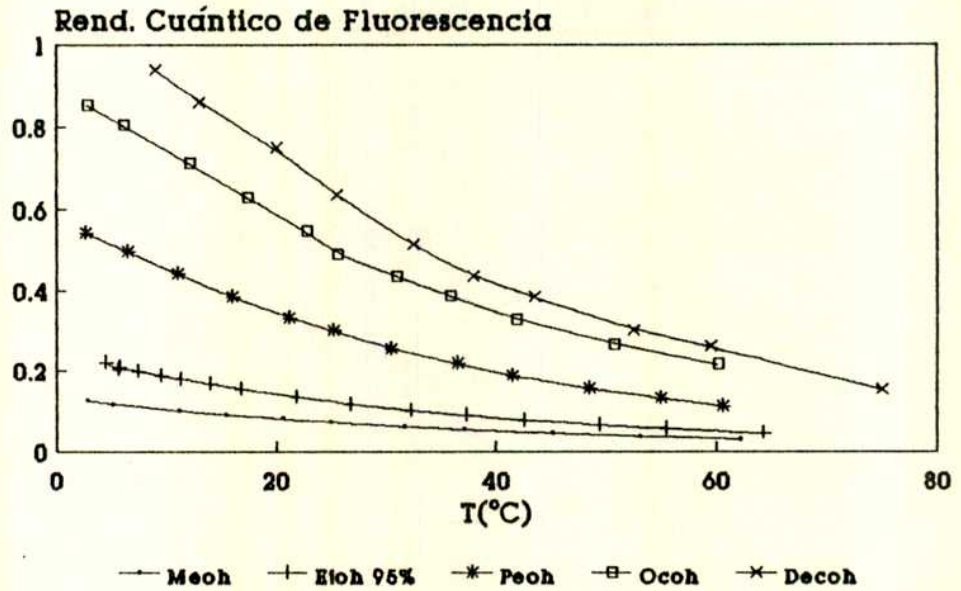
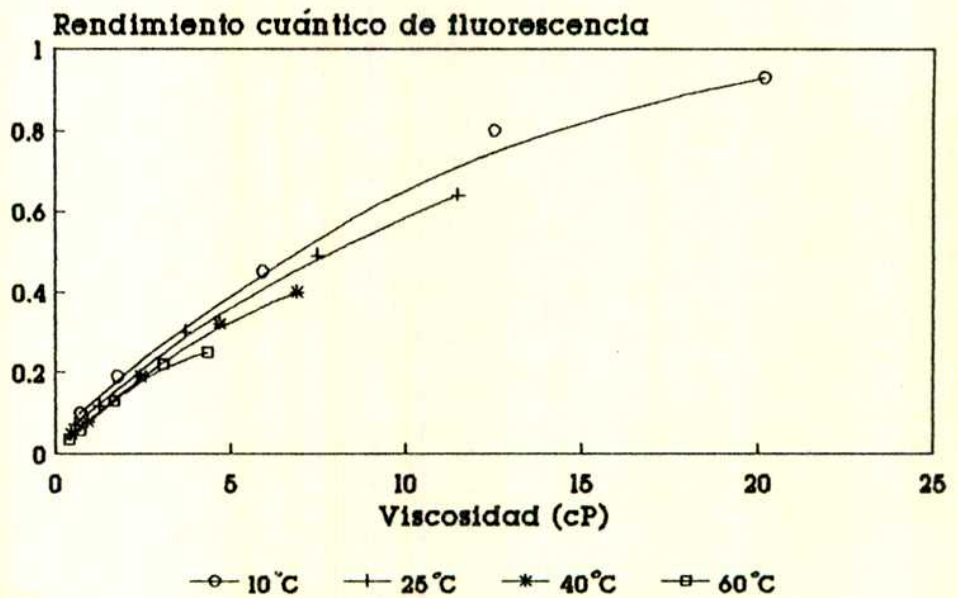


Figura 5.8
 DOCI: Isotermas Φ_f vs. Viscosidad.



(ϕ_{fmax}) cercano a 1. Esto indica que la constante de conversión interna no activada, k_{ci} , es despreciable en comparación con k_f . Dado que no se observaron cambios significativos en el valor de k_f al cambiar el solvente o la temperatura, suponemos que en todos los alcoholes estudiados es $\phi_{fmax} = 1$ y $k_{ci} \ll 10^8 \text{ s}^{-1}$.

-Constantes de velocidad (k_{Nt}):

Las constantes de velocidad k_{Nt} se calcularon mediante la relación 5.11, empleando el valor de k_f que aparece en la tabla 5.13, y con $\phi_{fmax} = 1$.

Los gráficos de $\ln(\phi_f^{-1} - 1)$ vs. $1/T$ son lineales en MeOH (fig.5.9), EtOH 95% y PeOH, en concordancia con la suposición $\phi_{fmax} = 1$. En OcOH y DecOH (fig.5.10) se obtienen curvas de concavidad negativa las cuales se atribuyen a que, a las temperaturas más bajas, ϕ_f se aproxima muy rápidamente al valor máximo 1, y $\ln(\phi_f^{-1} - 1)$ tiende a $-\infty$. Por ejemplo, en el caso de DecOH el valor obtenido para ϕ_f a 9°C , corregido por el cambio de la absorbancia con T , es 0.94, el cual posiblemente sea una sobreestimación del valor verdadero, proveniente de que el valor determinado a 25°C sea alto dentro del margen de error consignado.

-Energías de activación:

Para MeOH, EtOH y PeOH, en donde $\ln(\phi_f^{-1} - 1)$ es lineal con $1/T$, se calculó E_{Nt} de la pendiente de dichos gráficos. En todos los solventes se calculó E_{Nt} de la pendiente de $\ln(\phi_{prel}/\phi_f)$ vs. $1/T$, obteniéndose relaciones lineales. (fig.5.11). Los valores de ϕ_{prel} se calcularon mediante experiencias de fotólisis flash convencional en la forma descrita en la sección 5.3.7. Como ejemplo, en la figura 5.13 se representa ΔA_0 en función de E_{flash} para varias temperaturas en MeOH. El aumento de ϕ_{prel} con la temperatura, en paralelo con la disminución de ϕ_f , se observa en la figura 5.12.

En la tabla 5.3 se representan las energías de activación E_{Nt} calculadas según la igualdad (5.14), y se comparan con los valores obtenidos a partir de los gráficos de $\ln(\phi_f^{-1} - 1)$ vs. $1/T$ para MeOH, EtOH 95% y PeOH. Los

Figura 5.9: DOCl, estado excitado.
Gráfico de Arrhenius en MeOH

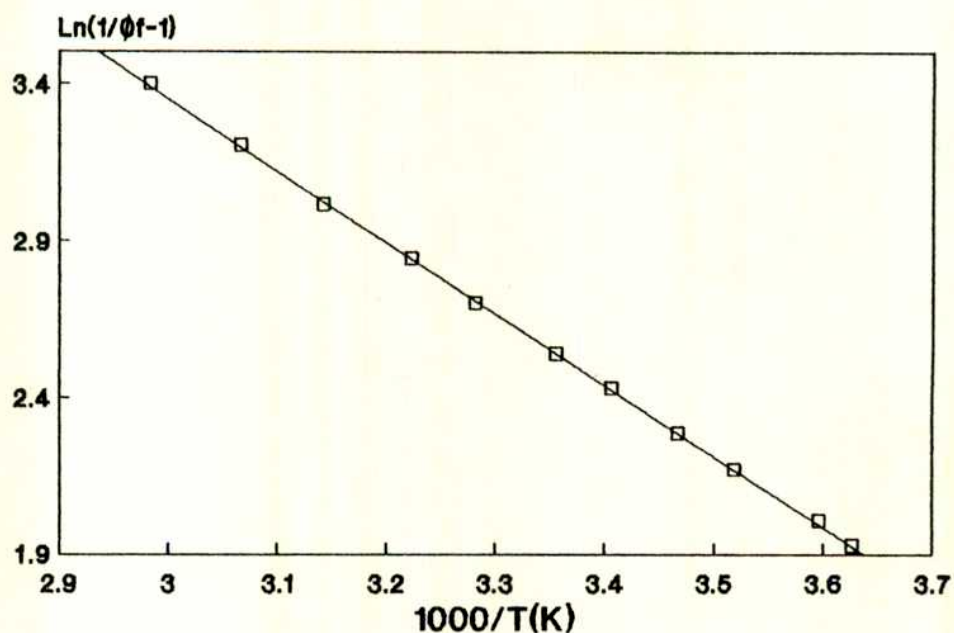


Figura 5.10: DOCl, estado excitado.
Gráfico de Arrhenius en DecOH

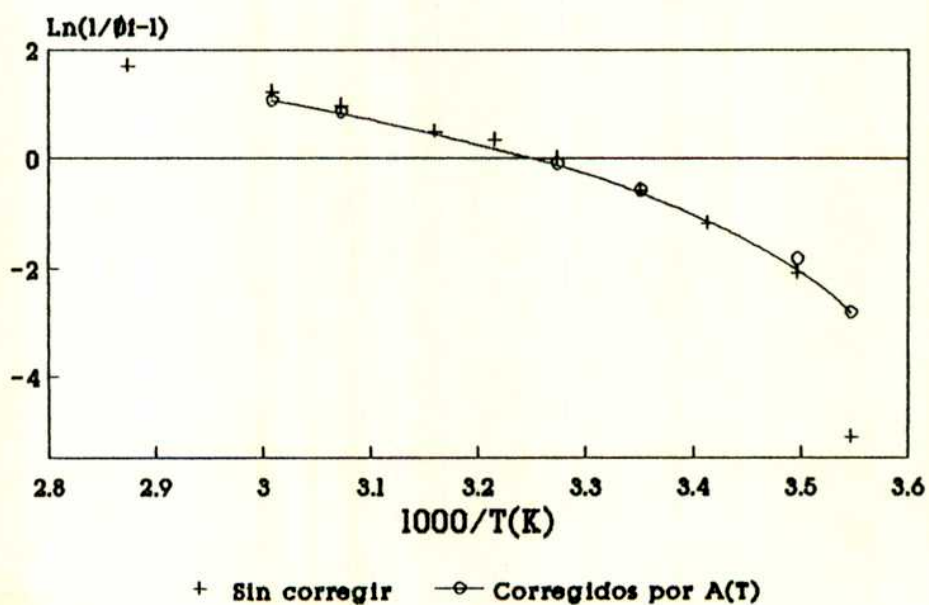


Figura 5.11
DOCI: $\ln(\phi_p/\phi_f)$ vs. $1/T$

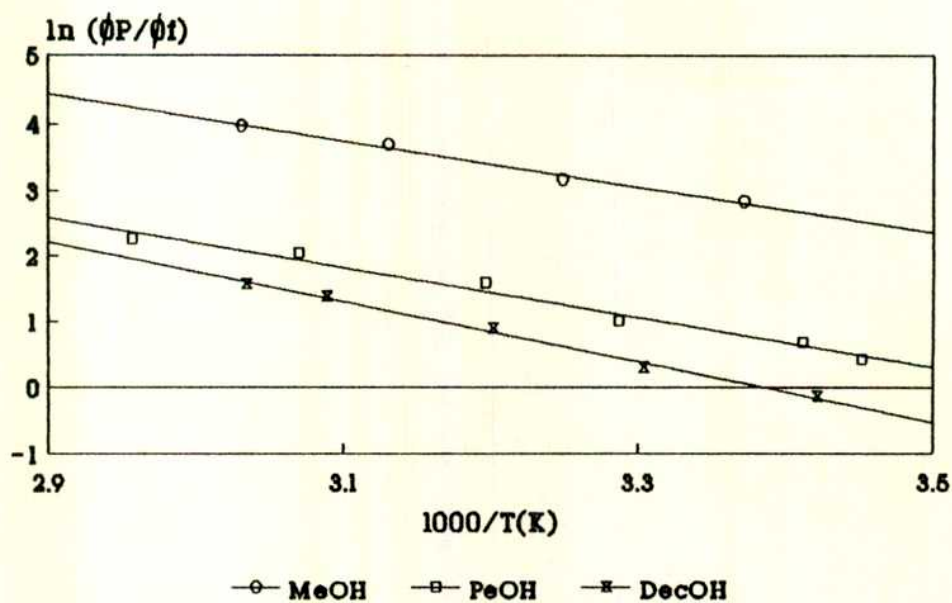


Figura 5.12
DOCI: Valores relativos de ϕ_p y ϕ_f
en OcoH.

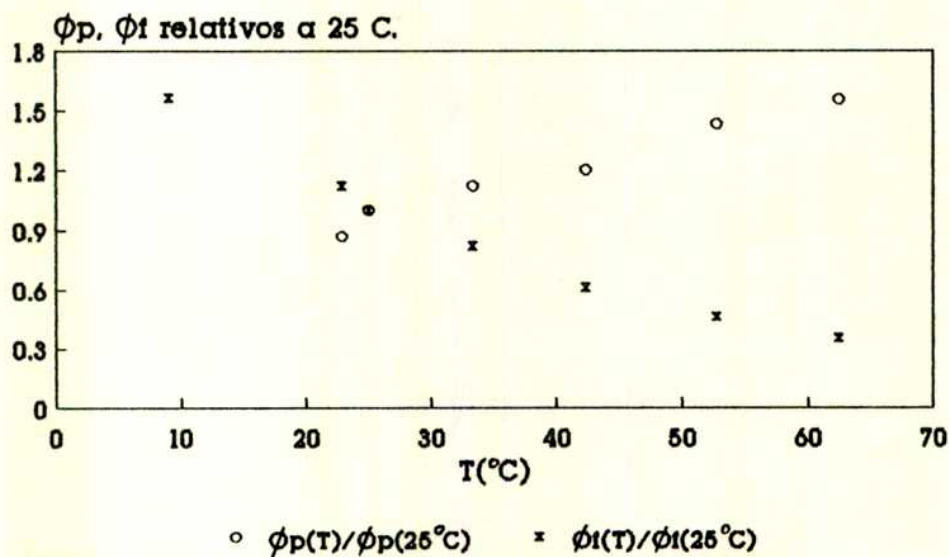
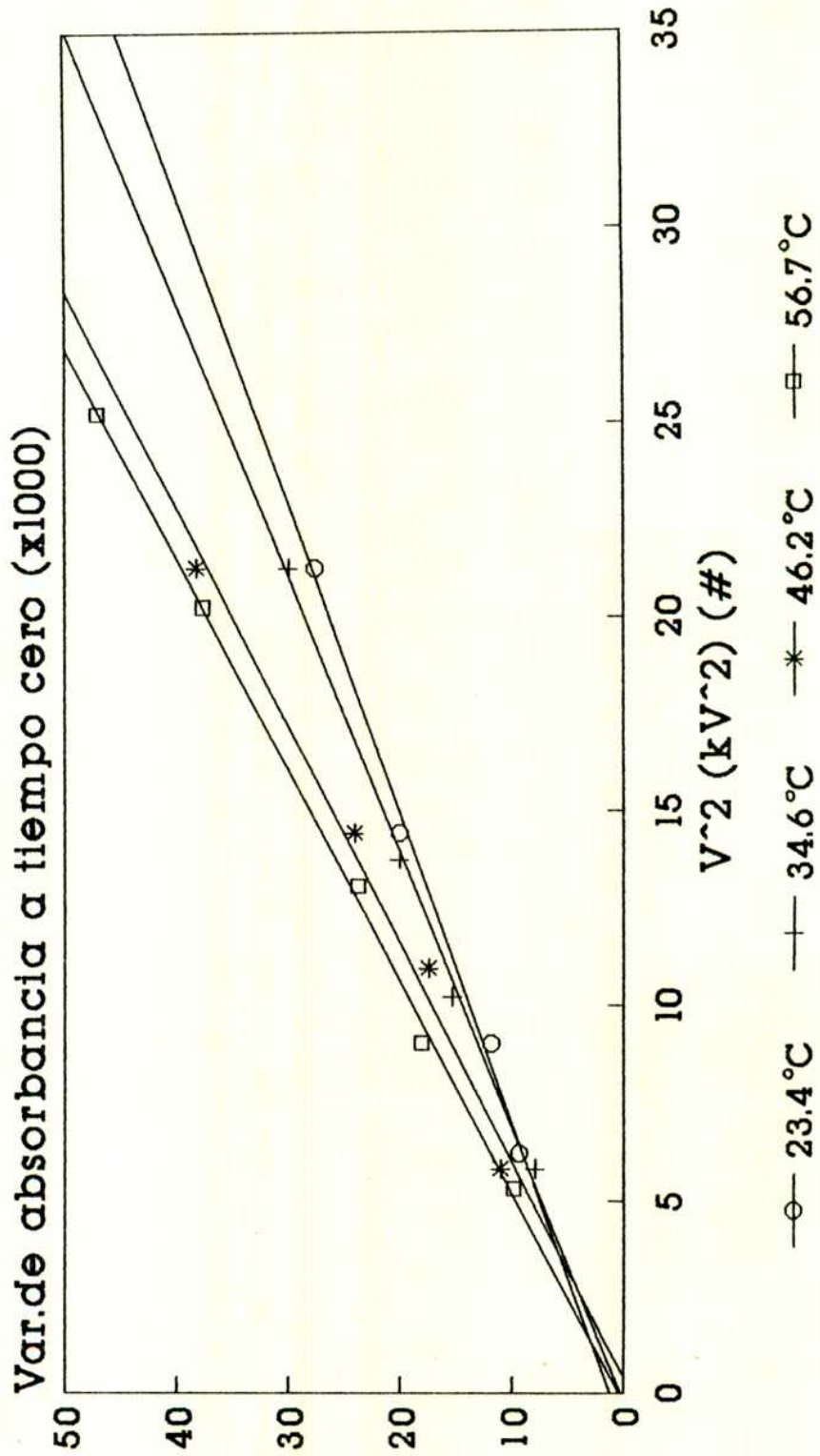


Figura 5.13
 DOCl: fotólisis flash en MeOH.
 C=1.4 μ M, Observación: 470 nm



valores coinciden dentro del error experimental, salvo para MeOH en donde el valor de E_{Nt} calculado por la ec. 5.14 parece sobreestimado. Por cuestiones de homogeneidad de la serie de datos se toma en MeOH el valor derivado sólo de los datos de fluorescencia (ec. 5.12).

- Energía de activación intrínseca (E_0):

Se obtuvo una relación lineal entre $\ln k_{Nt}$ y $1/T$ para puntos de igual viscosidad ($\eta=3cP$, gráfico de isoviscosidad) (fig.5.14). De la pendiente del gráfico de isoviscosidad se calculó la energía de activación intrínseca, obteniéndose el valor $E_0 = (10 \pm 1)$ kJ/mol. Este valor se confirma a otras viscosidad y coincide con el estimado suponiendo una relación lineal entre E_{Nt} y E_η y calculando la ordenada al origen (ec.5.28, fig.5.15). Tomando para MeOH el valor $E_{Nt} = 23.4$ kJ/mol (tabla 5.3) se obtiene una ordenada igual a (10 ± 5) kJ/mol.

-Modelo de Kramers:

Con el valor $E_0 = 10$ kJ/mol se calcularon constantes reducidas, k_{Nt}^* (ec.5.30), que se representan en función de la viscosidad en la fig.5.16. Los parámetros A y B de Kramers se obtuvieron utilizando la igualdad (5.31) y con estos valores se calcularon $(\omega'\tau_v)$ a 1 cP y ω_0 . El modelo reproduce muy bien los datos experimentales en todo el rango de viscosidades (fig.5.16 , tabla 5.4).

-Modelo empírico:

Se obtiene una relación lineal entre $\ln k_{Nt}^*$ y $\ln \eta$ (fig. 5.17) con pendiente 0.92 ± 0.02 y ordenada al origen 26.04 ± 0.02 (k_{Nt}^* en s^{-1}), descartando los valores correspondientes a las dos temperaturas más bajas en OcOH y DeCOH. Para dichas temperaturas las constantes reducidas toman valores muy bajos, debido posiblemente a que los valores de ϕ_f estén sobreestimados, como se indicó anteriormente (aún corrigiéndolos por la variación de absorbancia con T). Los valores de k_{Nt}^* fueron ajustados en todo el rango de viscosidades por la expresión empírica $k_{Nt}^* = \frac{D}{\eta^a}$ con $a=$

Figura 5.14: DOCl, estado excitado.
Gráfico de isoviscosidad (3 cP).

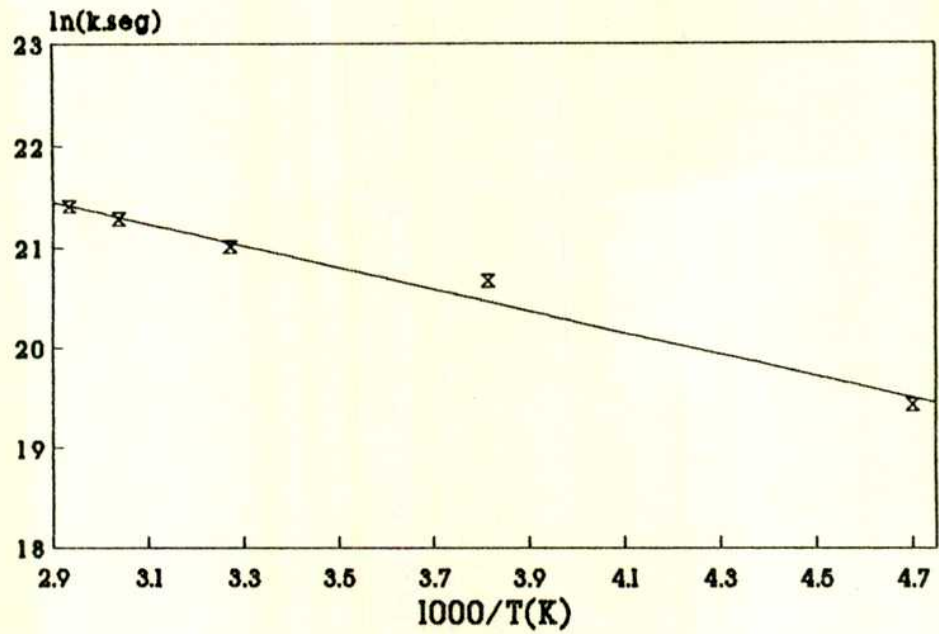


Figura 5.15: DOCl.
Energías de activación vs. E_γ

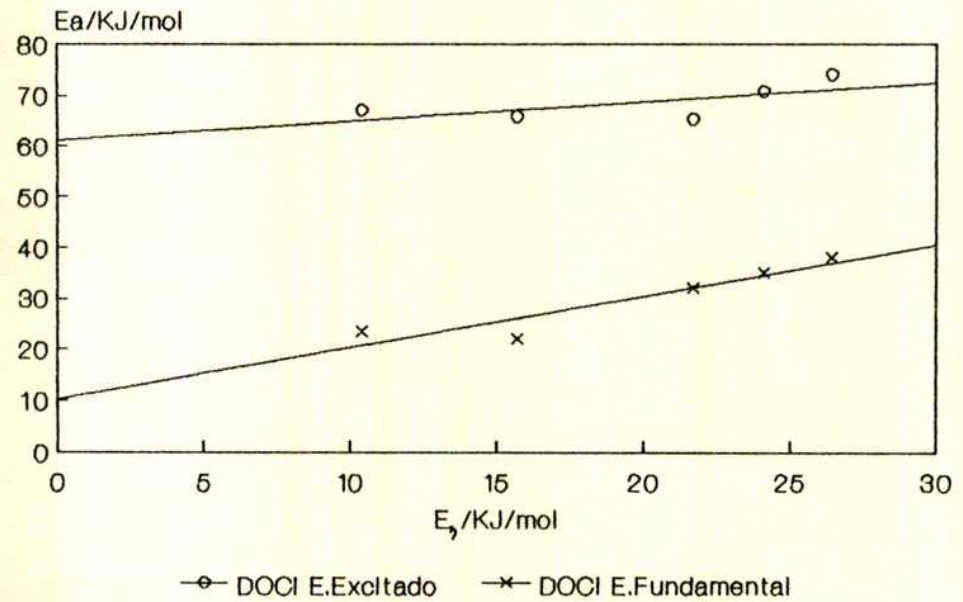


Figura 5.16: DOCl, estado excitado.
Constantes reducidas.

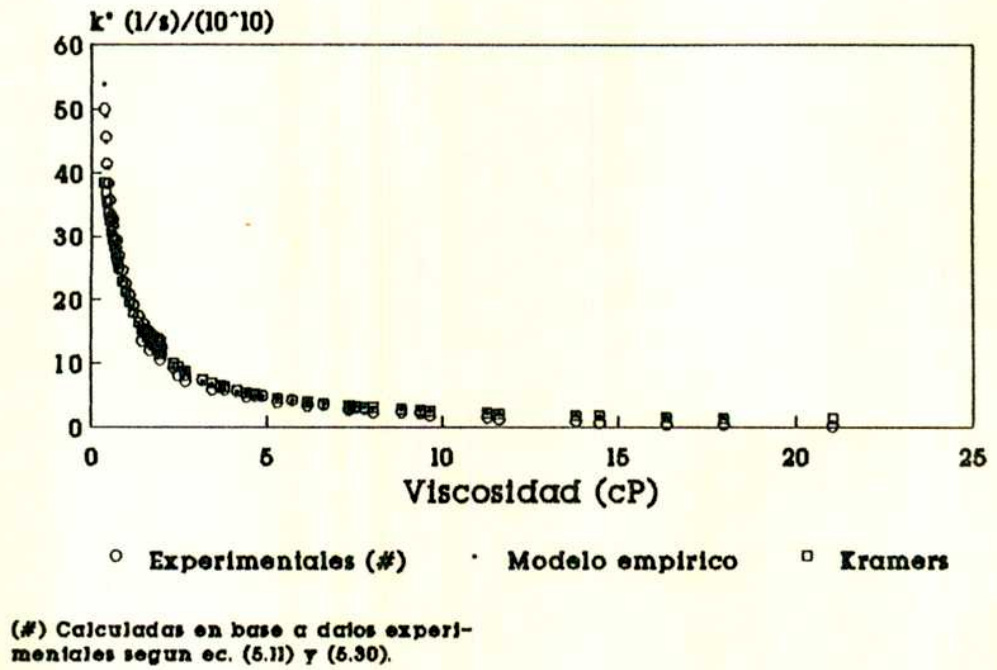
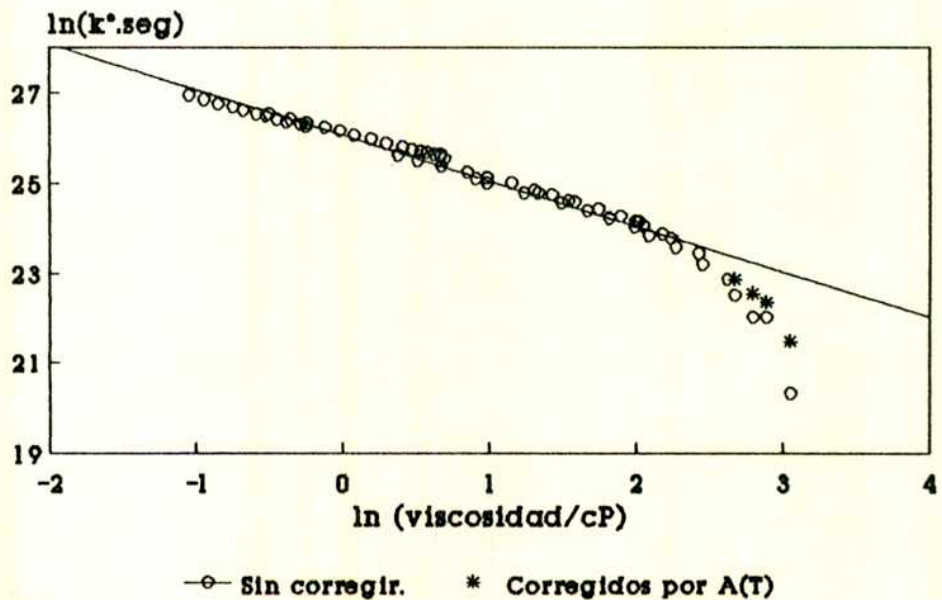


Figura 5.17
DOCl. Estado excitado. Modelo empírico.



0.92 y $D = 2.045 \cdot 10^{11} \text{ s}^{-1}$ (η en cP), obteniéndose también en este caso una excelente concordancia con los valores experimentales.

El valor elevado del parámetro empírico "a" se confirma también por el valor de la pendiente calculada suponiendo una relación lineal entre E_{Nt} y E_{η} : 1.0 ± 0.2 (tomando $E_{Nt} = 23.4 \text{ kJ/mol}$ en MeOH, fig.5.15)

Estado fundamental

-Constantes de velocidad y energías de activación:

Por fotólisis flash se midieron constantes de velocidad, k_{PN} , a diferentes temperaturas en todos los solventes y se calcularon energías de activación y factores preexponenciales según la ecuación de Arrhenius (tabla 5.3). En decanol se obtuvieron constantes de velocidad superiores a las registradas en octanol y pentanol, por lo cual las medidas en decanol no serán consideradas en el análisis siguiente. Probablemente este proceso presente algún efecto específico en DecOH.

Energía de activación intrínseca (E_0):

De los gráficos de isoviscosidad se calcularon valores de E_0 , obteniéndose $(65 \pm 2) \text{ kJ/mol}$ para $\eta = 3 \text{ cP}$ y $(66 \pm 4) \text{ kJ/mol}$ para $\eta = 1 \text{ cP}$. Suponiendo una relación lineal entre E_{PN} y E_{η} se obtuvo una ordenada al origen de $(61 \pm 3) \text{ kJ/mol}$ (fig. 5.15).

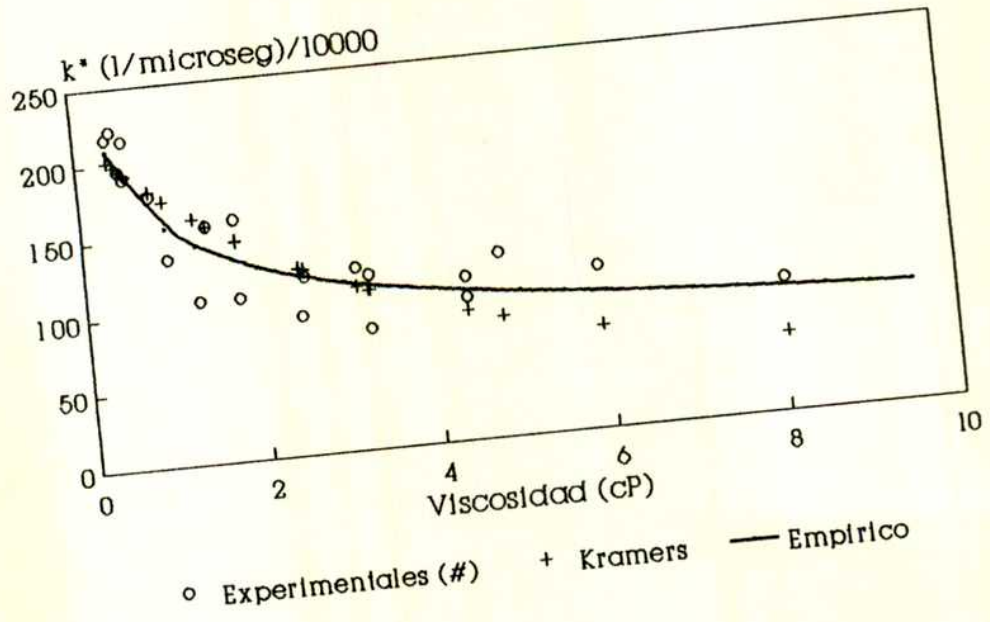
Modelo de Kramers:

Las constantes reducidas se calcularon suponiendo un valor de $E_0 = 65 \text{ kJ/mol}$, y se ajustaron en primer lugar por el modelo de Kramers, obteniéndose: $\omega_0 = (3.66 \pm 0.12) \cdot 10^{12} \text{ s}^{-1}$ y $(\omega' \tau_v) = 0.40 \pm 0.08$ a 1 cP (fig.5.18). k_{PN}^* presenta mucho más dispersión que k_{Nt}^* a pesar de ser una medida directa.

Modelo empírico:

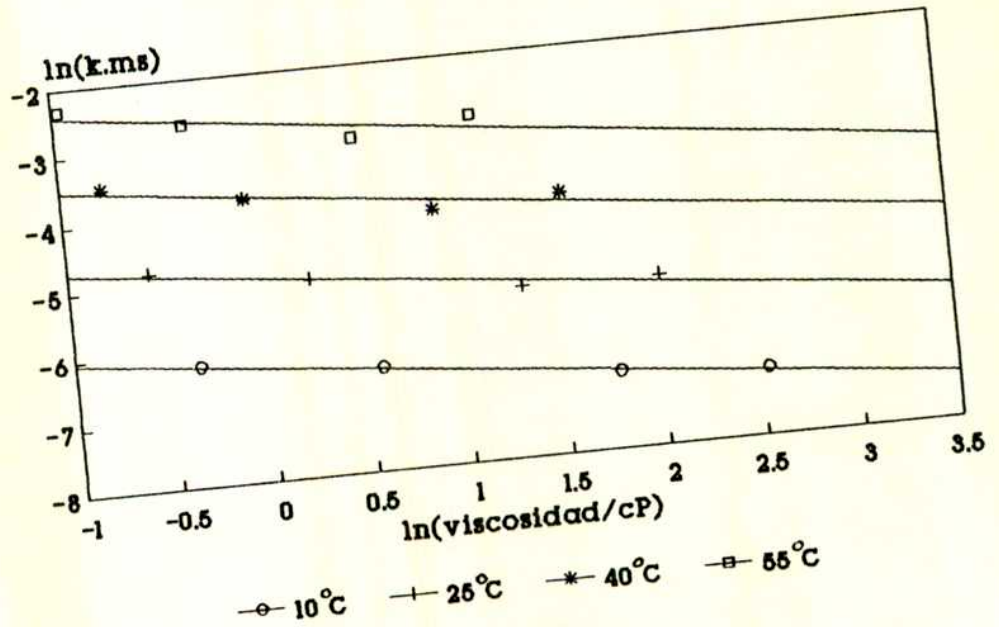
Los valores de k_{PN}^* se ajustaron también según el modelo empírico con $a =$

Figura 5.18: DOCl, estado fundamental.
Constantes reducidas.



(#) Calculadas en base a datos experimentales segun ec. (5.11) y (5.30)

Figura 5.19: DOCl, estado fundamental
Isotermas: ln k vs. ln (visc.)



0.30 ± 0.04 y $D = (1.55 \pm 0.3) 10^{12} \text{s}^{-1}$. Los valores de k_{PN}^* correlacionan mucho mejor con el modelo empírico que con el de Kramers (fig.5.18). El valor $a = 0.30$ se confirma por la pendiente de E_{PN} vs. E_{η} : 0.38 ± 0.2 , y de las pendientes de las isothermas de $\ln k_{PN}$ vs. $\ln \eta$ (ec. 5.25): 0.29 ± 0.01 (promedio pesado sobre cuatro temperaturas) (fig.5.19).

Espectros diferencia:

Mediante fotólisis flash convencional se obtuvo el espectro diferencia P-N en todos los solventes (fig. 5.20, en EtOH 95%).

Tabla 5.3 . DOCI: Propiedades dependientes del solvente.

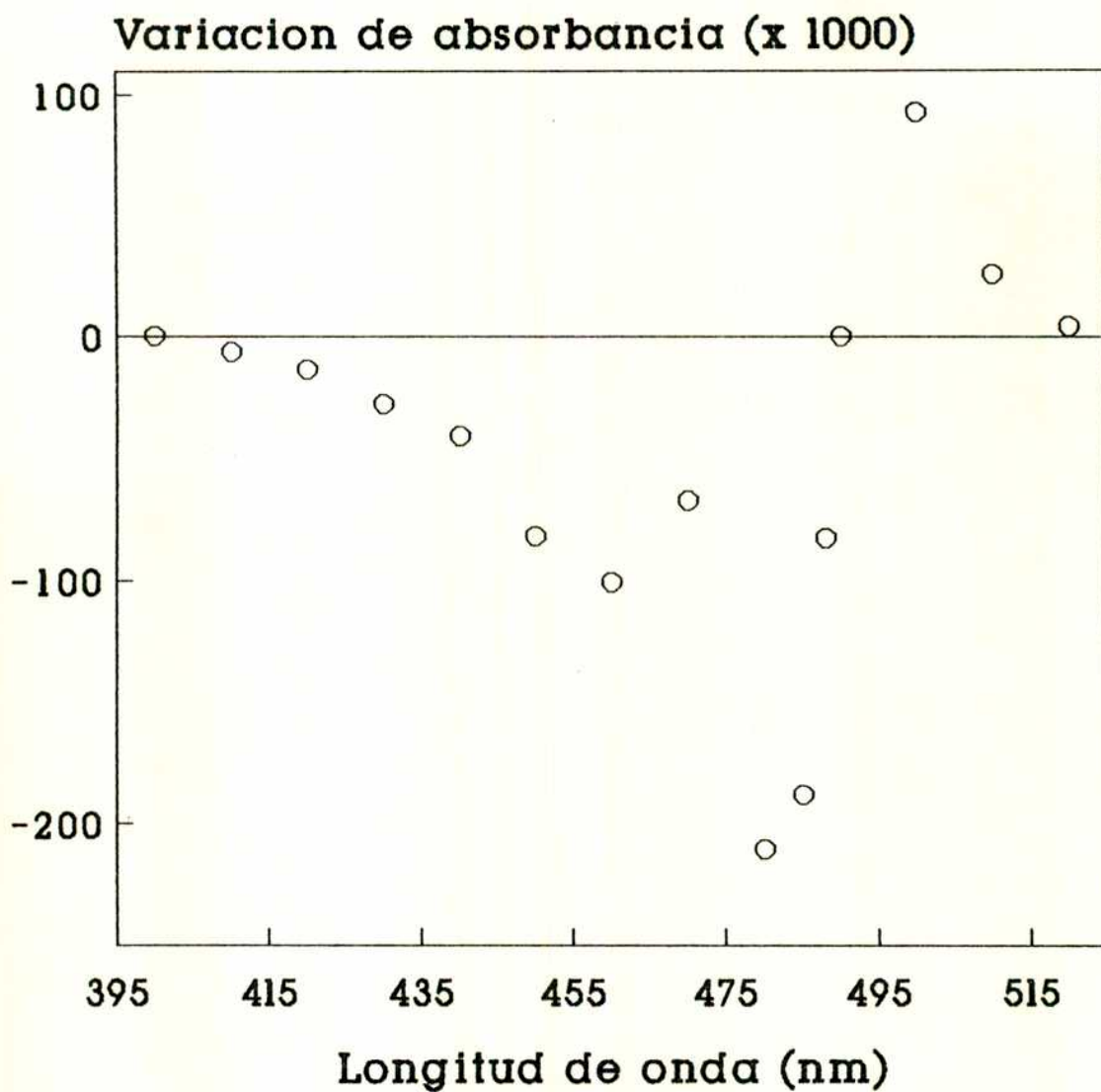
	Estado Excitado				Estado Fundamental	
	E_a (1) (kJ/mol)	E_a (2) (kJ/mol)	A (3) ($\times 10^{-12} \text{s}$)	ϕ_f (4)	E_a (5) (kJ/mol)	A (6) ($\times 10^{-12} \text{s}$)
MeOH	23.4 ± 0.1	29 ± 2	12	0.073	67 ± 2	4.56
EtOH	22.4 ± 0.2	22 ± 4	27	0.12	66 ± 3	2.03
PeOH	29.4 ± 0.3	32 ± 2	150	0.30	65 ± 3	1.07
OcOH		35 ± 2		0.49	71 ± 5	9.55
DecOH		38 ± 2		0.64	74 ± 4	56.6

(1): ec.(5.12). (2): ec. (5.14). (3): ec. (5.8) y (5.11). (4): a 25 °C
(5) y (6): ec. (5.16) y (5.17)

Tabla 5.4: DOCI: Propiedades independientes del solvente.

	E_0 (kJ/mol)	ω_0 ($\times 10^{-12} \text{s}$)	$(\omega' \tau_v)$ a 1cP	D ($\times 10^{-11} \text{s}$)
Estado Excitado	10 ± 1	3.7 ± 0.1	0.40 ± 0.09	0.92 ± 0.02 (2.04 ± 0.04)
Estado Fundamental	61 ± 2	13.9 ± 0.6	2 ± 1	0.30 ± 0.04 (16 ± 3)

Figura 5.20
DOCl: Espectro diferencia de
fotólisis flash en EtOH 95%.



Concentración: $0.93 \mu\text{M}$, $t=32 \text{ ms}$.
Camino óptico: 12 cm

5.5.2 DTCl

Estado excitado

- Rendimientos cuánticos de fluorescencia:

Los valores de ϕ_f a 25°C se midieron excitando las muestras a 530 nm. Para las demás temperaturas se midió I_L a 580 nm, relativa a su valor a 25°C, excitando a 560 nm. En la figura 5.21 se representa ϕ_f en función de la temperatura en cada solvente, y en la figura 5.22 se observan las isotermas de ϕ_f vs. η . De la variación de ϕ_f que se observa en dichas figuras sólo es posible afirmar que ϕ_{fmax} debe ser mayor que 0.5, pero no se puede obtener su valor.

- Gráficos de Arrhenius y energías de activación:

Para DTCl no se observaron desviaciones significativas de la linealidad en los gráficos de $\ln(\phi_f^{-1}-1)$ vs. $1/T$, en todos los solventes (fig.5.23 y 5.24 para MeOH y DecOH). Este hecho da una primera indicación de que $\phi_{fmax} \cong 1$.

Por otra parte las rectas de ΔA_0 vs E_{flash} para diferentes temperaturas (ec 5.33) resultaron, para cada solvente, coincidentes dentro del error experimental (fig.5.25). Es decir que no se pudieron detectar variaciones de ϕ_p con la temperatura en el intervalo considerado (20 a 60°C). De acuerdo con la igualdad (5.15) el hecho de no observar variaciones de ϕ_p con T indica que $E_{Nt}(\phi_f/\phi_{fmax})$ debe tomar valores suficientemente bajos. E_{Nt} puede estimarse de las pendientes de $\ln(\phi_f^{-1}-1)$ vs. $1/T$, obteniéndose valores entre 17 y 30 kJ/mol, los cuales son comparables, aunque un poco menores, a los obtenidos para DCl. Por lo tanto el no observar cambios de ϕ_p con T indica que ϕ_f está muy alejado de ϕ_{fmax} en el intervalo de temperaturas considerado. El valor de ϕ_{fmax} que satisface esta condición juntamente con que $\ln(\phi_f^{-1}-1)$ vs. $1/T$ es lineal en todos los solventes, es ϕ_{fmax} cercano a 1. En lo que sigue se considerará que $\phi_{fmax} = 1$. Dado que

Figura 5.21
DTCl: fluorescencia vs. T

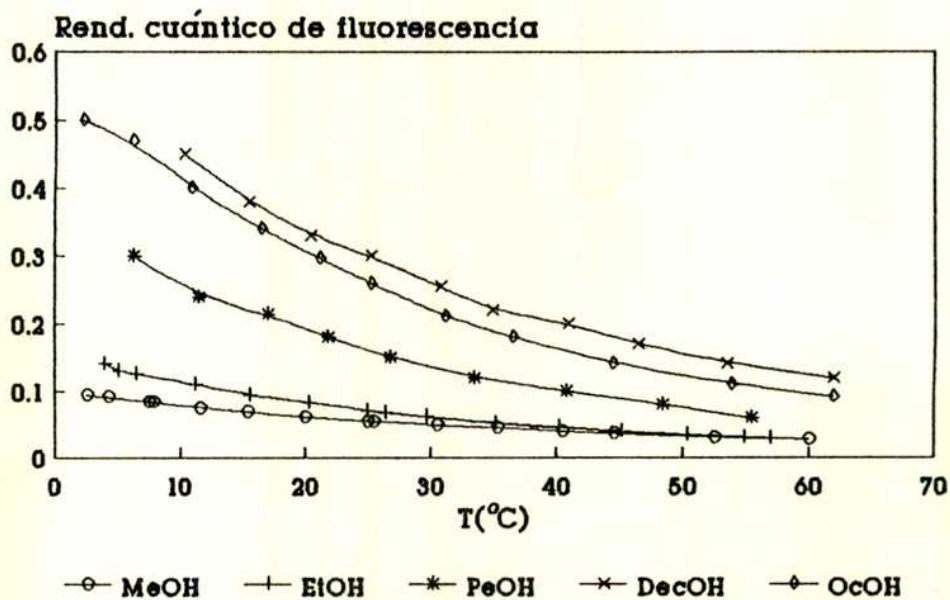


Figura 5.22
DTCl: Isotermas: ϕ_f vs. viscosidad

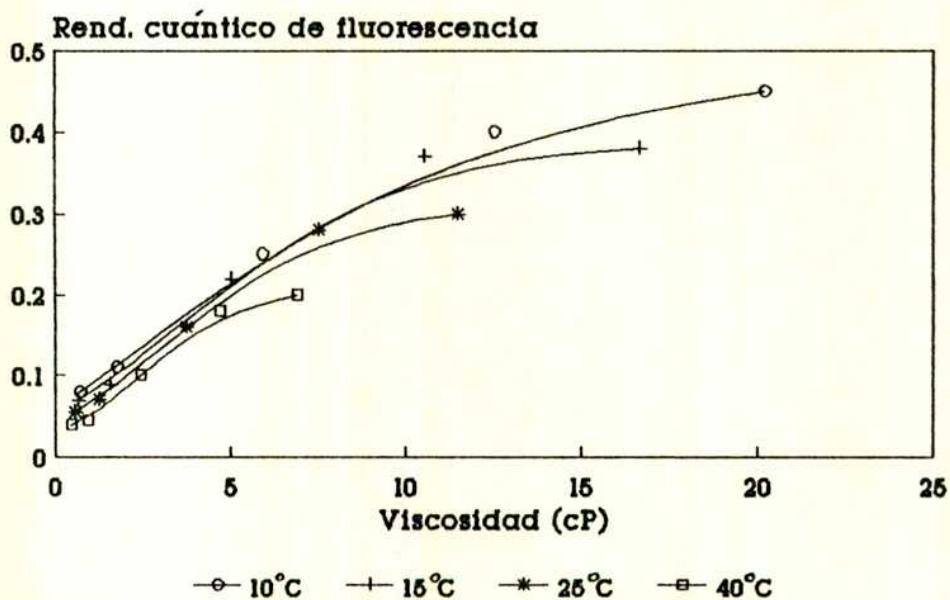


Figura 5.23: DTCl, estado excitado.
Gráfico de Arrhenius. MeOH.

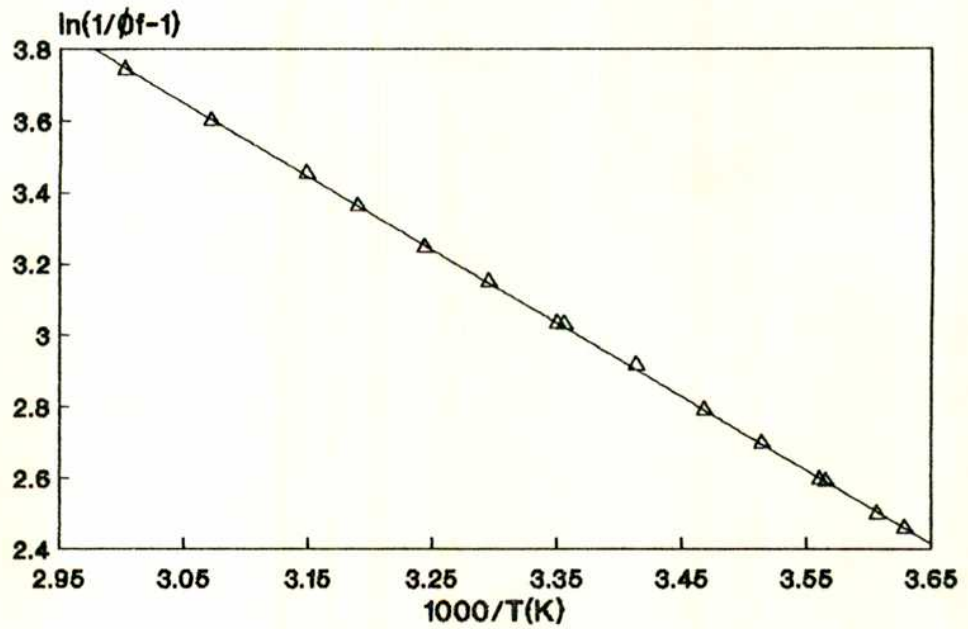


Figura 5.24: DTCl, estado excitado.
Gráfico de Arrhenius. DecOH

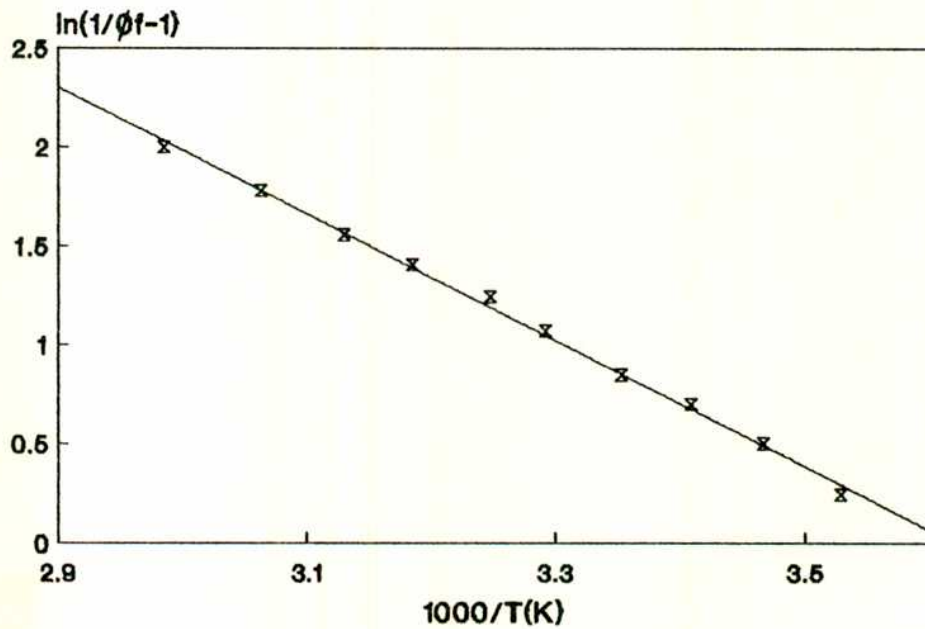
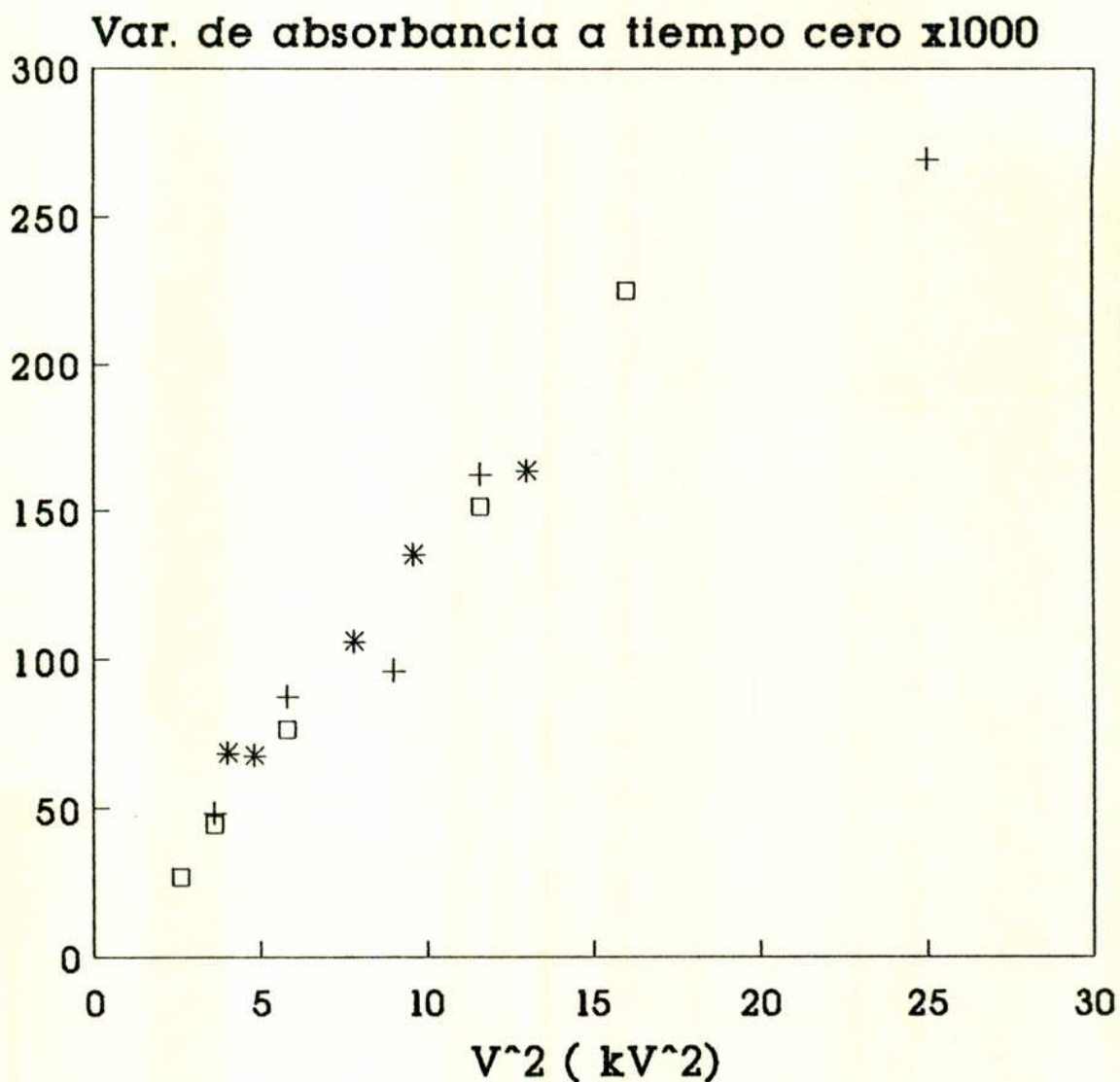


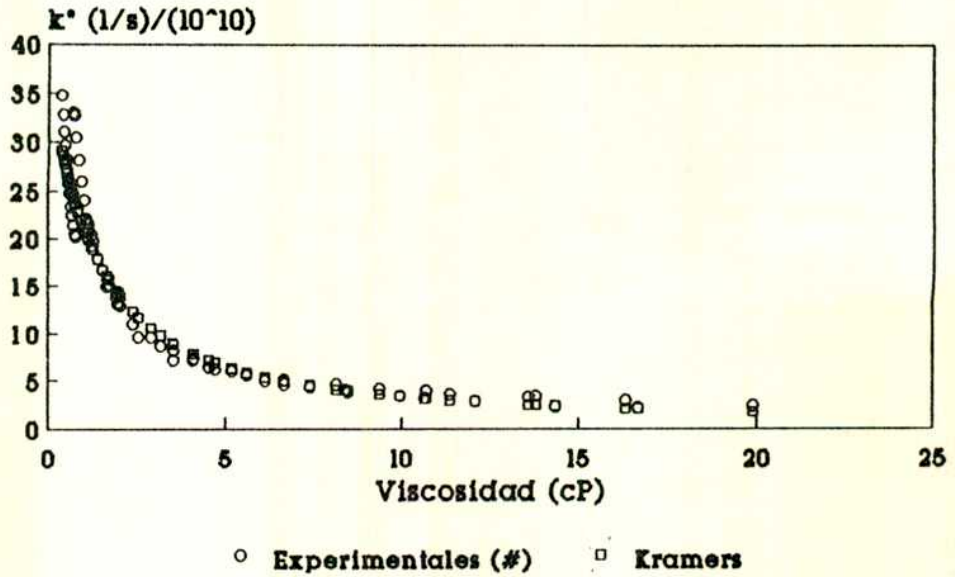
Figura 5.25
 DTCl: fotólisis flash (MeOH)
 C=3.5 μ M Observación: 570 nm



□ 23°C + 35°C * 42.1°C

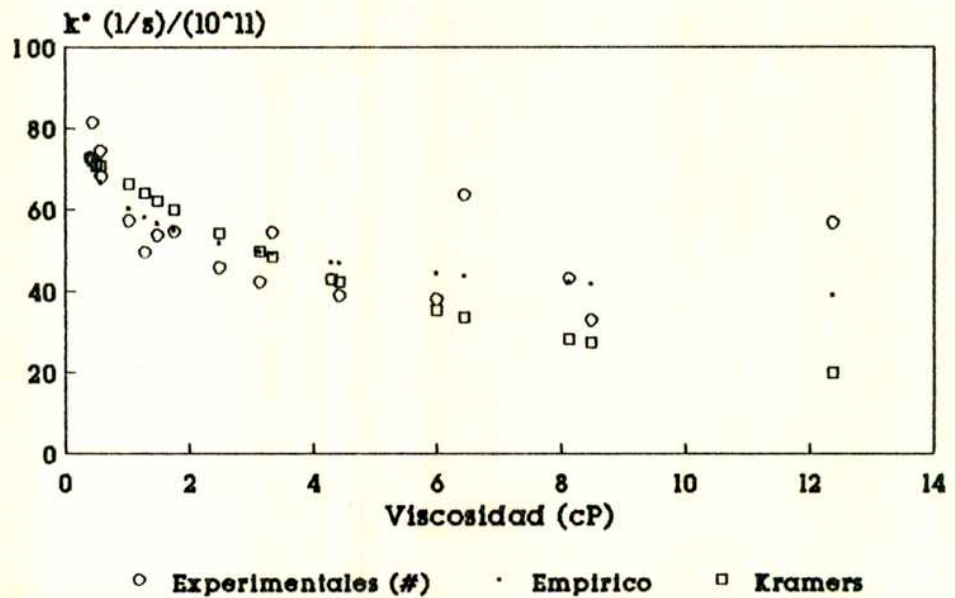
(#) V: voltaje de descarga, en kV.
 Camino óptico: 1 cm

Figura 5.26: DTCl, estado excitado.
Constantes reducidas.



(#) Calculadas en base a datos experimentales segun ec. (5.11) y (5.30)

Figura 5.27: DTCl, estado fundamental.
Constantes reducidas



(#) Calculadas segun (5.30)

en la ecuación para el cálculo de E_{Nt} (ec. (5.12)) aparece una dependencia logarítmica, la influencia de ϕ_{fmax} en el valor de E_{Nt} no será significativa (ver tabla 5.5)

- Constantes reducidas:

Las constantes reducidas k_{Nt}^* se calcularon con $E_o = 10$ kJ/mol y $\phi_{fmax} = 1$. Los valores se ajustaron según los modelos de Kramers y empírico. (fig. 5.26). Ambos modelos ajustan muy bien los valores calculados de k_{Nt}^* . El valor del parámetro empírico "a" coincide con el calculado mediante las igualdades (5.28) y (5.25) (ver tabla 5.6).

Estado fundamental

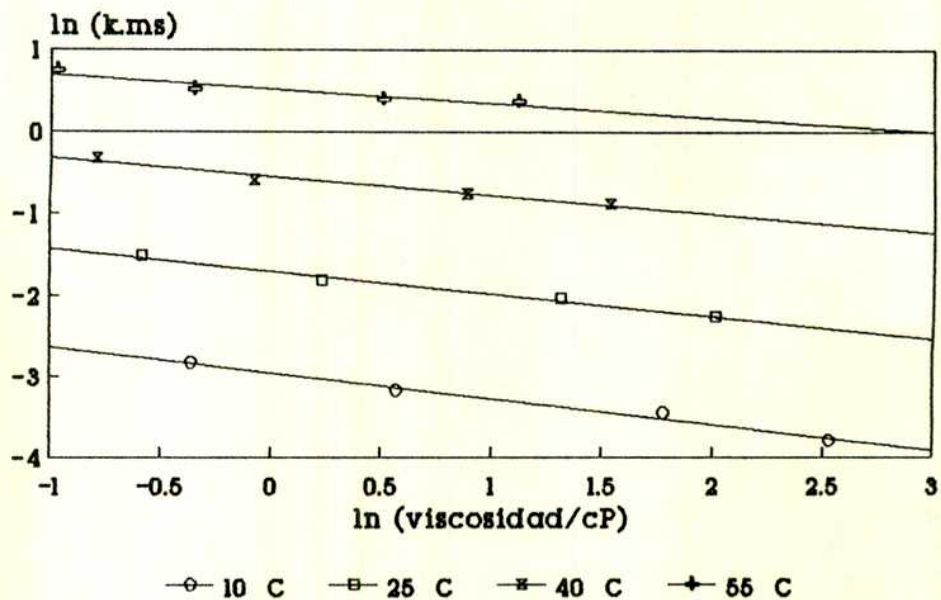
Se obtuvieron gráficos de Arrhenius lineales y se calcularon energías de activación y factores preexponenciales para k_{PN} . Igual que para el DOCI, se midieron constantes de velocidad anormalmente elevadas en decanol. Se obtuvieron relaciones de isoviscosidad lineales y se calcularon constantes reducidas en la forma usual. Los valores se ajustan mucho mejor por el modelo empírico que por el de Kramers (fig.5.27). Las isoterms de $\ln k_{PN}$ vs. $\ln \eta$ confirman estos resultados (fig.5.28, tabla 5.6). El espectro diferencia en MeOH se observa en la figura 5.29.

Tabla 5.5 . DTICI: Propiedades dependientes del solvente.

	Estado Excitado			Estado Fundamental		
	E_a (1) (kJ/mol)	E_a (2) (kJ/mol)	A (3) ($\times 10^{-12}$ s)	ϕ_f (4)	E_a (5) (kJ/mol)	A (6) ($\times 10^{-12}$ s)
MeOH	17.32 ± 0.07		6.66	0.055	61 ± 2	12.8
EtOH	23.7 ± 0.2		8.72	0.071	63 ± 5	21.2
PeOH	28.0 ± 0.4		42.4	0.16	66 ± 3	47.9
OcOH	30.4 ± 0.5		16.4	0.28	72 ± 3	375
DecOH	26.5 ± 0.6		24.9	0.30		

(1): ec.(5.12). (2): ec. (5.14). (3): ec. (5.8) y (5.11). (4): a 25 °C.
(5) y (6): ec. (5.16) y (5.17)

Figura 5.28: DTCl. Estado fundamental.
Isotermas de $\ln(k)$ vs. $\ln(\text{viscosidad})$.



Se excluye DecOH

Figura 5.29
DTCl: Espectro diferencia de
fotólisis flash en EtOH 95%.

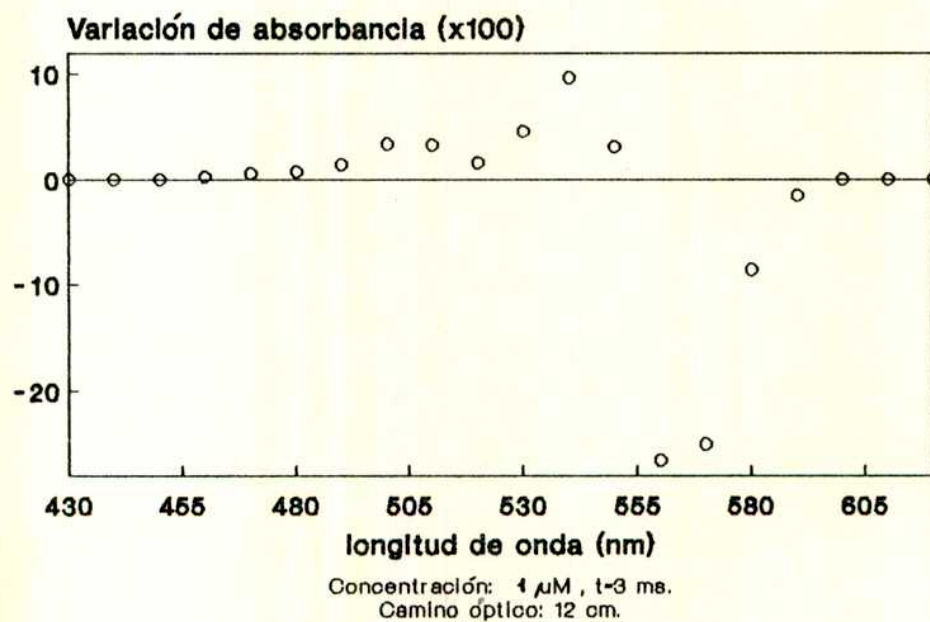


Tabla 5.6. DTCl: Propiedades independientes del solvente.

	E_0 (kJ/mol)	ω_0 ($\times 10^{-12}$ e)	$(\omega' \tau_v)$ a 1cP	α	D ($\times 10^{-11}$ e)
Estado Excitado	10 ± 1	2.20 ± 0.06	0.9 ± 0.2	0.82 ± 0.01	2.3 ± 0.2
Estado Fundamental	60 ± 1	48 ± 2	3.5 ± 2.7	0.17 ± 0.04	60 ± 12

5.5.3 DODCI

Las propiedades fotofísicas del DODCI, tanto para el estado excitado como para el fundamental, han sido extensamente estudiadas con anterioridad (52, 53, 54, 87-89). En el presente estudio se midieron rendimientos cuánticos de fluorescencia en función de la temperatura en todos los alcoholes utilizados, con el fin de comprobar la metodología de trabajo empleada. Los valores medidos coinciden con los informados por varios autores (54, 81). Los parámetros fotofísicos de DODCI, obtenidos de bibliografía, serán utilizados en el estudio comparativo de las cianinas en la sección 5.6.

5.5.4 DTDCI

Estado excitado

-Rendimientos cuánticos de fluorescencia:

Los valores de ϕ_f a 25°C se midieron excitando las muestras a 630 nm. Para las demás temperaturas se midió I_L a 700 nm, relativa a su valor a 25°C, excitando a $\lambda_{exc} = 655$ nm. Si bien λ_{exc} es mayor que la longitud de onda hasta la cual el espectrofluorómetro corrige por la variación espectral de la intensidad de la lámpara (620 nm, sección 2.4), el valor de ϕ_f obtenido en MeOH a 20°C coincide, dentro del error de la determinación,

con el informado en la bibliografía (tabla 5.1). En la figura 5.30 se representa ϕ_f en función de la temperatura en cada solvente y en la figura 5.31 se observan las isothermas de ϕ_f vs. η . En este caso se observa claramente que $\phi_{fmax} < 1$, ubicándose en el intervalo $\cong 0.60-0.70$.

-Gráficos de Arrhenius, y energías de activación:

Los gráficos de $\ln(\phi_f^{-1}-1)$ vs. T son lineales en MeOH y EtOH 95%, y a partir de PeOH presentan curvaturas como las predichas por la ec. (5.9), más pronunciadas para los solventes más viscosos. Para $\ln(\phi_f^{-1}-\phi_{fmax}^{-1})$ vs. T se obtienen relaciones lineales en todos los casos, (fig.5.32) con ϕ_{fmax} entre 0.6 y 0.7 según el solvente.

También se obtienen relaciones lineales para $\ln(\phi_{p\ rel.}/\phi_f)$ vs $1/T$. (fig. 5.33). Las energías de activación E_{Nt} se calcularon, para cada solvente, a partir de las pendientes de $\ln(\phi_f^{-1}-\phi_{fmax}^{-1})$ vs. T y de $\ln(\phi_{p\ rel.}/\phi_f)$ vs $1/T$.

- Constantes reducidas:

Las constantes reducidas se calcularon con $E_0 = 24$ kJ/mol, valor obtenido de los gráficos de isoviscosidad.

El modelo de Kramers no reproduce bien los valores de k_{Nt}^* . En cambio el modelo empírico presenta un ajuste excelente. (fig. 5.34). El valor del parámetro empírico "a" (tabla 5.8) coincide con el calculado de las isothermas de $\ln k_{Nt}$ vs. $\ln \eta$.

Estado fundamental

Los parámetros de Arrhenius se representan en la tabla 5.7. Las constantes reducidas se calcularon con el valor $E_0 = 46.6$ kJ/mol (tabla 5.8) obtenido de los gráficos de isoviscosidad. El modelo de Kramers no ajusta los valores de k_{pN}^* (fig.5.35), presentando las mismas desviaciones sistemáticas que para el estado excitado. El modelo empírico presenta en

Figura 5.30
DTDCI: fluorescencia vs. T

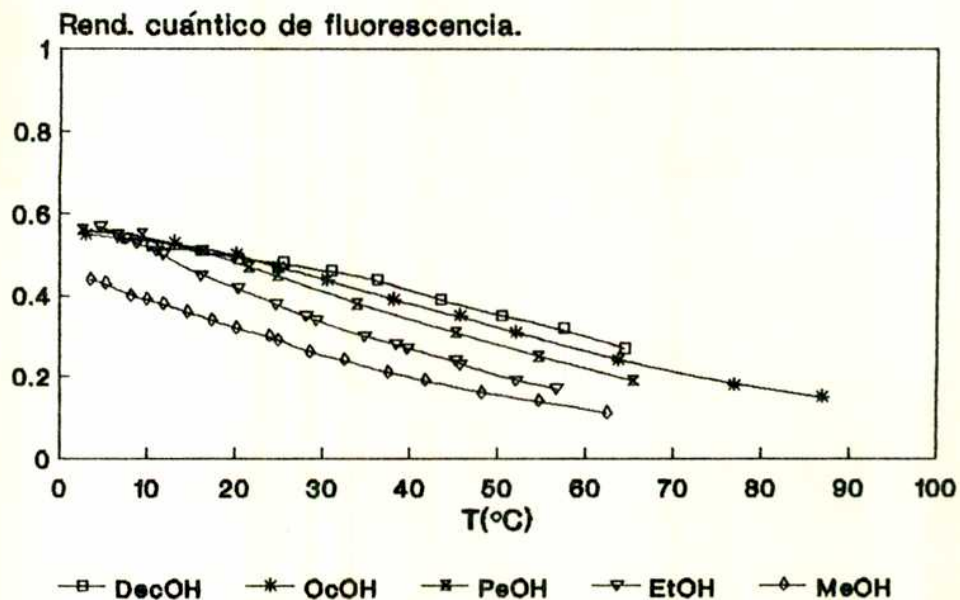


Figura 5.31
DTDCI: Isotermas ϕ_f vs. viscosidad

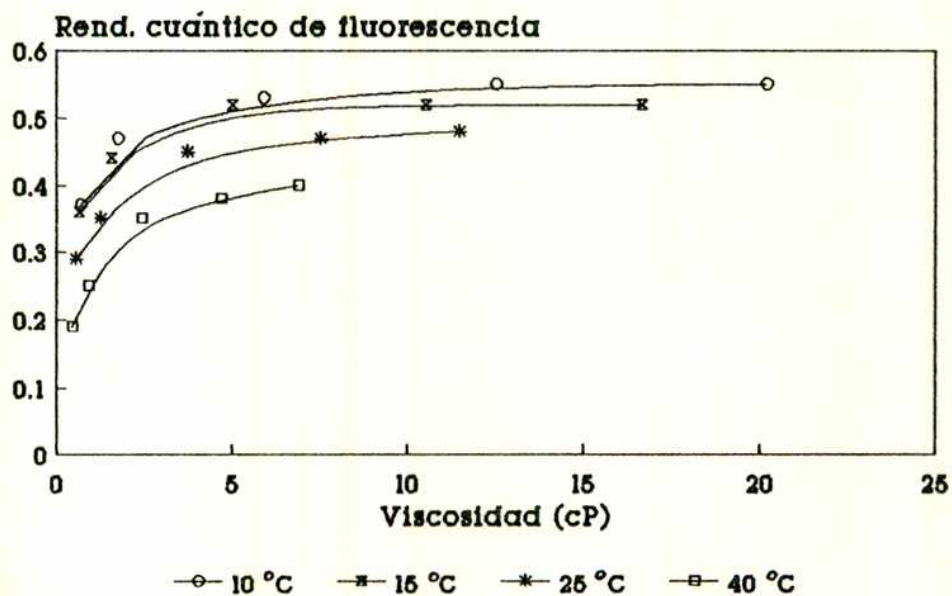


Figura 5.32: DTDCI, estado excitado
Gráfico de Arrhenius en MeOH

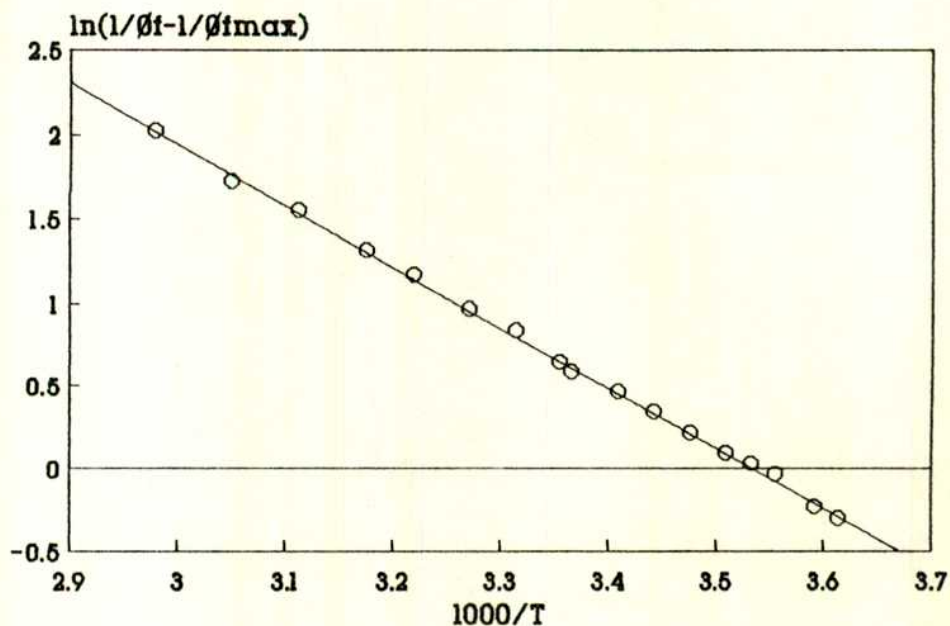


Figura 5.33
DTDCI: $\ln(\theta_p/\theta_f)$ vs. $1/T$

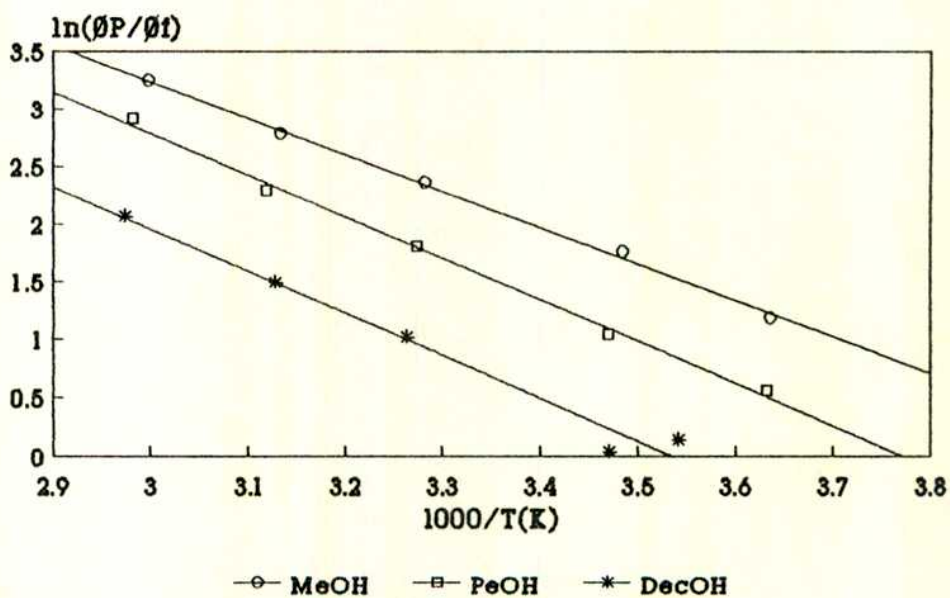
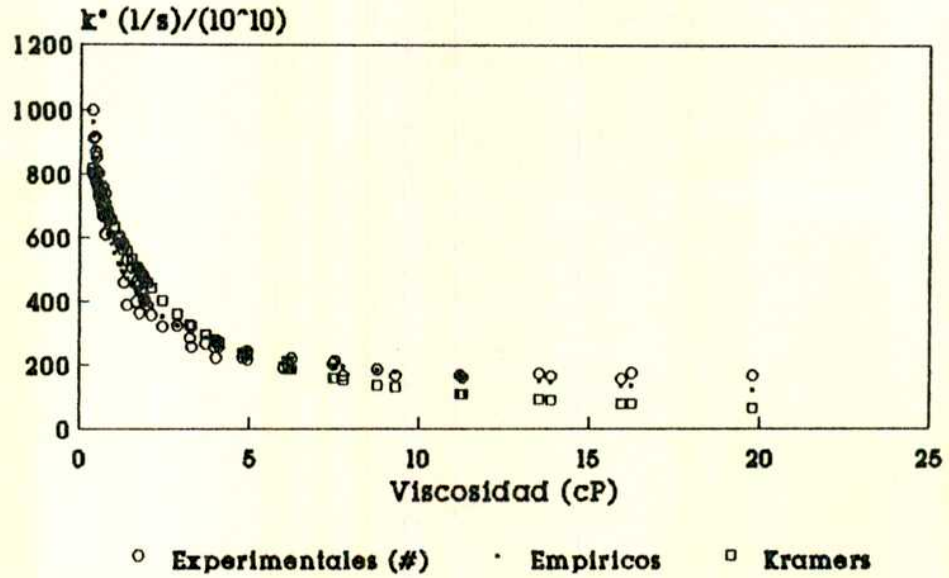
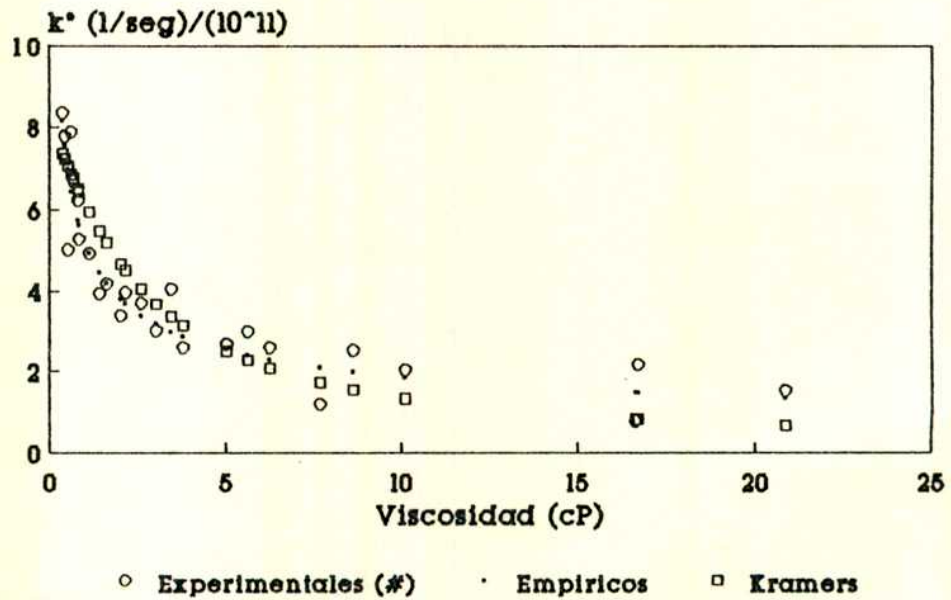


Figura 5.34: DTDCI, estado excitado.
Constantes reducidas.



(#) Calculadas en base a datos experimentales segun ec. (5.11) y (5.30).

Figura 5.35: DTDCI, estado fundamental.
Constantes reducidas.



(#) Calculadas segun (5.30).

cambio una buena correlación, coincidiendo aproximadamente el valor de "a" con el valor de la pendiente de las isotermas de $\ln k_{PN}$ vs. $\ln \eta$ (tabla 5.8).

Tabla 5.7 . DTDCI: Propiedades dependientes del solvente.

	Estado Excitado				Estado Fundamental	
	E_a (1)	E_a (2)	A (3)	ϕ_f (4)	E_a (5)	A (6)
	(kJ/mol)	(kJ/mol)	($\times 10^{-12}$ s)		(kJ/mol)	($\times 10^{-12}$ s)
MeOH	30.3 ± 0.2	26.7 ± 0.8	95	0.29	50 ± 3	2.6
EtOH	33.4 ± 0.3	27.0 ± 0.4	238	0.35	55 ± 2	11.9
PeOH	35.0 ± 0.8	30.0 ± 1.1	228	0.45	60 ± 4	50.1
OcOH	33.1 ± 0.4	30.0 ± 0.6	79	0.47	56 ± 3	9.6
DecOH	30.9 ± 0.8	30.4 ± 2.6	27	0.48	59 ± 2	32.3

(1): ec.(5.12). (2): ec. (5.14). (3): ec. (5.8) y (5.11). (4): a 25 °C.
(5) y (6): ec. (5.15) y (5.16)

Tabla 5.8. DTDCI: Propiedades independientes del solvente.

	E_0 (kJ/mol)	ω_0 ($\times 10^{-12}$ s)	$(\omega' \tau_v)$ a 1cP	D ($\times 10^{-11}$ s)	
Estado Excitado	24 ± 1	58 ± 2	1.3 ± 0.5	0.51 ± 0.01	56 ± 6
Estado Fundamental	46.6 ± 0.1	5.1 ± 0.2	1.7 ± 0.9	0.44 ± 0.04	5 ± 1

5.5.5 HIDCI

Estado excitado

- Rendimientos cuánticos de fluorescencia:

Los valores de ϕ_f a 25°C se midieron excitando las muestras a 600 nm. Para las demás temperaturas se midió I_L a 660 nm, relativa a su valor a 25°C, excitando a 600 nm. En la figura 5.36 se representa ϕ_f en función de la temperatura en cada solvente y en la figura 5.37 se observan las isoterms de ϕ_f vs. η .

- Gráficos de Arrhenius y energías de activación:

Los gráficos de Arrhenius $\ln(\phi_f^{-1}-1)$ vs. $1/T$ son lineales en MeOH y EtOH 95%. En los demás casos se presentan curvaturas como las predichas por la ec. (5.9). Para $\ln(\phi_f^{-1}-\phi_{fmax}^{-1})$ se obtienen relaciones lineales en todos los solventes con $\phi_{fmax} = 0.60$. También se obtienen relaciones lineales para $\ln(\phi_p/\phi_f)$ vs. $1/T$ (salvo en el caso de DecOH en donde la muestra se degrada por irradiación flash) y para los gráficos de isoviscosidad (ver tabla 5.9).

- Constantes reducidas:

Las constantes reducidas (fig.5.38) se calcularon con $E_0 = 20$ kJ/mol obtenido de los gráficos de isoviscosidad. El modelo de Kramers ajusta bien los valores de k_{Nt}^* en todo el rango de viscosidades, aunque la dispersión de los datos es mayor que para los demás compuestos en el estado excitado. El modelo empírico también presenta un buen ajuste, coincidiendo el valor del parámetro empírico con el calculado de las isoterms $\ln k_{Nt}$ vs. $\ln \eta$ (ver tabla 5.10).

Estado fundamental

Los parámetros de Arrhenius se representan en la tabla 5.9. Las constantes reducidas se calcularon con $E_0 = 47$ kJ/mol. La dispersión de los

Figura 5.36
HIDCl: fluorescencia vs. T

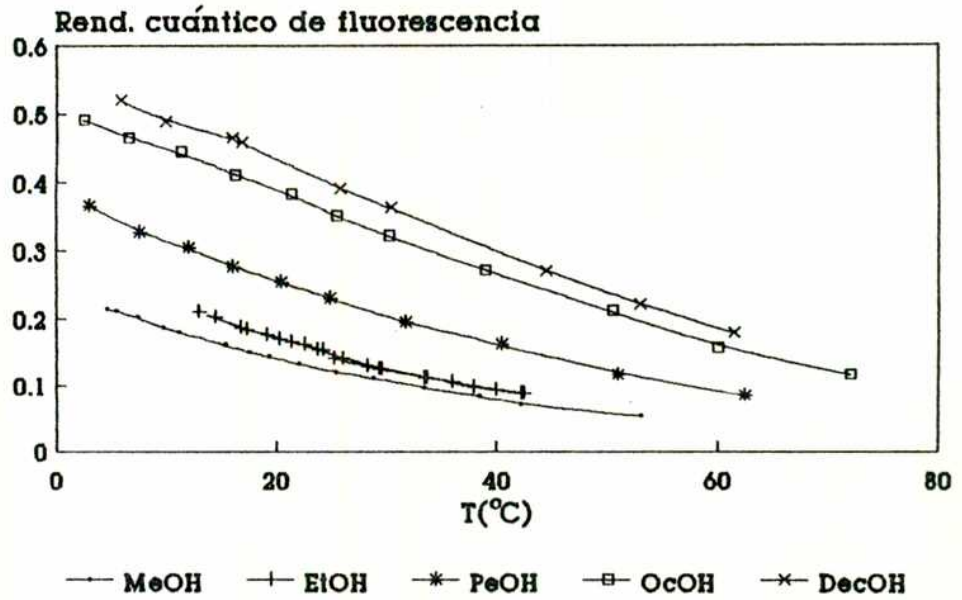


Figura 5.37.
HIDCl: Isotermas: ϕ_f vs. viscosidad

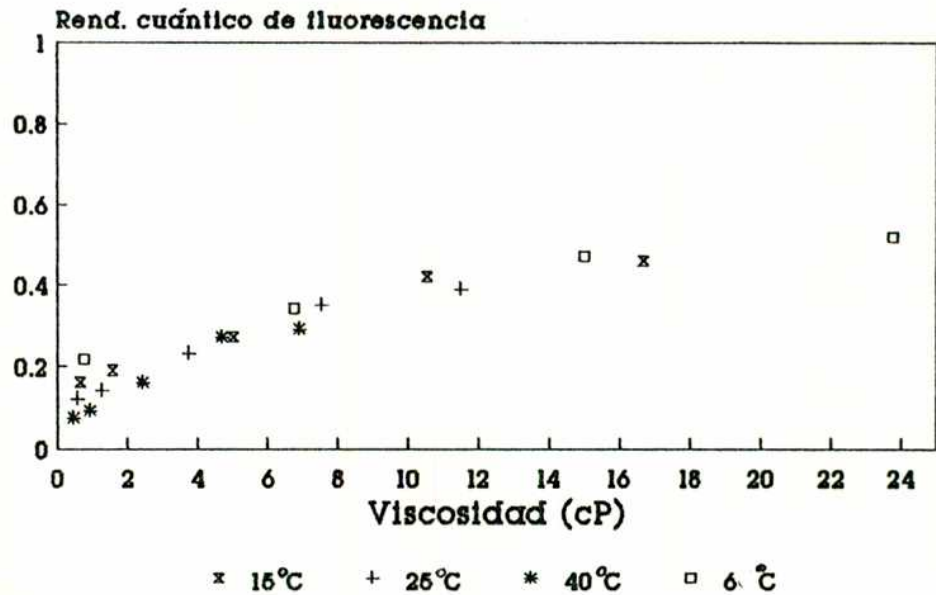
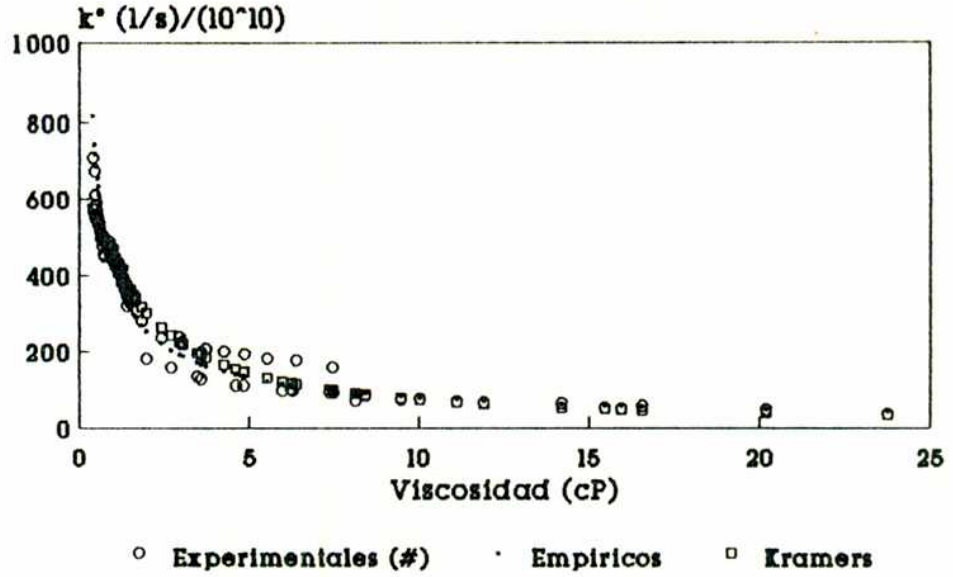
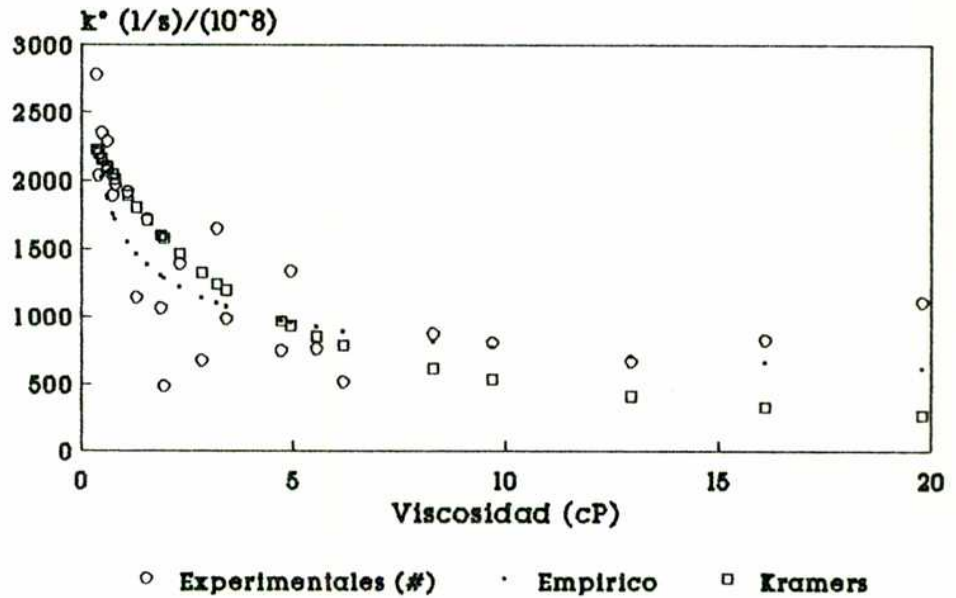


Figura 5.38: HIDCI, estado excitado.
Constantes reducidas.



(#) Calculadas en base a datos experimentales según ec. (5.11) y (5.30)

Figura 5.39: HIDCI, estado fundamental.
Constantes reducidas.



(#) Calculadas según (5.30)

valores es alta, pero el modelo empírico ajusta mejor los resultados que el modelo de Kramers. Igual que para las demás cianinas el ajuste por Kramers se desvía sistemáticamente de los valores experimentales, prediciendo una disminución mucho mayor que la observada en k_{PN}^* con la viscosidad (fig. 5.39).

Tabla 5.9 . HIDCI: Propiedades dependientes del solvente.

	Estado Excitado				Estado Fundamental	
	E_a (1)	E_a (2)	A (3)	ϕ_f (4)	E_a (5)	A (6)
	(kJ/mol)	(kJ/mol)	($\times 10^{-12}$ s)		(kJ/mol)	($\times 10^{-12}$ s)
MeOH	27.2 ± 0.2	27.6 ± 1.2	92	0.12	51 ± 2	0.81
EtOH	29.9 ± 0.4	32.0 ± 1.1	219	0.14	51 ± 1	1.03
PrOH	28.5 ± 0.5	33.7 ± 0.7	70	0.23	57 ± 3	4.32
OctOH	33.4 ± 0.2	30.7 ± 0.3	195	0.35	55 ± 2	2.68
DecOH	37.2 ± 0.8		642	0.39	54 ± 4	2.23

(1): ec.(5.12). (2): ec. (5.14). (3): ec. (5.8) y (5.11). (4): a 25 °C.
(5) y (6): ec. (5.15) y (5.16)

Tabla 5.10: HIDCI: Propiedades independientes del solvente.

	E_0 (kJ/mol)	ω ($\times 10^{-12}$ s)	$(\omega' \tau_v)$ a 1cP	D ($\times 10^{-11}$ s)
Estado Excitado	20 ± 1	43 ± 1	1.1 ± 0.3	0.72 ± 0.02
Estado Fundamental	47 ± 3	1.5 ± 0.1	2.2 ± 2	1.6 ± 0.5

5.5.6 DOTCI

- Rendimientos cuánticos de fluorescencia:

Los valores de ϕ_f a 25°C se midieron excitando las muestras a 640 nm. Para las demás temperaturas se midió I_L a 720 nm, relativa a su valor a 25°C, excitando a 660 nm. En la figura 5.40 se representa ϕ_f en función de la temperatura en cada solvente y en la figura 5.41 se observan las isothermas de ϕ_f vs. η .

Los valores de ϕ_f alcanzan un valor de saturación para temperaturas menores que 20°C, y disminuyen rápidamente para temperaturas mayores que 30°C debido a que el compuesto se descompone. La descomposición de DOTCI se determinó a partir de observar cambios irreversibles al aumentar la temperatura en los espectros de absorción y emisión. Sin embargo, salvo en DecOH, la velocidad de descomposición es suficientemente lenta como para no afectar significativamente las determinaciones durante el transcurso de las experiencias. Las mediciones realizadas en DecOH no son consideradas en el tratamiento de resultados por el efecto importante de la descomposición. La descomposición a temperaturas mayores que 30°C parece ser característica de las cianinas con $n \geq 3$ (fig. 1) (90).

Tanto para el estado excitado como para el fundamental se obtienen resultados generales similares a los de DTDCI e HIDCI (tablas 5.11 y 5.12, figuras 5.42 y 5.43)

Figura 5.40
DOTCI: fluorescencia vs. T

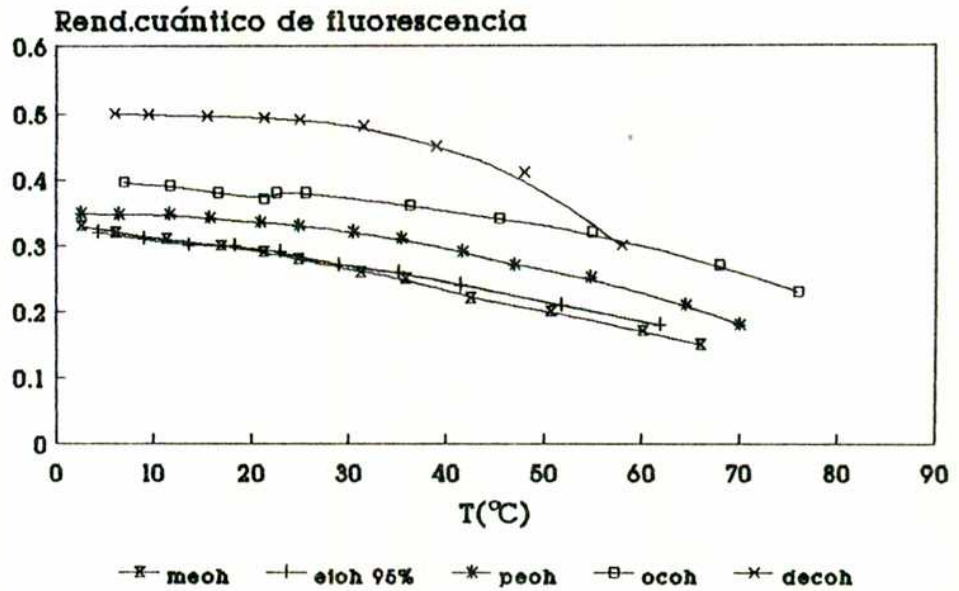


Figura 5.41
DOTCI: Φ_f vs. viscosidad

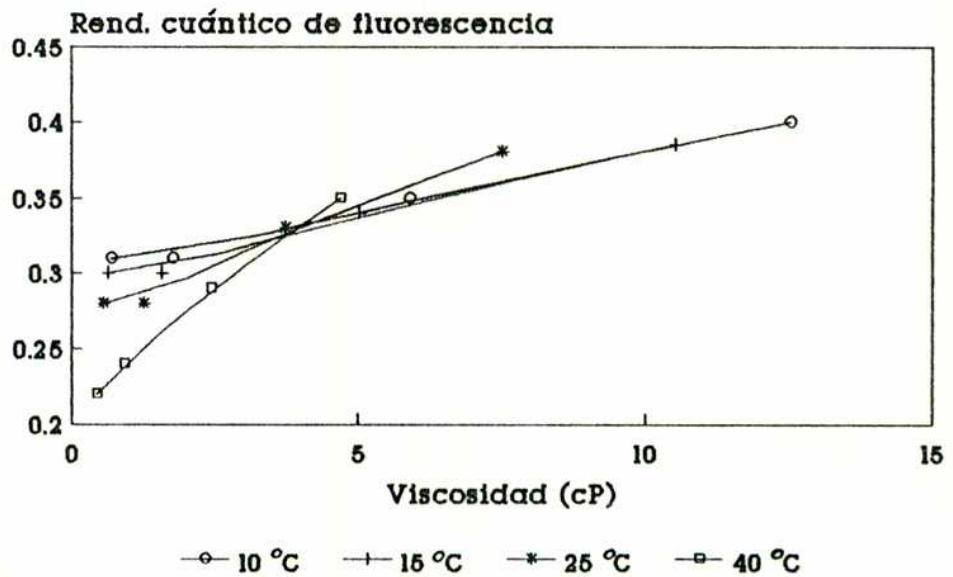
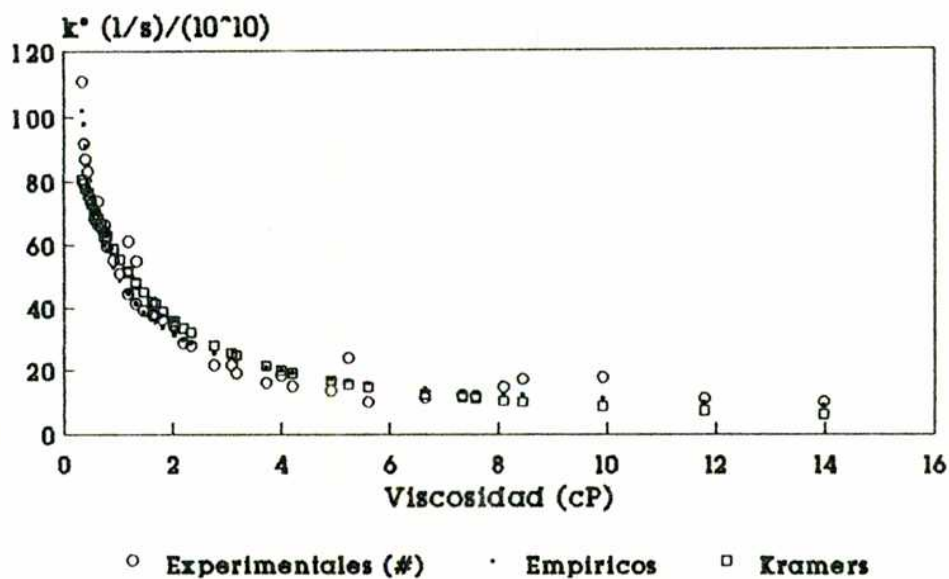
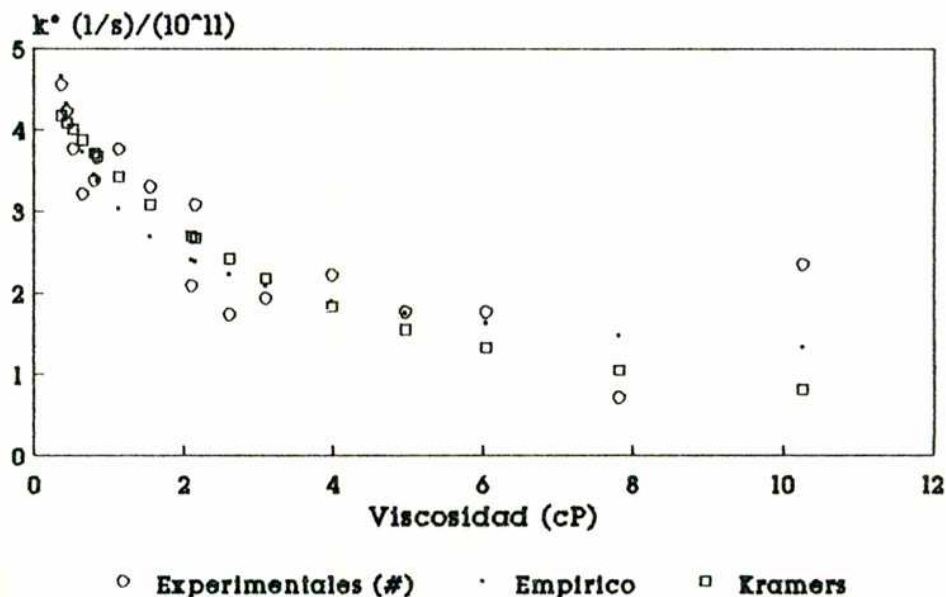


Figura 5.42: DOTCI, estado excitado.
Constantes reducidas



(#) Calculadas en base a datos experimentales segun ec. (5.11) y (5.30)

Figura 5.43: DOTCI, estado fundamental.
Constantes reducidas.



(#) Calculadas segun ec. (5.30)

Tabla 5.11 . DOTCI: Propiedades dependientes del solvente.

	Estado Excitado				Estado Fundamental	
	E_a (1) (kJ/mol)	E_a (2) (kJ/mol)	A (3) ($\times 10^{-12}$ s)	ϕ_f (4)	E_a (5) (kJ/mol)	A (6) ($\times 10^{-12}$ s)
MeOH	26.3 ± 0.7	33.3 ± 1.7	9.3	0.28	47 ± 1	2.1
EtOH	30.3 ± 0.5	24.4 ± 0.9	27.8	0.28	46 ± 1	1.3
PeOH	39 ± 1	33.6 ± 1.7	976	0.33	59 ± 7	11.3
OcOH	32 ± 2	29.3 ± 3.3	26.4	0.38	39 ± 4	0.05
DecOH				0.43		

(1): ec.(5.12). (2): ec. (5.14). (3): ec. (5.8) y (5.11). (4): a 25 °C.
(5) y (6): ec. (5.15) y (5.16)

Tabla 5.12. DOTCI: Propiedades independientes del solvente.

	E_0 (kJ/mol)	ω_0 ($\times 10^{-12}$ s)	$(\omega' \tau_v)$ a 1cP	D ($\times 10^{-11}$ s)
Estado Excitado	20.0 ± 0.5	6.1 ± 0.3	0.85 ± 0.25	0.66 ± 0.02
Estado Fundamental	43 ± 2	2.9 ± 0.1	1.9 ± 0.9	3.2 ± 0.9

5.6 Conclusiones

Los estudios realizados sobre las seis cianinas consideradas indican que la única influencia del solvente sobre las constantes de velocidad reducidas, dentro de la serie de alcoholes empleados, es por medio del valor de la viscosidad, η . Por ejemplo, para una dada cianina el valor de la constante será el mismo en dos solventes distintos si estos se hallan a temperaturas tales que posean el mismo valor de η . Esta conclusión es independiente del modelo propuesto para las constantes reducidas, como se observa en los gráficos de k^* vs. η , en los cuales η se varía indistintamente por cambio del solvente y/o de la temperatura.

En todos los casos hay mayor dispersión en las correlaciones de k^* con η para el estado fundamental que para el excitado, a pesar de que k_{PN} se mide directamente y k_{Nt} es calculada. Esto podría deberse a que la isomerización sobre la superficie fundamental esté más influenciada por efectos específicos del solvente. Un caso extremo podría ser el de DDCI y DDCI en DecOH, en donde se obtienen valores de k_{PN} mayores que en los demás solventes.

Los valores de k_f y k_{ci} son independientes del solvente, como se concluye de la independencia de la intensidad de la banda de absorción y de ϕ_{fmax} con el solvente respectivamente.

En la tabla 5.13 se resumen los parámetros fotofísicos de las cianinas estudiadas. En la tabla 5.14 se resumen los parámetros asociados con las superficies de energía potencial. En ambas tablas se incluyen los datos de DDCI, obtenidos de bibliografía (54,77) con el objeto de completar la serie.

Tabla 5.13. Parámetros fotofísicos en forma comparativa.

	DOCI	DODCI	DOTCI	DTCI	DTDCI	HIDCI	DTTCI
ϕ_{fmax}	1	0.90	0.40	1	0.65	0.60	—
$k_f / 10^8 s^{-1}$	4.6	4.0	1.98	2.7	2.43	2.42	1.5
$k_{ci} / 10^8 s^{-1}$	$\ll 1$	0.4	3.0	$\ll 1$	1.3	1.6	—
$\epsilon_{max} / 10^5 M^{-1} cm^{-1} (*)$	1.26	2.20	1.98	1.46	2.23	2.25	2.10

(*) Datos de bibliografía (80).

Tabla 5.14. Parámetros asociados con las superficies de energía potencial.

	E_O^{NI}	E_O^{PN}	a_{NI}	a_{PN}	ω_O^{NI}	ω_O^{PN}	$(\omega' \tau_V)^{NI}$	$(\omega' \tau_V)^{PN}$
	(kJ/mol)				$\times 10^{-12} s$		a 1cP	
DOCI	10	65	0.92	0.30	3.7	13.9	0.40	2
DTCI	10	60	0.82	0.17	2.2	48	0.90	3.5
DODCI	11.3	57	0.43	0.26	6.0	25	0.80	7.5
DTDCI	24	46	0.51	0.44	58	5.1	1.3	1.7
HIDCI	20	47	0.72	0.32	43	1.5	1.1	2.2
DOTCI	20	43	0.66	0.36	6.1	2.9	0.8	1.9

De la observación de los valores de dichas tablas se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Para un dado grupo X (ver fig. 5.1), la longitud de la cadena polimetínica (proporcional a n, fig. 5.1) no parece influir sobre la constante radiativa k_f sino recién para $n=3$, en donde se observa una disminución significativa de k_f por ejemplo al pasar de DODCI a DOTCI y de DTDCI e HIDCI a DTTCI. El efecto del átomo oxígeno en el grupo indólico en DOCI y DODCI, en comparación con DTCI, DTDCI e HIDCI, parece ser el de aumentar k_f .

- k_{ci} aumenta con el largo de la cadena polimetínica. Esto parecería indicar que los modos de vibración promotores de la conversión interna no activada están relacionados con dicha cadena. No se dispone de valores de ϕ_{fmax} para DTTCI para extender las conclusiones pues la emisión de fluorescencia está espectralmente desplazada hacia el rojo ($\lambda_{em} = 815$ nm, (80)) y se encuentra fuera del límite de sensibilidad de los espectrofluorómetros comerciales. Tampoco se pueden medir valores de ϕ_f de DTTCI mediante lente térmica estacionaria empleando un láser de helio-neón pues esta cianina no absorbe radiación de 632.8 nm (80) (además de los inconvenientes asociados con las mediciones de LTE en sistemas con fotoisomerizaciones, indicados en 6.4).

- Otro efecto sistemático es el aumento para el estado excitado, y la disminución para el estado fundamental, de E_0 al aumentar n . Sin embargo la energía de activación de Arrhenius (E_{Nt} o E_{PN}) no depende sólo de E_0 , pues debe considerarse la influencia de la viscosidad (ec. 5.28).

- En base a la comparación de los valores de los parámetros de las superficies potenciales pueden distinguirse dos grupos de cianinas. DDCI y DTTCI poseen valores similares de E_0 , "a" y frecuencias (salvo ω_0^{PN}). En otro grupo se asocian DTDCI, HIDCI y DOTTCI con propiedades similares entre sí y bien diferenciadas de las de los primeros. El DODDCI posee propiedades intermedias.

- Como se indicó en la sección 5.5.2, no pudo observarse variación de ϕ_p con la temperatura para DTTCI. Este hecho se debe a que la energía de activación aparente para la isomerización desde el estado excitado (E_{ap} , dada por 5.15) toma valores suficientemente bajos para la sensibilidad del método utilizado en el rango de temperaturas considerado. Esto fue confirmado calculando E_{ap} a 25 °C para todas las cianinas en todos los solventes. Se observó que los menores valores corresponden a DTTCI ($E_{ap} \cong 1$ kJ/mol en MeOH y 8 kJ/mol en DecOH)., y que E_{ap} aumenta significativamente para $n > 1$ salvo para HIDCI en MeOH y EtOH 95% ($E_{ap} \cong 5$ kJ/mol) en donde también es difícil obtener valores relativos de ϕ_p para temperaturas mayores que 25 °C.

- Para DOCI, DTCI e HIDCI en el estado excitado el modelo de Kramers coincide con el modelo empírico, y ajusta muy bien los datos experimentales. En los demás casos las constantes reducidas calculadas por el modelo de Kramers presentan desviaciones sistemáticas de los datos experimentales (estados fundamentales de las seis cianinas, y estados excitados de DTDCI, DODCI (77) y DOTCI). Estas desviaciones son siempre una subestimación de k^* en el intervalo de mayores viscosidades y valores más altos de k^* en el intervalo de viscosidades intermedias.

- El modelo empírico reproduce bien la dependencia de k^* con η tanto para el estado excitado como para el fundamental en todas las cianinas, incluso para DODCI (77). Para todos los compuestos el valor de "a" es significativamente mayor para el estado excitado que para el fundamental. El valor de "a" se correlaciona con el valor de la barrera intrínseca E_0 . Por ejemplo, para DOCI y DTCI, que en el estado excitado tienen los menores valores de E_0 , se obtiene $a_{Nt} \simeq 1$, y para las demás cianinas a_{Nt} es claramente menor. La misma tendencia, aunque menos notoria, se obtiene para el estado fundamental.

- Esta correlación entre "a" y E_0 (menor E_0 implica mayor "a") puede vincularse con la falla del modelo de Kramers en describir los resultados experimentales. En el límites de bajas energías ($E_0 \rightarrow 0$) la única activación para la isomerización es la barrera de fricción del solvente y la constante de velocidad alcanza el límite difusional de Smoluchowsky: $k \propto 1/\eta$. Según el modelo empírico el parámetro "a" toma en este caso su valor máximo igual a 1. El mismo límite difusional se alcanza según el modelo de Kramers cuando E_0 toma valores bajos (aunque esta conclusión no aparece explícitamente en la formulación original del modelo). En efecto, cualquiera sea la expresión funcional que se suponga para la superficie potencial en el estado activado (potencial armónico, de Morse, etc.) la curvatura de la barrera será menor cuanto menor sea la barrera. En la formulación de Kramers para bajos valores de E_0 será $(\omega' \tau_v) \ll 1$ y por lo tanto, de la ec. 5.18 en el caso hidrodinámico, resulta $k(\text{Kramers}) \propto 1/\eta$. Por lo tanto en el caso de bajas energías de activación las expresiones empírica y de Kramers coinciden pues el límite de Smoluchowsky, en donde

ambos modelos predicen decaimientos proporcionales a $1/\eta$, se alcanza a bajas viscosidades. Esto explica porqué para DDCI y DTCI en el estado excitado ambos modelos ajustan bien los resultados experimentales.

- El modelo de Kramers presenta desviaciones sistemáticas con respecto a los valores experimentales para k_{PN} de las moléculas con $n = 1$, en donde E_0 es mayor, y el ajuste es mejor para DOTCI en donde E_0 toma el menor valor de la serie. En todos los casos se observó un efecto de "saturación" en los valores de k_{PN}^* con respecto a la viscosidad. La expresión de Kramers predice, a las mayores viscosidades, valores más bajos de k_{PN}^* que los experimentales, o sea un decaimiento más rápido que el observado. El mismo efecto de saturación ocurre para las cianinas con $n \geq 2$ en el estado excitado, y ha sido informado anteriormente (66,77) para la isomerización de DODCI.

Una explicación posible de estas desviaciones del modelo de Kramers en el caso de energías de activación altas puede ser el incumplimiento de la hipótesis markoviana. Como se indicó anteriormente, cuanto mayor sea E_0 mayor será ω' . En este caso la velocidad del desplazamiento molecular en la zona de transición será alta y el solvente puede no tener tiempo de reacomodarse instantáneamente, fallando la hipótesis markoviana como se describió en la sección 5.2.3. Dado que el solvente no puede mantener la fuerza de fricción con la misma intensidad en todo instante durante la evolución, el coeficiente de fricción será una función decreciente del tiempo, $\xi = \xi(t)$, y la fórmula de Kramers deja de tener validez. Grote y Hynes (91) han deducido una expresión alternativa para k^* , en donde el efecto de fricción del solvente aparece a través $\xi(\omega)$, la transformada de Laplace de $\xi(t)$. $\xi(\omega)$ es máxima para $\omega = 0$ y disminuye para frecuencias mayores. La disminución de la fricción efectiva con la frecuencia podría ser la causa de que k^* no disminuya tan rápidamente con η , es decir del efecto de saturación. (77,91-95).

La relación entre E_0 y ω' se manifiesta en los resultados obtenidos por los valores mayores de $\omega'\tau_v$ para el estado fundamental que para el excitado, con $(\omega'\tau_v) \gg 1$ (a 1 cP). El modelo empírico ajusta mucho mejor

los valores de k^* , con $a \simeq 0.3$ para el estado fundamental, habiendo diferencias significativas entre los dos modelos. Esto indica que en dichos casos el sistema no alcanza el límite difusional (Smoluchowsky) y la evolución está dominada por el efecto del potencial de fuerzas.

Otro motivo posible para explicar la falla del modelo de Kramers es el incumplimiento de la hipótesis de unidimensionalidad (96). De ser así, el efecto debería ser más importante en DOCI y DTCl en cuyos isómeros cis los grupos etilo quedan muy cerca de los átomos O o S, y la molécula debería reacomodarse antes de completar la evolución. Sin embargo en estas cianinas el modelo de Kramers ajusta muy bien en el estado excitado, pero mal en el fundamental. Como las coordenadas involucradas son las mismas en ambos estados, no podría atribuirse la diferencia a la falla en la hipótesis unidimensional.

**LENTE TERMICA ESTACIONARIA
EN LOS DISTINTOS SISTEMAS
ESTUDIADOS: DIFERENCIAS
MEJORAS Y LIMITACIONES**

Capítulo 6: Lente térmica estacionaria en los distintos sistemas estudiados: diferencias, mejoras y limitaciones.

El método de lente térmica estacionario (LTE) es uno de los pocos que permite determinar con precisión rendimientos cuánticos de compuestos que fluorescen con longitudes de onda de emisión superiores a 700 nm. En este capítulo se discuten las características, posibilidades y limitaciones del método en los distintos sistemas estudiados.

6.1 Sistemas de un solo componente. Tratamiento de errores.

El método de LTE resultó sumamente satisfactorio para determinar rendimientos cuánticos de fluorescencia (ϕ_f) de sistemas donde se encuentra presente solamente una especie y con valores de $\phi_f \geq 0.25$. Este es el caso de soluciones de ftalocianina carboxilada de cinc (monómero), porficceno y tetrapropil porficceno, para los cuales los valores de ϕ_f se calcularon con errores entre 12 y 16%.

Los valores de ϕ_f se calculan de acuerdo con la ecuación (2.22):

$$\phi_f = (\lambda_f/\lambda_L) (1 - (m_s/m_r)) \quad (6.1)$$

en donde m_s y m_r son las pendientes de los gráficos de θ vs. γ para muestra y referencia respectivamente.

Aplicando el tratamiento de propagación de errores se obtiene:

$$\sigma_f = (\lambda_f/\lambda_L) (m_s/m_r) ((\sigma_s/m_s)^2 + (\sigma_r/m_r)^2)^{1/2} \quad (6.2)$$

donde σ_f es el error absoluto en ϕ_f , y σ_s y σ_r son los errores en m_s y m_r respectivamente. En todos los casos estudiados en el presente trabajo los errores relativos de m_s y m_r resultaron aproximadamente iguales, con valores entre 4 y 6% :

$$\sigma_s/m_s \cong \sigma_r/m_r = \sigma/m \quad (6.3)$$

con lo cual (6.2) se expresa de la forma:

$$\sigma_f \cong (\lambda_f/\lambda_1) (m_s/m_r) (\sigma/m) \quad (6.4)$$

Combinando (6.1) y (6.4) se obtiene el error relativo en ϕ_f :

$$\sigma_f/\phi_f \cong (m_s/(m_r - m_s)) (\sigma/m) \quad (6.5)$$

De acuerdo con (6.5), (6.3) y (6.1) se obtiene aproximadamente un error porcentual menor que el 15% en ϕ_f cuando:

$$7 (\lambda_f/\lambda_1) (\sigma/m) \leq \phi_f \quad (\Rightarrow \sigma_f/\phi_f \leq 0.15) \quad (6.6)$$

Suponiendo $(\sigma/m) \cong 0.04$ y $(\lambda_f/\lambda_1) \cong 1.1$ se obtiene según (6.6) que ϕ_f debe ser aproximadamente mayor que 0.3 para que la determinación de su valor tenga menos de un 15 % de error.

El cálculo estimativo desarrollado en esta sección permite explicar matemáticamente porqué se obtiene errores cercanos al 100 % para cumulen-porficeno y tetrahidro-cumulen-porficeno, para los cuales se determinó $\phi_f = (0.12 \pm 0.08)$ y (0.08 ± 0.08) respectivamente.

6.2 Sistemas en equilibrio de dimerización.

El método de LTE puede emplearse en el estudio de las propiedades luminiscentes de monómeros y dímeros en equilibrio, tal como se describió en el capítulo 3. Para ello el sistema debe cumplir determinadas condiciones y el análisis de los resultados debe a su vez realizarse con ciertas precauciones.

La falta de sensibilidad del método para detectar el apartamiento de la linealidad descrito en el capítulo 3 está relacionado con la disminución de ϕ_f al aumentar la concentración, pues, como se deduce del análisis de la sección 6.1, para valores bajos de ϕ_f no se pueden detectar variaciones pequeñas de la pendiente de θ vs. γ . Por lo tanto los experimentos de LTE deben ser cuidadosamente analizados en presencia de agregación u otros equilibrios, debido a que la relación entre θ y γ puede ser interpretada como lineal aún cuando la dimerización es importante (soluciones de ZnCPc en las mezclas 30 % H₂O/DMF). La única evidencia de la agregación es la variación del rendimiento cuántico global de fluorescencia con respecto al rendimiento cuántico de fluorescencia del monómero, ϕ_{fM} , y por lo tanto el conocimiento de la constante de dimerización es indispensable para interpretar correctamente los resultados.

6.3 Empleo de referencias fluorescentes

El método de LTE no requiere estrictamente el empleo de compuestos de referencia no fluorescentes. De la ecuación (2.16) se deduce la igualdad (6.7) (considerando soluciones diluidas en el mismo solvente y con idénticas condiciones instrumentales):

$$\theta_s / \theta_r = P_t^s / P_t^r \quad (6.7)$$

donde θ es la señal medida por LTE, P_t es la potencia disipada en forma de calor, y los índices s y r se refieran a la muestra y a la referencia respectivamente. Considerando la ecuación (2.7) se obtiene:

$$\theta_s / \theta_r = \frac{(1 - (\lambda_L / \lambda_f^s) \phi_f^s) \gamma_s P_o^s}{(1 - (\lambda_L / \lambda_f^r) \phi_f^r) \gamma_r P_o^r} \quad (6.8)$$

en donde P_o es la potencia de la radiación láser incidente. Si $P_o^s = P_o^r$, entonces:

$$m_s/m_r = (\theta_s/\gamma_s)/(\theta_r/\gamma_r) = \frac{(1 - (\lambda_L/\lambda_f^s)\phi_f^s)}{(1 - (\lambda_L/\lambda_f^r)\phi_f^r)} \quad (6.9)$$

de donde se puede obtener ϕ_f^s si se conoce el valor de ϕ_f^r de la bibliografía. El error en el valor de ϕ_f^r no introduce indeterminaciones significativas en ϕ_f^s si $\phi_f^r \leq 0.1$.

6.4 Método de LTE en la determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia de cianinas.

Se intentó aplicar el método de LTE para determinar ϕ_f de HIDCI en EtOH 95%. No se obtuvieron resultados satisfactorios y en esta sección se explican las razones de ello. Con el equipo descrito en el capítulo 2 se obtuvo $\phi_f = 0.37 \pm 0.04$ a 25 °C, y $\phi_f = 0.48 \pm 0.03$ a 6 °C en EtOH 95%, valores que difieren de los obtenidos por espectrofluorometría convencional ($\phi_f = 0.14$ y $\phi_f \cong 0.25$ respectivamente, capítulo 5), no solo en valor absoluto sino en su relación. Aún suponiendo $\phi_f = 0.37$ a 25 °C, las medidas de fluorescencia estacionaria predicen $\phi_f = 0.60$ a 12 °C.

El HIDCI tiene un alto coeficiente de absorción a la longitud de onda de excitación (632.8 nm, $\epsilon = 2.20 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), y la irradiación se efectúa con un láser medianamente focalizado, por lo que la proporción de fotoisómero (P) presente en solución puede ser importante. Esta proporción se puede estimar si se desprecia en primera aproximación la posibilidad de que P fotoisomerize a N y se supone absorbancia igual a la medida espectrofotométricamente en todo momento de la irradiación con láser:

$$[P]/[N] = \phi_p(T) (2.303 \epsilon_N \lambda_L P_0 / hc N_a \pi R^2) / k_{PN}(T) \quad (6.10)$$

en donde [P] y [N] son las concentraciones molares del fotoisómero y de la forma normal (N) respectivamente, $\phi_p(T)$ es el rendimiento cuántico de formación de P a la temperatura T, ϵ_N es el coeficiente de absorción de N a la longitud de onda del láser, h es la constante de Planck, c la velocidad de la luz, R el radio del láser en la celda, y k_{PN} la constante

de velocidad del proceso $P \rightarrow N$. Con los datos para HIDCI informados en el capítulo 5, se obtiene: $k_{PN} = 1.18 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$ y $\phi_{Nt} \cong 0.5$ a 25°C . Considerando $R \cong 0.5 \text{ mm}$, $P_0 \cong 1 \text{ mW}$ y $\phi_p \cong 0.4$ se obtiene que el porcentaje de P, con respecto a la concentración total de HIDCI en solución, es aproximadamente 10 %.

La proporción de P no es despreciable y su presencia interfiere de distintas maneras al intentar determinar ϕ_f en la forma usual. En primer lugar el fotoisómero presenta normalmente para las cianinas una alta absorción para longitudes de onda cercanas a la de máxima absorción de N y su comportamiento fotofísico es diferente (88, 97). La absorbancia de la solución durante la irradiación cambia con respecto a la determinada en forma espectrofotométrica. Por otra parte P podría actuar como acumulador parcial de energía, produciendo una disminución de θ con respecto al caso de ausencia de fotoisómero, obteniéndose consiguientemente un valor más alto para ϕ_f .

La potencia incidente se redujo en un factor 8 para consecuentemente disminuir la proporción de fotoisómero. Fue necesario emplear un orificio de mayor diámetro delante del fotodiodo para obtener señales significativas y valores confiables de θ . También fue necesario utilizar soluciones concordantemente más concentradas ($A \cong 1$, $\gamma \cong 0.9$). Con este dispositivo se obtuvo $\phi_f = 0.20 \pm 0.05$ a 25°C y $\phi_f = 0.33 \pm 0.05$ a 48°C . Si bien el valor a 25°C se acerca más al determinado por espectrofluorometría de emisión, aún tiene un 30 % de desviación porcentual, y se obtiene un valor mayor a alta temperatura, lo que contradice todas las otras medidas. La razón debe buscarse en las altas concentraciones de la referencia, CuCl_2 , del orden de 1 M, necesarias para alcanzar las absorbancias requeridas en el último grupo de medidas. Los parámetros termoelásticos de las soluciones (incluidos en κ , ec. (2.8)) serían ahora distintos para muestra y referencia.

CONCLUSIONES GENERALES

Capítulo 7. Conclusiones generales.

Se destacan a continuación las conclusiones generales más destacables de cada capítulo:

- El equipo construido de LTE fue aplicado satisfactoriamente a la medición de rendimientos cuánticos de fluorescencia de ZnTCPc y de los porfíricos (PO y TPrPO) .

- Se caracterizaron las propiedades fluorescentes de monómero y dímero de ZnTCPc en piridina, DMF y mezclas DMF/H₂O. Solamente el monómero es fluorescente: el dímero no fluoresce. Las propiedades fluorescentes del monómero son las mismas en todos los solventes considerados, siendo $\phi_f(\text{monómero}) = 0.32 \pm 0.04$.

- Se aplicó la técnica de LTE en el estudio del equilibrio dímero-monómero de ZnTCPc. La técnica permite calcular valores medios de ϕ_f sobre el intervalo de concentraciones empleadas, pero la presencia del equilibrio de dimerización no introduce desviaciones significativas de la linealidad en la relación θ vs. γ .

- Los valores de ϕ_f medidos para PO y TPrPO permitieron calcular rendimientos cuánticos de formación de triplete de dichos compuestos. (junto con datos de mediciones de optoacústica y luminiscencia IR, que no forman parte esta tesis). Los procesos fotofísicos de desactivación de los estados excitados de PO y TPrPO fueron caracterizados en forma completa.

- Los estudios de fotoisomerización de las cianinas indican que el único efecto del solvente sobre las constantes de isomerización (k) es por medio de la viscosidad (η): $k = f(\eta) \exp(-E_0/RT)$, en donde E_0 es la energía de activación intrínseca. El modelo empírico, $f(\eta) = D/\eta^a$, correlaciona mucho mejor que el modelo de Kramers, el cual predice en general una mayor disminución de k con η que la observada.

- El método de LTE presenta diversos inconvenientes cuando se lo emplea para determinar valores de ϕ_f en el caso de compuestos que se fotoisomerizan (ver capítulo 6). Se intentó emplear el método para el caso de HIDCI, pero no se obtuvieron resultados satisfactorios.

REFERENCIAS

REFERENCIAS

- 1- Eaton, D.F. Pure and Appl. Chem. (1988), 60, 1107.
- 2- Brannon, J.H. y D. Magde (1978) J. Phys. Chem 82 , 705.
- 3- Braslavsky, S.E. y K.Heihoff (1989) In: Handbook of Organic Photochemistry (Ed: Scaiano, J.C.) CRC Press, Boca Raton, Florida, 327.
- 4- Jori, G. (1985) In: Primary Photoprocesses in Biology and Medicine (Eds: Bensasson, R.V., G. Jori, E.J. Land y T.G. Truscott) NATO ASI A 85 , 381.
- 5- Ben Hur, E. y I. Rosenthal (1985) Photochem. Photobiol. 42, 129.
- 6- Lagorio, M.G., L.E. Dixelio, E.A. San Román y S.E. Braslavsky (1989) J.Photochem. Photobiol. B: Biology 3 , 615.
- 7- Daraio, M.E., P.F. Aramendía, E.A. San Román y S.E. Braslavsky. Photochem. Photobiol (1991). En prensa.
- 8- Vogel, E., M. Köcher, H. Schmickler y J. Lex. Angew. Chem. (1986), 98, 262.
- 9- Redmond, R.W., G. Vaiduga, S. Nonell, S.E. Braslavsky y K. Schaffner. J.Photochem.Photobiol. B: Biology (1989), 3, 193.
- 10- Nonell, S., P.F. Aramendía, K Heihoff, R.M. Negri y S.E. Braslavsky (1990) J. Phys. Chem. 94, 5879.
- 11- Minch M.J. y S Sadiq Shah(1979) J.Org.Chem., 44, 3252.
- 12- Nakashima N., R. Ando,H. Fukushima y T. Kunitake (1982) J.Chem.Soc., Chem.Commun., 707.
- 13- Grieser F., M.Lay y P.J.Thistlethwaite (1985), J.Phys.Chem. 89, 2065.

- 14- Gordon J.P., R.C.C.Leite, R.S.Moore, S.P.S.Porto y J.R.Whinnery. J.Appl.Phys. (1965), 36, 3.
- 15- Rossbroich, G., N.A. García y S.E.Braslavsky (1985) J. Photochem. 31 , 37.
- 16- Magde, D., J.H. Brannon, T.L. Cremers y J. Olmsted (III) (1979) J. Phys. Chem. 83 , 696.
- 17- Hu, C. y J.R. Whinnery (1973) Appl. Opt. 12 , 72.
- 18- Fang, H.L. y R.L. Swofford (1983) In: Ultrasensitive Laser Spectroscopy (Ed: Kliger, D.S.) Academic Press, New York.
- 19- Dovichi, N.J., T.G. Nolan y W.A. Weimer (1984) Anal. Chem. 56, 1700.
- 20- Harris, J.M. y N.J.Dovichi (1980) Anal.Chem., 52, 695A.
- 21- Dovichi. N.J. y J.M.Harris (1979) Anal.Chem., 51, 728.
- 22- Twarowski, A.J. y D.S. Kliger (1977) Chem. Phys. 20 , 253.
- 23- Solimini, D.J. (1966) J. Appl. Phys. 37 , 3314.
- 24- Parker, C.A. (1968) "Photoluminescence of Solutions", Elsevier, Amsterdam.
- 25- Karstens, T. y K.Kobs (1980), J.Phys.Chem. 84, 1871.
- 26- González, M. y E.A.San Román (1989) J.Phys.Chem., 93, 3536.
- 27- Monahan, A.R., J.A. Brado y A.F. De Luca (1972) J. Phys. Chem. 76 , 446.
- 28- Negri, R.M., A. Zalts, E.A. San Román, P.F. Aramendía y S.E. Braslavsky (1991) Photochem.Photobiol., 53, 317.

- 29- Weber, J.H. y D.H.Busch (1965) Inorg. Chem. 4 , 469.
- 30- Darwent, J., P. Douglas, A. Harriman, G. Porter y M.C. Richoux (1982) Coord. Chem. Rev. 44 , 3.
- 31- Valduga, G., E. Reddi y G. Jori (1987) J. Inorg. Biochem 29 , 59.
- 32- Vincett, P.S., E.M. Voigt y K.E. Rieckhoff (1971) J. Chem. Phys. 55, 4131.
- 33- Vogel, E., M.Balci, K.Pramond, P.Koch, J.Lex y O.Ermer (1987) Angew. Chem. 99, 909.
- 34- Guardiano, M., R.Biolo, G.Jori y K.Schaffner. Cancer Lett. (citado en referencia 9).
- 35- Aramendía, P.F., R.W.Redmond, S.Nonell, W.Schuster, S.E.Braslavsky, K.Schaffner y E.Vogel (1986) Photochem.Photobiol., 44, 555.
- 36- Bensasson, R. y E.J. Land (1971) J. Trans. Faraday Soc. 67 , 1094.
- 37- Bensasson, R. C.R. Goldschmidt, E.J. Land y T.G. Truscott (1978) Photochem. Photobiol. 28 , 277.
- 38- Patel, C.K.N. y A.C.Tam (1981) Rev. Mod. Phys. 53, 517.
- 39- Lai, H.M.y K.Young (1982) J.Acoust. Soc. Amer. 72 , 2000.
- 40- Braslavsky, S.E., R.M.Ellul, R.G.Weiss, H.Al-Ekabi y K.Schaffner (1983) Tetrahedron 39 , 1909.
- 41- Heihoff, K., y S.E.Braslavsky (1986), Chem.Phys.Lett., 131, 183.
- 42- Hurst, J.R., J.D. McDonald y G.B. Schuster (1982) J. Am. Chem. Soc. 104 , 2065.

- 43- Valduga, G., S.Nonell, E.Reddi, G.Jori, y S.E.Braslavsky (1988) Photochem.Photobiol., 48, 1
- 44- Dzhagarov, B.M. (1970) Opt.Spectrosc. 28 , 33.
- 45- Seybold, P.G. y N.J.Gouterman (1969) Mol.Spectrosc., 31, 1
- 46- Redmond R.W. y S.E.Braslavsky (1988) Chem.Phys.Lett., 148, 523
- 47- Arthurs, E.G., D.J.Bradley y A.G.Roddie (1972) Appl.Phys.Lett., 20, 125.
- 48- J.C.Mialocq, P.Goujon y M.Arvis (1979) J.Chem.Phys., 76, 1067.
- 49- Sturmer D.M. y D.W. Heseltine (1977) "The theory of the photographic process", 4th Edition. T.H. James (Ed.). Macmillan Publishing Co., Inc. New York.
- 50- P.Glafkides (1953): "Química fotográfica". Ed.Omega S.A., Barcelona.
- 51- Sheves M. y N. Friedman (1986) Angew.Chem.Int.Ed.English, 25, 284.
- 52- Dempster D.N., T. Morrow, R. Rankin y G.F. Thompson (1972) J. Chem. Soc. Faraday Trans. II, 68, 1479.
- 53- Rullière C. (1976) Chem.Phys.Lett., 43, 303.
- 54- Velsko S.P. y G.R.Fleming (1982) Chem.Phys., 65, 59.
- 55- Chibisov A.K., V.S. Kuzmin y Yu.I. Lifanov (1974) Opt. Spectrosc., 36, 537.
- 56- Byers, G.W., S.Gross, P.M.Hendrichs (1976), Photochem.Photobiol., 23, 37.
- 57- Sundström V. y T. Gillbro. (1982) J.Phys.Chem., 86, 1788.

- 58- Sundström V y T. Gillbro (1984) J.Chem.Phys., 81, 3463.
- 59- Ephardt, H. y P.Fromherz (1989) J.Phys.Chem., 93, 7717.
- 60- Van der Auweraer, M, M.Van der Zegel, N.Boels, F.C.De Schryver y F.Willig (1986) J.Phys.Chem., 90, 1169.
- 61- Saltiel J. y J.T.D'Agostino (1972) J.Am.Chem.Soc., 94, 6445.
- 62- J.Jaraudias, P.Goujon y J.C.Mialocq (1977) Chem.Phys.Lett., 45, 107.
- 63- Jaraudias J. (1980) J.Photochem., 13, 35.
- 64- West, M.A. (1976) "Experimental methods in flash photolysis" en "Creations and detection of the excited state", W.R.Ware, Ed., Marcel Dekker, New York, Vol. 4 (1976), cap.5.
- 65- Rentsch S., E.Döpel y V.Petrov (1988), Appl.Phys. B46, 357.
- 66- Fleming G.R., D.M. Waldeck, K.M. Keery y S.P. Vesko (1984) NATO Adv. Sci.Ir., 127, 67.
- 67- Momicchioli F., I. Baraldi y G. Berthier (1988) Chem.Phys., 123, 103.
- 68- Schöffel K., F. Dietz y T. Krossner (1990) Chem.Phys.Lett., 172, 187.
- 69- Bilmes G.M., J.O. Tocho y S.E. Braslavsky (1987) Chem.Phys.Lett., 134, 335.
- 70- Rapp W. (1974) Chem.Phys Lett., 27, 187.
- 71- Dietz F. y S.K. Rentsch (1985) Chem.Phys., 96, 145.
- 72- Kramers M.A. (1940) Physica, 7, 284.

- 73- Sun Y.P. y J. Saltiel (1989) J.Phys.Chem., 93, 8310.
- 74- Risken, H. (1984): "The Fokker-Planck equation". Springer-Verlag Ed. Berlin (serie de sinérgica, vol.18).
- 75- Lee J., S.B. Zhu y G.W. Robinson (1987) J.Phys.Chem., 91, 4273.
- 76- Van der Zwan, G. y J.T.Hynes (1982) J.Chem.Phys., 77, 1295.
- 77- Velsko S.P., D.H. Waldeck y G.R. Fleming (1983) J.Chem.Phys., 78, 249.
- 78- Hodgman, C. (editor) (1960) "Handbook of Chemistry and Physics", Cleveland, Ohio.
- 79- Landolt-Bornstein, "Zahlenwerte and Funktionen" (Springer, New York, 1967), Band II, Teil 5.
- 80- Brackmann V. (1986) Lambdachrome Laser-grade Dyes. Data sheet. Lambda Physik GmbH. Göttingen.
- 81- Magde, D. y M.W.Windsor (1974) Chem.Phys.Letters, 27, 31.
- 82- Knudtson J.T. y E.M. Eyring (1974) J.Phys.Chem., 78, 2355.
- 83- Roth, N.J. y A.C.Craig (1974) J.Phys.Chem., 78, 1154.
- 84- Demas, N.J. y G.A.Crosby (1971) J.Phys.Chem., 75, 991.
- 85- Strickler, S.J. y R.A.Berg (1962) J.Chem.Phys., 37, 814.
- 86- Bäumlér, W. y A.Penzkofer (1990) Chem.Phys., 140, 75.
- 87- Scaffardi L., G.M. Bilmes, D. Schinca y J.O. Tocho (1987) Chem.Phys.Lett., 140, 163.

- 88- Bilmes G.M., J.O. Tocho y S.E. Braslavsky .(1989) J.Phys.Chem., 93, 6696.
- 89- Duchowicz R., L. Scaffardi y J.O. Tocho (1990) Chem.Phys.Lett., 170, 497.
- 90- Heilig, G. y W.Lüttke (1988) Chem.Ber., 121, 407.
- 91- Grote, R.F. y J.T.Hynes (1981) J.Chem.Phys., 74, 4465.
- 92- Bagchi, B. y D.W.Oxtoby (1983) J.Chem.Phys., 78, 2735.
- 93- Rothenberger, G., D.K.Negus y R.M.Hochstrasser (1983) J.Chem.Phys., 79, 5360.
- 94- Keery, K.M. y G.R.Fleming (1982) Chem.Phys.Lett., 93, 322.
- 95- Courtney, S.H. y G.R.Fleming (1985) J.Chem.Phys., 83, 215.
- 96- Heilig G. y W. Lüttke (1988) Chem.Ber., 121, 407.
- 97- Bilmes, G.M., J.O.Tocho y S.E.Braslavsky (1988) J.Phys.Chem., 92, 5958.