

Tesis Doctoral

Caracterización espectroscópica y fotofísica del estado triplete de colorantes en sistemas heterogéneos

Tomasini, Eugenia Paula

2010

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:

Tomasini, Eugenia Paula. (2010). Caracterización espectroscópica y fotofísica del estado triplete de colorantes en sistemas heterogéneos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Tomasini, Eugenia Paula. "Caracterización espectroscópica y fotofísica del estado triplete de colorantes en sistemas heterogéneos". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2010.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física

CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA Y FOTOFÍSICA DEL ESTADO TRIPLETE DE COLORANTES EN SISTEMAS HETEROGÉNEOS

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área: Química Inorgánica, Analítica y Química Física.

Eugenia Paula Tomasini

Director de Tesis: Dr. Enrique San Román
Consejero de Estudios: Dr. Pedro Aramendia

Buenos Aires, 2010

CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA Y FOTOFÍSICA DEL ESTADO TRIPLETE DE COLORANTES EN SISTEMAS HETEROGÉNEOS

Resumen

El estudio de los procesos fotofísicos primarios de colorantes en medios heterogéneos tiene gran importancia en el desarrollo de materiales fotoactivos de utilidad en diversos campos de aplicación.

El creciente interés en este tipo de sistemas, en particular aquellos compuestos por colorantes incorporados a soportes sólidos, fue acompañado por el desarrollo de métodos y técnicas específicos para su caracterización.

Sin embargo, debido a dificultades experimentales, no existen métodos confiables para la determinación de rendimientos cuánticos de formación de estados triplete en medios sólidos dispersores de luz. En este trabajo de Tesis se presenta un método para la determinación de dichos rendimientos basado en la aplicación de la espectroscopia optoacústica inducida por láser (LIOAS). El estudio incluye la aplicación de técnicas resueltas en el tiempo que complementan la caracterización de los estados excitados.

De esta manera, la Tesis avanza sobre el conocimiento de los procesos fotofísicos primarios de colorantes adsorbidos sobre celulosa, en particular las propiedades del estado triplete de colorantes xanténicos como la Eritrosina B y el Rosa de Bengala. Los resultados obtenidos se interpretan en términos de las interacciones entre las moléculas de colorante y entre éstas y la matriz sólida.

Palabras Clave: colorantes adsorbidos, estado triplete, agregación, espectroscopía optoacústica, LIOAS.

PHOTOPHYSICS AND SPECTROSCOPIC CHARACTERIZATION OF TRIPLET STATE DYES IN HETEROGENEOUS SYSTEMS

Summary

The study of primary photophysical processes of dyes in heterogeneous media is relevant to the development of photoactive materials useful in various application fields.

The growing interest in such systems, particularly those composed of dyes incorporated into a solid matrix, was accompanied by the development of specific methods and techniques for their characterization.

However, due to experimental difficulties, there are no reliable methods for the determination of triplet quantum yields in solid light-scattering media. In this Thesis a method for the determination of such yields based on the application of laser induced optoacoustic spectroscopy (LIOAS) is presented. The study includes the application of time-resolved techniques as a complement for the characterization of the excited states.

Thus, this Thesis advances in the knowledge of primary photophysical processes for dyes adsorbed on cellulose, in particular those related to the triplet state of xanthene dyes such as Erythrosin B and Rose Bengal. Results are interpreted in terms of the interaction among dye molecules and among them and the solid matrix.

Keywords: adsorbed dyes, triplet state, aggregation, optoacoustic spectroscopy, LIOAS.

La presente Tesis permitió la publicación del siguiente trabajo:

Eugenia P. Tomasini, Enrique San Román, y Silvia E. Braslavsky. Validation of Fluorescence Quantum Yields for Light-Scattering Powdered Samples by Laser-Induced Optoacoustic Spectroscopy. *Langmuir* **2009**, 25(10), 5861–5868

Abstract

Determination of quantum yields for various processes (such as fluorescence and triplet formation) in dye-loaded light-scattering powdered samples is an open issue. Here, we report the testing of laser-induced optoacoustic spectroscopy (LIOAS) for the determination of fluorescence quantum yields of Rhodamine 101 and Rhodamine 6G adsorbed at various loadings on microgranular cellulose powder. The results of the LIOAS experiments are consistent with those from the method developed in one of our laboratories based on the measurement of apparent reflectance using an integrating sphere [Mirenda, M.; Lagorio, M. G.; SanRomán, E. *Langmuir* 2004, 20, 3690-3697], which allows the simultaneous calculation of fluorescence quantum yield and reflectance devoid of fluorescence artifacts. Criteria to quantify overall errors and detect outlying values are developed. The theory underlying the application of LIOAS to light-scattering samples and experimental details are presented.

Agradecimientos

Presentar esta Tesis me da la oportunidad de agradecer a todos los que hicieron posible que yo haya llegado hasta aquí.

Principalmente agradezco a la Universidad de Buenos Aires y a todos los que la construyeron y construyen día a día, para que yo y los que quieran tengan la posibilidad de aprender y de enseñar libremente.

A mis docentes, comenzando por mis padres que me enseñaron a aprender y cultivaron en mi la pasión por el conocimiento y por la ciencia. Siguiendo por mis profesores, a aquellos que estuvieron pendientes de mis logros y equivocaciones, y a aquellos que sólo me enseñaron lo que se, haciendo un trabajo invaluable.

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, al departamento de QIAQF, al INQUIMAE y a toda su gente. Por contenerme en este espacio.

A mi director por darme esta oportunidad y por acompañarme hasta el final.

A mi consejero de estudios Pedro, por ser mi referencia en mucho más que en lo académico y brindarme siempre una respuesta.

A Silvia Braslavsky, porque fue la piedra fundamental en esta Tesis.

A las instituciones que financiaron esta tesis CONICET y ANPCyT

A Luis Filipe Vieira Ferreira que además de darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio me recibió en su familia y me invitó a conocer la historia y el arte de Portugal. A Anabela Sousa de Oliveira por ser una gran compañera, a Isabel Ferreira Machado por el apoyo y a todo el grupo por hacer muy agradable mi estadía en el IST.

A los que me dieron la oportunidad de dar mis primeros pasos en la investigación científica, a la gente del laboratorio de complejos, de radioquímica, a Roberto Marquez, a Maite Alonso y a Roberto Cordero, a Vicky Wilkinson, a Ana Celeda del SEGEMAR y a los que integran el grupo fotoquímica en donde hice esta tesis.

A Pablo H por haberme facilitado muchas cosas desde entender algún problema de química, pasando por conseguirme las oportunidades de trabajo, siguiendo por ayudarme con todos los "papeles" desde que comencé esta carrera y con el cambio de la longitud de onda, hasta el estar día a día conmigo como amigo y como excelente compañero de trabajo desde hace más de 10 años. Gracias por estar siempre.

A Martín Mirenda por toda su ayuda, por ser una excelente persona y compañero, y porque juntos fuimos entendiendo los porcentajes.

A Sole porque fue una gran compañera en todo momento, especialmente en “la puerta” y me apoyó en muchos momentos difíciles.

A las fotoquímicas que me ensaaron cosas fundamentales: Gabriela Lagorio, Analía Iriel, Laura Estrada y Olga Tarzi, y a las que me acompañaron en diferentes cosas, a Lelia, Virginia, Betty, Nuchi, Gaby, Karin, Laura J. y a mi hermana política Natalia. A los fotoquímicos Hernán y Sergio por acompañarme en la difícil tarea de entender al Rosa de Bengala. Especialmente a Julia y a Bea por los últimos momentos.

A los amigos que fui encontrando por los pasillos y se han quedado en mi vida, con los que fui aprendiendo muchas cosas y me han ayudado en este proceso: Gisela, Coco, Pau Taich, Pau Angelomé, Alcira, Jose “el moro”, Nany, Marisa, y mi pana Yosy.

A mis pequeños grandes amigos que me apoyaron muchísimo en esta última etapa: Cecilia CeSped, Víctor O., Juan Pablo M. y Nico B. También a Ale C. y Germán.

A Eliseo, una pieza indispensable en la Tesis; a Ale y Andrea, las secretarias, sin las cuales las cosas hubieran sido más complicadas y a Alberto por su buena onda matinal.

A todos los que de alguna manera me han ayudado, contenido y apoyado en este departamento, tanto en mi doctorado como en la docencia.

A mis alumnas y alumnos, a mis compañeras y compañeros de ayudantía.

A Pau Taich, Ingrid, Caro y Coni, mis grandes compañeras de estudio.

A los amigos que me dieron las ganas de cambiar las cosas: Nacho, Maty, Bernhon, Nico, Monkey, María, Lucía, Lianju, Fer RS, Martín G., Anibal y Pato.

A los ex NEIs porque juntos aprendimos más que mucho. A Susana y Diana que supieron contenerme.

A los que formaron y forman parte del colectivo Desde el Pie por su lucha.

A los Jóvenes Científicos Precarizados y a todos los luchan por los derechos laborales de los que comienzan su carrera científica. Porque investigar es trabajar.

A mis amigas de siempre: Melisa, Luciana C., Luciana G. y Sol que a pesar de la coyuntura, siempre me apoyan y confían incondicionalmente en mí desde hace 20 años. También a Juli, Henri, FerCa y Lau.

Y sobre todo a mi familia que hace que todo sea posible.

Para:

Clarita, Flor y Julia, mis hermanas y compañeras.

Mamá y Papá, mis mejores profesores.

INDICE

página

I INTRODUCCIÓN.....	1
I.1 PROCESOS FOTOFÍSICOS Y FOTOQUÍMICOS EN SISTEMAS HETEROGÉNEOS.....	3
I.2 ESPECTROSCOPIA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LÁSER (LIOAS).....	4
I.3 HIPÓTESIS GENERAL Y OBJETIVOS.....	5
I.4 DESARROLLO DE LA TESIS.....	6
I.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	7
II METODOS EXPERIMENTALES.....	13
II.1 INTRODUCCIÓN.....	15
II.2 REFLECTANCIA DIFUSA.....	16
II.3 ESPECTROS Y RENDIMIENTOS CUÁNTICOS DE FLUORESCENCIA.....	19
II.3.1 Fluorescencia en sistemas sólidos	
II.3.2 Rendimientos cuánticos relativos	
II.3.3 Rendimientos cuánticos absolutos	
II.3.4 Agregación molecular	
II.3.5 Efectos de reabsorción y reemisión	
II.4 TÉCNICAS RESUELTAS EN EL TIEMPO.....	31
II.4.1 Fluorescencia y fosforescencia	
II.4.2 Distribución de Tiempos de Vida	
II.4.3 Fotólisis flash con laser por reflectancia difusa	
II.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

III PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE LAS MUESTRAS.....	41
III.1 COLORANTES Y SOPORTE UTILIZADOS.....	43
III.2 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS Y REFERENCIAS.....	47
III.3 COLORANTES CON ALTOS VALORES DE RENDIMIENTO CUÁNTICO DE FLUORESCENCIA: Rodamina 101, Rodamina 6G.....	47
III.4 COLORANTES CON BAJOS VALORES DE RENDIMIENTO CUÁNTICO DE FLUORESCENCIA: Rosa De Bengala, Eritrosina B.....	55
III.5 REFERENCIAS PARA LIOAS: Negro De Humo (Muestras Grises). Brilliant Blue G.....	70
III.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
 IV APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LASER (LIOAS) A MUESTRAS SÓLIDAS.....	 81
IV.1 INTRODUCCIÓN A LA TÉCNICA DE LIOAS.....	83
IV.2 ASPECTOS EXPERIMENTALES Y TEÓRICOS.....	87
IV.2.1 Descripción de la configuración experimental	
IV.2.2 Fundamentos teóricos e hipótesis de trabajo	
IV.2.3 Desarrollo de la teoría	
IV.3 DESARROLLO DE LA TÉCNICA.....	98
IV.4 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103
 V DETERMINACIÓN DE RENDIMIENTOS CUÁNTICOS POR LIOAS.....	 105
V.1 VALIDACIÓN DE RENDIMIENTOS CUÁNTICOS DE FLUORESCENCIA....	107
V.2 OBTENCIÓN DE RENDIMIENTOS CUÁNTICOS DE FORMACIÓN DE TRIPLETE.....	112
V.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115

VI CARACTERIZACIÓN DEL ESTADO TRIPLETE.....	117
VI.1 FOSFORESCENCIA RESUELTA EN EL TIEMPO.....	119
VI.1.1 Medidas a temperatura ambiente	
VI.1.2 Medidas a bajas temperaturas	
VI.1.3 Efecto del oxígeno	
VI.1.4 Tiempos de Vida	
VI.2 FOTÓLISIS FLASH CON LÁSER POR REFLECTANCIA DIFUSA.....	134
VI.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	137
 VII DISCUSIÓN.....	 139
 VIII CONCLUSIONES.....	 155

Capítulo I

INTRODUCCIÓN

I.1 PROCESOS FOTOFÍSICOS Y FOTOQUÍMICOS EN SISTEMAS HETEROGÉNEOS

El estudio de la fotofísica de colorantes en medios microheterogéneos (micelas, liposomas, membranas, polímeros, etc.) tiene impacto en diversos campos a través de sus aplicaciones en terapia fotodinámica y fotomedicina en general [1-5], en la destrucción de microorganismos [6-7], en aplicaciones ambientales a través de la oxidación de compuestos orgánicos [8-9], etc. Por su parte, los sistemas organizados compuestos por un colorante anclado a una superficie o incorporado a un sólido han recibido particular atención durante los últimos años en las aplicaciones anteriores [10,11] y otras tales como la fotocatalisis heterogénea y el desarrollo de sensores, transductores y celdas solares [12-20]. A pesar de ser un área de gran impacto, y existir un sinnúmero de publicaciones y desarrollos, los efectos de las interacciones intermoleculares, el efecto de la matriz sólida sobre las propiedades de los colorantes y, en particular, la determinación de rendimientos cuánticos de generación de estados excitados en sistemas heterogéneos han sido menos estudiados en este caso [21-29].

Los colorantes orgánicos, en particular los compuestos planos conjugados, tienden a formar agregados aún a muy bajas concentraciones; estos agregados, por lo general, disipan la energía de excitación electrónica en forma térmica [30], actuando como filtro para la radiación incidente [31]. El efecto es importante en colorantes incorporados a matrices sólidas, especialmente a altas concentraciones locales y si las moléculas del mismo se distribuyen al azar. Aun si se minimiza la tendencia a la agregación mediante una selección adecuada del colorante y de su interacción con el soporte, factores como el acoplamiento excitónico y la transferencia de energía [32-34], generan canales de desactivación que reducen la eficiencia de la formación de especies activas. Incluso en ausencia de agregación masiva, se observa que una pequeña cantidad de agregados puede actuar como trampas para la energía de excitación que se transfiere entre las moléculas del colorante. El rendimiento cuántico de formación de especies activas (estados excitados, oxígeno singulete) disminuye considerablemente.

Cuando las moléculas de colorante están confinadas en un determinado entorno, la interacción con el mismo puede modificar las propiedades del sistema en conjunto. Por todo esto, sumado a las características ópticas propias de sistemas

opacos, la caracterización de sistemas altamente dispersivos resulta más compleja que la de los sistemas homogéneos.

El avance en la comprensión de las propiedades fotofísicas y fotoquímicas de estos sistemas ha sido acompañado con el desarrollo de métodos experimentales y modelos teóricos que permitan su estudio. Nuestro grupo de trabajo se ha dedicado en los últimos años a este tipo de estudios [31, 34-40], desarrollando un método para determinar rendimientos cuánticos de fluorescencia para colorantes incorporados a soportes sólidos basado en mediciones de reflectancia [41].

I.2 ESPECTROSCOPIA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LÁSER (LIOAS) Y DETERMINACIÓN DE RENDIMIENTOS CUÁNTICOS

La espectroscopia optoacústica inducida por láser (LIOAS) es una herramienta poderosa para la determinación de rendimientos cuánticos y el estudio de la dinámica y la energética de los estados excitados e intermediarios reactivos y de los cambios de volumen molecular producidos luego de la excitación. La técnica ha sido aplicada con éxito, tanto en solución [42-45] como en suspensiones turbias [46-47], en fase gaseosa conteniendo aerosoles [48-49] y en estado sólido [21, 44, 50-61] incluyendo material tisular [62-63].

La dispersión de luz, las múltiples interfases aire-sólido y la dificultad de contacto acústico entre la muestra y el detector dificultan el uso de LIOAS para la determinación de rendimientos cuánticos en materiales particulados. A nuestro entender no existen antecedentes al respecto en la literatura.

En el marco de esta Tesis y con el objetivo de determinar rendimientos cuánticos de formación de triplete (Φ_T) en sistemas dispersores de luz, se desarrolló un método para la aplicación de esta técnica sobre sistemas sólidos, en particular polvos. Actualmente no existen métodos alternativos confiables para la determinación de rendimientos cuánticos de triplete en estos sistemas. Aquí se presenta la aplicación de LIOAS para la determinación de rendimientos cuánticos de formación de triplete. Como paso previo se evalúa la técnica, analizando su

consistencia con el método existente para la determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia para muestras sólidas muy fluorescentes [41].

I.3 HIPÓTESIS GENERAL Y OBJETIVOS

La hipótesis de trabajo propone que los colorantes adsorbidos sobre celulosa pueden ser estudiados mediante LIOAS a fin de determinar sus rendimientos cuánticos de formación triplete, aportando una herramienta sumamente valiosa para la comprensión de su comportamiento fotofísico.

El objetivo general de esta Tesis es aportar herramientas para el diseño y la construcción de nuevos materiales fotoactivos a través del estudio de las propiedades fotoquímicas y de los procesos fotofísicos primarios que ocurren en sistemas de colorantes asociados a matrices sólidas y del desarrollo de técnicas que permitan el estudio de estas propiedades.

Los objetivos particulares son:

- Caracterizar las propiedades fotofísicas de colorantes adsorbidos sobre celulosa microgranular en los estados fundamental, singulete excitado y triplete de la molécula.
- Desarrollar un método para la aplicación de LIOAS para la determinación de rendimientos cuánticos de formación de triplete.
- Describir e interpretar los fenómenos observados en los sistemas estudiados.

I.4 DESARROLLO DE LA TESIS

En este trabajo de Tesis se describen los fenómenos observados en colorantes adsorbidos sobre sólidos particulados como polvo de celulosa microgranular y se muestra el desarrollo de un nuevo método de determinación de rendimientos cuánticos a partir de la técnica de LIOAS.

Conocer las propiedades de los colorantes en la matriz sólida, en el estado fundamental y singulete excitado, fue necesario para la adaptación de la técnica, la construcción de la celda de medición, el acondicionamiento de las muestras a medir y la interpretación de las señales obtenidas.

La descripción de los métodos y técnicas utilizadas a lo largo de la Tesis se presenta en el Capítulo II. La elección y obtención de las muestras se discute en el Capítulo III, donde se presentan, también, los resultados de la caracterización preliminar del estado fundamental y singulete excitado. El Capítulo IV se dedica a la descripción completa del nuevo método de aplicación de la técnica de LIOAS. Los resultados de su aplicación en determinaciones de rendimientos cuánticos de fluorescencia y de formación de triplete se muestran en el Capítulo V. Las caracterizaciones del estado triplete sobre estos sistemas se describen en el Capítulo VI, donde se muestran experimentos con técnicas resueltas en el tiempo que, junto con los resultados de LIOAS y otras técnicas, derivan en las discusiones y conclusiones en los Capítulos VII y VIII, respectivamente.

I.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Montanari, J.; Perez, A.; Di Salvo, F.; Diz, V.; Barnadas, R.; Dicelio, L.; Doctorovich, F.; Morilla, M.; Romero, E. Photodynamic ultradeformable liposomes: Design and characterization. *Int. J. Pharm.* **2007**, 330, (1-2), 183-194.
- [2] Derycke, A.; De Witte, P. Liposomes for photodynamic therapy. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, 56 (1), 17-30.
- [3] Wainwright, M.; Crossley, K. Photosensitising agents - Circumventing resistance and breaking down biofilms: A review. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2004**, 53 (2), 119-126.
- [4] Konan, Y.; Gurny, R.; Allemann, E. State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **2002**, 66 (2), 89-106.
- [5] Brigger, I.; Dubernet, C.; Couvreur, P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, 54, 631-651.
- [6] Mosinger, J.; Losinska, K.; Abrhamova, T.; Veiserova, S.; Micka, Z.; Nemcova, I.; Mosinger, B. Determination of singlet oxygen production and antibacterial effect of nonpolar porphyrins in heterogeneous systems. *Anal. Lett.* **2000**, 33, 1091-1104.
- [7] Lin, Q.; Tsuchido, T.; Takano, M. Photodynamic inactivation of bacteria on immobilized a-terthienyl film. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1991**, 35, 585-590.
- [8] Luiz, M.; Biasutti, M.; García, N. Effect of reverse micelles on the Rose Bengal-sensitized photo-oxidation of 1- and 2-hydroxynaphthalenes. *Redox Report* **2004**, 9 (4), 199-205.
- [9] Zeug, A.; Zimmermann, J.; Röder, B.; Lagorio, M.G.; San Román, E. Microcrystalline cellulose as a carrier for hydrophobic photosensitizers in water. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, 1 (3), 198-203.
- [10] Bechet, D.; Couleaud, P.; Frochot, C.; Viriot, M.; Guillemin, F.; Barberi-Heyob, M. Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents *Trends in Biotechnology* **2008**, 26 (11), 612-621.
- [11] Tada, D.; Vono, L.; Duarte, E.; Itri, R.; Kiyohara, P.; Baptista, M.; Rossi, L. Methylene blue-containing silica-coated magnetic particles: A potential magnetic carrier for photodynamic therapy. *Langmuir* **2007**, 23 (15), 8194-8199.

[12] Moon, S.; Yum, J.; Humphry-Baker, R.; Karlsson, K.; Hagberg, D.; Marinado, T.; Hagfeldt, A.; Sun, L.; Grätzel, M.; Nazeeruddin, Md. Highly efficient organic sensitizers for solid-state dye-sensitized solar cells. *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113 (38), 16816-16820.

[13] Tian, H.; Yang, X.; Chen, R.; Zhang, R.; Hagfeldt, A.; Sun, L. Effect of different dye baths and dye-structures on the performance of dye-sensitized solar cells based on triphenylamine dyes. *Journal of Physical Chemistry C* **2008**, 112 (29), 11023-11033.

[14] Grätzel, M. Dye-sensitized solar cells. *Photochem. Photobiol., C: Photochem. Rev.* **2003**, 4, 145-153.

[15] Zhang, H.; Zhou, Y.; Zhang, M.; Shen, T.; Li, Y.; Zhu, D.; Photoinduced Charge Separation across Colloidal TiO₂ and Fluorescein Derivatives. *J. Phys. Chem. B* **2002**, 106, 9597-9603.

[16] Grela, M.; Loeb, B.; Restrepo, G.; Lagorio, M.; San Román, E. Los Mecanismos de Destrucción de Contaminantes Orgánicos, en "Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea", Cap. 5, Ed. M.A. Blesa, Red CyTED VIII-G, **2001**.

[17] Kamat, P. Photochemistry on nonreactive and reactive (semiconductor) surfaces. *Chem. Rev.* **1993**, 93, 267-300.

[18] Ramamurthy, V. "Photochemistry in Organized and Constrained Media", VCH: New York, **1991**

[19] Anpo, M; Matsura, T. Eds., "Studies in Surface Science and Catalysis, Photochemistry on solid surfaces", Vol. 47, Elsevier: Amsterdam, **1989**.

[20] Kalyanasundaram, K. "Photochemistry in Microheterogeneous Systems", Academic Press: New York, **1987**.

[21] Serpa, C.; Schabauer, J.; Piedade, A.; Monteiro, C.; Pereira, M.; Douglas, P; Burrows, H.; Arnaut, L. Photoacoustic measurement of electron injection efficiencies and energies from excited sensitizer dyes into nanocrystalline TiO₂ films. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130 (28), 8876-8877.

[22] Vieira Ferreira, L., Branco, T., Botelho Do Rego, A. Luminescence quantum yield determination for molecules adsorbed onto solid powdered particles. *Chem. Phys. Phys. Chem.* **2004**, 5 (12), 1848-1854.

[23] Shakespeare, T.; Shakespeare, J. A fluorescent extension to the Kubelka-Munk model. *Col. Res. Appl.* **2003**, 28, 4-14.

[24] Ruetten, S.; Thomas, J. Fluorescence and triplet quantum yields of arenes on surfaces. *J. Phys. Chem. B* **1998**, 102, 598–606.

[25] Katalnikov, I. ; van der Auweraer, M; de Schryver, F. The investigation of non-radiative deactivation of excited states in thin films by laser-induced opto-acoustic calorimetry. *J. Photochem. Photobiol., A: Chem.* **1994**, 77, 103–107.

[26] Liu, Y.; de Mayo, P.; Ware, W. Photophysics of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on silica gel surfaces. 3. Fluorescence quantum yields and radiative decay rate constants derived from lifetime distributions. *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 5995–6001.

[27] Vieira Ferreira, L.; Freixo, M.; Garc_ia, A.; Wilkinson, F. Photochemistry on surfaces: Fluorescence emission quantum yield evaluation of dyes adsorbed on microcrystalline cellulose. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1992**, 88, 15–22.

[28] Gade, R.; Kaden, U. True luminescence spectra and luminescence quantum yields of molecules adsorbed on light-scattering media. Part 1. – Theory. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1990**, 86, 3707–3712.

[29] Wrighton, M.; Ginley, D.; Morse, D. A technique for the determination of absolute emission quantum yields of powdered samples. *J. Phys. Chem.* **1974**, 78, 2229–2233.

[30] Fernández, D.; Awruch, J.; Dicelio, L. Photophysical and aggregation studies of t-butyl-substituted Zn phthalocyanines. *Photochem. Photobiol.* **1996**, 96, 784–792.

[31] Lagorio, M.; Dicelio, L.; Litter, M.; San Román, E. Modeling of fluorescence quantum yields of supported dyes: Aluminium carboxyphthalocyanine on cellulose. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1998**, 94, 419–425.

[32] Kasha, M. en “Physical and Chemical Mechanisms in Molecular Radiation Biology”, Plenum Press: Nueva York, **1991**.

[33] van der Meer, B. “Resonance energy transfer: theory and data”, VCH: Nueva York, **1994**.

[34] Lagorio, M.; San Román, E.; Zeug, A.; Zimmermann, J.; Röder, B. Photophysics on surfaces: Absorption and luminescence properties of pheophorbide-a on cellulose. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, 3, 1524–1529.

[35] López, S.; Worringer, G.; Rodríguez, B.; San Román, E. Trapping of Rhodamine 6G excitation energy on cellulose microparticles. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, DOI: 10.1039/B919583A.

- [36] Rodríguez, H.; San Román, E. Excitation energy transfer and trapping in dye-loaded solid particles. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **2008**, 1130, 247–252.
- [37] Rodríguez, H.; San Román, E. Energy transfer from chemically attached rhodamine 101 to adsorbed methylene blue on microcrystalline cellulose particles. *Photochem. Photobiol.* **2007**, 83, 547–555.
- [38] Rodríguez, H.; Iriel, A.; San Román, E. Energy transfer among dyes on particulate solids. *Photochem. Photobiol.* **2006**, 82, 200–207.
- [39] Rodríguez, H.; Lagorio, M.; San Román, E. Rose Bengal adsorbed on microgranular cellulose: Evidence on fluorescent dimmers. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, 3, 674–680.
- [40] Iriel, A.; Lagorio, M.; Dicelio, L.; San Román, E. Photophysics of supported dyes: Phthalocyanine on silanized silica. *Phys.Chem.Chem.Phys.* **2002**, 4, 224–231.
- [41] Mirenda, M.; Lagorio, M. G.; San Román, E. Photophysics on surfaces: Determination of absolute fluorescence quantum yields from reflectance spectra. *Langmuir* **2004**, 20, 3690–3697.
- [42] Gensch, T.; Viappiani C.; Braslavsky, S. "Laser-induced time-resolved optoacoustic spectroscopy in solution". En Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry; Lindon, J.; Tranter, G.; Holmes J., Eds.; Academic Press: London, **1999**.
- [43] Braslavsky, S.; Heibel, G. Time-resolved photothermal and photoacoustic methods applied to photoinduced processes in solution. *Chem. Rev.* **1992**, 92, 1381–1410.
- [44] Tam, A. Applications of photoacoustic sensing techniques. *Rev. Mod. Phys.* **1986**, 58, 381–431.
- [45] Peters, K. Time-resolved photoacoustic calorimetry. *Pure Appl. Chem.* **1986**, 58, 1263–1265.
- [46] Rudzki Small, J.; Foster, N.; Amonette, J.; Autry, T. Listening to colloidal silica samples: Simultaneous measurement of absorbed and scattered light using pulsed-laser photoacoustics. *Appl. Spectrosc.* **2000**, 54, 1142–1150.
- [47] Marchi, M.; Bilmes, S.; Bilmes, G. Photophysics of Rhodamine B interacting with silver spheroids. *J. Colloid Interface Sci.* **1999**, 218, 112–117.

- [48] Webber, M.; MacDonald, T.; Pushkarsky, M.; Patel, C.; Zhao, Y.; Marcillac, N.; Mitloehner, F. Agricultural ammonia sensor using diode lasers and photoacoustic spectroscopy. *Meas. Sci. Technol.* **2005**, 16, 1547–1553.
- [49] Webber, M.; Pushkarsky, M.; Patel, C. Optical detection of chemical warfare agents and toxic industrial chemicals: Simulation. *J. Appl. Phys.* **2005**, 97 (11), 1-11.
- [50] Nonell, S.; Martí, C.; Garcia-Moreno, I.; Costela, A.; Sastre, R. Optoacoustic study of tinuvin-P and rhodamine 6G in solid polymeric matrices. *Appl. Phys. B: Laser Opt.* **2001**, 72 (3), 355–360.
- [51] Paltauf, G.; Schmidt-Kloiber, H. Pulsed optoacoustic characterization of layered media. *J. Appl. Phys.* **2000**, 88 (3), 1624–1631.
- [52] Karabutov, A.; Podymova, N.; Letokhov, V. Time-resolved laser optoacoustic tomography of inhomogeneous media. *Appl. Phys. B: Laser Opt.* **1997**, 63 (6), 545–563.
- [53] Katalnikov, I.; van der Auweraer, M.; de Schryver, F. The investigation of non-radiative deactivation of excited states in thin films by laser-induced optoacoustic calorimetry. *J. Photochem. Photobiol., A: Chem.* **1994**, 77, 103–107.
- [54] Bilmes, G.; Duchowicz, R.; Cabello, C. Determinación fotoacústica de espectros de absorción de polvos. *Anales AFA* **1991**, 3, 134-137.
- [55] Mauzerall, D. Determination of oxygen emission and uptake in leaves by pulsed, time resolved photoacoustics. *Plant Physiol.* **1990**, 94, 278–283.
- [56] Rothberg, L. Pulsed laser optoacoustic spectroscopy in the study of surface adsorbate structure and dynamics. *J. Phys. Chem.* **1987**, 91 (13), 3467–3474.
- [57] Jabben, M.; Schaffner, K. Pulsed-laser induced optoacoustic spectroscopy of intact leaves. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenergetics* **1985**, 809 (3), 445-451.
- [58] Cesar, C.; Lima, C.; Vargas, H.; Miranda, L. On the Use of the Photoacoustic Spectroscopy for Investigating Adulterated Powdered Coffee Samples. *J. Agric. Food Chem.* **1984**, 32, 1355-1358.
- [59] Patel, C.; Tam, A. Pulsed optoacoustic spectroscopy of condensed matter. *Rev. Mod. Phys.* **1981**, 53, 517–550.
- [60] Tam, A. Optoacoustic determination of photocarrier generation efficiencies of dye films. *Appl. Phys. Lett.* **1980**, 37 (11), 978–981.
- [61] Tam, A.; Patel, C. High-resolution optoacoustic spectroscopy of rare-earth oxide powders. *Appl. Phys. Lett.* **1979**, 35 (11), 843–845.

[62] Lima, R.; Vasconcelos, A.; Suassuna, J. Carotenoids and flavonoids identification in Brazilian tropical fruits and vegetables using photoacoustic technique. *J. Phys. IV France* **2005**, 125,51-53.

[63] Wang, X.; Pang, Y.; Ku, G.; Xie, X.; Stoica, G.; Wang, L. Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional *in vivo* imaging of the brain. *Nature Biotech.* **2003**, 21, 803 – 806.

Capítulo II

MÉTODOS EXPERIMENTALES

II.1 INTRODUCCION

El interés creciente en sistemas heterogéneos que involucran especies fotoactivas fue acompañado por el desarrollo de métodos y técnicas específicos, aunque todavía no se ha conseguido el estado alcanzado para el estudio de sistemas en solución. Causa de ello son las dificultades derivadas de trabajar a altas concentraciones de colorante en sistemas que dispersan la radiación. Botelho do Rego y Vieira Ferreira [1] han recopilado la información existente hasta el año 2000 en un trabajo de revisión sumamente importante, ya que la mayor parte de dicha información se encuentra dispersa en la literatura. En nuestro grupo se han desarrollado una serie de técnicas, métodos y modelos útiles para el estudio de procesos fotofísicos primarios en sistemas sólidos particulados, con especial énfasis en aquellos que ocurren a partir del estado singulete del colorante [2-11]. Esta Tesis avanza en el desarrollo experimental a través de la instrumentación de metodologías que permiten extender los recursos existentes a la evaluación y cuantificación de procesos que ocurren a partir del estado triplete.

Para este tipo de sistemas, la determinación de la fracción de la radiación incidente absorbida por el sistema depende de la geometría. La relación con la concentración está descrita por teorías fenomenológicas, como la de Kubelka-Munk, que describe el comportamiento de la luz en sistemas que la dispersan. Con la reflectancia difusa puede obtenerse el espectro de absorción como fuente de información sobre la naturaleza y cantidad de especies presentes en la muestra.

Al estudiar la luminiscencia de este tipo de muestras frecuentemente se encuentran problemas tales como la contaminación con luz de excitación y los efectos de reabsorción y reemisión que producen espectros distorsionados, disminuyendo los rendimientos cuánticos de fluorescencia. Para obtener rendimientos cuánticos de fluorescencia relativo se utilizan estándares apropiados según muestra Iriel [3] y para obtener rendimientos cuánticos de fluorescencia absolutos se utiliza un método simple desarrollado por el grupo [8]. Por otro lado, se aplica un modelo *ad hoc* que corrige los espectros de emisión que se encuentran distorsionados dada la reabsorción de la luz emitida y permite obtener rendimientos cuánticos de fluorescencia verdaderos [2].

Concentraciones altas de colorante sobre la superficie del sólido conducen a la formación de agregados, los cuales pueden ser cuantificados de forma sencilla. La teoría excitónica permite describir las propiedades fotofísicas de estas especies y de esta manera dar una posible explicación sobre las características fotofísicas observadas para las muestras estudiadas

Gracias a la colaboración del Dr. Luis Filipe Vieira Ferreira y su equipo, en el Instituto Superior Técnico de Lisboa, se utilizaron algunas técnicas resueltas en el tiempo para la caracterización de muestras sólidas, tales como Luminiscencia Inducida por Láser y Fotólisis Flash por Reflectancia Difusa.

II.2 REFLECTANCIA DIFUSA

La espectroscopia de reflectancia estudia la radiación reflejada por la muestra; la reflectancia puede ser especular o difusa. La reflectancia especular se describe con las leyes de Fresnel y predomina cuando el material posee una superficie lisa. La reflectancia difusa tiene lugar en todas direcciones como consecuencia de los procesos de refracción, reflexión, absorción y dispersión sobre superficies rugosas. Las medidas de reflectancia contienen las dos componentes de la reflexión el aporte de cada una depende de las características del material.

La teoría de Kubelka-Munk [12-13] explica, de manera simple, el fenómeno de reflectancia difusa. Ésta propone que la radiación que incide en un medio dispersante se atenúa, por procesos simultáneos de absorción y dispersión, a medida que la luz penetra en el sólido.

En esta teoría se considera una capa de espesor d compuesta por partículas que absorben y dispersan la luz, las cuales están uniformemente distribuidas en el espacio y cuyas dimensiones son mucho menores que el espesor de esa capa. Si se considera que la capa tiene extensión lateral infinita, pueden despreciarse los efectos de borde.

Dentro de la aproximación de la teoría, en el interior del sólido se establecen dos flujos fotónicos en sentido directo e inverso, I y J (número de fotones por unidad de tiempo) a la longitud de onda λ_0 . En función de la distancia a la superficie del sólido:

$$(II.1) \quad \frac{dI}{dx} = -(k + s)I + sJ$$

$$(II.2) \quad \frac{dJ}{dx} = (k + s)J + sI$$

La luz incide en la dirección x , tal que $x=0$ en la superficie iluminada y $x=d$ en la superficie no iluminada, como se muestra en la Figura II.1. El flujo fotónico en el sentido positivo de x es I , mientras que en el sentido negativo es J . k y s son, respectivamente, el coeficiente de absorción y el coeficiente de dispersión de la muestra.

De acuerdo con las ecuaciones anteriores, la radiación absorbida por unidad de longitud varía exponencialmente con x . Dentro de la teoría de Kubelka-Munk se define a un sólido ópticamente grueso como aquél cuya transmitancia es cero y la radiación que no es absorbida es reflejada y dispersada enteramente por la cara frontal.

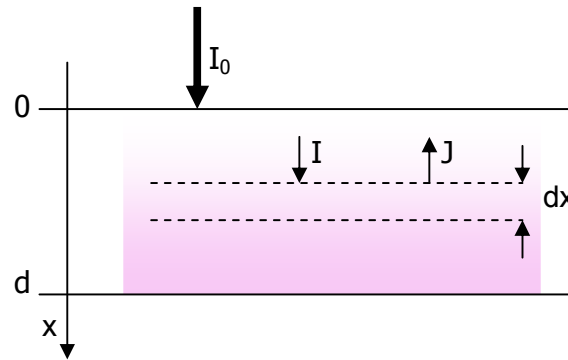


Figura II.1: Representación esquemática del flujo fotónico incidente en una capa de material, I_0 , y de sus componentes, I y J , en el interior del mismo

Resolviendo las ecuaciones anteriores resulta que, para una distancia $d=\infty$, la reflectancia difusa, R_D , es:

$$(II.3) \quad R_D = \frac{J_{(x=0)}}{I_0} = \frac{1 - \sqrt{k(k + 2s)}}{1 + \sqrt{k(k + 2s)}}$$

A partir de esta ecuación se define $F(R_\lambda)$, conocida como función de remisión:

$$(II.4) \quad F(R_\lambda) = \frac{k}{s} = \frac{(1 - R_D)^2}{2R_D}$$

De acuerdo a lo anterior, pueden obtenerse los espectros de absorción de las especies presentes a partir de medidas de reflectancia difusa, los sistemas que se comportan como absorbentes débiles poseen una componente especular despreciable.

Cuando en el sistema estudiado existen varias especies que absorben a la longitud de onda λ , la función de remisión se relaciona con el coeficiente de absorción y la concentración de cada especie de la siguiente manera:

$$(II.5) \quad F(R_\lambda) = \frac{2 \sum_i \varepsilon_i(\lambda) c_i}{s} + F_s(\lambda)$$

donde $F_s(\lambda)$ es la función de remisión del soporte, $\varepsilon_i(\lambda)$ es el coeficiente de absorción molar de cada especie i a la longitud de onda λ y c_i su concentración.

En el caso de la presencia de una única especie absorbente, el espectro de función de remisión es proporcional al espectro de absorción en tanto s puede considerarse independiente a la longitud de onda:

$$(II.6) \quad F(R_\lambda) = \frac{2\varepsilon(\lambda)c}{s}$$

El sistema de medición consta de un espectrofotómetro convencional al que se le incorpora una esfera integradora. En la configuración normal del equipo se determinan

reflectancias totales. Las reflectancias difusas se miden cambiando la configuración de tal manera de dirigir la reflectancia especular hacia el exterior de la esfera. Para poder utilizar la teoría de Kubelka Munk, las muestras deben ser ópticamente gruesas, de manera que la luz transmitida sea nula. Ambos tipos de reflectancia se mide con referencia a una muestra de BaSO₄ (k=0).

El equipo utilizado es un espectrofotómetro Shimadzu UV-3101 PC UV-Vis-NIR equipado con una esfera integradora. La reflectancia total y difusa se registran entre 400 a 800 nm.

II.3 ESPECTROS Y RENDIMIENTOS CUÁNTICOS DE FLUORESCENCIA

II.3.1 FLUORESCENCIA EN SISTEMAS SÓLIDOS

Si la muestra es ópticamente gruesa, la transmitancia se supone nula y la fracción de luz absorbida será igual a 1-R, donde R es la reflectancia total. La absorción registrada puede incluir, además de la del cromóforo, la del soporte sólido y ciertas especies no emisoras que puedan formarse en ese medio tales como dímeros o agregados superiores. Dependiendo de las propiedades fotofísicas del sistema pueden observarse fenómenos de reabsorción y reemisión de la fluorescencia. Éstos disminuyen la fracción de luz emitida, obteniéndose un rendimiento cuántico observado, Φ_{obs} , menor al que se obtendría en ausencia de reabsorción; a este último se lo llamará rendimiento cuántico verdadero, Φ_F .

Por definición:

$$(II.7) \quad \Phi_{\text{obs}} = \frac{\text{número de fotones emitidos}}{\text{número de fotones absorbidos}}$$

La intensidad de fluorescencia puede calcularse como:

$$(II.8) \quad I_F = I_0(1 - R)\Phi_{obs}$$

donde R representa la reflectancia total a la longitud de onda de excitación.

Los espectros de emisión de las muestras se miden con una geometría *front face* en un ángulo diferente a 45° para que la componente especular de la luz reflejada por la muestra no llegue al detector; en general se utiliza un ángulo de 30° (Figura II.2).

Las medidas de emisión se registran en un espectrofluorómetro PTI modelo QM-1. Para evitar que la luz de excitación llegue al detector se coloca un filtro de corte después de la muestra. Éste debe tener una transmitancia baja, menor al 5%, a la longitud de onda de estudio.

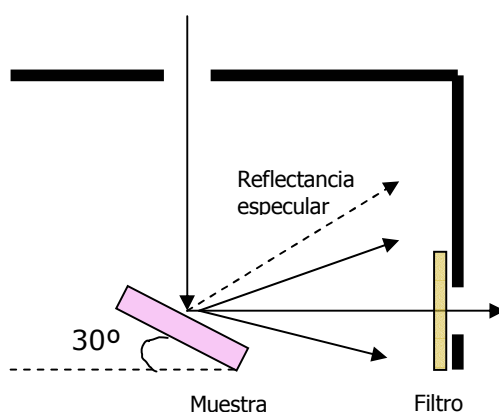


Figura II.2: Arreglo experimental para la determinación de fluorescencia en muestras sólidas.

Para evaluar los efectos de reabsorción de fluorescencia se toman espectros para capas gruesas y capas finas de la muestra. Para obtener los primeros, la muestra se coloca en un soporte de manera de que su espesor sea de alrededor de 3 mm. Al depositar manualmente muy poca cantidad de muestra sobre una cinta adhesiva bifásica, colocada sobre un vidrio que se apoya sobre el mismo soporte, se obtiene el espectro para capas finas, tratando de obtener una monocapa de partículas. Los

espectros de emisión deben ser corregidos de acuerdo a la curva de responsividad del detector y del monocromador disponible en el *software* del equipo.

II.3.2 Rendimientos cuánticos relativos

Para una muestra ópticamente gruesa puede obtenerse el rendimiento cuántico de fluorescencia observado como:

$$(II.9) \quad \Phi_{obs} = \Phi_{obs}^R \frac{O (1 - R^R) I_0^R}{O^R (1 - R) I_0}$$

donde el superíndice R denota la referencia. O es la intensidad de emisión obtenida como el área integrada bajo el espectro de emisión en capa gruesa. Los valores de reflectancia total (R) son los determinados a la longitud de onda de excitación. Las condiciones de medición para la muestra y la referencia deben ser las mismas y por lo tanto, el cociente de intensidades de luz incidente, I_0^R/I_0 , se establece como la unidad.

II.3.3 Rendimientos cuánticos absolutos

Para colorantes muy fluorescentes debe tenerse en cuenta que, al medir la reflectancia, la luminiscencia del colorante puede alcanzar al detector, obteniéndose espectros de reflectancia distorsionados. Debido a esto se trabaja con un método desarrollado por Mirenda y otros [8] basado en la toma de medidas de reflectancia usando un filtro óptico antes del detector. De esta manera, parte de la emisión es parcialmente absorbida, pudiéndose obtener, no solo las reflectancias verdaderas, sino también el rendimiento cuántico de fluorescencia observado del colorante.

La reflectancia total medida (observada) a la longitud de onda de excitación λ_0 puede escribirse como:

$$(II.10) \quad R(\lambda_0) = R_t(\lambda_0) + [1 - R_t(\lambda_0)]\Phi_{\text{obs}} \int_{\lambda} f_{\text{obs}}(\lambda) \frac{S(\lambda)}{S(\lambda_0)} \frac{\lambda_0}{\lambda} d\lambda$$

donde $R_t(\lambda_0)$ es la reflectancia total verdadera de la muestra a la longitud de onda de excitación λ_0 , Φ_{obs} es el rendimiento cuántico de fluorescencia observado del colorante, $f_{\text{obs}}(\lambda)$ es el espectro experimental en capa gruesa de la muestra, normalizando a uno el área sobre λ , y $S(\lambda)$ es la responsividad del detector en función de la longitud de onda.

Ahora, si se coloca un filtro antes del detector, la reflectancia obtenida se describe según:

$$(II.11) \quad R^f(\lambda_0) = R_t(\lambda_0) + [1 - R_t(\lambda_0)]\Phi_{\text{obs}} \int_{\lambda} f_{\text{obs}}(\lambda) \frac{T(\lambda)}{T(\lambda_0)} \frac{S(\lambda)}{S(\lambda_0)} \frac{\lambda_0}{\lambda} d\lambda$$

donde el superíndice f denota la presencia del filtro y T es su transmitancia a las longitudes de onda de trabajo.

Si los espectros de absorción y de emisión se solapan apreciablemente, se utiliza la Ecuación II.11. Si el corrimiento de Stokes es grande y el solapamiento es despreciable, el filtro bloquea completamente la radiación emitida, y el segundo término de la Ecuación II.11 se anula y la reflectancia medida resulta igual a la reflectancia verdadera.

para muestras altamente fluorescentes a A partir de los espectros de reflectancia con y sin filtro, la reflectancia verdadera del colorante puede calcularse según:

$$(II.12) \quad R_t(\lambda_0) = \frac{I(\lambda_0)R^f(\lambda_0) - I^f(\lambda_0)R(\lambda_0)}{I(\lambda_0) - I^f(\lambda_0)}$$

donde:

$$(II.13) \quad I(\lambda_0) = \int_{\lambda} f_{\text{obs}}(\lambda) \frac{S(\lambda)}{S(\lambda_0)} \frac{\lambda_0}{\lambda}$$

$$(III.14) \quad I^f(\lambda_0) = \int_{\lambda} f_{\text{obs}}(\lambda) \frac{T(\lambda)}{T(\lambda_0)} \frac{S(\lambda)}{S(\lambda_0)} \frac{\lambda_0}{\lambda}$$

y el rendimiento cuántico de fluorescencia observado se obtiene como:

$$(II.15) \quad \Phi_{\text{obs}} = \frac{R(\lambda_0) - R^f(\lambda_0)}{I(\lambda_0)[1 - R^f(\lambda_0)] - I^f(\lambda_0)[1 - R(\lambda_0)]}$$

A partir de este método y sin necesidad de contar con un compuesto de referencia pueden obtenerse las reflectancias verdaderas y los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados para colorantes con alto rendimiento cuántico de fluorescencia.

II.3.4 Agregación molecular.

Teoría excitónica

En sistemas con alta concentración de colorantes la interacción entre las moléculas vecinas puede provocar cambios en sus propiedades ópticas. Esta interacción y los fenómenos observados pueden ser explicados por la teoría excitónica [14].

La teoría excitónica resulta de un tratamiento de interacción de resonancia entre estados excitados de sistemas agregados. Éste fue desarrollado por Kasha [15] a partir de los estudios de transferencia de energía de Förster [16], entre otros.

Si el solapamiento electrónico intermolecular es pequeño, puede aplicarse la teoría de perturbaciones y las funciones de onda y las energías de los agregados pueden tratarse en términos de las moléculas individuales [15]. La función de onda de un dímero en el estado fundamental se expresa como el producto de las funciones de onda de los monómeros a y b. El Hamiltoniano que opera es la suma de los Hamiltonianos de cada molécula aislada más un término perturbativo: $H=H_a+H_b+V_{ab}$. El último término corresponde a un potencial coulombico aproximado al término de interacción dipolo-dipolo de la expansión multipolar.

A partir de la aplicación del Hamiltoniano a la función de onda del estado excitado del dímero, se obtienen dos estados excitados con diferente energía, E_1 y E_2 . La diferencia de energía entre ambos estados resulta en un término que se conoce como término de desdoblamiento excitónico, δ , que, en la aproximación dipolar, es [15-16]:

$$(II.16) \quad \delta = \frac{M_a \cdot M_b}{r^3} - \frac{3(M_a \cdot r)(M_b \cdot r)}{r^5}$$

donde M es el momento de transición del monómero a o b, r es la distancia entre los monómeros y $\mathbf{r}$ es el vector de posición de un dipolo tomando al otro dipolo como origen.

La energía de la transición para el agregado puede expresarse como la diferencia entre la energía del estado excitado y la del estado fundamental:

$$(II.17) \quad \Delta E_{\text{dímero}} = \Delta E_{\text{monómero}} + \Delta D \pm \delta$$

donde $\Delta E_{\text{monómero}}$ es la diferencia entre las energías de los estados fundamental y excitado de las moléculas aisladas y ΔD es la diferencia de energía de interacción de van der Waals entre un monómero excitado y otro en estado fundamental, que conduce a una estabilización del estado excitado. Finalmente, el efecto de la interacción queda evidenciado en el desdoblamiento de la energía del estado excitado mediante el término δ .

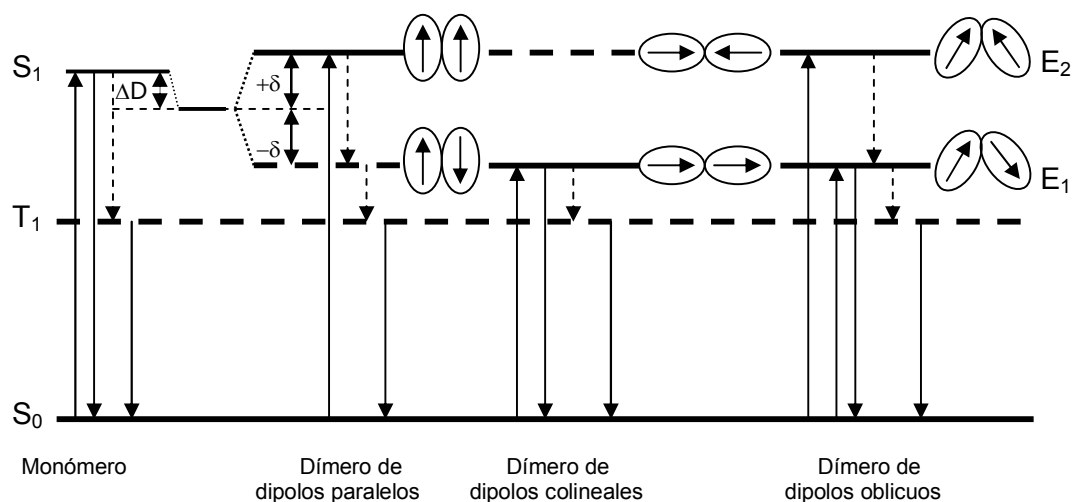


Figura II.3: diagramas de niveles de energía del monómero y de los distintos dímeros. (Los desdoblamientos se encuentran a la misma energía para facilitar la comprensión)

La disposición espacial de los momentos dipolares de los monómeros da lugar a distintos tipos de dímeros, entre los cuales pueden encontrarse:

a) *Dímeros H, con dipolos paralelos*: en el estado E_2 el momento de transición resultante es el de mayor energía ya que hay repulsión electrostática entre los dipolos. Mientras que E_1 resulta de menor energía, el momento de transición resultante es nulo y, por lo tanto, la transición desde el estado S_0 a E_1 está prohibida. La transición ocurre hacia el estado E_2 y el espectro de absorción del dímero tiene un corrimiento hacia el azul (corrimiento hipsocrómico) respecto al espectro del monómero aislado. Desde el estado E_2 ocurre una rápida conversión interna hacia el estado E_1 . Desde este estado la desactivación es no radiativa por conversión interna hacia el estado fundamental o por cruce entre sistemas hacia la formación de triplete. Dado que la transición a E_1 es prohibida, no pueden ocurrir

procesos radiativos eficientemente, y como consecuencia no suele observarse fluorescencia en este tipo de dímeros.

b) *Dímeros J, con dipolos colineales*: en este caso puede verse que los dipolos se compensan en el estado de mayor energía E_2 y, por lo tanto, la transición hacia éste es prohibida. El estado E_1 corresponde a una posición de dipolos en fase, de energía mínima. La única transición permitida es hacia el estado E_1 y el espectro de absorción de estos dímeros muestra una banda de absorción desplazada hacia el rojo (corrimiento batocrómico) respecto al espectro de la molécula aislada. Los dímeros J presentan fluorescencia, pero dada la baja energía del estado excitado, la emisión radiativa compite con la desexcitación no radiativa, por conversión interna o por cruce de sistemas.

c) *Dímeros angulares (situación intermedia), con dipolos oblicuos*: dado que en ninguna de las dos posiciones el momento de transición resultante se anula, las transiciones hacia ambos estados excitónicos están permitidas. Como resultado se observará un desdoblamiento de la banda de absorción del monómero y la intensidad relativa entre ambas dependerá de la geometría del dímero.

Existen otros arreglos que corresponden a moléculas en posiciones intermedias en el plano y fuera del plano cuyo desdoblamiento depende del ángulo que forman. Éstas nos serán tratadas aquí.

El desdoblamiento excitónico depende de la magnitud del momento de transición. Por lo tanto, sólo los estados excitados singulete serán desdoblados y, en general, las energías de los estados triplete no se verán afectadas.

La teoría excitónica se aplica a los casos de acoplamiento fuerte en que se considera válida la aproximación de Born-Oppenheimer (B-O) y las funciones de onda electrónicas se encuentran separadas de las vibracionales en cada molécula. Así, los efectos en los espectros son apreciables y en un dímero ocurre el desdoblamiento de la banda de absorción (Figura II.4). Para acoplamientos débiles la aproximación de B-O falla. Aunque no cambia sustancialmente la forma del espectro de bandas, pueden observarse efectos de segundo orden como hiper- e hipocromismo (aumento o

disminución de la intensidad, respectivamente) o ensanchamientos en la banda de absorción. Para la situación intermedia no se aplica B-O, y el desdoblamiento se produce individualmente para cada nivel vibrónico, lo que resulta en un contorno de bandas complejo [14].

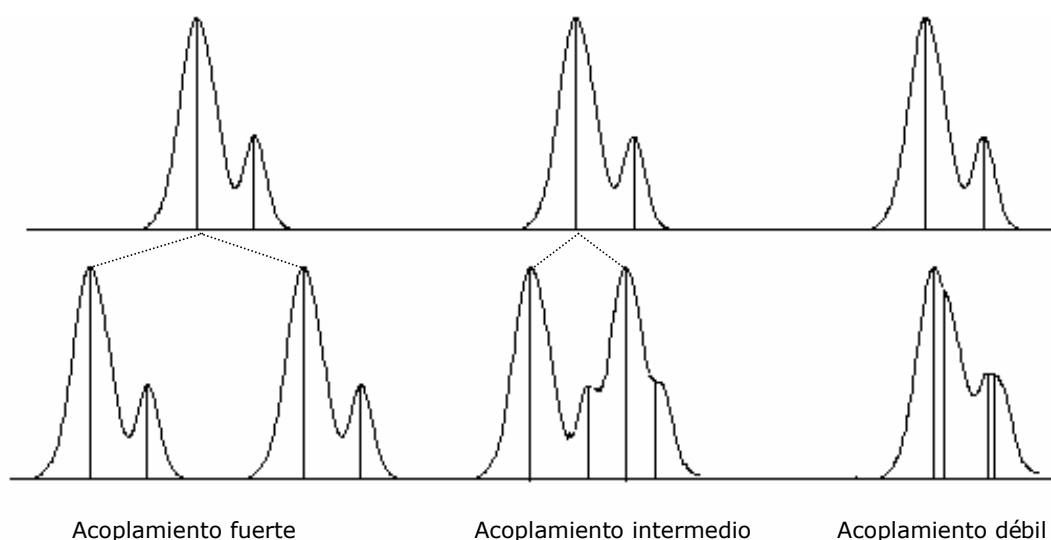


Figura II.4: Efectos en los espectros de absorción para los distintos casos de acoplamiento según el modelo excitónico.

Análisis experimental de la agregación de colorantes

A partir de las medidas de reflectancia difusa se calculan los espectros de absorción, luego, pueden obtenerse las concentraciones de monómero y dímero a partir de la deconvolución de los espectros de función de remisión mediante el uso de las ecuaciones II.5 y II.6. Para hacer un análisis sobre la agregación de los colorantes en el sólido, se utiliza un método desarrollado por San Román y González [17] que usa un procedimiento iterativo de regresión bilineal.

Como punto de partida se utiliza el espectro de función de remisión, dividido por la concentración, de la muestra más diluida como espectro del monómero y el de la muestra más concentrada como espectro del dímero, suponiendo en principio que no existen agregados superiores. A partir de estos, se calcula su en los espectros de las muestras en forma iterativa. Se calculan los espectros de las muestras resultantes, se comparan con los espectros experimentales y la iteración finaliza cuando la diferencia entre ambos es mínima. La reconstrucción de los espectros experimentales a partir de los espectros de los componentes puros es una forma de verificar la proposición hecha y descartar la presencia de otras especies, como agregados superiores.

Los espectros de monómero y dímero puros se obtienen realizando combinaciones lineales entre los espectros optimizados, restándoles al espectro de cada especie cantidades conocidas y variables del espectro del otro. Este proceso se realiza hasta obtener constancia en la relación entre la concentración del dímero y el cuadrado de la concentración del monómero en todas las muestras. Por último, se descomponen los espectros experimentales de función de remisión en los espectros verdaderos de monómero y dímero calculándose las concentraciones de los mismos en cada muestra.

Este procedimiento tiene la ventaja de utilizar toda la información espectral y no sólo los valores de $F(R_{\lambda})$ a los cuales la absorción del colorante es máxima.

II.3.5 Efectos de reabsorción y reemisión

En el sistema a estudiar, parte de la radiación emitida es reabsorbida por todas las especies presentes como aceptoras. Este mecanismo de transferencia de energía radiativo es también llamado trivial. La condición necesaria para que esta transferencia sea posible es un solapamiento apreciable entre la banda de emisión del fluoróforo y la banda de absorción de la especie aceptora. La transferencia de energía de excitación puede ocurrir entre moléculas de un mismo colorante si el corrimiento de Stokes es pequeño.

La probabilidad de que la radiación emitida sea reabsorbida por la muestra depende de la concentración del colorante, el solapamiento espectral y de la geometría del sistema.

Si se presenta el fenómeno de reabsorción, los efectos observados son la distorsión del espectro de emisión en la zona de solapamiento espectral y la disminución del flujo fotónico emitido a medida que aumenta la concentración de las especies aceptoras, en forma dependiente de la longitud de onda de excitación.

Los fotones reabsorbidos pueden formar, a su vez, parte de una cadena de eventos en que son reemitidos y posteriormente reabsorbidos, continuando este proceso con menor probabilidad para cada paso sucesivo. Los agregados de colorante, si se dan las condiciones, y el mismo soporte, pueden participar en el proceso, lo cual acrecienta el fenómeno. En la Figura II.5 se muestra un esquema de los pasos de reabsorción y reemisión.

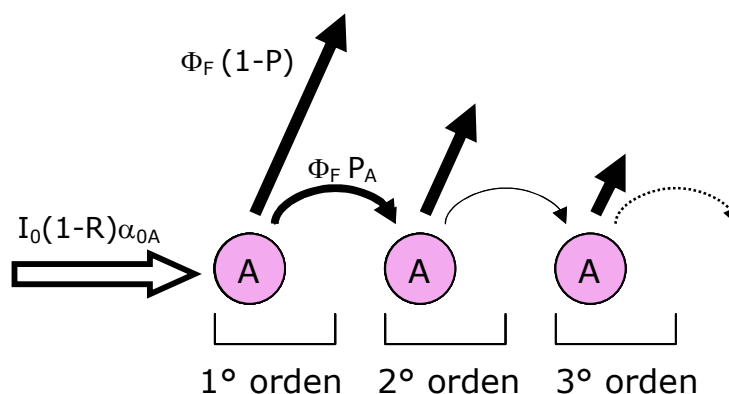


Figura II.5. Esquema de reabsorción y reemisión para una especie emisora.

En la Figura II.5, $I_0(1-R)$ es la intensidad de luz de excitación absorbida por el sistema, α_{0A} es la fracción absorbida por la especie emisora A, Φ_F su rendimiento cuántico de fluorescencia, P es la probabilidad de reabsorción de la fluorescencia y P_A es la probabilidad de reabsorción por parte de la especie emisora. De acuerdo con el esquema parte de la luz de excitación es absorbida por la especie emisora ($I_0(1-R)\alpha_{0A}$), una fracción de las especies excitadas se desactiva mediante emisión de fluorescencia, parte de esa fluorescencia escapa del sistema ($\Phi_F(1-P)$), contribuyendo al rendimiento cuántico observado, y otra parte es reabsorbida por la especie fluorescente ($\Phi_F P_A$).

Los espectros de emisión y los rendimientos cuánticos observados pueden corregirse gracias a un modelo desarrollado por Lagorio y otros [2] y posteriormente modificado por Rodríguez y otros [4]. En este modelo se presenta la función $\gamma(\lambda, \lambda_0)$ interpretada como la fracción de luz emitida a cada λ que escapa de una muestra sólida excitada a λ_0 . Los espectros de emisión en capa gruesa que se encuentran distorsionados se corrigen al dividirlos por esta función:

$$(II.18) \quad \gamma(\lambda, \lambda_0) = \frac{1}{1 + \sqrt{\frac{F(R_\lambda)}{F(R_\lambda) + 2}}} \frac{1}{1 + \sqrt{\frac{F(R_\lambda)[F(R_\lambda) + 2]}{F(R_{\lambda_0})[F(R_{\lambda_0}) + 2]}}$$

El espectro corregido por reabsorción y el correspondiente espectro de fluorescencia en capa fina deben resultar coincidentes si la reabsorción en este último caso es despreciable.

La probabilidad de reabsorción total se calcula como:

$$(II.19) \quad P = 1 - \int_{\lambda} f(\lambda) \gamma(\lambda, \lambda_0) d\lambda$$

y la probabilidad de que la radiación emitida sea reabsorbida por la especie emisora que absorbe una fracción de la radiación emitida α_A , se calcula según:

$$(II.20) \quad P_A = \int_{\lambda} f(\lambda) [1 - \gamma(\lambda, \lambda_0)] \alpha_A d\lambda$$

donde $f(\lambda)$ es el espectro de emisión del fluoróforo obtenido para capas finas normalizado a área unitaria sobre λ .

La fracción α_A se calcula según:

$$(II.21) \quad \alpha_A = \frac{F(R_\lambda)_A}{F(R_\lambda)_{muestra}}$$

donde $F(R_\lambda)_A$ es la función de remisión de la especie emisora y $F(R_\lambda)_{muestra}$ es la función de remisión de la muestra en conjunto.

El rendimiento cuántico de fluorescencia verdadero se obtiene resolviendo el esquema planteado en la Figura II.5, llegando a la siguiente expresión:

$$(II.22) \quad \Phi_F = \frac{\Phi_{obs}}{\Phi_{obs} P_\alpha + \alpha_{\lambda_0} [1 - P]}$$

Esta corrección tiene en cuenta, entonces, la absorción del soporte, la formación de agregados y los procesos de reabsorción y reemisión.

II.4 TÉCNICAS RESUELTAS EN EL TIEMPO

Las técnicas de Luminiscencia Inducida por LÁSER (LIL), para fluorescencia y fosforescencia, y la de Fotolisis Flash por Reflectancia Difusa permiten el estudio resuelto en el tiempo de procesos fotofísicos y fotoquímicos de colorantes adsorbidos en soportes opacos heterogéneos [1, 18-21]. Estas técnicas han sido desarrolladas y mejoradas por el grupo del Dr. Luis Felipe Vieira Ferreira, con el cual se trabajó en colaboración, en el Instituto Superior Técnico de Lisboa.

Los sistemas estudiados requieren el uso de una geometría *front-face*, de manera tal que la reflexión especular no incida sobre el detector. Los sistemas de matrices de diodos acoplados a fuentes de excitación láser, monocromáticas, de pulsos cortos y de

altas fluencias, son satisfactorios para obtener espectros de luminiscencia y de absorción resueltos en el tiempo de especies excitadas. El uso de un CCD (*Charge Coupled Device*) con intensificador de señal (ICCD), ANDOR model iStar-720, con una ventana temporal mínima de 2 ns, permite registrar espectros de fluorescencia, fosforescencia y de absorción de estados transitorios con un solo impulso de láser en un amplia zona del espectro, ya que este detector posee una matriz de diodos (1024x1256 *pixels*) en la gama espectral UV-VIS-IRC (200 a 1050 nm).

II.4.1 Fluorescencia y fosforescencia

En la Figura II.6 se muestra, en forma esquemática, el arreglo experimental utilizado para la obtención de espectros de fluorescencia y fosforescencia resueltos en el tiempo.

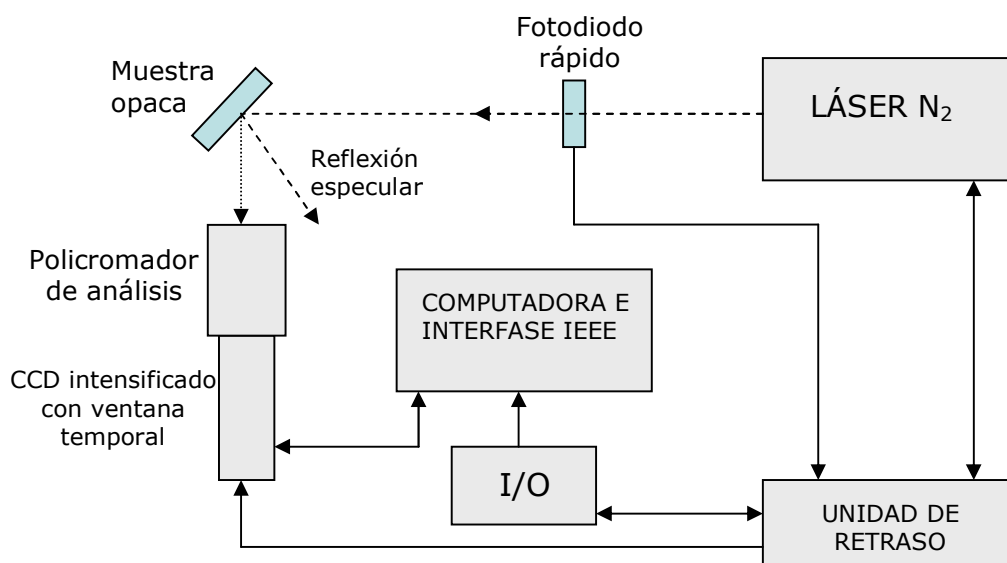


Figura II.6. Diagrama esquemático del sistema de luminiscencia inducida por láser.

Se utiliza un láser pulsado de N₂ (PTI 2000, ca. 600 ps FWHM, ~1.0 mJ por pulso) a una longitud de onda de excitación de 337 nm.

El fotodiodo rápido mide el tiempo de disparo del láser (t=0), a partir del cual se hacen lecturas intensificadas. El pulso del láser puede ser ópticamente retrasado

utilizando una fibra óptica; esto permite realizar, programadamente, las lecturas sucesivas de luminiscencia de las muestras con precisión de picosegundos para obtener espectros resueltos en el tiempo y decaimientos temporales. De esta forma es posible separar la luminiscencia rápida de la retardada y, por lo tanto, obtener espectros de fluorescencia y fosforescencia con un único sistema.

Se realizaron distintos experimentos de LIL con el fin de estudiar el comportamiento de las muestras bajo diferentes situaciones. Los estudios a temperatura ambiente (TA) y a bajas temperaturas con N₂ líquido (77K) permiten determinar el origen de la fluorescencia retardada (*Delayed Fluorescence* –DF). También se realizaron experimentos en equilibrio con aire y argón dada la posibilidad de formación de oxígeno singlete por *quenching* del estado triplete del colorante por parte del oxígeno atmosférico.

II.4.2 Distribución de tiempos de vida

La cinética de relajación de estados excitados de colorantes adsorbidos en sólidos particulados es compleja dada la heterogeneidad de los sitios presentes. La manera tradicional de estudiar estos sistemas es analizar la curva de decaimiento experimental usando sumas de dos o tres exponenciales, lo cual carece de significado físico, ya que ningún cromóforo existe en dos o tres formas emisoras exclusivamente. Sin embargo, las especies pueden emitir desde entornos diferentes. Debe considerarse, entonces, una distribución de sitios de adsorción.

Recientemente, en el Instituto Superior Técnico de Lisboa, se ha desarrollado una nueva herramienta para el análisis de distribución de tiempos de vida (*Lifetime Distributions Analysis* – LDA) de emisión de colorantes adsorbidos sobre superficies heterogéneas [22]. El análisis se basa en el uso de distribuciones asimétricas y perfiles de Voigt (una combinación de distribuciones Gaussianas y Lorentzianas) en lugar de distribuciones Gaussianas puras. Por medio de una herramienta simple y disponible, Microsoft Excel Solver, se propone una vía conveniente para el tratamiento de datos de decaimiento de la emisión de especies transitorias.

II.4.3 Fotólisis flash con láser por reflectancia difusa

Esta técnica (*Diffuse-Reflectance Laser Flash Photolysis* - DRLFP) fue desarrollada por F. Wilkinson y sus colaboradores a mediados de los años 80, quienes demostraron que la técnica de fotólisis flash podía aplicarse también a muestras opacas [18].

El arreglo experimental es idéntico al usado normalmente en estudios de transmisión, pero en este caso con una geometría de reflexión; los haces de análisis y de prueba se encuentran en el mismo lado en la superficie de la muestra. Tal como la técnica de fotólisis flash convencional, el espectro de absorción es un espectro diferencia. Esto significa que la absorción determinada experimentalmente es la diferencia de los espectros de absorción del estado excitado (creado por el láser de excitación) y el estado fundamental, para una dada longitud de onda.

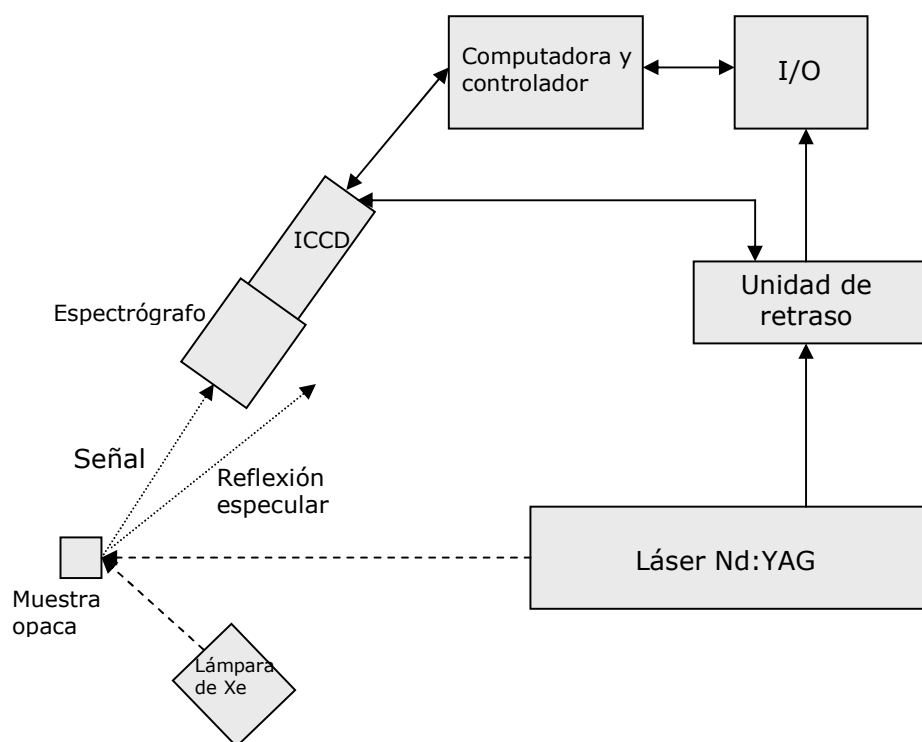


Figura II.7. Diagrama esquemático del sistema de flash fotólisis en modo de reflectancia difusa

Los experimentos de DRLFP fueron llevados a cabo con la tercera armónica de un láser Nd:YAG (355 nm, ca. 6 ns FWHM, ~10-30 mJ/pulso) en modo de reflectancia difusa como se muestra en la Figura II.7 [1].

La luz de la lámpara de análisis (Xe 450 W) es colectada por un colimador de haces acoplado a una fibra óptica y es detectada por un ICCD (modelo i-Star 720 Andor). El detector esta acoplado a un espectrógrafo de imágenes compacto (Shamrock 163). La absorción y la emisión resueltas en el tiempo están disponibles en el intervalo desde los nanosegundos a los segundos.

Para pequeños porcentajes de conversión (grandes concentraciones de absorbentes en el estado fundamental y bajas fluencias de láser, como las usadas) la concentración de especies transitorias decrece exponencialmente y los datos de absorción de los mismos son mostrados como porcentaje de absorción, definido como:

$$(II.23) \quad \% \text{ Abs} = 100 \cdot \frac{\Delta W_t}{W_0} = 100 \cdot \frac{1 - W_t}{W_0}$$

donde W_0 y W_t son los haces de luz difusa reflejada desde la muestra antes de la exposición al pulso del láser y a un tiempo t luego de la excitación, respectivamente [1].

II.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Botelho do Rego, A.; Vierira Ferreira, L. "Photonic and electronic spectroscopies for the characterization of organic surfaces and organic molecules absorbed on surfaces." en Handbook of Surfaces and Interfaces of Materials, Cap. 7 Vol 2, Academic Press, **2001**.

[2] Lagorio, M.; Dicelio, L.; Litter, M., San Román E. Modeling of fluorescence quantum yields of supported dyes. Aluminum carboxyphthalocyanine on cellulose. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1998**, 94, 419-425.

[3] a) Iriel, A.; Lagorio, M.; Dicelio, L.; San Román, E. Adsorbed rhodamine 101: a fluorescent standard for the solid phase. *En redacción*. b) Iriel, A. "Fotofísica de colorantes inmovilizados sobre superficies" Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires. **2006**.

[4] Rodríguez, H.; Lagorio, M.; San Román, E. Rose Bengal adsorbed on microgranular cellulose: evidence on fluorescent dimers. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, 3 (7), 674-680.

[5] Lagorio, M.; San Román, E.; Zeug, A.; Zimmermann, J.; Röder, B. Photophysics on surfaces: Absorption and luminescence properties of pheophorbide-a on cellulose. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, 3, 1524-1529.

[6] Amore, S.; Lagorio, M.; Dicelio, L. y San Román, E. Photophysical properties of supported dyes. Quantum yield calculations in scattering media. *Progr. React. Kinetics Mechanism* **2001**, 26, 159-177.

[7] Iriel, A.; Lagorio, M.; Dicelio, L.; San Román, E. Photophysics of supported dyes: Phthalocyanine on silanized silica. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, 4 (2), 224-231.

[8] Mirenda, M.; Lagorio, M.; San Román, E. Photophysics on Surfaces: Determination of absolute fluorescence quantum yields from reflectance spectra. *Langmuir* **2004**, 20, 3690-3697.

[9] Rodríguez, H.; Iriel, A.; San Román, E. Energy transfer among dyes on particulate solids. *Photochem. Photobiol.* **2006**, 82 200-207.

- [10] Rodríguez, H.; San Román, E. Energy transfer from chemically attached rhodamine 101 to adsorbed methylene blue on microcrystalline cellulose particles. *Photochem. Photobiol.* **2007**, 83 (3), 547-555.
- [11] Rodríguez, H.; San Román, E. Excitation energy transfer and trapping in dye-loaded solid particles. *Annals New York Acad. Sci.* **2008**, 1130, 247-252.
- [12] Wendlandt W., Hecht H., Reflectance Spectroscopy, Wiley: New York, **1966**.
- [13] Kortüm, G. Reflectance Spectroscopy, Springer Verlag: New York, **1969**.
- [14] Kasha, M.; Rawls, H.; Ashraf El-Bayoumi, M. The exciton model in molecular spectroscopy. *Pure Appl. Chem.* **1965**, 11, 372-392.
- [15] Kasha, M. Energy transfer mechanisms and the molecular exciton model for aggregates. *Radiat. Res.* **1963**, 20, 55-71.
- [16] Förster, T. Transfer mechanisms of electronic excitation. *Discuss. Faraday Soc.* **1959**, 27, 7-17.
- [17] San Román, E.; González, M. Analysis of spectrally resolved kinetic data and time resolved spectra by bilinear regresión. *J. Phys. Chem.* **1989**, 93, 3532-3536.
- [18] Wilkinson, F.; Kelly, G. "Diffuse Reflectance Flash Photolysis". En Handbook of Organic Photochemistry, Vol. 1, p. 293, Scaiano J. C. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, **1989**.
- [19] Vieira Ferreira, L.; Oliveira, A.; Netto-Ferreira, J. "Room temperature phosphorescence of aromatic ketones included into hydrophobic powered substrates" en Fluorescence Microscopy and Fluorescent Probes 3, p. 199, A. Kotyc (Ed.), Espero Publishing, Prague, **1999**.
- [20] Vieira Ferreira, L.; Ferreira Machado, I.; Oliveira, A. ; Vieira Ferreira, M. ; Da Silva, J. ; Moreira, J. A Diffuse Reflectance Comparative Study of Benzil Inclusion within *p-tert*-Butylcalix[*n*]arenes (*n*=4,6, and 8) and Silicalite. *J. Phys. Chem. B* **2002**, 106,12584-12593.
- [21] Vieira Ferreira, L.; Ferreira Machado, I. Surface Photochemistry: Organic Molecules within Nanocavities of Calixarenes. *Curr. Drug. Discov. Technol.* **2007**, 4 (4), 229-245.

[22] Branco, T.; Botelho do Rego, A.; Ferreira Machado, I.; Vieira Ferreira, L. Luminescence Lifetime Distributions Analysis in Heterogeneous Systems by the Use of Excel's Solver. *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109 (33), 15958-15967.

Capítulo III

PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE LAS MUESTRAS

III.1 COLORANTES Y SOPORTE UTILIZADOS

Los colorantes se eligieron de modo tal de cumplir con ciertas condiciones generales. En primer lugar se requiere que sean solubles en solvente volátil afín a la celulosa, en general etanol, y en segundo lugar que presenten una fuerte absorción a 532 nm, que corresponde a la longitud de onda de excitación utilizada en la mayor parte de este trabajo. Se usaron dos tipos de colorantes: aquellos con alto valor de rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ_F), que no forman triplete, y otros con bajo valor de Φ_F y que forman triplete con alto rendimiento cuántico.

En el primer grupo se encuentran la Rodamina 101 (R101) y la Rodamina 6G (R6G). Ambos son derivados xanténicos y sus estructuras se muestran en la Figura III.1.

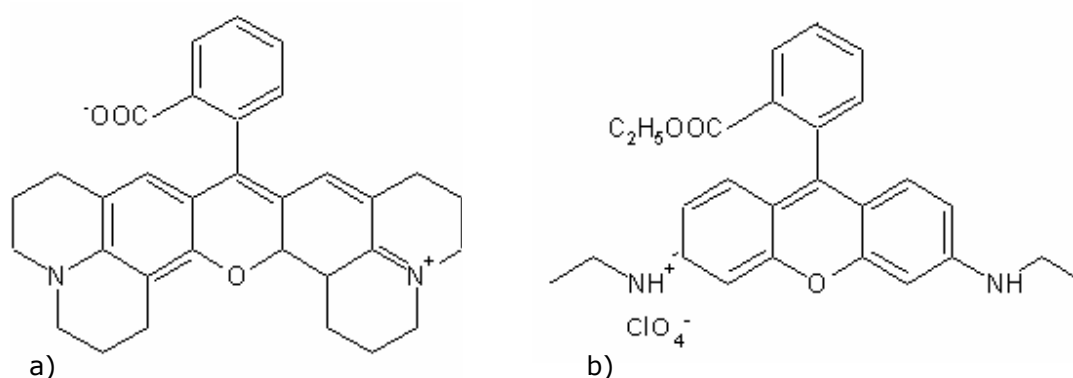


Figura III.1. a) Rodamina 101. b) Rodamina 6G.

Las rodaminas son muy utilizadas en diversas aplicaciones, particularmente como colorantes para láseres [1], marcadores fluorescentes en microscopía [2,3] y como referencia en las determinaciones de rendimientos cuánticos de fluorescencia [4,5]. En general presentan una baja probabilidad de cruce entre sistemas ($\Phi_T < 0,01$) [6] y, por lo tanto, la desactivación no radiativa del singulete excitado se debe principalmente a procesos de conversión interna.

Las propiedades fotofísicas de R101 en solución están ampliamente tratadas en la literatura [7,8]. Este colorante es comúnmente usado como estándar de fluorescencia ya que presenta poca tendencia a formar agregados, es fotoestable y su rendimiento cuántico de fluorescencia es unitario en solución de etanol independientemente de la temperatura [9]. La fotofísica de R101 adsorbida en celulosa ha sido estudiada en el grupo por Analía Iriel como parte de su trabajo de Tesis doctoral [10].

Las propiedades de R6G son similares a las de R101 [7] y su rendimiento cuántico de fluorescencia es cercano a la unidad ($\Phi_F = 0,95$ en etanol) [11]. Dada su fotoestabilidad este colorante es utilizado también como estándar de fluorescencia [12], marcador de fluorescencia en microscopía [13] y en láseres de colorante [14-15]. Existen estudios para su uso en el desarrollo de láseres en estado sólido [16-18]. En el trabajo de Tesis de Hernán Rodríguez puede encontrarse un estudio de R6G adsorbida sobre celulosa [19].

En el segundo grupo se encuentran dos compuestos xanténicos derivados de la fluoresceína: Eritrosina B (EB) y Rosa de Bengala (RB) (Figura III.2).

La presencia de átomos pesados como sustituyentes en la estructura de estos xantenos favorece la desactivación del singlete excitado por cruce entre sistemas, por lo que RB y EB son compuestos que forman triplete y producen oxígeno molecular singlete con alta eficiencia [20-21].

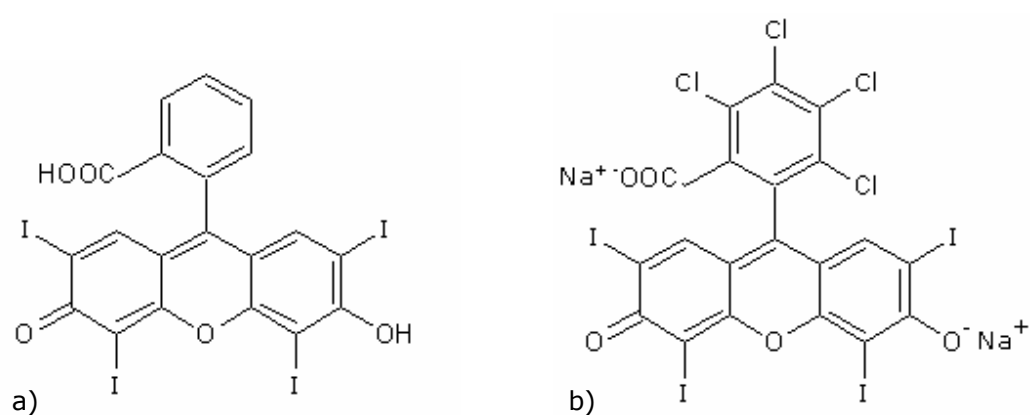


Figura III.2. a) Eritrosina B, b) Rosa de Bengala

EB se elige para estudiar el comportamiento del estado triplete en sistemas sólidos microparticulados, ya que en solución posee un alto rendimiento cuántico de formación de triplete [22-27], un bajo rendimiento cuántico de fluorescencia y una alta absorción a 532nm [28-29]. Este colorante, además, es un excelente marcador de fluorescencia y fosforescencia para diferentes tipos de estudios [30-31]. Existen pocos trabajos sobre las propiedades fotofísicas en medios sólidos [30-34].

Dado que RB posee un alto valor de Φ_T [23, 27, 35], ha sido muy estudiado para su uso en terapia fotodinámica [36-38] y para la erradicación selectiva de microorganismos [39]. Recientemente, Rodríguez y otros estudiaron las propiedades fotofísicas de RB adsorbido en celulosa [19, 40] mostrando que se forman agregados fluorescentes a determinadas concentraciones.

En los experimentos de optoacústica se utilizó una referencia calorimétrica. Ésta debe ser una sustancia que posea alta absorción a la longitud de onda de trabajo y libere toda la energía absorbida como calor, o sea, que no presente fluorescencia ni fosforescencia ni forme fotoproductos estables. Las mismas condiciones generales exigidas para los colorantes se aplican aquí. Inicialmente se propuso el uso de un pigmento negro para asegurar la absorción en el visible y la liberación total como calor de la radiación absorbida y se seleccionó Negro de humo (muestras grises - GR). Este pigmento es estable frente a la luz y consta de una mezcla de productos de combustión incompleta de compuestos orgánicos. No es posible disolver Negro de humo en etanol, pero se puede trabajar con suspensiones del mismo para preparar muestras adsorbidas sobre celulosa. Sin embargo, al obtenerse una suspensión de partículas en etanol el espectro de absorción puede tener una componente dispersiva que las muestras de colorante no poseen y por lo tanto, no puede ser usado como referencia. Su uso en esta Tesis fue restringido a la realización de diferentes pruebas para la aplicación de LIOAS sobre muestras que dispersan luz, como se verá en el capítulo IV.

Por lo tanto, como referencia se utilizó Brilliant Blue G (BBG), un colorante azul que posee gran absorción cerca de 600 nm [41]. Este colorante es de uso común en la industria alimentaria gracias a su baja toxicidad. Su estructura se muestra en la Figura III.3.

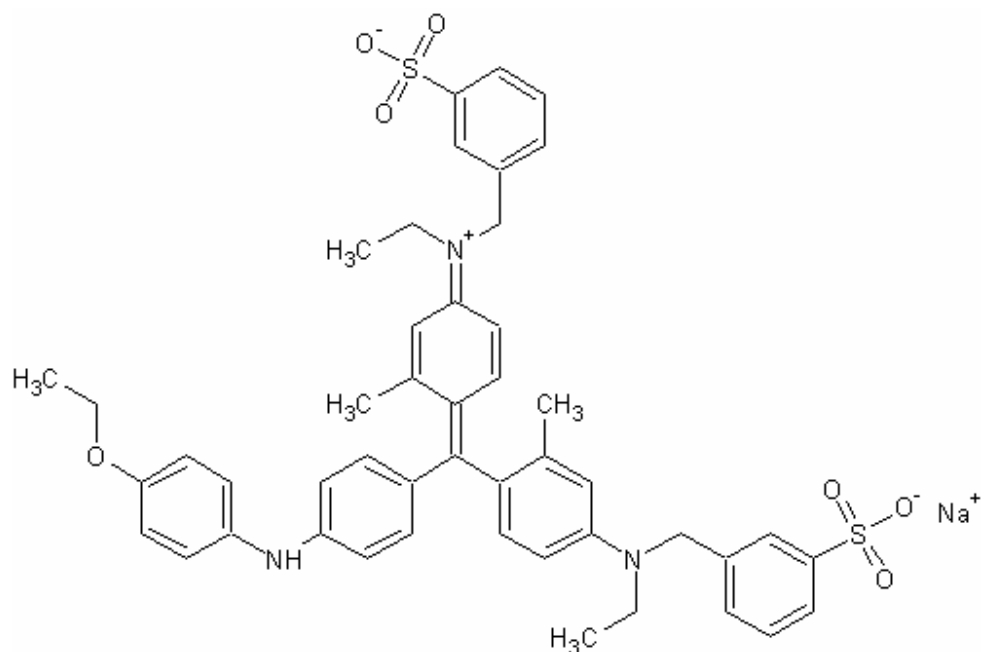


Figura III.3. Brilliant Blue G (BBG)

Las muestras consisten en colorantes adsorbidos sobre polvo de celulosa (Figura III.4). La celulosa es un polímero de gran superficie para la adsorción de moléculas. Es un soporte conveniente debido a su fácil manejo y bajo costo. La celulosa utilizada es un sólido microcristalino blanco con un tamaño de partícula promedio de 20 micrones. Su superficie es hidrofílica e interactúa con las moléculas adsorbidas mediante la formación de puentes hidrógeno resultando en una estructura de dos o tres dimensiones. Puede mostrar un área superficial que va desde 1 a 130 m²g⁻¹ debido a que posee la propiedad de hincharse en diferentes grados dependiendo del solvente con el que interactúa [10,42].

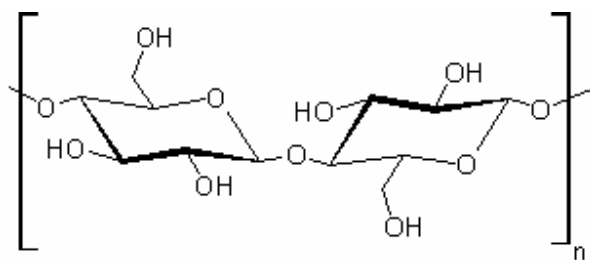


Figura III.4. Estructura de la celulosa microcristalina.

III.2 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS Y REFERENCIAS

Los colorantes R101 (sal interna, Kodak, grado láser), R6G (perclorato, Kodak, grado láser), RB (sal disódica, Aldrich, pureza 93%) y EB (Sigma-Aldrich, grado láser) fueron adsorbidos usando distintas cantidades de colorante en etanol (Cicarelli, grado ACS), sobre polvo de celulosa microcristalina (Sigma). Una masa dada de celulosa (1-1,5 g), secada previamente al vacío a 40 °C durante 48 h, se suspende en una cantidad conocida de solución del colorante. De ser necesario, se le adiciona etanol hasta completar un volumen final de 30 cm³. La suspensión se agita durante 5 minutos y el solvente se evapora a presión reducida en un Rotavap (Büchi R114) a 40°C. La presión es regulada para alcanzar la evaporación total del solvente en aproximadamente 15 minutos. Las muestras son secadas en estufa de vacío (Heraeus Instruments, VTR 5036) a 40 °C durante 48 h y mantenidas en la oscuridad. El proceso de secado se repite antes de cada medición. Las referencias calorimétricas se preparan de la misma forma usando Negro de humo (comercial, GR) y BBG (Sigma-Aldrich).

En las medidas de reflectancia, para poder utilizar la teoría de Kubelka Munk, las muestras deben ser ópticamente gruesas, lo cual se asegura preparando muestras de 3mm de espesor. Así mismo puede obtenerse el valor de la reflectancia especular por diferencia entre la total y la difusa, que en las muestras estudiadas en este trabajo adquiere valores entre el 1 y el 6%.

III.3 COLORANTES CON ALTOS VALORES DE RENDIMIENTO CUÁNTICO DE FLUORESCENCIA.

Como se discutió en el capítulo anterior, cuando se tratan sistemas altamente fluorescentes se realizan medidas de reflectancia total y difusa con y sin un filtro óptico. Dado que los derivados xanténicos utilizados comienzan a emitir en la zona de 550-600 nm se utiliza un filtro Schott BG38 (2mm), el cual absorbe gran parte de la fluorescencia evitando que luz de emisión llegue al detector. A partir del uso del método descrito en la sección II.3.3 se determina el espectro de reflectancia verdadero, sin distorsiones a causa de la emisión, y así puede calcularse la función de

remisión del sistema ($F(R_\lambda)$). Los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados (Φ_{obs}) también se calculan a partir del método mencionado.

RODAMINA 101

Las muestras de R101 fueron preparadas a partir de una solución de etanol. Las concentraciones de las muestras y sus propiedades principales se presentan en la Tabla III.1.

Muestra	Concentración (moles $\times$ g ⁻¹)	R	Φ_{obs}
R101-1	$8,4 \times 10^{-8}$	0,79	0,50
R101-2	$1,0 \times 10^{-7}$	0,77	0,50
R101-3	$3,0 \times 10^{-7}$	0,66	0,35
R101-4	$5,0 \times 10^{-7}$	0,61	0,28
R101-5	$8,4 \times 10^{-7}$	0,54	0,23
R101-6	$1,0 \times 10^{-6}$	0,52	0,22

Tabla III.1. Concentraciones de las muestras de R101 adsorbida sobre celulosa, reflectancia total y rendimiento cuántico observado a 532 nm.

A partir de los espectros de reflectancia difusa medidos para las muestras sólidas se calculan, según la Ecuación II.4, los espectros de función de remisión que se muestran en la Figura III.5. Se observa una banda cuyo máximo de absorción se ubica entre 578 y 583 nm, y un hombro a 540 nm. La celulosa tiene una baja absorción y los valores de $F(R_\lambda)$ de las muestras de R101 se obtienen restando el valor de la celulosa preparada bajo el mismo tratamiento. Esto se realizó para todos los colorantes usados en esta Tesis.

En etanol, el colorante presenta una banda cuyo máximo se ubica en 566 nm [43], por lo cual el corrimiento observado en muestras sobre celulosa es de 12 a 17 nm.

Esto se debe a un efecto solvatocrómico resultante de la interacción del colorante con la celulosa.

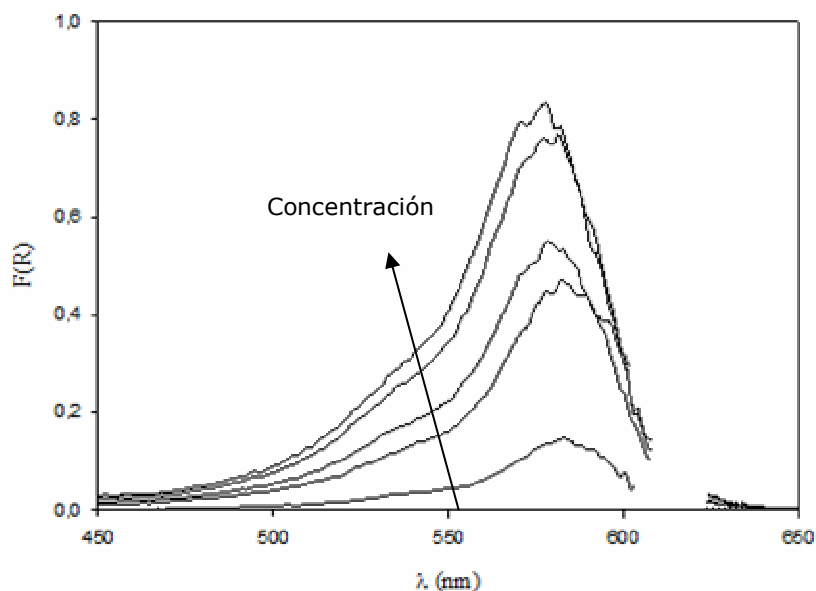


Figura III.5. Espectros de Función de remisión de R101 adsorbida sobre celulosa.

Si se grafica el valor del máximo obtenido de $F(R_\lambda)$ en función de la concentración (Figura III.6) se tiene una relación lineal. Esto es esperable si se considera que sólo existe una especie que absorbe en la muestra (ver sección II.2) por lo que la linealidad observada descarta la formación de agregados de colorante en el soporte en el intervalo de concentraciones usadas.

Los espectros de emisión fueron obtenidos excitando a 520 nm y la detección fue realizada entre 540 y 800 nm. La emisión se registró en capas gruesas y finas de la muestra usando un filtro Schott OG530 (1mm) con el fin de evitar la llegada de luz de excitación al detector.

Los espectros de emisión en capa gruesa normalizados se muestran en la Figura III.7. Puede observarse que el colorante presenta un máximo de emisión de fluorescencia entre 610 y 618 nm, desplazándose hacia mayores longitudes de onda a medida que aumenta la concentración. Aquí los procesos de reabsorción y reemisión

de fluorescencia tienen un rol importante en el corrimiento de la banda principal y en la distorsión en el espectro, debido al efecto de filtro interno (ver sección II.3.4).

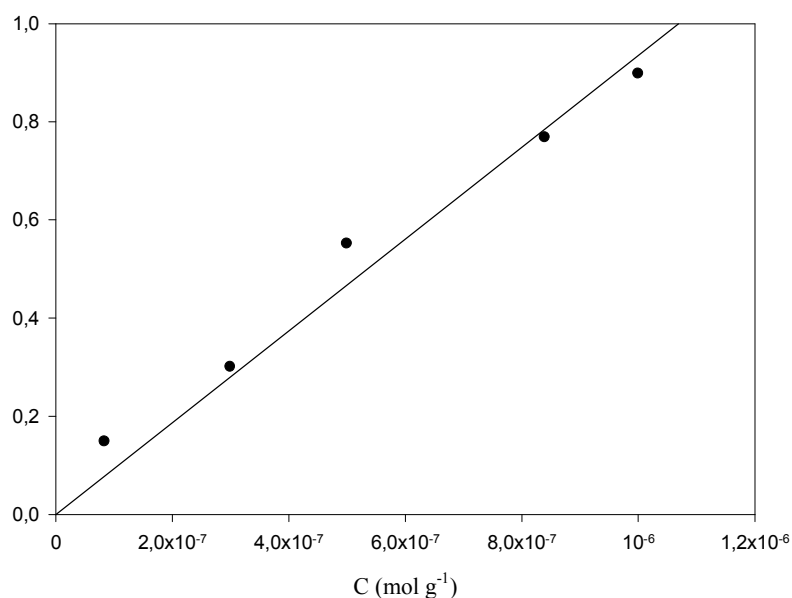


Figura III.6. Máximo de la función de remisión de R101 adsorbida sobre celulosa en función de la concentración.

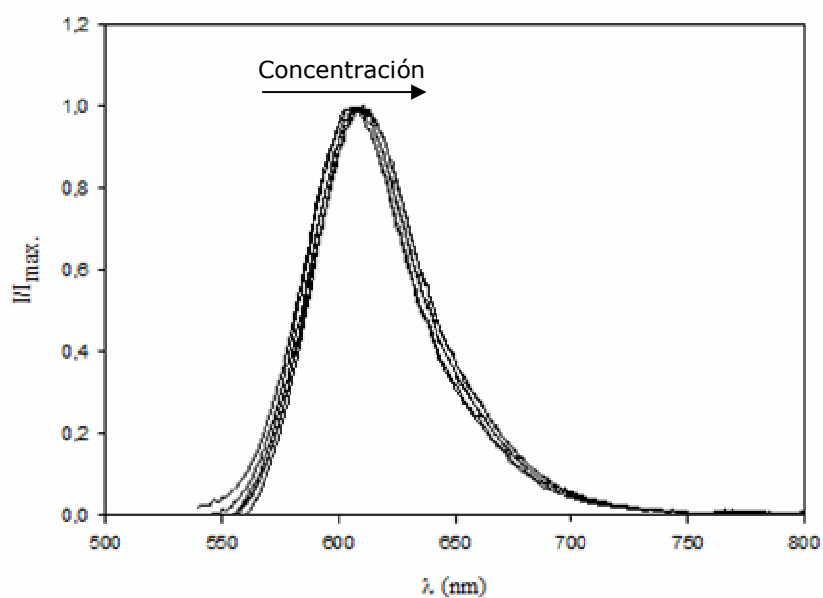


Figura III.7. Espectros de emisión en capa gruesa normalizados de muestras de R101.

Los espectros para muestras en capa fina muestran una banda de emisión a 605 nm que presenta un ensanchamiento menor al observado en capa gruesa (Figura III.8). Esto se debe a que en las muestras preparadas como capa fina el espesor es muy pequeño para que los procesos de reabsorción sean apreciables. Para evaluar la reabsorción de la fluorescencia se dividió el espectro de fluorescencia en capa gruesa por la función $\gamma(\lambda, \lambda_0)$, definida en la Ecuación II.18, a fin de compararla con los resultados experimentales en capa fina como se muestra en la Figura III.8 para una muestra concentrada de R101 adsorbida sobre celulosa. Se encuentra gran similitud entre éstos, lo que señala que los efectos de reabsorción y reemisión son responsables de la distorsión en los espectros de emisión y del desplazamiento del máximo a menores energías con la concentración. Al mismo tiempo se demuestra que las capas finas están desprovistas de estos procesos.

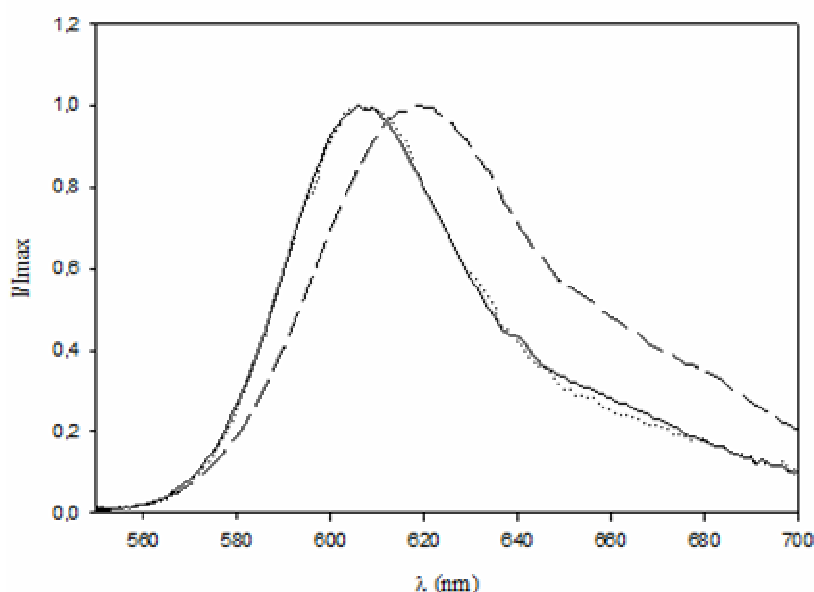


Figura III.8. Comparación de espectros de emisión en capa fina (línea llena), en capa gruesa (línea quebrada) y en capa gruesa corregida (línea punteada) de la muestra R101-6.

Los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados (Φ_{obs}) fueron calculados para cada longitud de onda de excitación a partir de los espectros de reflectancia como se describe en la sección II.3.3. Los valores obtenidos (Tabla III.1) muestran una dependencia apreciable con la concentración. A medida que ésta aumenta el valor de

Φ_{obs} disminuye y esto se debe a que el efecto de filtro interno se hace más evidente a mayores concentraciones [44].

RODAMINA 6G

Las muestras adsorbidas sobre celulosa se prepararon a partir de una solución de R6G en etanol. Las muestras presentan las concentraciones y las propiedades se indican en la Tabla III.2.

Muestra	Concentración (moles $\times$ g ⁻¹)	R	Φ_{obs}
R6G-1	$5,5 \times 10^{-8}$	0,75	0,50
R6G-2	$7,7 \times 10^{-8}$	0,74	0,40
R6G-3	$1,1 \times 10^{-7}$	0,66	0,40
R6G-4	$3,3 \times 10^{-7}$	0,54	0,34
R6G-5	$5,5 \times 10^{-7}$	0,50	0,26
R6G-6	$7,7 \times 10^{-7}$	0,39	0,20
R6G-7	$1,1 \times 10^{-6}$	0,34	0,20

Tabla III.2. Concentraciones de las muestras de R6G adsorbida sobre celulosa, reflectancia total y rendimiento cuántico observado a 532 nm.

Como en el caso de R101, este colorante es altamente fluorescente, por lo cual las medidas de reflectancia se obtienen utilizando el mismo filtro.

En la Figura III.9 se muestra el espectro de función de remisión de las muestras de R6G adsorbida en celulosa. Puede observarse que éstas presentan un máximo de absorción a 534-536 nm y un hombro alrededor de 500 nm. En este sistema, R6G muestra un corrimiento batocrómico en el espectro de absorción (2 a 4 nm) y un ensanchamiento de las bandas respecto a su comportamiento en solución de etanol.

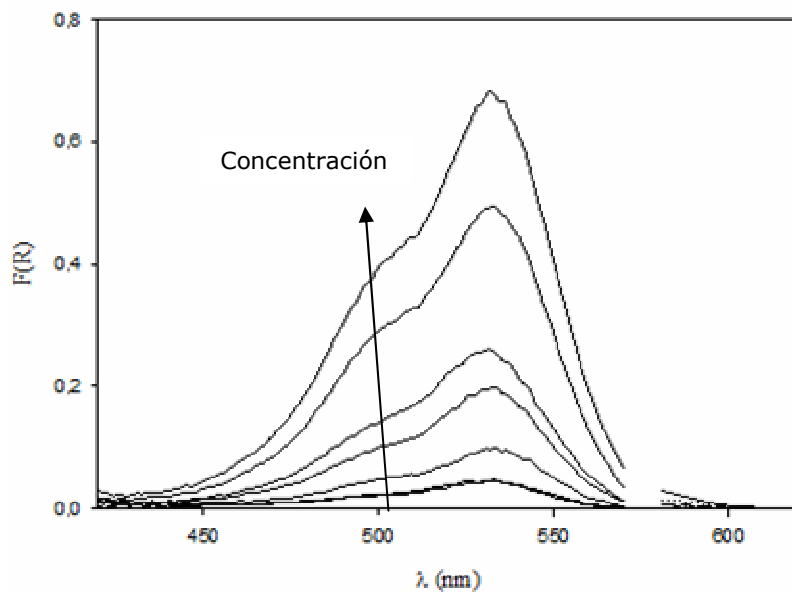


Figura III.9. Espectros de Función de emisión de R6G adsorbida sobre celulosa.

En la Figura III.10 puede verse la relación lineal que existe entre el valor máximo en la función de emisión y la concentración demostrando la ausencia de agregados.

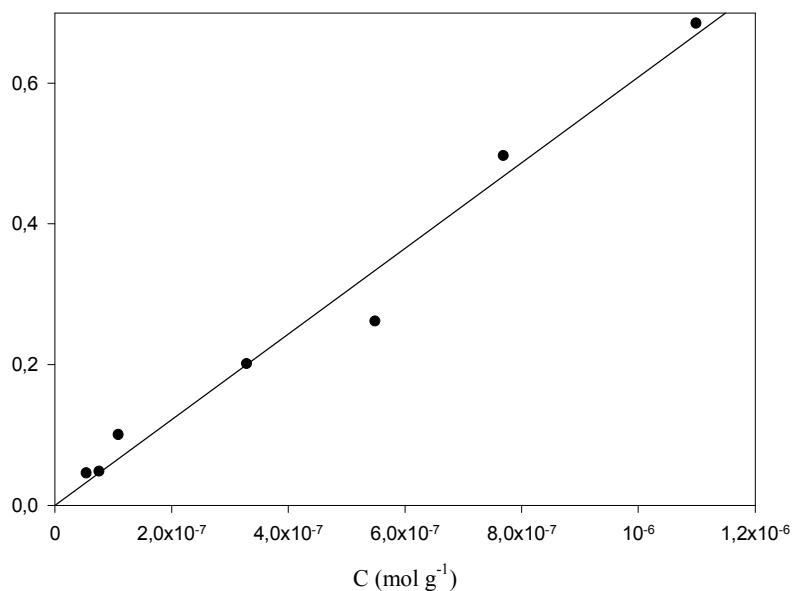


Figura III.10. Máximo de la función de emisión de R6G adsorbida sobre celulosa en función de la concentración.

Los espectros de emisión para capas gruesas y capas finas se obtienen excitando a una longitud de onda de 490 nm y detectando entre 520 y 800 nm usando un filtro Schott OG515 de 1mm de espesor antes del detector. Los espectros de emisión en capa gruesa normalizados se muestran en la Figura III.11.

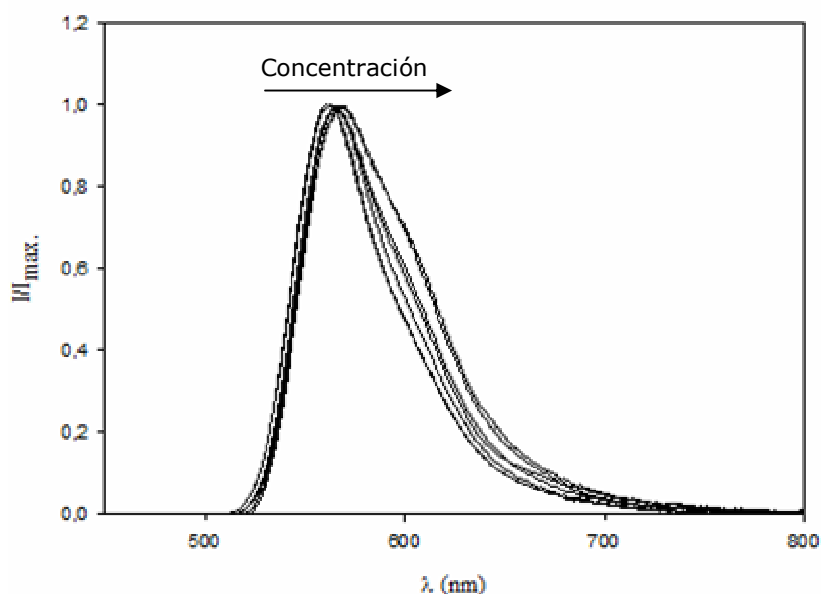


Figura III.11. Espectros de emisión en capa gruesa normalizados de muestras de R6G.

Los espectros presentan un máximo que va de 562 a 570 nm y un hombro que aparece al aumentar la concentración. Estos efectos se deben a los procesos de reabsorción y de reemisión ya que al comparar con los espectros corregidos por la función $\gamma(\lambda, \lambda_0)$ se observa que estos últimos son similares a los espectros para capa fina, donde el máximo aparece a 557 nm [19, 45-46].

En la Figura III.12 se presentan para una muestra concentrada de R101 adsorbida sobre celulosa los espectros de emisión para capas gruesas, para capas finas y para capas gruesas corregidos por reabsorción. La coincidencia entre el espectro para capas finas y el corregido comprueba la presencia de los efectos mencionados.

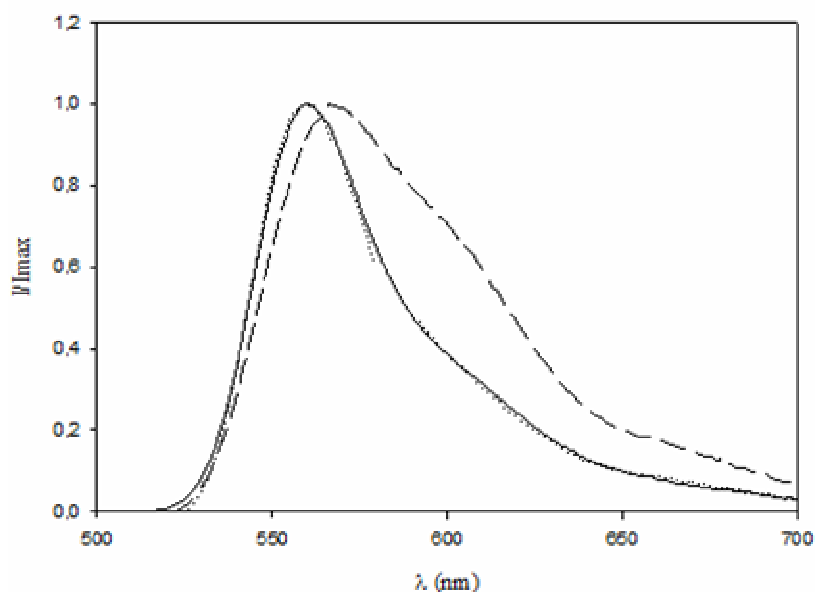


Figura III.12. Comparación de espectros de emisión en capa fina (línea llena), en capa gruesa (línea quebrada) y en capa gruesa corregida (línea punteada) de la muestra RG-7.

En la Tabla III.2 se muestran los valores de rendimientos cuánticos observados. Aquí también los rendimientos disminuyen con el aumento de la concentración debido al efecto de filtro interno.

III.4 COLORANTES CON BAJOS VALORES DE RENDIMIENTO CUÁNTICO DE FLUORESCENCIA.

En esta sección se tratan los colorantes del segundo grupo EB y RB. En estos casos, debido a que el rendimiento cuántico de fluorescencia es bajo, no resulta necesario el empleo de filtros ópticos para la obtención de reflectancias por lo que se realizan medidas en forma tradicional. A su vez, la determinación de rendimiento cuántico de fluorescencia se hace en forma relativa como se describió en la sección II.3.2.

ERITROSINA B

Las muestras sólidas fueron obtenidas a partir de una solución de EB en etanol y en la Tabla III.3 se muestran las concentraciones obtenidas sobre celulosa.

Muestra	Concentración (moles $\times$ g ⁻¹)	R	Φ_{obs}
EB-1	$4,5 \times 10^{-8}$	0,83	0,063
EB-2	$6,7 \times 10^{-8}$	0,82	0,064
EB-3	$9,0 \times 10^{-8}$	0,78	0,068
EB-4	$1,7 \times 10^{-7}$	0,76	0,048
EB-5	$2,3 \times 10^{-7}$	0,68	0,062
EB-6	$3,3 \times 10^{-7}$	0,68	0,043
EB-7	$4,5 \times 10^{-7}$	0,66	0,043

Tabla III.3. Concentraciones de las muestras de EB adsorbida sobre celulosa, reflectancia total y rendimiento cuántico observado a 532 nm.

El espectro de la función de reemisión para EB adsorbida sobre celulosa (Figura III.13) presenta una banda principal a 543 nm y un hombro alrededor de 505 nm. Se observa también que al aumentar la concentración del colorante la relación entre los valores en 543 nm y 505 nm disminuye y esto puede deberse a la presencia de agregados.

Estudios realizados sobre EB en solución etanólica muestran que el espectro de absorbancia presenta la banda principal a 532 nm, correspondiente a una transición $\pi \rightarrow \pi^*$, y dos hombros a 495 nm y a 465 nm que corresponden a las transiciones 1-0 y 2-0 del modo respiración del anillo, respectivamente [29]. Por lo tanto puede verse que en muestras sólidas de EB hay un corrimiento batocrómico debido al cambio en el entorno. El mismo tipo de corrimiento se encuentra para muestras de EB inmovilizada en películas de polivinilalcohol (PVA) [30] y en solución sólida de polimetilmetacrilato (PMMA) [33].

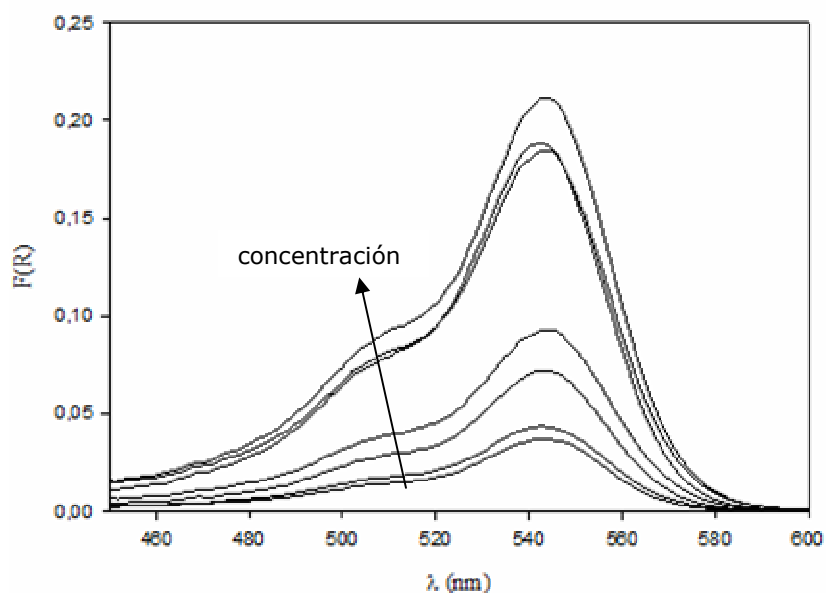


Figura III.13. Espectros de función de remisión de EB adsorbida en celulosa.

La Figura III.14 muestra que la relación de $F(R_\lambda)$ con la concentración no es lineal, o sea que existe más de una especie capaz de absorber la radiación incidente lo que puede atribuirse a la presencia de agregados.

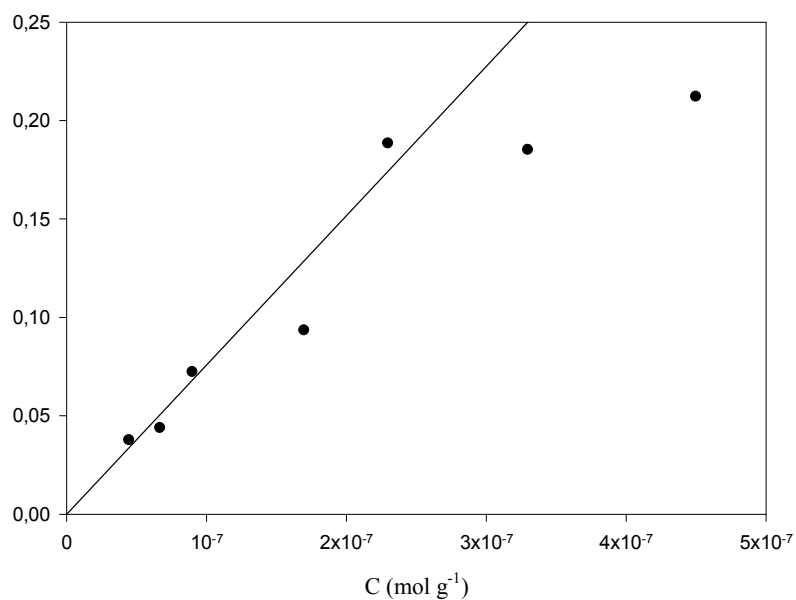


Figura III.14. Máximo de la función de remisión de EB adsorbida sobre celulosa en función de la concentración

El análisis de agregación, referido en la sección II.3.4, se realizó con los espectros de función de remisión considerando que las especies agregadas están compuestas por dímeros y no hay agregados superiores en las muestras aquí estudiadas. En la Figura III.15 se muestran los espectros de absorción obtenidos para el monómero y el dímero luego del ajuste de los datos experimentales. Como se refiere a unidades monoméricas el espectro del dímero esta dividido por 2.

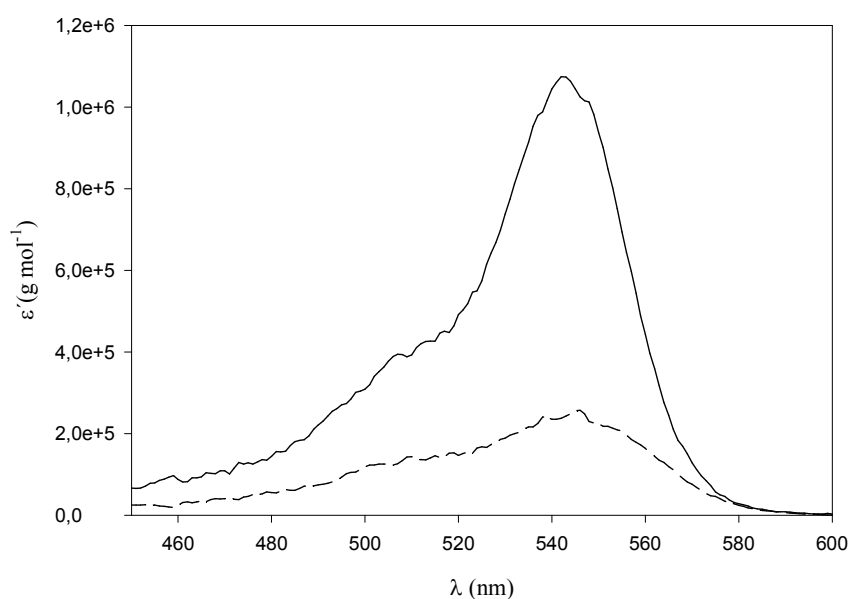


Figura III.15. Espectros de absorción ($\epsilon' = 2\epsilon/s$) del monómero (línea llena) y del dímero/2 (línea quebrada) para EB adsorbida en celulosa.

La forma de ambos espectros es similar aunque el espectro del dímero es mas ancho y presenta una relación menor entre el valor del máximo y de hombro. Si se considera que las moléculas que conforman el dímero tienen un acoplamiento intermolecular débil (ver sección II.3.4) pueden explicarse estas observaciones y el efecto de hipocromismo observado [47-48].

Considerando las contribuciones relativas de los espectros de monómero y dímero se recalculan los espectros de función de remisión para cada una de las muestras y se presentan en la Figura III.16.

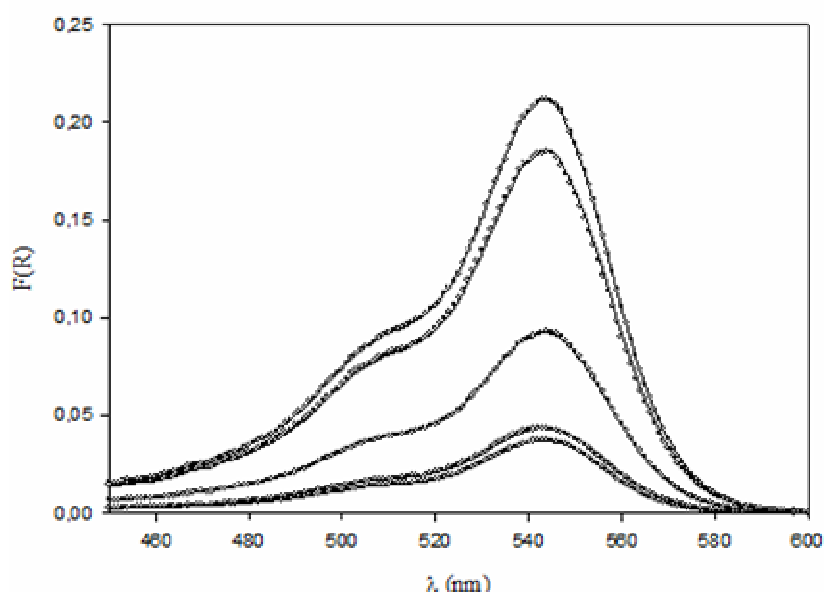


Figura III.16. Espectros de función de emisión experimentales (círculos) y calculados (línea llena) a partir de los espectros de monómero y dímero, para las muestras EB-1, 2, 4, 6 y 7.

La concordancia entre los espectros calculados a partir de los experimentos de reflectancia y los recalculados a partir de los espectros base del monómero y dímero indica que ambas especies contribuyen al espectro final, avalando el tratamiento realizado. La agregación aumenta a medida que aumenta la concentración, de un 31% para la muestra EB-1 hasta un 67% para la muestra EB-7.

Los espectros de emisión para las muestras adsorbidas se registraron a partir de la excitación a 505 nm usando un filtro Schott OG515 (1 mm) para evitar que la luz de excitación llegue al detector. El espectro se recogió entre 520 nm y 800 nm.

Los espectros de emisión para muestras sólidas para capas gruesas se muestran en la Figura III.17 donde puede observarse que la banda principal es ancha y su máximo se encuentra en el intervalo 568 - 573 nm, desplazándose hacia menores energías al aumentar la concentración. En el espectro para capa fina el intervalo es 561-562 nm; aquí la variación es mínima con respecto al aumento de la concentración. El espectro de emisión de EB en etanol presenta una banda a 552 nm y un hombro alrededor de

605 nm [24-29], de manera que aquí también puede observarse un corrimiento importante hacia el rojo por efecto del entorno.

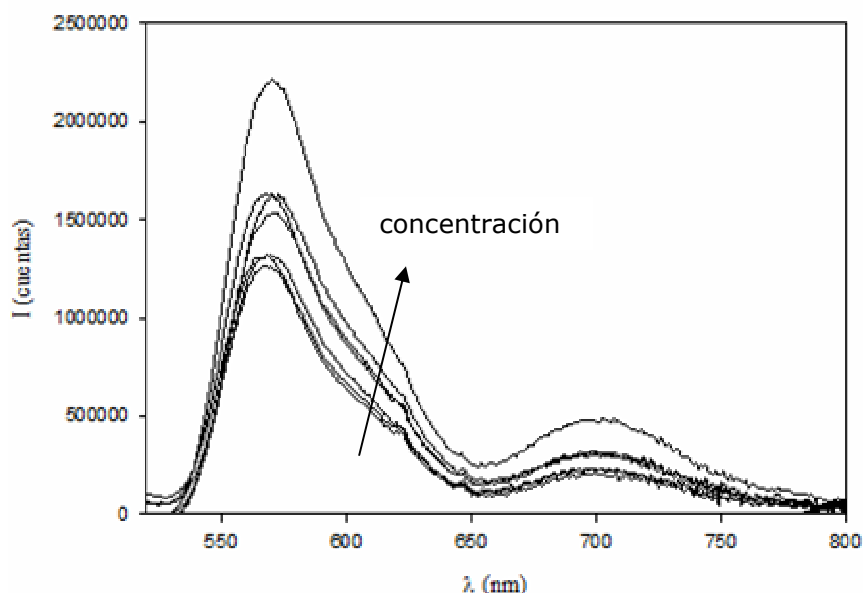


Figura III.17. Espectro de emisión en capas gruesas de EB adsorbida en celulosa.

En los espectros de emisión en capa gruesa puede observarse, además, la presencia de una banda ancha y débil a 703 nm que corresponde a la emisión de fosforescencia. Esta banda también se observa en espectros para capas finas, aunque es difícil de apreciar debido a la baja intensidad de emisión del colorante en muestras delgadas. Notar que la posición de la banda de fosforescencia no varía con la carga de colorante a diferencia de la banda de fluorescencia ya que no se encuentra afectada por los procesos de reabsorción y reemisión.

En la Figura III.18 se muestran los espectros de emisión en capa gruesa y fina para una muestra concentrada de EB adsorbida sobre celulosa. En el espectro en capa fina no se observa en forma tan pronunciada el hombro que aparece en capa gruesa a longitudes de onda mayores al de la banda principal. Los posibles efectos de reabsorción y de reemisión se evaluaron corrigiendo el espectro de fluorescencia para capas gruesas con la función $\gamma(\lambda, \lambda_0)$ y el resultado se muestra en la misma figura. Se encuentra gran similitud entre el espectro corregido y el espectro para capas finas, lo que señala que estos efectos son los responsables de la distorsión en los espectros de emisión y del desplazamiento del máximo a menores energías con la concentración.

Además se demuestra que estos procesos no ocurren en las capas finas de muestras de celulosa.

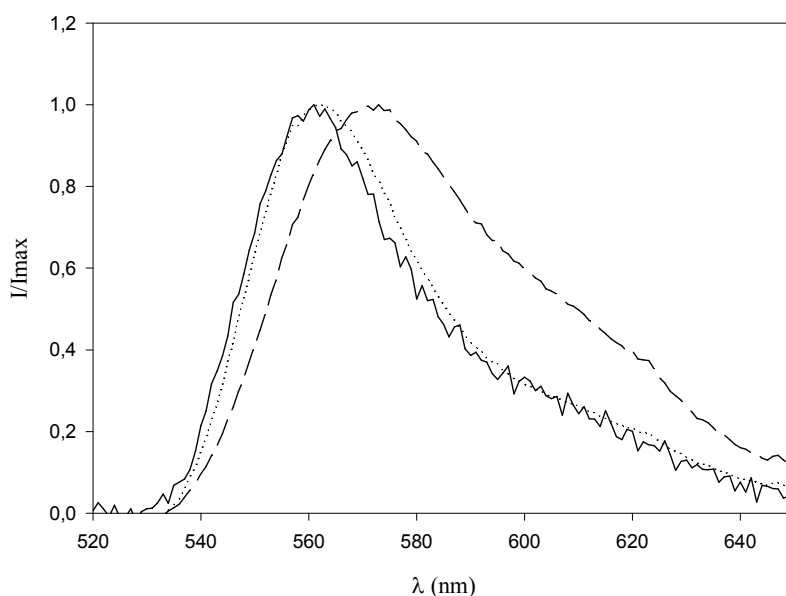


Figura III.18. Comparación de espectros de emisión en capa fina (línea llena), en capa gruesa (línea quebrada) y en capa gruesa corregida (línea punteada) de la muestra EB-7.

Con el fin de hacer un estudio comparativo entre las propiedades fotofísicas de EB se obtuvo el rendimiento cuántico relativo de fluorescencia en solución de etanol. Excitando a 495 nm y utilizando como referencia una solución de R6G en etanol se obtuvo $\Phi_F = 0.08$, coincidente con el valor de literatura [28].

Para las muestras sólidas de EB se obtiene el rendimiento cuántico de fluorescencia relativo usando el método para muestras de baja fluorescencia, Ecuación II.9. Se utiliza R6G adsorbida en celulosa como referencia y se excita a 505 nm. Los resultados se muestran en la Tabla III.3. Estos valores resultaron menores que el observado para una solución en etanol y presentan una variación con la concentración tal como sucede en estos tipos de sistemas debido al efecto de filtro interno.

Para determinar el valor del rendimiento cuántico de fluorescencia verdadero, o sea sin los efectos de reabsorción y reemisión, se corrigen los valores observados utilizando el procedimiento descrito en la sección II.3.5. Considerando que la única

especie emisora es el monómero (M) se obtuvieron los valores de Φ_F que se muestran en la Tabla III.4 junto a los demás parámetros del modelo.

Muestra	Φ_{obs}	P	α_{0M}	P_M	Φ_F
EB-1	0,063	0,560	0,865	0,340	0,157
EB-2	0,064	0,536	0,777	0,311	0,169
EB-4	0,048	0,570	0,639	0,237	0,167
EB-6	0,043	0,576	0,579	0,222	0,169
EB-7	0,043	0,579	0,599	0,223	0,165

Tabla III.4. Parámetros para la corrección del Φ_{obs} para muestras de EB adsorbida sobre celulosa y los valores obtenidos.

El rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ_F) obtenido no muestra ninguna tendencia con la concentración y por lo tanto se considera constante e igual a $0,165 \pm 0,005$. Por otro lado, el valor obtenido resulta mucho mayor que en solución de etanol (0,08) y de metanol (0,08) [28], mostrando la influencia de la matriz sobre las propiedades fotofísicas del colorante. En el capítulo VII, se hará una discusión sobre éste y los demás resultados obtenidos en la caracterización del colorante en este sistema.

ROSA DE BENGALA

A partir de una solución de RB en etanol se obtuvieron las muestras de RB adsorbidas sobre celulosa que se informan en la Tabla III.5.

Los espectros de función de remisión (Figura III.19) se calculan a partir de los valores de reflectancias difusa medida (Ecuación II.4). Como puede observarse los espectros de RB sobre celulosa presentan un máximo de absorción a 563 nm, lo que muestra un corrimiento batocrómico con respecto a la solución de etanol en que el

máximo se ubica a 559nm [49]. Al mismo tiempo, se observa que al aumentar la concentración de colorante la banda principal muestra un leve ensanchamiento y la relación entre su intensidad y la de la banda satélite decrece. Estos comportamientos evidencian la presencia de agregados en el sistema [19, 40, 50].

Muestra	Concentración (moles $\times$ g ⁻¹)	R	Φ_{obs}
RB-1	$2,3 \times 10^{-8}$	0,90	0,078
RB-2	$4,7 \times 10^{-8}$	0,86	0,073
RB-3	$6,9 \times 10^{-8}$	0,83	0,082
RB-4	$1,2 \times 10^{-7}$	0,80	0,070
RB-5	$2,1 \times 10^{-7}$	0,77	0,069
RB-6	$3,7 \times 10^{-7}$	0,74	0,060
RB-7	$4,1 \times 10^{-7}$	0,68	0,057

Tabla III.5. Concentraciones de las muestras de RB adsorbida sobre celulosa, reflectancia total y rendimiento cuántico observado a 532 nm.

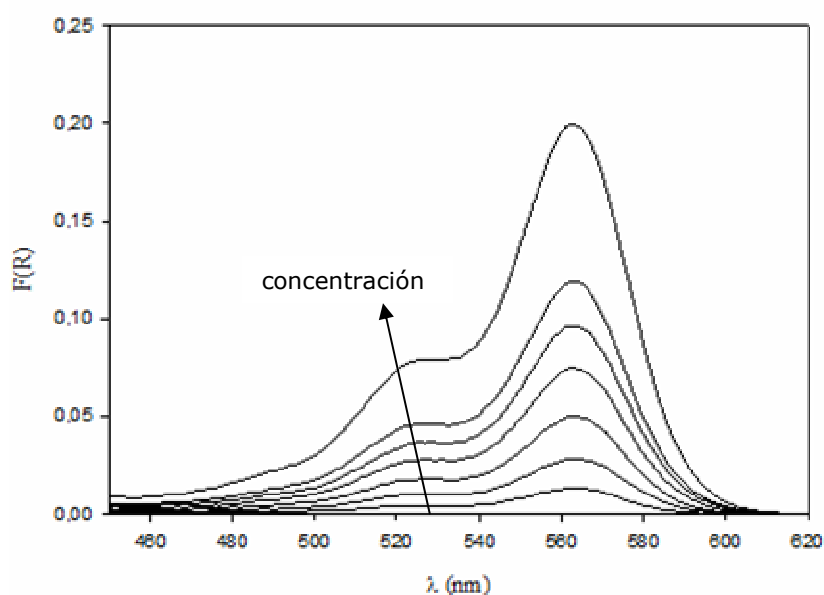


Figura III.19. Espectros de función de emisión de RB adsorbida en celulosa.

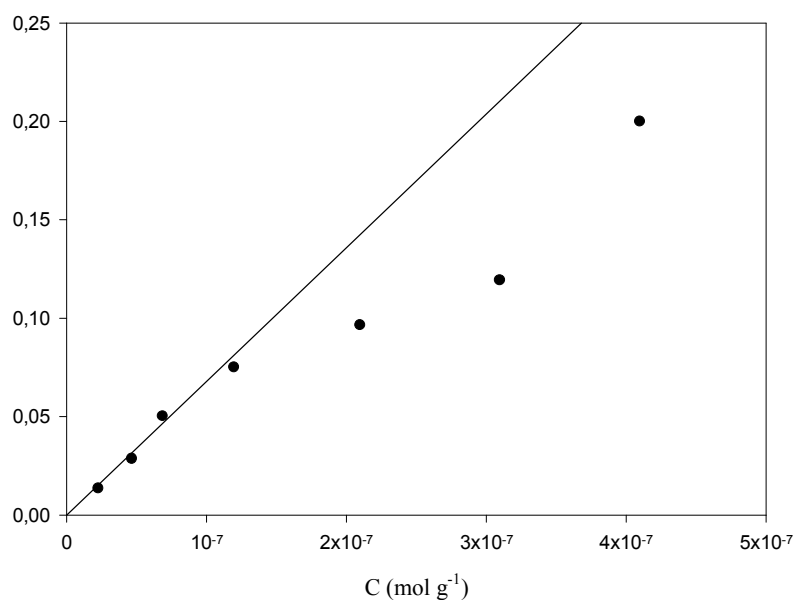


Figura III.20. Máximo de la función de remisión de RB adsorbida sobre celulosa en función de la concentración

En la relación que existe entre la función de remisión y la concentración de colorante adsorbido sobre celulosa se observa cierta desviación de la linealidad para las concentraciones estudiadas (Figura III.20). Este comportamiento coincide con la observación de que existe más de una especie que absorbe en el sistema indicando que el colorante se agrega al adsorberse en celulosa.

El análisis de agregación se realizó de la misma forma que para las muestras de EB, usando los espectros de $F(R_\lambda)$ y considerando que las moléculas se agregan formando sólo dímeros. Los resultados de los ajustes para los espectros absorción, para el monómero y el dímero, se muestran en la Figura III.21 donde el espectro del dímero esta dividido por 2, ya que se expresa en términos de unidades monoméricas.

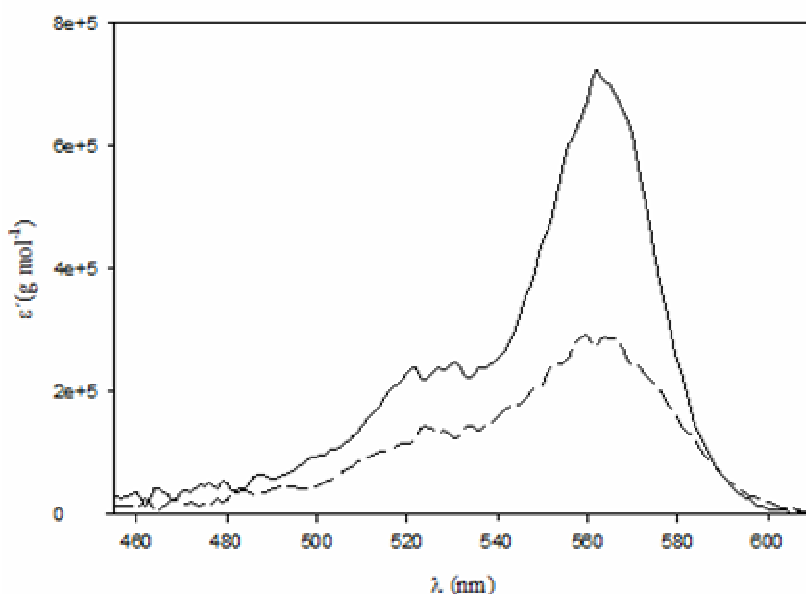


Figura III.21. Espectros de absorción ($\epsilon' = 2\epsilon/s$) del monómero (línea llena) y del dímero/2 (línea quebrada) para RB adsorbida en celulosa.

Igual que en el caso de las muestras de EB, la forma de ambos espectros es similar. Las bandas en el espectro del dímero son mas anchas y su relación de intensidades es menor que para el monómero. También se observa un marcado hipocromismo, lo que lleva a la misma conclusión que en el caso anterior: el acoplamiento entre las moléculas que conforman el dímero es débil [47-48].

Los espectros de $F(R_s)$ calculados a partir de los espectros del dímero y del monómero se muestran en la Figura III.22 junto con los espectros obtenidos a partir de los valores experimentales de reflectancia. Ambos espectros tienen alta concordancia apoyando la hipótesis de la existencia de una especie agregada como dímero. La agregación aumenta con el incremento en la concentración desde un 10%, para la muestra RB-1, hasta un 60% para la muestra RB-6.

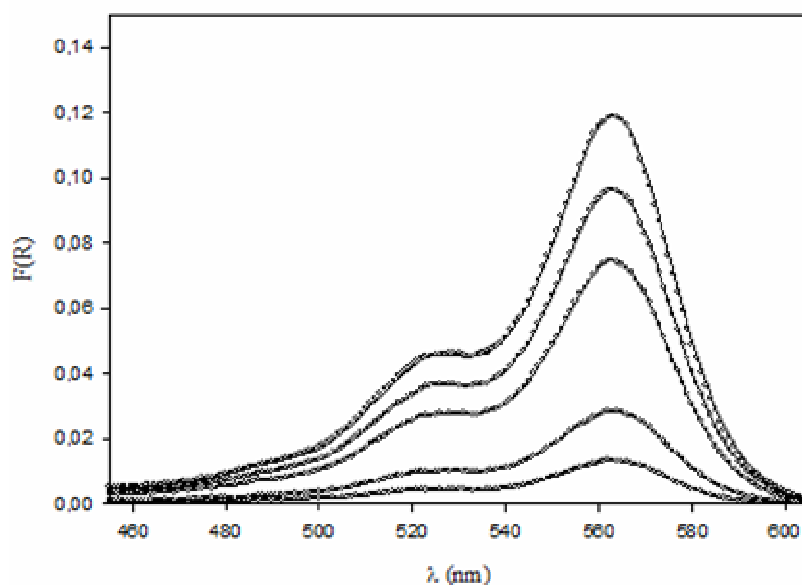


Figura III.22. Espectros de función de emisión experimentales (círculos) y calculados (línea llena), a partir de los espectros de monómero y dímero, para las muestras RB-1, 2, 4, 5 y 6.

Los espectros de emisión para capas gruesas de las muestras de RB se muestran en la Figura III.23. Al aumentar la concentración se observa un leve corrimiento de la banda principal hacia el rojo (582-588 nm), ensanchamiento de las bandas y una menor relación entre la banda principal y a banda satélite. Este comportamiento es esperado cuando existe reabsorción de la fluorescencia como en el caso de las muestras de EB.

Igual que para las muestras de EB en los espectros de emisión para capas gruesas se observa la presencia de una banda ancha y débil a 738 nm que corresponde a la emisión de fosforescencia del colorante. Esta banda no se ve modificada por la carga de colorante ya que no ocurre reabsorción a esta longitud de onda.

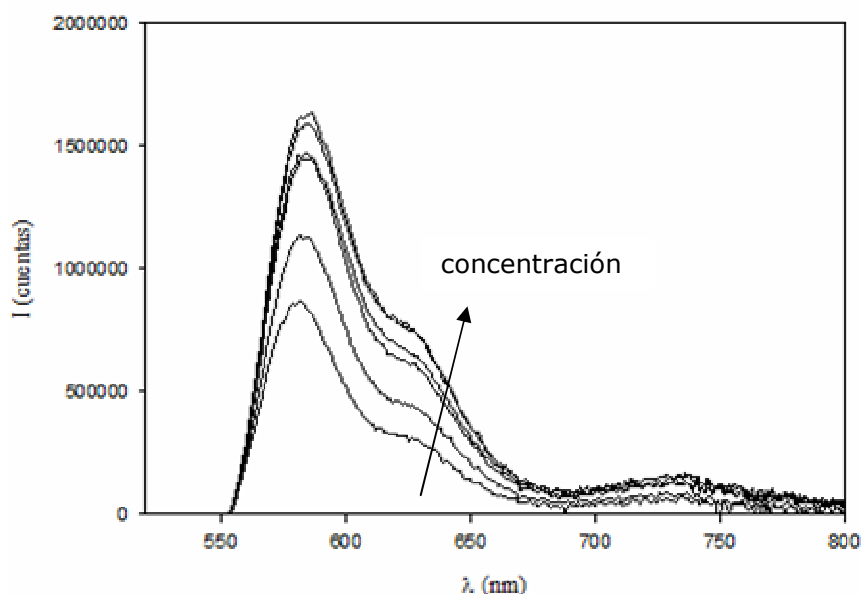


Figura III.23. Espectros de emisión en capa gruesa de RB adsorbida en celulosa.

La Figura III.24 muestra el espectro de emisión en capa gruesa y en capa fina para una muestra concentrada de RB adsorbida sobre celulosa. En el espectro en capa fina la relación de la banda principal con la satélite es mucho menor y tiene menos variación que en capa gruesa (576-579 nm). Por su escaso espesor puede considerarse que las muestras en capas finas presentan reabsorción despreciable.

Los espectros en capa gruesa fueron corregidos por la función $\gamma(\lambda, \lambda_0)$. Luego de esta corrección no se observan grandes diferencias con respecto a los espectros en capa fina (Figura III.24). Esto señala que la reabsorción es la responsable de la diferencia de la relación de bandas y en parte del corrimiento del máximo a menores energías con la concentración.

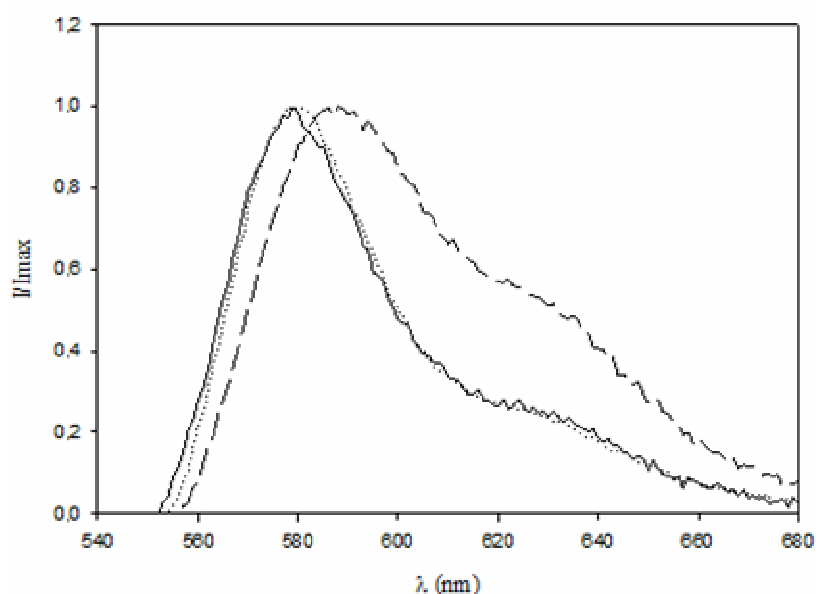


Figura III.24. Comparación de espectros de emisión en capa fina (línea llena), en capa gruesa (línea quebrada) y en capa gruesa corregidos (línea punteada) de la muestra RB-7.

Se determinó el rendimiento cuántico de fluorescencia observado usando R101 como referencia [10, 51] para una longitud de onda de excitación de 532 nm. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla III.6. El rendimiento cuántico aumenta al disminuir la concentración, ya que el efecto de filtro interno va haciéndose menor.

Muestra	Φ_{obs}	P	α_{0M}	α_{0D}	P_M	Φ_{ap}
RB-1	0,078	0,390	0,934	0,057	0,352	0,130
RB-2	0,073	0,387	0,772	0,258	0,270	0,147
RB-4	0,070	0,380	0,638	0,361	0,221	0,171
RB-5	0,069	0,407	0,579	0,427	0,213	0,191
RB-6	0,060	0,424	0,554	0,434	0,220	0,181

Tabla III.6. Parámetros para la corrección del Φ_{obs} para muestras de RB adsorbida sobre celulosa y los valores obtenidos a una longitud de onda de excitación de 532 nm.

Utilizando el procedimiento descrito en la sección II.3.5., para corregir los valores de Φ_{obs} y considerando que la única especie emisora es el monómero (M). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla III.6.

El rendimiento cuántico corregido aumenta con la concentración mostrando que no corresponde al valor de rendimiento cuántico verdadero de fluorescencia buscado. Por ello, el valor calculado se considera aparente (Φ_{ap}). Este fenómeno fue estudiado por Rodríguez y otros [19, 40], quienes propusieron que los dímeros son fluorescentes. El modelo aplicado para la corrección considera sólo una especie emisora, con lo cual no puede ser aplicado en este caso. Al ser los espectros de emisión de ambas especies similares (no se evidencia distorsión en el espectro corregido) la probabilidad de que la luz emitida escape del sistema es la misma para ambas especies y por lo tanto:

$$(III.1) \quad \Phi_{\text{obs}} = (\Phi_M \alpha_{0M} + \Phi_D \alpha_{0D})(1 - P)$$

donde Φ_M y Φ_D son los rendimientos cuánticos de fluorescencia del monómero y dímero, respectivamente, α_{0M} y α_{0D} corresponde a la fracción de la radiación emitida que es absorbida por el monómero y el dímero, respectivamente y P es la probabilidad de reabsorción total. Reordenando se obtiene la siguiente expresión lineal:

$$(III.2) \quad \frac{\Phi_{\text{obs}}}{\alpha_{0M}(1 - P)} = \Phi_M + \Phi_D \frac{\alpha_{0D}}{\alpha_{0M}}$$

Graficando el cociente entre Φ_{obs} y $\alpha_{0M}(1-P)$ en función de α_{0D}/α_{0M} pueden obtenerse los valores de rendimiento cuántico de fluorescencia del monómero y del dímero, como se muestra en la Figura III.25. De la pendiente y de la ordenada al origen se obtiene $\Phi_M = 0,130 \pm 0,006$ y $\Phi_D = 0,08 \pm 0,01$. Estos valores están de acuerdo con los obtenidos por Rodríguez y otros, mostrando que la disminución del rendimiento cuántico de fluorescencia en el dímero es significativa aún cuando el acoplamiento es débil. El valor obtenido para el monómero es mayor que el obtenido en solución de etanol (0,11) y de metanol (0,08) [28]. Este efecto será discutido en el capítulo VII.

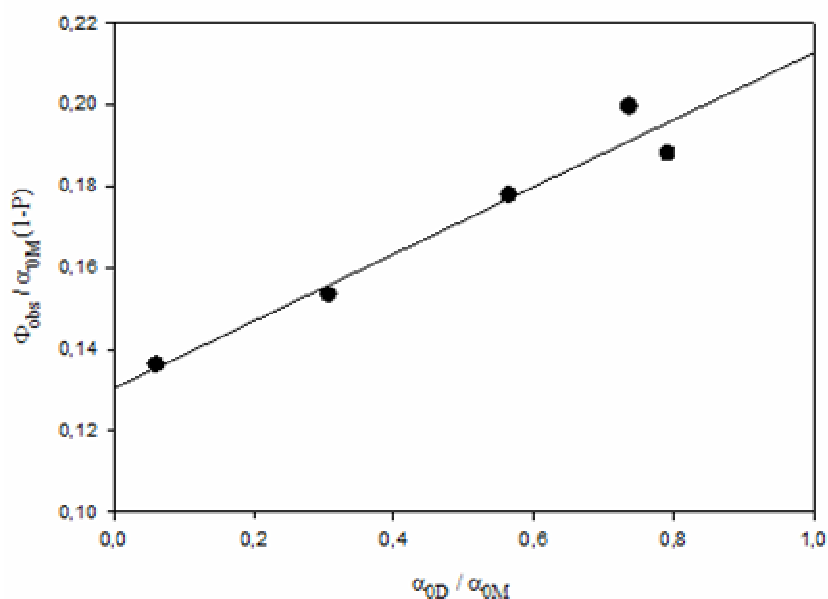


Figura III.25. Representación según la Ecuación III.2, para el cálculo de rendimientos cuánticos de fluorescencia del dímero y del monómero. Datos experimentales (círculos) y regresión lineal (línea continua).

III.5 REFERENCIAS PARA LIOAS.

NEGRO DE HUMO (MUESTRAS GRISES)

A partir de una suspensión de Negro de humo en etanol se tomaron porciones de diferente volumen para preparar las muestras GR. Los valores de reflectancia se presentan en la Tabla III.7.

Muestra	R	Muestra	R
GR-1	0,19	GR-7	0,43
GR-2	0,19	GR-8	0,50
GR-3	0,22	GR-9	0,59
GR-4	0,27	GR-10	0,65
GR-5	0,29	GR-11	0,70
GR-6	0,35	GR-12	0,77

Tabla III.7 Reflectancias totales de las muestras de GR adsorbida sobre celulosa obtenidas a 532 nm.

La Figura III.26 muestra los espectros de función de remisión calculados a partir de medidas de reflectancia para cada muestra. Se observa que este colorante no presenta una banda principal diferenciada. Observar la alta absorción a la longitud de onda de estudio, 532 nm.

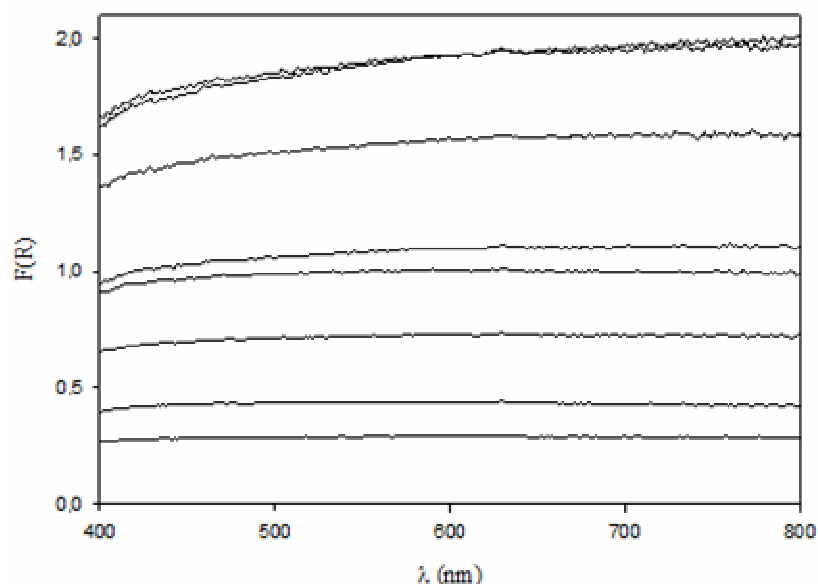


Figura III.26. Espectros de función de remisión de las muestras GR.

BRILLIANT BLUE G

Las muestras de BBG fueron preparadas a partir de una solución en etanol. Las muestras finales presentan las concentraciones indicadas en la Tabla III.8.

Muestra	Concentración (moles $\times$ g ⁻¹)	R
BBG-1	$3,6 \times 10^{-7}$	0,79
BBG-2	$7,7 \times 10^{-7}$	0,77
BBG-3	$1,1 \times 10^{-6}$	0,66
BBG-4	$1,8 \times 10^{-6}$	0,61
BBG-5	$2,9 \times 10^{-6}$	0,54
BBG-6	$3,6 \times 10^{-6}$	0,52

Tabla III.8. Concentraciones de las muestras de BBG adsorbido sobre celulosa y reflectancia total a 532 nm.

Los espectros de función de remisión (Figura III.27) poseen una banda con un máximo a 620 nm. Si bien éste se halla alejado de 532nm, su alto coeficiente de absorción hace que los valores de reflectancia a esta longitud de onda sean comparables con los obtenidos para los demás colorantes. Esto es imprescindible para su uso como referencia calorimétrica en los experimentos de optoacústica. Los estudios de emisión mostraron que este compuesto no presenta fluorescencia.

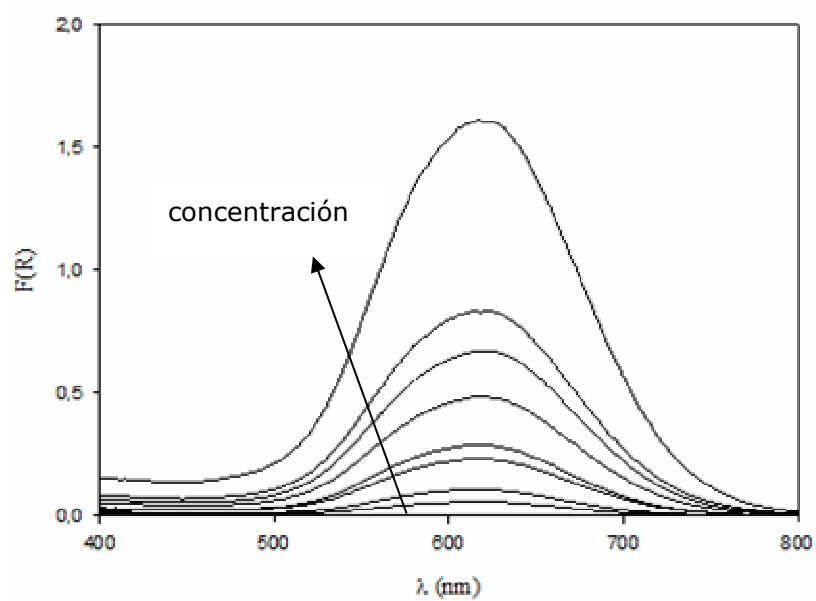


Figura III.27. Espectros de Función de remisión de R101 adsorbida sobre celulosa

III.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- [1] Drexhage, K. H. *Dye Laser*. F. P. Schäfer, Ed. Springer: Berlin. **1973**
- [2] Panchuk-Voloshina, N.; Haugland, R.; Bishop-Stewart, J.; Bhalgat, M.; Millard, P.; Mao, F.; Leung, W.; Haugland, R. Alexa dyes, a series of new fluorescent dyes that yield exceptionally bright, photostable conjugates. *J. Histochem. Cytochem.* **1999**, 47, 1179-1188.
- [3] Maier, O.; Oberle V.; Hoekstra, D. Fluorescent lipid probes: some properties and applications (a review). *Chem. Phys. Lipids* **2002**, 116, 3-18.
- [4] Karstens, T.; Kobs, K. Rhodamine B and Rhodamine 101 as reference substances for fluorescence quantum yield measurements. *J. Phys. Chem.* **1980**, 84, 1871-1872.
- [5] Eaton D. Reference materials for fluorescence measurement. *J. Photochem Photobiol. B: Biol.* **1988**, 2, 523-531.
- [6] Korobov, V.; Shubin, V.; Chibisov, A. Triplet state of rhodamine dyes and its role in production of intermediates. *Chem. Phys. Lett.* **1977**, 45, 498-501.
- [7] Beaumont, P.; Johnson, D.; Parsons, B. Photophysical properties of laser dyes: Picosecond laser flash photolysis studies of Rhodamine 6G, Rhodamine B and Rhodamine 101. *J. Chem. Faraday Trans.* **1993**, 89, 4185-4191.
- [8] Clark, J.; Miller P.; Rumbles, G. Red edge photophysics of ethanolic rhodamine 101 and the observation of laser cooling in the condensed phase. *J. Phys. Chem. A* **1998**, 102, 4428-4437.
- [9] Karstens, T.; Kobs, K. Rhodamine B and Rhodamine 101 as reference substances for fluorescence quantum yield measurements. *J. Phys. Chem.* **1980**, 84, 1871-1872.
- [10] Iriel, A. "Fotofísica de colorantes inmovilizados sobre superficies" Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires. **2006**.
- [11] Kubin, R.; Fletcher, A. Fluorescence quantum yields of some rhodamine dyes. *J. Lumin.* **1982**, 27, 455-462.

- [12] Magde, D.; Wrong, R.; Seybold, P. Fluorescence quantum yields and their relation to lifetimes of rhodamine 6G and fluorescein in nine solvents: improved absolute standards for quantum yields. *Photochem. Photobiol.* **2002**, 75, 327-334.
- [13] Dunn, K.; Sandoval, R.; Kelly, K.; Dagher, P.; Tanner, G.; Atkinson, S.; Bacallao, R.; Molitoris, B. Functional studies of the kidney of living animals using multicolor two-photon microscopy. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **2002**, 283, 905-916.
- [14] Sorokin, P.; Lankard, J.; Moruzzi V.; Hammond, E. Flashlamp-pumped organic dye lasers. *J. Chem. Phys.* **1968**, 48, 4726-4741.
- [15] Peterson, O.; Tuccio, S.; Snively, B. CW operation of an organic dye solution laser. *Appl. Phys. Lett.* **1970**, 17, 245-247.
- [16] Yariv, E.; Schultheiss, S.; Saraidarov, T.; Reisfeld, R. Efficiency and photostability of dye-doped solid-state lasers in different hosts. *Opt. Mater.* **2001**, 16, 29-38.
- [17] Somasundaram, G.; Ramalingam, A. Gain studies of rhodamine 6G dye doped polymer laser. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1999**, 125, 93-98.
- [18] Costela, A.; García-Moreno, I.; Gómez, C.; García, O.; Sastre, R. Environment effects on the lasing photostability of rhodamine 6G incorporated into organic-inorganic hybrid materials. *Appl. Phys. B* **2004**, 78, 629-634.
- [19] Rodríguez, H. "Fotofísica de colorantes sobre sólidos particulados: interacciones moleculares y transferencia de energía" Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires. **2009**.
- [20] Turro, N. Modern Molecular Photochemistry, University Science Book: Sausalito CA, **1991**.
- [21] Wilkinson, F.; Philip, Helman W.; Ross, A. Quantum yields for the photosensitized formation of the lowest electronically excited singlet state of molecular oxygen in solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1993**, 22, 113-262.
- [22] Bowers, P.; Porter, G. Triplet state quantum yield for some aromatic hydrocarbons and xanthene dyes in dilution solution. *Proc Royal Soc London. Series A, Math. Phys. Sci.* **1967**, 348-352.
- [23] Gratz, H.; Penzkofer, A. Triplet-triplet absorption of some organic molecules determined by picosecond laser excitation and time-delayed picosecond light continuum probing. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1999**, 127 (1-3), 21-30.

[24] Yeow, E.; Slep, L.; Chibisov, A.; Braslavsky, S. Photoinduced Electron-Transfer Reaction between the Erythrosin Dianion and Mo(CN)₈⁴⁻ in the Presence of Various Cations. The First Example of Enthalpy–Entropy Compensation in Electron Transfer between Anions. *J. Phys. Chem. A*. **2003**, 107 (4), 439-446.

[25] Lessing, H.; Richardt, D. Quantitative triplet photophysics by picosecond photometry. *J. Mol. Struct.* **1982**, 84 (3-4), 281-292.

[26] Nemoto, N.; Kokubun, H.; Koizumi, M. Determination of the S^{*}-T transition probabilities of some xanthene and thiazine dyes on the basis of the T-Energy transfer. I. Experiments in ethanol solutions. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1969**, 42, 1223-1230.

[27] Encinas, M.; Rufs, A.; Bertolotti, S.; Previtali, C. Xanthene dyes/amine as photoinitiators of radical polymerization: A comparative and photochemical study in aqueous medium. *Polymer* **2009**, 50 (13), 2762-2767.

[28] Fleming, G.; Knight, A.; Morris, J.; Morrison, R.; Robinson, G. Picosecond fluorescence studies of xanthene dyes. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99 (13), 4306-4311.

[29] Duchowicz, R.; Ferrer, M. L.; Acuña, A. Kinetic Spectroscopy of Erythrosine Phosphorescence and Delayed Fluorescence in Aqueous Solution at Room Temperature. *Photochem. Photobiol.* **1998**, 68(4), 494-501.

[30] Kamat, P.; Fox, M. Photophysics and photochemistry of xanthene dyes in polymer solutions and films. *J. Phys. Chem.* **1984**, 88 (11), 2297-2302.

[31] Pravinata, L.; You, Y.; Ludescher, R. Erythrosin B phosphorescence monitors molecular mobility and dynamic site heterogeneity in amorphous sucrose. *Biophys. J.* **2005**, 88, 3551-3561.

[32] Lam, S.; Lo, D. Time-resolved spectroscopic study of phosphorescence and delayed fluorescence of dyes in silica-gel glasses. *Chem. Phys. Lett.* **1997**, 281, 35-43.

[33] Lettinga, M.; Zuilhof, H.; van Zandvoort, M. Phosphorescence and fluorescence characterization of fluorescein derivatives immobilized in various polymer matrices. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, 2 (16), 3697-3707.

[34] Bailey, R.; Cruickshank, F.; Deans, G.; Gillanders, R.; Tedford, M. Characterization of a fluorescent sol-gel encapsulated erythrosin B dissolved oxygen sensor. *Anal. Chim. Acta.* **2003**, 487, 101-108.

- [35] Murasecco-Suardi, P.; Gassmann, E.; Braun, A.; Oliveros, E. Determination of the Quantum Yield of Intersystem Crossing of Rose Bengal. *Helv. Chim. Acta*, **1987**, 70, 1766-1773.
- [36] Linden, S.; Neckers, D. Type I and type II sensitizers based on rose Bengal onium salts. *Photochem. Photobiol.* **1988**, 47 (4), 543-550.
- [37] Dahl, T.; Valdes-Aguilera, O.; Midden, W.; Neckers, D. Partition of Rose Bengal anion from aqueous médium into a lipophilic environment in the cell envelope of *Salmonella typhimurium*: Implications fot cell-type targeting in photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1989**, 4, 171-184.
- [38] Croce, A.; Wyroba, E.; Bottirolli, G. Distribution and retention of rose bengal and disulfonated aluminum phthalocyanine: a comparative study in unicellular eukaryote. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1992**, 16, 319-330.
- [39] Bezman, S.; Burtis, P.; Izod, T.; Thayer, M. Photodynamic inactivation of *E. coli* by Rose Bengal immobilized on polystyrene beads, *Photochem. Photobiol.* **1978**, 28, 325-329.
- [40] Rodríguez, H.; Lagorio, M.; San Román, E. Rose Bengal adsorbed on microgranular cellulose: evidence on fluorescent dimmers. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, 3 (7), 674-680.
- [41] Abbruzzetti, S.; Viappiani, C.; Murgida, D.; Erra-Balsells, R.; Bilmes, G. Non-toxic, water-soluble photocalorimetric reference compounds for UV and visible excitation. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, 304 (3-4), 167-172.
- [42] Vieira Ferreira, L.; García, A.; Freixo, M. Photochemistry on surfaces: solvent-matrix effect on the swelling of cellulose. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1993**, 89, 1937-1944.
- [43] Kodak Laboratory & Research Products, catálogo nº53, **1987**.
- [44] Rodríguez, H.; Iriel, A.; San Román, E. Energy transfer among dyes on particulate solids. *Photochem. Photobiol.* **2006**, 82, 200-207.
- [45] Rodríguez, H.; San Román, E. Excitation energy transfer and trapping in dye-loaded solid particles. *Annals New York Acad. Sci.* **2008**, 1130, 247-252.
- [46] López, S.; Worringer, G.; Rodríguez, B.; San Román, E. Trapping of Rhodamine 6G excitation energy on cellulose microparticles. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2010**, DOI: 10.1039/B919583A.

[47] Kasha, M. Energy transfer mechanisms and the molecular exciton model for aggregates. *Radiat. Res.* **1963**, 20, 55-71.

[48] Kasha, M.; Rawls, H.; Ashraf El-Bayoumi, M. The exciton model in molecular spectroscopy. *Pure Appl. Chem.* **1965**, 11, 372-392.

[49] Du, H.; Fuh, R.; Li, J.; Corkan, A.; Lindsey, J. PhotochemCAD: A computer-aided design and research tool in photochemistry. *Photochem. Photobiol.* **1998**, 68, 141-142.

[50] Lagorio, M.; Dicelio, L.; Litter, M.; San Román, E. Modeling of fluorescence quantum yields of supported dyes. Aluminum carboxyphthalocyanine on cellulose. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1998** 94, 419-425.

[51] Vieira Ferreira, L.; Freixo, M.; García, A.; Wilkinson, F. Photochemistry on surfaces: fluorescence emission quantum yield evaluation of dyes adsorbed on microcrystalline cellulose, *J. Chem. Faraday Trans.* **1992**, 88, 15-22.

Capítulo IV

APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPÍA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LÁSER (LIOAS) A MUESTRAS SÓLIDAS

IV.1 INTRODUCCIÓN A LA TÉCNICA DE LIOAS PARA MUESTRAS SÓLIDAS

La optoacústica (o fotoacústica) detecta el calor emitido por procesos de desactivación no radiativa de estados excitados o metaestables [1]. En un sentido más amplio la optoacústica tiene en cuenta la generación de ondas acústicas u otros efectos termoelásticos por interacción del medio con la radiación electromagnética, pulsada o modulada, de alguna frecuencia incluyendo haces de partículas [2].

Luego de la absorción de luz la desactivación no radiativa de las especies excitadas produce un calentamiento local en el medio que genera ondas térmicas (expansión termoelástica). La medición directa o indirecta del cambio de temperatura se refiere a las técnicas fototérmicas u optotérmicas. Las ondas de presión generadas por la expansión térmica pueden ser detectadas como ondas de sonido usando un detector acústico, micrófonos o materiales piezoeléctricos y en ese caso se habla de los métodos fotoacústicos u optoacústicos [3].

La medición del calor entregado al medio a raíz del decaimiento del estado excitado brinda información cinética (tiempos de vida, rendimientos cuánticos) y termodinámica (contenidos energéticos) de las especies transitorias generadas en el sistema.

La aplicación de estas técnicas a sistemas sólidos comenzó a desarrollarse a fines de los años 70 debido a las dificultades encontradas al estudiar sistemas opacos y altamente dispersivos para los cuales no era posible el uso de las técnicas ópticas tradicionales. Los principios básicos de la optoacústica aplicada a la materia condensada fueron establecidos por Rosencwaig y Gersho [4] y Patel y Tam [5]. La técnica aplicada a sistemas condensados ha sido utilizada hasta la actualidad para la obtención de espectros de absorción, la determinación de propiedades termofísicas como la conductividad térmica en ciertos materiales y la determinación de parámetros estructurales en materiales sólidos novedosos como los metales incluidos en ciertas matrices. Por otro lado el desarrollo del láser tuvo gran influencia y las innovaciones de diseño de la instrumentación permitieron el uso de la técnica con éxito sobre diferentes materiales sólidos [6-9]. Sin embargo, el desarrollo de esta técnica para determinar propiedades fotofísicas de especies incluidas en matrices sólidas ha sido escaso [10-11], desde que Adams propuso su uso para el estudio de propiedades de especies en estados excitados en sólidos [12].

La absorción de radiación proveniente de un láser pulsado y la detección acústica constituyen la base de la Espectroscopia Opctoacústica Inducida por Láser (*Laser Induced Optoacoustic Spectroscopy* - LIOAS). El análisis de la señal, en este caso, se realiza en el dominio del tiempo [3, 13-15].

Para la aplicación de LIOAS en muestras sólidas y dispersoras de luz se presenta en esta Tesis un método cuyo diseño permite una alta sensibilidad utilizando radiación láser y detección optoacústica en forma directa, es decir, acoplando directamente a la muestra sólida un detector piezoeléctrico.

En un sistema sólido la disipación no radiativa de energía ocurre a distintas profundidades dentro del mismo. Para muestras ópticamente gruesas el detector acústico se ubica en la cara opuesta a aquella por la que penetra la radiación (Figura IV.1). Esto permite que la simetría del sistema de irradiación / detección sea lo más alta posible a fin de simplificar el análisis. Idealmente, si el haz de irradiación es colimado y abarca toda la superficie de la muestra el detector recibe una onda plana, resultante de la convolución de las señales acústicas provenientes de todo el volumen de la muestra.

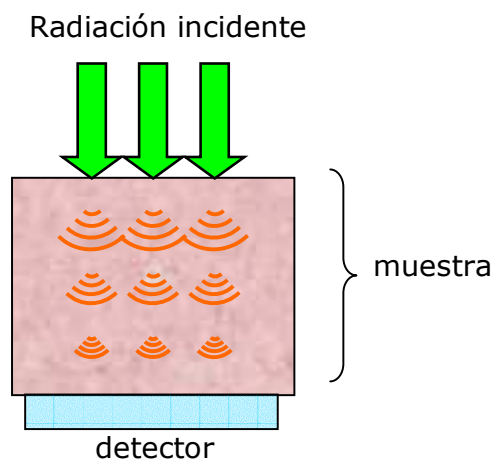


Figura IV.1. Esquema básico del proceso optoacústico

Los procesos típicos que se desencadenan en una molécula luego de su excitación mediante radiación electromagnética de longitud de onda adecuada se resumen en el diagrama generalizado de Jablonsky de la Figura IV.2 y se describen según:

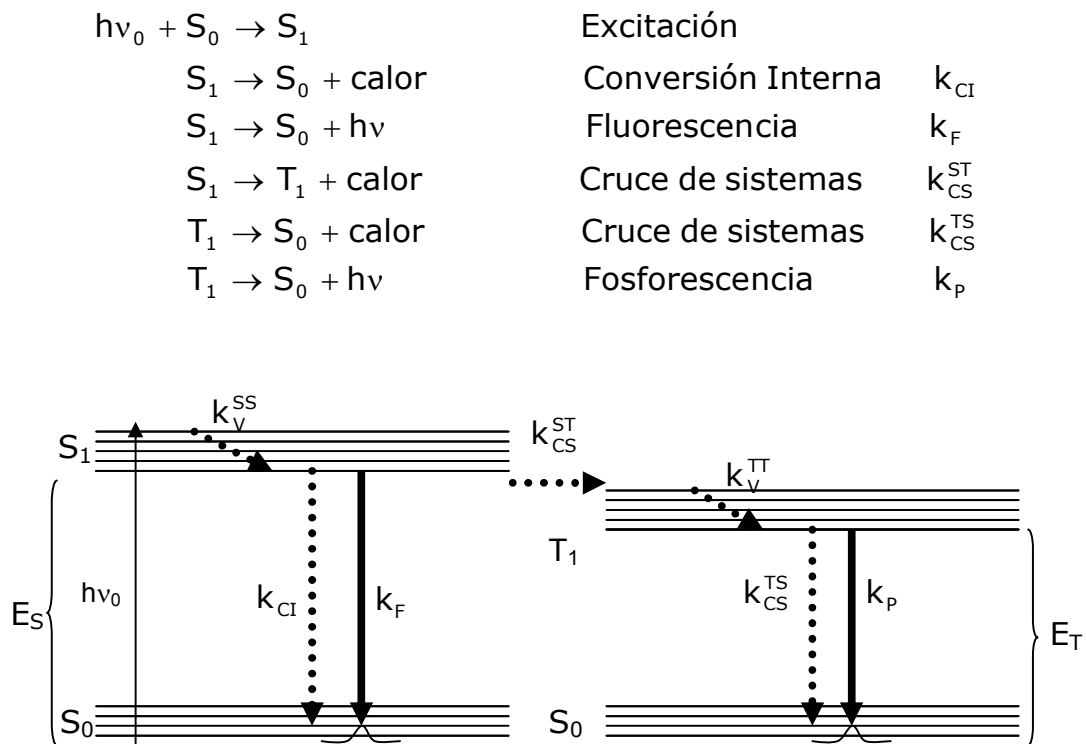


Figura IV.2. Diagrama de Jablonsky general para una molécula en solución

Los procesos correspondientes a las constantes k_V^{SS}, k_V^{TT} son procesos de relajación vibracional, transiciones no radiativas entre estados de la misma multiplicidad, que liberan calor y son extremadamente rápidos. Los procesos no radiativos que compiten con la emisión de fluorescencia, esto es la conversión interna $S_1 \rightarrow S_0$ y el cruce entre sistemas $S_1 \rightarrow T_1$ determinan, en conjunto con la emisión misma, el tiempo de vida del estado singlete S_1 . Este tiempo es corto en comparación con los tiempos característicos de la detección optoacústica. Por el contrario, la desactivación radiativa y no radiativa del estado triplete T_1 tienen lugar en escalas de tiempo variables, generalmente mucho más largas que la desactivación del estado singlete.

La variedad de tiempos en los que procede la fotofísica del sistema permite trabajar bajo ciertas condiciones considerando dos tipos de procesos: los procesos rápidos que incluyen a todos los que conducen a la desactivación del estado singlete y la formación

de triplete y los lentos que son los que lo consumen. De acuerdo con esto, los primeros definen la producción de calor rápido y los segundos la de calor lento.

El tiempo de resolución depende de tres factores: el tiempo de respuesta del sistema electrónico empleado, particularmente del detector optoacústico y su electrónica asociada, el ancho temporal del pulso de luz y el arreglo geométrico del experimento, el cual determina el tiempo de tránsito acústico [3]. La respuesta temporal del sistema determina la separación entre los procesos rápidos y lentos y permite considerar al calor que se produce a tiempos largos como energía almacenada por las especies transitorias, en este caso el triplete.

El siguiente balance de energía es aplicable a todas las técnicas calorimétricas para las cuales el calor liberado es monitoreado después de la absorción de radiación monocromática de energía E_a :

$$(IV.1) \quad E_a = E_F\Phi_F + E_a\varphi + \Delta E_X\Phi_X$$

donde E_F , en el primer término, es la energía emitida como fluorescencia ($h\nu_F$) y Φ_F el rendimiento cuántico de emisión.

El segundo término corresponde a la producción de calor rápido, donde φ es la fracción de energía absorbida liberada al medio como calor e incluye todos los procesos no radiativos que ocurren a tiempos muy cortos, menores que el tiempo de respuesta del dispositivo.

El término $\Delta E_X\Phi_X$ es la cantidad de energía almacenada por especies transitorias o por productos estables a tiempos mayores que el tiempo en el que se detecta la onda acústica. Φ_X es el rendimiento cuántico del proceso y ΔE_X es la energía contenida de las especies formadas. El segundo y el tercer término pueden ser separados para su tratamiento.

A partir de la Ecuación IV.1 y conociendo $E_F\Phi_F$ y el calor medido, puede conocerse la energía total almacenada ($\Delta E_X\Phi_X$). En esta Tesis, donde se estudian moléculas que forman triplete, el último término corresponde a $E_T\Phi_T$ donde E_T es la diferencia de energía entre el estado excitado T_1 y el estado fundamental S_0 . E_T se obtiene a partir del espectro de fosforescencia. De esta manera pueden calcularse los valores de Φ_T

Capítulo IV. APLICACIÓN DE LA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LÁSER (LIOAS) PARA MUESTRAS SÓLIDAS

[3]. Para el caso de moléculas que no forman triplete el tercer término es nulo y la variable a determinar es Φ_F .

En este estudio se consideran despreciables los cambios de volumen que pudieran ocurrir en las muestras sólidas, lo que generarían señales optoacústicas superpuestas a las resultantes de la liberación de calor.

Los métodos optoacústicos requieren el uso de referencias calorimétricas, caracterizadas por una desactivación no radiativa muy rápida, que no emitan esencialmente fluorescencia o fosforescencia y que no formen productos químicos estables al interactuar con la luz incidente. Aquí el tiempo de vida del estado excitado debe ser menor que el tiempo de resolución del método empleado y de esta manera la fracción α es igual a uno. La referencia debe medirse en idénticas condiciones a las empleadas para la muestra y con la misma geometría.

Aunque bajo ciertas condiciones se aplican ecuaciones similares a las usadas en solución, la iluminación frontal de muestras dispersoras de luz requiere una evaluación rigurosa de las condiciones experimentales. En lo que sigue se discuten los procedimientos experimentales, la validez de las hipótesis subyacentes y la aplicabilidad del método.

IV.2 ASPECTOS EXPERIMENTALES Y TEÓRICOS

IV.2.1 DESCRIPCIÓN DE LA CONFIGURACIÓN EXPERIMENTAL

Las mediciones de LIOAS fueron realizadas sobre muestras ópticamente gruesas, iluminadas frontalmente, contenidas en un portamuestra anular colocado sobre una placa de cuarzo acoplada por la otra cara a un detector piezoeléctrico. Este sencillo enfoque ha sido optimizado a partir de las experiencias preliminares realizadas mediante: a) el establecimiento de un protocolo estandarizado para la preparación de

las muestras, b) la mejora del contacto acústica entre la muestra y el detector, y c) la minimización de efectos no deseados en la conducción térmica y acústica [16].

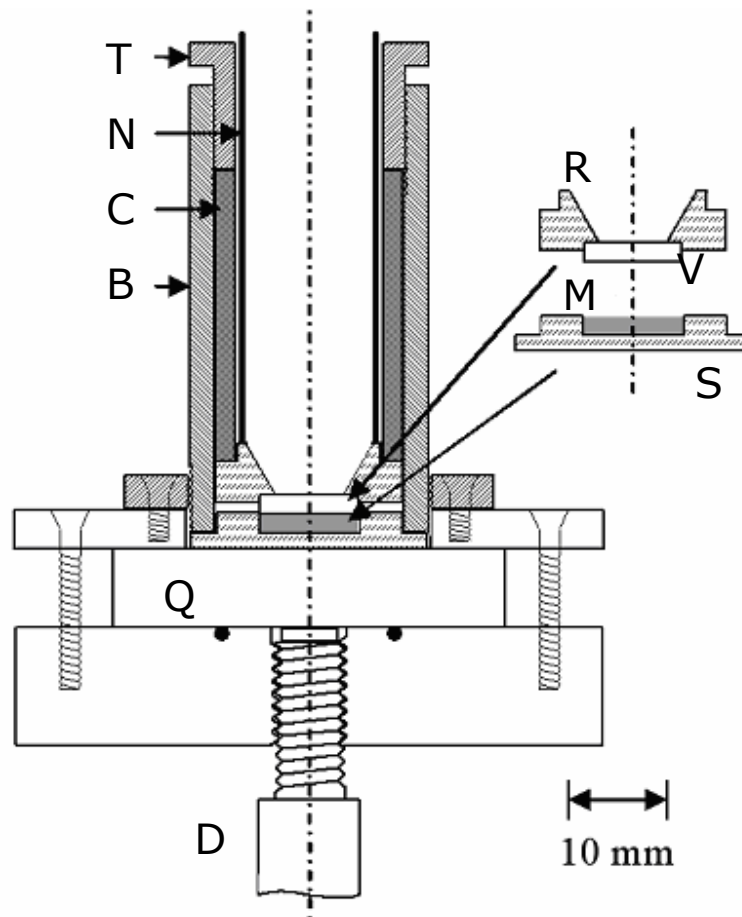


Figura IV.3. Celda de medición. D: detector (PZT); Q: placa de cuarzo; S: portamuestra de aluminio; M: muestra; V: ventana de acrílico; R: reflector de aluminio; N: tubo de bronce ennegrecido; B: cuerpo de bronce; C: cilindro; T: tornillo.

El arreglo final de la celda de medición de LIOAS se muestra en la Figura IV.3. Una placa de cuarzo (Q) de 8 mm de espesor se coloca entre dos placas de acrílico de tal manera de establecer contacto entre el portamuestra de aluminio (S) y el detector piezoeléctrico (PZT) (D). El exceso de presión se evita mediante un O-ring de neoprene o similar debajo de la placa de cuarzo y el contacto acústico se asegura a ambos lados con una pequeña cantidad de grasa siliconada. El portamuestra S tiene forma anular con 10 mm de diámetro interno, 3,6 mm de altura y 1,6 mm de espesor para la base.

Capítulo IV. APLICACIÓN DE LA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LÁSER (LIOAS) PARA MUESTRAS SÓLIDAS

Una ventana de acrílico (V) encastrada en un reflector de aluminio (R) se apoya sobre la muestra y se mantiene por medio de un cilindro (C) ajustado manualmente con un tornillo (T) en la parte superior de un cuerpo de bronce (B). El cuerpo de bronce tiene un tornillo (no mostrado en la figura) que encaja en una ranura vertical en la parte exterior del cilindro C que evita la rotación del conjunto mientras el tornillo T se mueve. El cuerpo B, a su vez, sirve para presionar el portamuestra contra la placa de cuarzo. La muestra, consistente en una pastilla sólida preparada como se describe más adelante, es iluminada desde arriba y la luz dispersada es expulsada por el reflector y parte es absorbida por el tubo negro N para evitar que regrese a la muestra. El contacto acústico entre el portamuestra y el resto de los materiales es minimizado por el uso de O-rings (no mostrados en la figura). El detector piezoeléctrico y la placa de cuarzo se mantienen fijos durante toda la serie de experimentos, mientras que el reflector y las demás partes mecánicas se ajustan al cambiar de muestra.

La preparación de las pastillas se efectúa a partir de una masa de muestra dada colocada en el portamuestra ejerciendo una cierta presión sobre la misma durante un tiempo determinado. Para obtener resultados satisfactorios es necesario controlar cuidadosamente estas variables.

Las muestras conteniendo colorante y las referencias calorimétricas son medidas bajo las mismas condiciones durante el mismo día a fin de lograr señales reproducibles. Se obtienen señales despreciables cuando se mide una muestra de soporte sin colorante.

Los experimentos de LIOAS fueron realizados por excitación con la segunda armónica de un láser Nd:YAG (Spectron, 8 ns @ 532 nm). El haz del láser pasa a través de una serie de filtros IR (Schott, KG5, 2 mm de espesor) y un filtro en cuña gris, como se muestra en la Figura IV.4; luego un prisma desvía el haz entrando en la celda de medición por la parte superior.

El diámetro del haz del láser a la altura de la muestra es de aproximadamente 3 mm, determinado por un estenopo (*pin hole*). Dos placas de vidrio localizadas después de la cuña dirigen pequeñas fracciones del haz del láser hacia un dispositivo disparador (fotodiodo) y a un medidor de energía (Lab Master, Coherent, Ultima, Mod LM-P2). La salida del detector piezoeléctrico (ancho de banda 300 kHz; impedancia de salida $10^8 \Omega$), condicionada por un adaptador de impedancia/preamplificador (impedancia de salida 50Ω , no mostrado en la Figura IV.4) y un amplificador (Comlinear CLC 100

Video Amplifier, 50 Ω /50 Ω , 20 dB de ganancia, 0 - 500 MHz), alimenta a un osciloscopio (Hewlett Packard 54504A). El registro se realiza en una computadora a través de una interfaz IEEE-488.

La adquisición de datos es realizada usando un programa *ad hoc*. Las señales fueron promediadas 64 veces antes de adquirirlas. Dado que el medidor de energía realiza promedios decádicos y el osciloscopio promedia 2^n veces (n entero), los últimos 50 pulsos del láser fueron considerados a los efectos de promediar la energía medida. Diferentes períodos de promedio no dan errores significativos dado que promediando dos ciclos consecutivos se obtienen idénticos resultados dentro del error experimental. El número de promedios usado resultó en una buena relación señal-ruido.

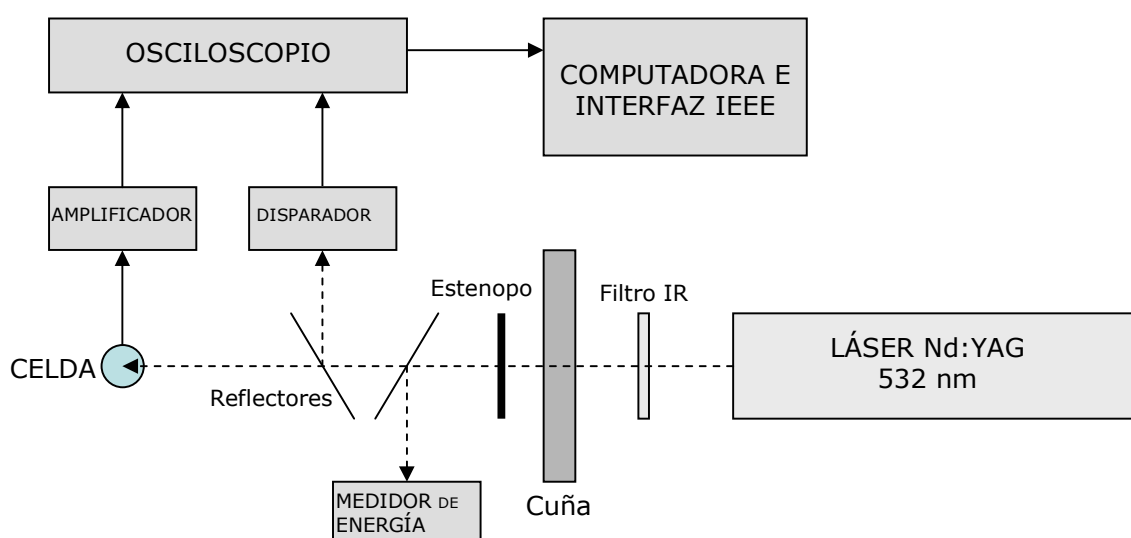


Figura IV.4. Esquema del arreglo experimental para la medición de LIOAS.

IV.2.2 FUNDAMENTOS TEORICOS E HIPOTESIS DE TRABAJO

Idealmente, la experiencia puede resumirse de la siguiente forma. Una muestra de polvo es frontalmente iluminada a través de la ventana transparente con un pulso de láser de algunos nanosegundos. La radiación incidente es atenuada por absorción y dispersión mientras atraviesa la muestra sin llegar a la parte posterior. Esto produce

Capítulo IV. APLICACIÓN DE LA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LÁSER (LIOAS) PARA MUESTRAS SÓLIDAS

un perfil de generación de calor dentro de la muestra que da lugar a ondas acústicas que, luego de atravesar el portamuestras de aluminio y la placa de cuarzo, llegan al detector y son convertidas por el cristal piezoeléctrico en oscilaciones eléctricas amortiguadas.

El calor es liberado a diferentes distancias dentro de la muestra y las ondas acústicas son atenuadas en diferente medida dependiendo de su origen espacial, lo que genera una distribución de tiempos de llegada al detector y una compleja señal de salida. La solución general se obtiene aplicando la teoría de Kubelka-Munk de dispersión de luz para calcular el perfil de absorción de una muestra ópticamente gruesa [17-18]

Para estudiar el comportamiento de la señal que se obtiene es necesario tener en cuenta las siguientes consideraciones: a) Se cumple la teoría de Kubelka-Munk b) la muestra es ópticamente gruesa (no hay transmisión de luz por la cara opuesta) y c) la reflectancia especular es despreciable. Las muestras compuestas por colorantes adsorbidos sobre celulosa microgranular no muestran transmitancia luego de 1-2 mm, obedecen la teoría de Kubelka-Munk y tienen una reflectancia especular menor que 2%. La reabsorción de la fluorescencia cambia el perfil de absorción, causando una distorsión de la señal acústica cuando el perfil de absorción se extiende profundamente dentro de la muestra, este efecto será discutido mas adelante. Por el momento se considerará que d) la radiación emitida no es reabsorbida por la muestra.

Para los colorantes utilizados, los tiempos de vida de fluorescencia se encuentran en los nanosegundos y los tiempos de vida de triplete son del orden de los microsegundos a milisegundos. Por lo tanto se considera que: e) el calor rápido es liberado al mismo tiempo que se desarrolla el pulso del láser y el calor lento se libera luego que se ha detectado la onda acústica proveniente del calor rápido y f) el tiempo de respuesta del detector es mucho mayor que el ancho del pulso del láser y mucho menor que el tiempo en el que se desarrolla el calor lento. Para el detector usado el tiempo de respuesta es mayor que el ancho del pulso ya que el mismo posee un ancho de banda de 300 KHz.

Además, durante los experimentos se deben cumplir una serie de requerimientos: 1) La luz espuria no alcanza al detector piezoeléctrico, 2) la radiación dispersada por la cara frontal no vuelve a la muestra y 3) la luz reflejada no genera ondas acústicas

indeseables. Para ello, la construcción de la celda asegura el completo bloqueo de la luz espuria y permite que la luz dispersada que escapa de la ventana no regrese a la muestra. Las reflexiones desde la ventana hacia la muestra pueden tenerse en cuenta pero se desprecian porque se limitan a un pequeño porcentaje de la luz incidente. Este diseño asegura, además, la ausencia de señales optoacústicas diferentes de las producidas por la muestra.

Durante el desarrollo de la técnica se verifica la ausencia de efectos no lineales que podrían corresponder, entre otros, a fenómenos como la absorción multifotónica y el agotamiento del estado fundamental, ya que en las condiciones en las que fueron realizados los experimentos existe proporcionalidad entre las señales de salida y la energía del pulso del láser.

Las medidas realizadas con esta técnica sobre las muestras son relativas a una referencia, por lo tanto la hipótesis de trabajo considera que las muestras y las referencias desarrollan los mismos fenómenos ópticos y acústicos. Es decir, la dispersión de luz y sonido dentro de la muestra, la no planaridad de las ondas acústicas y las reflexiones del sonido en las diferentes interfaces, la inhomogeneidad en la iluminación y los efectos de borde distorsionan la señal de la misma forma para la muestra y para la referencia. Se harán comentarios sobre esto en lo que sigue. Por otro lado se considera que el coeficiente de absorción del sonido de la muestra es independiente de la frecuencia de la onda acústica.

IV.2.3 DESARROLLO DE LA TEORÍA

La Figura IV.5 muestra un esquema simple de la celda y el desarrollo de la señal de LIOAS.

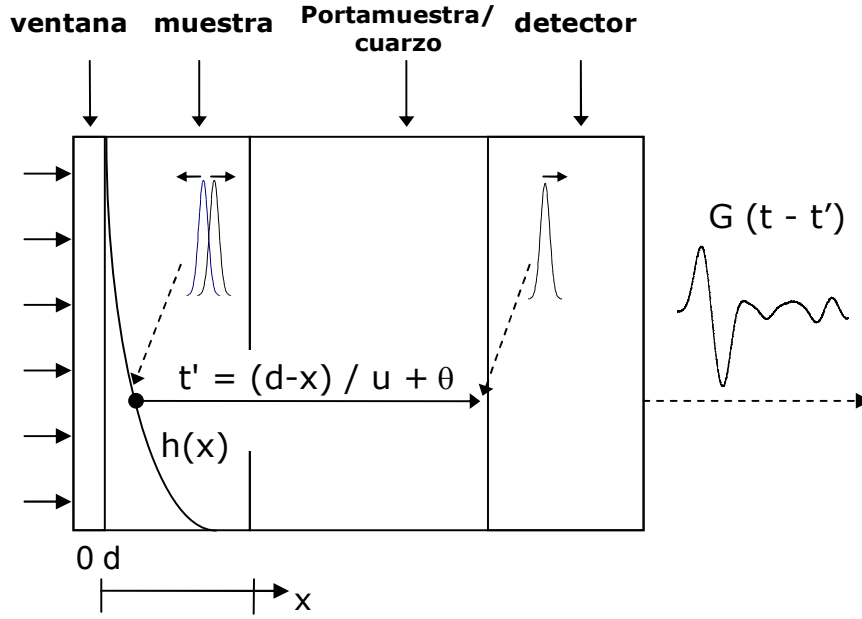


Figura IV.5. Esquema de la celda de medición de LIOAS.

El perfil de calor liberado luego de la absorción de luz, $h(x)$, puede ser obtenido a partir del número de fotones absorbidos por pulso de láser como función de x :

$$(IV.2) \quad h(x)dx = qI_a(x)dx$$

donde $I_a(x)dx$ es el número de fotones absorbidos en dx y q es el calor liberado por fotón absorbido. Como sólo se considera el calor rápido y se utiliza un pulso de láser de nanosegundos como fuente excitación (consideraciones e y f) q puede considerarse independiente del tiempo.

El calor liberado en dx genera ondas acústicas en direcciones x y $-x$ con amplitud proporcional a $\frac{1}{2}h(x)dx$. La onda delantera, en la dirección x , alcanza al detector a un tiempo $t'=(d-x)/u+\theta$ donde d es el espesor de la muestra, u es la velocidad de sonido dentro de la muestra, y θ es el tiempo que se requiere para que la onda atraviese el portamuestra y la placa de cuarzo. Esta onda de sonido es atenuada a medida que atraviesa la muestra en un factor:

$$(IV.3) \quad r(x) = \exp[-\mu(d-x)]$$

donde μ es el coeficiente de absorción del sonido. Como se considera sólo el calor rápido, la señal eléctrica generada en el PZT esta dada por:

$$(IV.4) \quad dS(x, t) = \frac{1}{2} h(x) r(x) dx G(t - t')$$

donde $G(t-t')$ es la señal eléctrica generada a la salida del detector por una onda acústica atenuada resultante de la liberación instantánea de una unidad de calor a una distancia x a partir de la superficie de la muestra. Cambiando t' por $(d-x)/u + \theta$ e integrando la Ecuación IV.4 se obtiene:

$$(IV.5) \quad S(t) = \frac{1}{2} \int_0^d qI_a(x) r(x) G\left[t - \frac{(d-x)}{u} - \theta\right] dx$$

Como se dijo antes, la reabsorción de fluorescencia (d) cambia el perfil de absorción dentro de la muestra, lo que causa distorsión de la señal acústica. Se consideran dos casos para resolver esta situación.

Caso 1: No hay reabsorción de la fluorescencia.

La teoría de Kubelka-Munk predice un perfil exponencial de absorción de luz dado por las ecuaciones IV.6 y IV.7 para muestras ópticamente gruesas con reflectancia especular despreciable que no presentan reabsorción de fluorescencia [18-20]:

$$(IV.6) \quad I(x) = I_0 \exp(-\kappa x)$$

$$(IV.7) \quad J(x) = \frac{1-\beta}{1+\beta} I_0 \exp(-\kappa x)$$

donde $I(x)$ y $J(x)$ son los flujos fotónicos que circulan dentro de la muestra en las direcciones x y $-x$, respectivamente, I_0 es el flujo fotónico incidente, $\kappa = [k(k + 2s)]^{1/2}$ y $\beta = [k/(k + 2s)]^{1/2}$. En estas expresiones, $k = 2\varepsilon_N c$ y $s = 2\sigma$ son los índices de absorción y de dispersión de la muestra respectivamente, donde ε_N y σ son los coeficientes de

Capítulo IV. APLICACIÓN DE LA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LÁSER (LIOAS) PARA MUESTRAS SÓLIDAS

absorción neperiano y de dispersión respectivamente, y c es la concentración de la muestra en moles por gramo de celulosa.

A partir de las ecuaciones IV.6 y IV.7, la reflectancia difusa, supuesta aquí igual a la reflectancia total, R , y el perfil de absorción, $I_a(x)dx$, es decir, el numero de fotones absorbidos por segundo en dx , son fácilmente calculables a partir de:

$$(IV.8) \quad R = \frac{J(0)}{I_0} = \frac{1 - \beta}{1 + \beta}$$

$$(IV.9) \quad I_a(x)dx = \kappa I_0(1 - R)\exp(-\kappa x)dx$$

La Ecuación IV.9 muestra la relación entre el número de fotones absorbidos en dx , $I_a(x)dx$, y el número de fotones incidentes, I_0 . Como se observa a partir esta ecuación, el perfil de absorción es exponencial, con una longitud característica igual a $1 / \kappa$.

Para una muestra en la que no se produce reabsorción de fluorescencia, q (Ecuación IV.II) se calcula como:

$$(IV.10) \quad q = h\nu_0 - \Phi_{obs} h\langle\nu_F\rangle - \Phi_T E_T$$

donde h es la constante de Planck, ν_0 es la frecuencia de la radiación incidente, $\Phi_{obs} = \alpha_0 \Phi_F$ es el rendimiento cuántico de fluorescencia observado, α_0 es la fracción de radiación absorbida que excita al fluoróforo ($\alpha_0 < 1$ si la matriz u otras especies no emisoras absorben luz a ν_0), $\langle\nu_F\rangle$ es el promedio de la frecuencia de emisión que se obtiene a partir de los espectros de fluorescencia normalizados a área unitaria $f(\nu_F)$ como $\langle\nu_F\rangle = \int \nu_F f(\nu_F) d\nu_F$ y el término $\Phi_T E_T$ corresponde a la energía acumulada por el triplete.

A partir de las ecuaciones IV.3, IV.5, IV.9 y IV.10 y reemplazando $h\nu_0 I_0$ por la energía del pulso del láser, E , se obtiene la Ecuación IV.11.

$$(IV.11) \quad \frac{S(t)}{E} = \frac{1}{2} (1 - R) \left(1 - \Phi_{obs} \frac{\langle v_F \rangle}{v_0} - \Phi_T \frac{E_T}{h\nu_0} \right) U(t, \kappa, u, d)$$

donde:

$$(IV.12) \quad U(t, \kappa, \mu, u, d) = \kappa \int_0^d \exp(-\kappa x) \exp[-\mu(d-x)] G[t - (d-x)/u - \theta] dx$$

Para las referencias calorimétricas se aplica la misma ecuación con $\Phi_{obs} = \Phi_T = 0$.

La inhomogeneidad del haz de luz, la no planaridad de las ondas acústicas y los efectos de borde pueden distorsionar la función U. Sin embargo, para muestras que comparten el mismo espesor, grado de compactación y perfil de absorción, U es la misma función.

Caso 2: Existe reabsorción de la fluorescencia.

Cuando $\kappa \rightarrow \infty$, $\exp(-\kappa x)$ asume valores significativos sólo alrededor de $x = 0$. En estas condiciones la Ecuación IV.12 se transforma en:

$$(IV.13) \quad U(t, \kappa, \mu, u, d) = \exp(-\mu d) G(t - d/u - \theta) \kappa \int_0^\infty \exp(-\kappa x) dx = \exp(-\mu d) G(t - d/u - \theta)$$

de tal forma que la señal optoacústica, $S(t) / E$ (ecuación IV.11), toma la forma de $G(t)$ y se hace presente luego del tiempo de tránsito, $d/u - \theta$, atenuada en un factor $\exp(-\mu d)$:

$$(IV.14) \quad \frac{S(t)}{E} = \frac{1}{2} (1 - R) \left(1 - \Phi_{obs} \frac{\langle v_F \rangle}{v_0} - \Phi_T \frac{E_T}{h\nu_0} \right) \exp(-\mu d) G(t - d/u - \theta)$$

Capítulo IV. APLICACIÓN DE LA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LÁSER (LIOAS) PARA MUESTRAS SÓLIDAS

Sólo la amplitud de la señal varía en función de las propiedades fotofísicas de la muestra.

Cuando se produce reabsorción de la fluorescencia el perfil de liberación de calor deja de ser exponencial, como puede inferirse a partir de la Ref. 19, y la ecuación IV.12 no es más aplicable. Sin embargo, si el perfil decae en las cercanías de $x = 0$, la ecuación IV.14 se verifica independientemente de la forma de dicho perfil.

En estas condiciones, el rendimiento cuántico de fluorescencia observado y el espectro de fluorescencia se vuelven función de la concentración del colorante y de la frecuencia de excitación de acuerdo con las ecuaciones IV.15 y IV.16 [19-20]:

$$(IV.15) \quad \Phi_{\text{obs}} = \frac{\Phi_F \alpha_0 (1 - P)}{1 - \Phi_F P_e}$$

$$(IV.16) \quad f_{\text{obs}}(\nu_F, \nu_0) = f(\nu_F) \gamma(\nu_F, \nu_0)$$

donde P es la probabilidad de que un fotón sea reabsorbido por la muestra, P_e es la probabilidad de que un fotón emitido sea reabsorbido por el fluoróforo y $\gamma(\nu_F, \nu_0)$ es la probabilidad de que el fotón emitido a ν_F , cuando la muestra es excitada a ν_0 , escape de la muestra. El cálculo de las distintas probabilidades se puede encontrar en la sección II.3.5. y en los trabajos originales [19-20].

Teniendo en cuenta la discusión anterior, la Ecuación IV.14 puede utilizarse también para los casos en que existe reabsorción y reemisión de fluorescencia en tanto la liberación de calor se verifique en las cercanías de $x = 0$. En la práctica esto conduce a los requerimientos que se discuten en la Sección IV.3.

Finalmente, al igual que en los métodos convencionales en que se utiliza LIOAS, puede trabajarse con la relación del máximo de la señal, H , con la energía del pulso del láser, E , obteniendo la Ecuación IV.17 a partir de la Ecuación IV.14.

$$(IV. 17) \frac{H}{E} = \frac{1}{2} (1 - R) \left(1 - \Phi_{obs} \frac{\langle v_F \rangle}{v_0} - \Phi_T \frac{E_T}{h v_0} \right) \exp(-\mu d) \max [G(t - d/u - \theta)]$$

Esta ecuación puede reescribirse para la muestra, M, y la referencia, R, tomando respectivamente la forma de las ecuaciones IV.18 y IV.19:

$$(IV.18) \left[\frac{H}{E} \right]^M = A (1 - R^M) \left(1 - \Phi_{obs} \frac{\langle v_F \rangle}{v_0} - \Phi_T \frac{E_T}{h v_0} \right)$$

$$(IV. 19) \left[\frac{H}{E} \right]^R = A (1 - R^R)$$

donde $A = \exp(-\mu d) \max [G(t - d/u - \theta)]$ es función de la geometría del sistema, de las propiedades termoelásticas de la pastilla, que dependen de la forma de preparación de la misma, y de la naturaleza del sistema de detección.

El parámetro A se obtiene de la pendiente de la recta que resulta al graficar los valores de H/E para diferentes concentraciones de la referencia calorimétrica en función de (1-R). Para garantizar que la constante A sea la igual en las Ecuaciones IV.18 y IV.19 las muestras de colorante y las referencias deben prepararse en la misma forma y medirse en idénticas condiciones.

IV.3 DESARROLLO DE LA TECNICA

La preparación de las muestras tiene un gran efecto sobre la señal de LIOAS, particularmente sobre la amplitud y sobre el tiempo al que llegan las señales acústicas al detector. La presión y el tiempo de compactación aumentan la densidad de la muestra y reducen su espesor incrementando la velocidad del sonido y reduciendo la pérdida de señal por absorción de la onda acústica. Para evaluar el comportamiento de las muestras y verificar el cumplimiento de las hipótesis formuladas se efectuaron estudios preliminares usando referencias calorimétricas.

Capítulo IV. APLICACIÓN DE LA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LÁSER (LIOAS) PARA MUESTRAS SÓLIDAS

Para los estudios preliminares se utilizaron muestras de Negro de humo adsorbido sobre celulosa (GR), colocando una masa determinada de muestra en el portamuestras y compactándola mediante un émbolo a distintas presiones durante diferentes tiempos mediante una prensa. Algunas de las señales obtenidas se muestran en la Figura IV.6. Luego de la normalización de las señales y de su desplazamiento en el eje del tiempo hasta hacer coincidir los máximos se observa que la primera mitad de la onda bipolar tiene la misma forma independientemente de las condiciones de compactación.

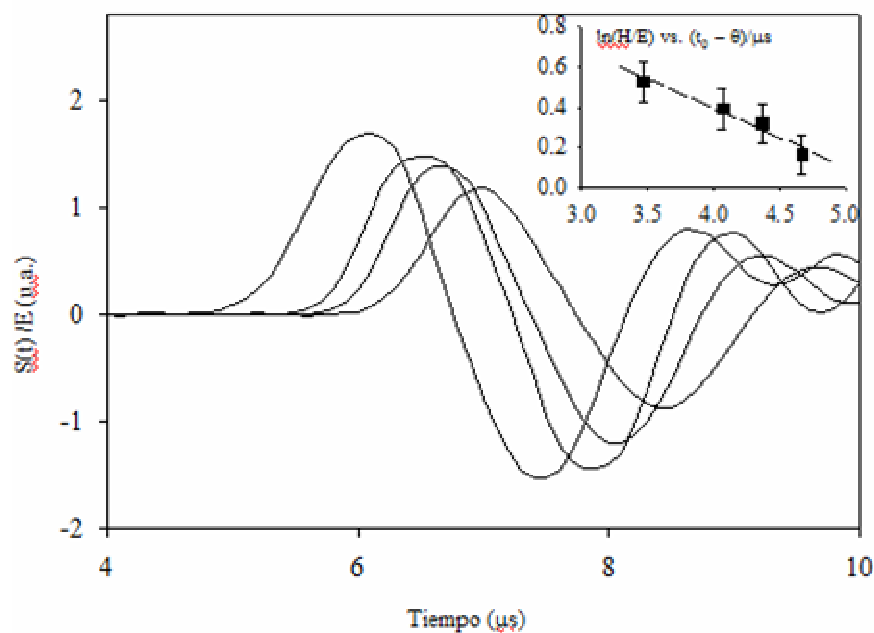


Figura IV.6. Señal de LIOAS dividida por la energía del pulso del láser en función del tiempo para diferentes protocolos de preparación de muestra: de izquierda a derecha 60 s a 38 bar de presión, 30 s a 38 bar, 40 s a 32 bar, 30 s a 25.5 bar para la muestra GR-5. **Gráfico insertado:** máximo de la señal de LIOAS vs. tiempo de recorrido dentro de la muestra.

En la práctica, la verificación de la Ecuación IV.17 exige que las ondas de sonido se originen en una zona cercana a la superficie exterior de la muestra de modo que el sistema de detección, que posee un ancho de banda finito, no pueda discriminar su origen espacial. Este requerimiento se cumple si la dispersión de tiempos de propagación de las ondas acústicas es menor que la recíproca del ancho de banda del detector o, en otros términos, si $\omega \kappa < 300$ kHz. Dado que esta condición es menos restrictiva que la impuesta para obtener la ecuación IV.17 ($\kappa \rightarrow \infty$), debe exigirse

además que las ondas acústicas no se atenúen sustancialmente dentro de la región en que se originan. Esto implica que el decaimiento de la absorción dentro de la muestra sea más rápido que el decaimiento de la amplitud de la onda acústica debida a la absorción del sonido, o sea que $\mu < \kappa$.

De acuerdo a la Ecuación IV.17, para una sola muestra o referencia calorimétrica preparada en diferentes condiciones, la señal optoacústica es $H/E = B \exp(-\mu d)$, donde B incluye los parámetros fotofísicos de la muestra y las variables instrumentales. La velocidad del sonido en la muestra puede ser estimada como $u = d/(t_0 - \theta)$, donde t_0 es el tiempo en el que llega la señal al detector luego del pulso del láser. Eliminando d y aplicando logaritmos se obtiene la Ecuación IV.20:

$$(IV.20) \quad \ln \frac{H}{E} = \ln B - \mu(t_0 - \theta)$$

El tiempo de tránsito de una onda originada en la superficie de la muestra es $t' = d/u + \theta$ (Figura IV.5). Dado que la velocidad de sonido en el cuarzo y el aluminio es respectivamente 5570 y 6320 m s⁻¹ [21] y que los espesores de la placa de cuarzo y de la base del portamuestra son respectivamente 0.8 y 0.16 cm, se calcula $\theta = 1.7 \mu s$ como el tiempo requerido para que la onda que emerge de la muestra llegue al detector. En la Figura IV.6 se observa que $(t_0 - \theta)$ oscila entre 2,8 y 4,3 μs . Como $d \approx 0.2$ cm, u resulta del orden de 700 m s⁻¹ para la muestra más compacta y 500 m s⁻¹ para la menos compacta. Estos valores son sólo aproximados, ya que el efecto de la compactación de la muestra sobre la densidad no se considera. Por otra parte, como se realizan experimentos sobre una misma muestra, puede utilizarse la Ecuación IV.20 y a partir de pendiente del gráfico de $\ln(H/E)$ vs. $(t_0 - \theta)$ puede obtenerse el coeficiente μ . El ajuste lineal se muestra en el inserto de la Figura IV.6. A partir de la pendiente del gráfico y los valores estimados de u, se obtienen valores de 5 a 7 cm⁻¹ para μ en el intervalo de compactación considerado.

A partir de $F(R_\lambda) = k/s$ y considerando al coeficiente de dispersión s para la celulosa como 92 cm⁻¹ [24], se calcula el valor del parámetro $\kappa = [k(k + 2s)]^{1/2}$ para el conjunto completo de los colorantes usados. Los valores extremos de κ corresponden a BBG (230 cm⁻¹) y RB (13 cm⁻¹). Estos valores son mayores que μ (5-7 cm⁻¹). Además, los

Capítulo IV. APLICACIÓN DE LA OPTOACÚSTICA INDUCIDA POR LÁSER (LIOAS) PARA MUESTRAS SÓLIDAS

valores resultantes de $\kappa.u$ varían entre 750 KHz y 14 MHz y por lo tanto son mayores que el ancho de banda del PZT (300 KHz). Por lo tanto, se satisfacen las condiciones necesarias para la aplicación de la ecuación IV.17.

Queda demostrado entonces que las condiciones exigidas para la utilización de la Ecuación IV.17 y siguientes se cumplen para todas las muestras estudiadas.

Una vez probadas las distintas condiciones experimentales se procedió a estandarizar el procedimiento para la preparación de las pastillas con el fin de obtener resultados reproducibles. Se encontró que la señal obtenida dependía de que la medición se realizara inmediatamente o un tiempo después de ser compactada la muestra, ya que la estructura de la celulosa relaja lentamente luego de haber sido presionada [22]. El procedimiento estándar consistió en tomar una cantidad de sólido seco (60 mg) y compactarla ejerciendo una presión de 25,5 bar durante 120 s y esperar un tiempo de al menos 24 horas antes de las mediciones de LIOAS. Siguiendo este procedimiento, las muestras se comportan en forma reproducible.

El comportamiento temporal de las señales obtenidas se usó para validar los resultados. En particular, fueron consideradas solamente las muestras cuyas señales optoacústicas coincidían en forma y aparecían con el mismo retardo. Para ello se consideró la señal completa como aparece en la Fig. IV.6 y no sólo la primera semionda, ya que la evolución posterior es mucho más sensible a pequeñas diferencias en las propiedades de las muestras. El mismo argumento se usó para usar BBG en las experiencias definitivas en lugar de las referencias preparadas en base a negro de humo.

La linealidad de la señal de LIOAS con la energía del pulso del láser se comprobó mediante el uso de un filtro de transmitancia variable. Se obtuvo una correlación lineal dentro de $\pm 10\%$ por debajo de una energía de láser de 250 μJ por pulso (Figura IV.7). El diámetro del haz sobre la superficie de la muestra es de alrededor de 3 mm, lo que permite calcular una fluencia máxima permisible de $3,5 \times 10^{-3} \text{ J/cm}^2$. A esta fluencia, las muestras pueden ser iluminadas con un gran número de pulsos antes de que se observe su descomposición. Una condición muy importante es que la componente IR del haz del láser no produzca señales optoacústicas indeseadas. Para ello, se colocaron filtros de 2 mm de espesor, Schott KG5, a la salida del láser (Figura IV.4). Un mínimo de 3 filtros asegura que los resultados no se vean afectados por la radiación IR.

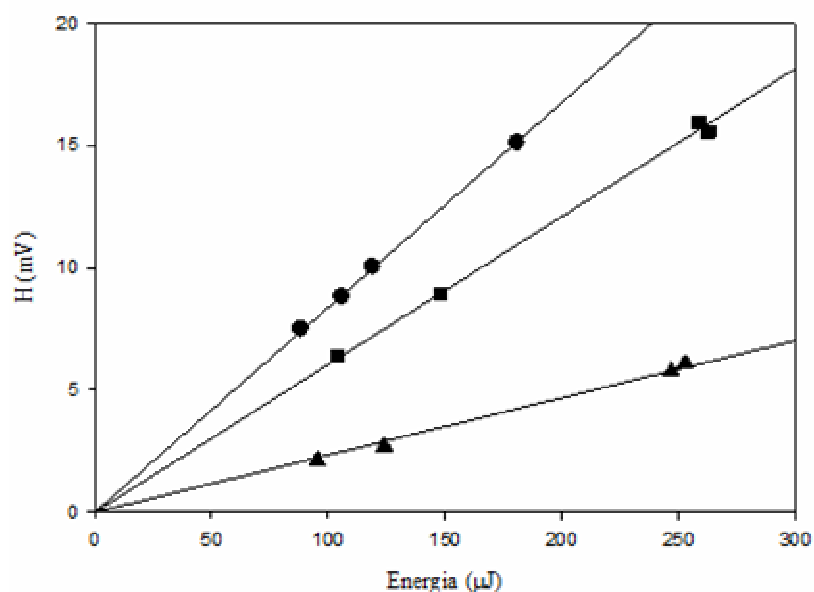


Figura IV.7. Primer máximo de la señal LIOAS en función de la energía del láser para la muestra RG-6 (círculos), la muestra BBG-6 (cuadrados) y RB-7 (triángulos). La línea llena representa un ajuste lineal de cuadrados mínimos pasando por el origen.

El desarrollo de la técnica continuó con el estudio de la reproducibilidad en cuanto a la colocación de la muestra en la celda de medición. Como se dijo, la mayoría de las partes se encuentran fijas mientras que las partes que sostienen al portamuestra que se coloca sobre el cuarzo son móviles y se ajustan cada vez que se cambia la muestra. Este ajuste debió ser estandarizado, ya que de lo contrario se observan variaciones en la forma de la señal. Inicialmente se utilizó un resorte que ejercía una presión sobre el conjunto del portamuestra y la ventana para mantenerlo fijo durante la medición pero posteriormente se vio que el uso del cilindro C, ajustado manualmente, aseguraba una mejor reproducibilidad (ver Figura IV.3). En esta forma todas las partes móviles quedan ajustadas en una posición estandarizada cada vez que se cambia la muestra.

IV.4 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Scaiano, J., CRC Handbook of Organic Photochemistry, Ed. CRC: Boca Raton, **1989**.
- [2] Tam, A. Applications of photoacoustic sensing techniques. *Rev. Mod. Phys.* **1986**, 58, 381-431.
- [3] Braslavsky, S.; Heibel, G. Time-resolved photothermal and photoacoustic methods applied to photoinduced processes in solution. *Chem. Rev.* **1992**, 92, 1381-1410.
- [4] Rosencwaig, A.; Gersho, A. Theory of the photoacoustic effect with solids *J. Appl. Phys.* **1976**, 47 (1), 64-69.
- [5] Patel C; Tam , A. Pulsed optoacoustic spectroscopy of condensed matter, *Rev. Mod. Phys.* **1981**, 53 (3), 517-549.
- [6] Tam, A.; Patel, C. High-resolution optoacoustic spectroscopy of rare-earth oxide powders. *Appl. Phys. Lett.* **1979**, 35 (11), 843-845.
- [7] Tam, A. Optoacoustic determination of photocarrier generation efficiencies of dyes films. *Appl. Phys. Lett.* **1980**, 37 (11), 978-981.
- [8] Katalnikov, I.; Van der Auweraer, M; de Schryver, F. The investigation of non-radiative deactivation of excited states in thin films by laser-induced opto-acoustic calorimetry. *J. Photochem. Photobiol., A: Chem.* **1994**, 77, 103-107.
- [9] Paltauf, G.; Schmidt-Kloiber, H. Pulsed optoacoustic characterization of layered media. *J. Appl. Phys.* **2000**, 88 (3), 1624-1631.
- [10] Nonell, S.; Martíi, C.; Garcia-Moreno, I.; Costela, A.; Sastre, R. Opto-acoustic study of tinuvin-P and rhodamine 6G in solid polymeric matrices. *Appl. Phys. B: Laser Opt.* **2001**, 72 (3), 355-360.
- [11] Serpa, C.; Schabauer, J.; Piedade, A.; Monteiro, C.; Pereira, M.; Douglas, P; Burrows, H.; Arnaut, L. Photoacoustic measurement of electron injection efficiencies and energies from excited sensitizer dyes into nanocrystalline TiO₂ films. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130 (28), 8876-8877.

[12] Adams, M.; Highfield, J.; Kirkbright, G. Determination of absolute fluorescence quantum efficiency of quinine bisulfate in aqueous medium by optoacoustic spectroscopy. *Anal. Chem.* **1977**, 49 (12), 1850-1852.

[13] Peters, K. Time-resolved photoacoustic calorimetry. *Pure Appl. Chem.* **1986**, 58, 1263-1265.

[14] Gensch, T.; Viappiani, C.; Braslavsky, S. "Laser-induced time-resolved optoacoustic spectroscopy in solution". En *Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry*; Lindon, J.; Tranter, G.; Holmes J., Eds.; Academic Press: London, **1999**.

[15] Gensch, T.; Viappiani, C.; Time-resolved photothermal methods: accessing time-resolved thermodynamics of photoinduced processes in chemistry and biology *Photochem. Photobiol. Sci.* **2003**, 2, 699-721.

[16] Almond, D.; Patel, P. *Photothermal Science and Techniques*; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, **1996**.

[17] Wendlandt, W.; Hecht, H. *Reflectance Spectroscopy*; Wiley: New York, **1966**.

[18] Kortum, G. *Reflectance Spectroscopy*; Springer-Verlag: New York, **1969**.

[19] Lagorio, M.; Dico, L.; Litter, M.; San Román, E. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1998**, 94, 419-425.

[20] Rodríguez H.; Lagorio M.; San Román E. Rose Bengal adsorbed on microgranular cellulose: evidence on fluorescent dimers. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, 3 (7), 674-680.

[21] Krautkrämer, J.; Krautkrämer, H. Eds. *Ultrasonic Testing of Materials*, Springer-Verlag: Berlin, **1983**. Data collected in Braslavsky, S.; Heihoff, K. Photothermal Methods. In *Handbook of Organic Photochemistry*, Scaiano, J., Ed.; CRC Press: Boca Raton, **1989**.

[22] Hakenen, A.; Laine, E. Acoustic characterization of a microcrystalline cellulose powder during and after its compression. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1995**, 21 (13), 1573-1582.

[23] Iriel, A. "Fotofísica de colorantes inmovilizados sobre superficies" Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires. **2006**.

Capítulo V

DETERMINACIÓN DE RENDIMIENTOS CUÁNTICOS POR LIOAS

V.1 VALIDACIÓN DE RENDIMIENTOS CUÁNTICOS DE FLUORESCENCIA

A partir del desarrollo teórico y experimental de la técnica de LIOAS para colorantes sobre matrices sólidas que se mostró en el capítulo IV, se procedió a su aplicación para determinar rendimientos cuánticos de fluorescencia observados (Φ_{obs}). Las medidas se realizaron sobre los colorantes fuertemente fluorescentes adsorbidos sobre celulosa, R101 y R6G, caracterizados en el capítulo III. Las experiencias realizadas permitieron validar, al mismo tiempo, el método para la determinación de Φ_{obs} desarrollado en nuestro laboratorio por Martín Mirenda y otros [1] basado en medidas de reflectancia total y difusa usando un filtro óptico antes del detector (sección II.3.3).

De acuerdo con el balance de energía y de las consideraciones teóricas y experimentales hechas en el capítulo IV se obtuvo la Ecuación IV.19, que da el cociente entre la amplitud máxima de la señal optoacústica y la energía de láser (H/E) en términos de los parámetros fotofísicos del sistema. Para mayor claridad esta ecuación se reproduce aquí:

$$(V.1) \quad \frac{H}{E} = A(1 - R) \left(1 - \Phi_{\text{obs}} \frac{\langle \nu_F \rangle}{\nu_0} - \Phi_T \frac{E_T}{h\nu_0} \right)$$

donde $1-R$ es la fracción de energía absorbida, siendo R la reflectancia total de la muestra, Φ_{obs} y Φ_T representan los rendimientos cuánticos de fluorescencia observado y formación de estado triplete, respectivamente, ν_0 es la frecuencia de excitación, $\langle \nu_F \rangle$ es la frecuencia promedio de emisión de fluorescencia y E_T es la energía del estado triplete. Como la banda de fosforescencia que muestran los colorantes usados es bastante simétrica, la frecuencia correspondiente al máximo es similar al promedio de frecuencias, por lo tanto, E_T es obtenida a partir la frecuencia que corresponde al máximo de emisión de fosforescencia [2]. La constante A incluye todos los parámetros instrumentales e intrínsecos de muestras preparadas en celulosa bajo condiciones estandarizadas. El cumplimiento de Ecuación V.1 requiere que la onda acústica se

genere en las cercanías de la superficie irradiada, lo cual se cumple para todas las muestras bajo estudio.

Para obtener la constante A se realizan experimentos de LIOAS usando referencias calorimétricas, las cuales no emiten fluorescencia ni acumulan energía, por lo que la ecuación anterior toma la siguiente forma y el superíndice R significa referencia:

$$(V.2) \quad \left[\frac{H}{E} \right]^R = A(1 - R^R)$$

de manera que A se obtiene de la pendiente de un gráfico de H/E en función de la fracción de la radiación incidente absorbida por la muestra (1-R).

Para las muestras de colorante, dado que R101 y R6G no forman esencialmente triplete, el último término de la Ecuación V.1 puede eliminarse, quedando:

$$(V.3) \quad \left[\frac{H}{E} \right]^M = A(1 - R^M) \left(1 - \Phi_{\text{obs}} \frac{\langle v_F \rangle}{v_0} \right)$$

donde el superíndice M, corresponde al uso de la muestra. El cálculo de Φ_{obs} requiere conocer, además de de la frecuencia media de fluorescencia, la reflectancia verdadera, R, que puede obtenerse mediante el método desarrollado por Mirenda y otros [1], que llamaremos en lo que sigue como método de la reflectancia. Si bien este método permite obtener Φ_{obs} , la exactitud del cálculo es mucho menor que la obtenida para la reflectancia. En lo que sigue se usarán las reflectancias obtenidas espectrofotométricamente para calcular el rendimiento cuántico observado, de modo tal de validar el método de reflectancia para el cálculo de rendimientos cuánticos.

Se realizaron experimentos con muestras ópticamente gruesas de R101 y R6G sobre polvo de celulosa microgranular usando BBG sobre el mismo soporte como referencia calorimétrica. Las muestras fueron preparadas para la medición de LIOAS, según el protocolo estandarizado (sección IV.4), esto es, presionando 60 mg de sólido seco dentro del portamuestras de aluminio, a una presión de 25,5 bar durante 120 s. Antes de las mediciones las muestras fueron dejadas en desecador por lo menos 24 h

Capítulo V. DETERMINACIÓN DE RENDIMIENTOS CUÁNTICOS POR LIOAS

a presión atmosférica y temperatura ambiente. La reflectancia total y los valores de Φ_{obs} de las muestras de colorantes obtenidos a partir de las medidas de reflectancia se muestran en la Tabla V.1 junto con los valores para la referencia a distintas concentraciones.

muestra	C (mol g ⁻¹)	R	Φ_{obs} (reflect.)	H/E (u.a.)	$(1-R)(1-\Phi_{\text{obs}}\langle v_F \rangle/v_0)$	Φ_{obs} (LIOAS)
R6G-1	$5,5 \times 10^{-8}$	0,75	0,50	0,41	0,14	$0,47 \pm 0,07$
R6G-2	$7,7 \times 10^{-8}$	0,74	0,40	0,41	0,16	$0,47 \pm 0,07$
R6G-3	$1,1 \times 10^{-7}$	0,66	0,40	0,43	0,22	$0,62 \pm 0,05$
R6G-4	$3,3 \times 10^{-7}$	0,54	0,34	0,83	0,32	$0,38 \pm 0,08$
R6G-5	$5,5 \times 10^{-7}$	0,50	0,26	1,15	0,38	$0,15 \pm 0,10$
R6G-6	$7,7 \times 10^{-7}$	0,39	0,20	1,52	0,50	$0,04 \pm 0,11$
R6G-8	$1,1 \times 10^{-6}$	0,34	0,20	1,52	0,54	$0,12 \pm 0,10$
R101-1	$8,4 \times 10^{-8}$	0,79	0,50	0,29	0,12	$0,55 \pm 0,06$
R101-2	$1,0 \times 10^{-7}$	0,77	0,50	0,27	0,13	$0,63 \pm 0,05$
R101-3	$3,0 \times 10^{-7}$	0,66	0,35	0,63	0,24	$0,32 \pm 0,08$
R101-4	$5,0 \times 10^{-7}$	0,61	0,28	0,57	0,29	$0,50 \pm 0,07$
R101-5	$8,4 \times 10^{-7}$	0,54	0,23	0,90	0,37	$0,28 \pm 0,09$
R101-6	$1,0 \times 10^{-6}$	0,52	0,22	0,97	0,39	$0,26 \pm 0,09$
BBG-1	$3,6 \times 10^{-7}$	0,79	0,00	0,52	0,20	0,00
BBG-2	$7,7 \times 10^{-7}$	0,77	0,00	0,77	0,29	0,00
BBG-3	$1,1 \times 10^{-6}$	0,66	0,00	0,84	0,32	0,00
BBG-4	$1,8 \times 10^{-6}$	0,61	0,00	0,95	0,39	0,00
BBG-5	$2,9 \times 10^{-6}$	0,54	0,00	1,08	0,44	0,00
BBG-6	$3,6 \times 10^{-6}$	0,52	0,00	1,31	0,48	0,00

Tabla V.1. Datos de reflectancia total y LIOAS para muestras de R6G, R101, y BBG.

Las siguientes dos columnas en la Tabla V.1 se grafican en la Figura V.1 siguiendo la Ecuación V.3. El gráfico muestra que, con excepción de los valores anómalos identificados con símbolos vacíos, todas las medidas caen dentro del ajuste por cuadrados mínimos con intercepción en cero. Las barras de error de la figura representan un 10 % del valor de H/E. Esta estimación resulta de comparar distintas experiencias realizadas sobre una misma muestra e incluye la incertidumbre en la medición de la energía del láser, la preparación de la pastilla y el ajuste de la celda.

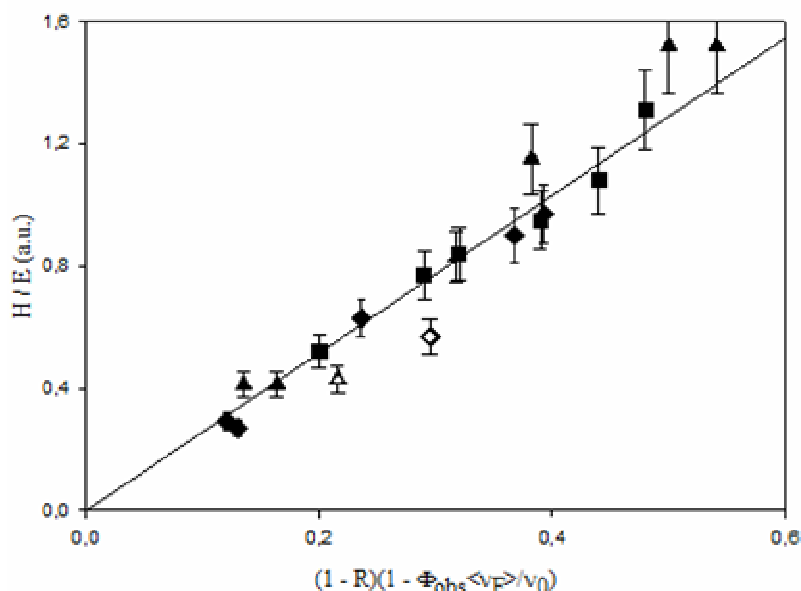


Figura V.1: Gráfico del primer máximo de la señal de LIOAS de acuerdo con la Ecuación V.2 para R6G (triángulos), R101 (rombos) y BBG (cuadrados); la línea llena es el ajuste por cuadrados mínimos para la referencia calorimétrica. Los símbolos vacíos corresponden a valores anómalos (ver texto).

En la Figura V.2 se representa Φ_{obs} en función de la concentración del colorante para R6G y R101, comparando los valores obtenidos por LIOAS con los hallados mediante el método de la reflectancia. Los valores correspondientes se dan en la Tabla V.1. Los errores se calculan por propagación a partir de la ecuación V.3.

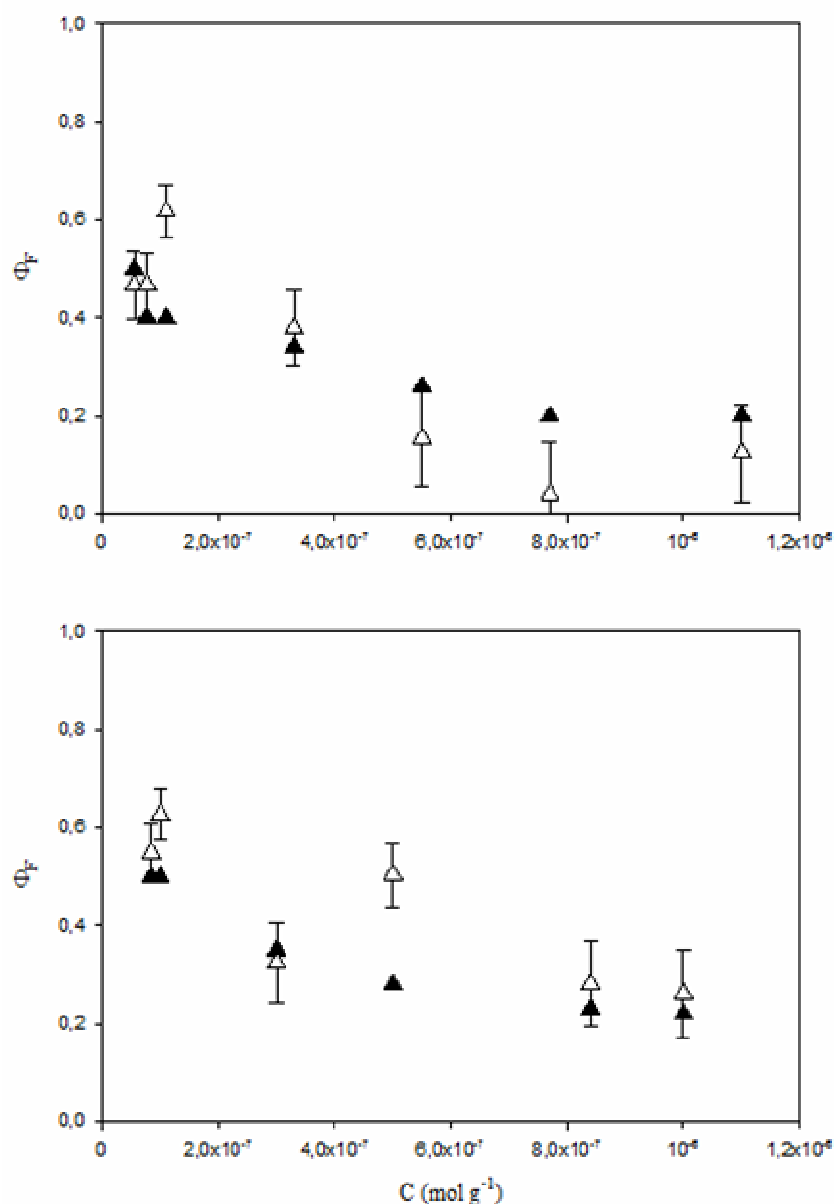


Figura V.2: Φ_{obs} para R6G (arriba) y R101 (abajo) obtenidos a partir de medidas de reflectancia (símbolos llenos) y por LIOAS (símbolos vacíos).

Se observa que la tendencia obtenida para las medidas de reflectancia es la misma que para LIOAS. Los errores aleatorios para los valores obtenidos por la técnica de LIOAS no son grandes. En cambio, no puede decirse nada acerca de los posibles errores sistemáticos en el cálculo de Φ_{obs} por el método de reflectancia. Por lo tanto, la comparación con los datos de LIOAS es pertinente. Los rendimientos cuánticos son

consistentes dentro de ± 0.1 , lo que conduce a una estimación de error relativo de $\pm 20\%$ para los valores obtenidos.

V.2 OBTENCIÓN DE RENDIMIENTOS CUÁNTICOS DE FORMACIÓN DE TRIPLETE

En este caso los colorantes utilizados poseen un rendimiento cuántico de formación de triplete alto y un rendimiento cuántico de fluorescencia bajo pero no despreciable, con lo cual la señal observada responde a la Ecuación V.1 completa.

Los experimentos se realizaron con muestras de RB y EB adsorbidos sobre celulosa usando BBG como referencia calorimétrica. Las muestras fueron preparadas como se indicó anteriormente, manteniendo las mismas condiciones para todas ellas, de esta forma se obtiene una señal cuyo máximo se ubica siempre en el mismo tiempo. Los resultados se presentan en la Tabla V.2 junto con los valores de R y Φ_{obs} (capítulo III). Los error de Φ_T se estiman en la misma forma que en la sección V.1.

muestra	Concentración (moles $\times$ g ⁻¹)	R	Φ_{obs}	H/E (u.a.)	Φ_T
EB-1	$4,5 \times 10^{-8}$	0,83	0,063	0,18	$0,48 \pm 0,08$
EB-2	$6,7 \times 10^{-8}$	0,82	0,064	0,19	$0,50 \pm 0,07$
EB-3	$9,0 \times 10^{-8}$	0,78	0,068	0,20	$0,58 \pm 0,07$
EB-4	$1,7 \times 10^{-7}$	0,76	0,048	0,33	$0,30 \pm 0,10$
EB-5	$2,3 \times 10^{-7}$	0,68	0,062	0,27	$0,64 \pm 0,06$
EB-6	$3,3 \times 10^{-7}$	0,68	0,043	0,40	$0,35 \pm 0,09$
EB-7	$4,5 \times 10^{-7}$	0,66	0,043	0,29	$0,64 \pm 0,06$
BBG-1	$3,6 \times 10^{-7}$	0,79	0,00	0,31	0,00
BBG-2	$7,7 \times 10^{-7}$	0,77	0,00	0,43	0,00
BBG-3	$1,1 \times 10^{-6}$	0,66	0,00	0,46	0,00
BBG-4	$1,8 \times 10^{-6}$	0,61	0,00	0,54	0,00

muestra	Concentración (moles $\times$ g ⁻¹)	R	Φ_{obs}	H/E	Φ_T
RB-1	$2,3 \times 10^{-8}$	0,90	0,078	0,08	$0,54 \pm 0,08$
RB-2	$4,7 \times 10^{-8}$	0,86	0,073	0,09	$0,66 \pm 0,06$
RB-3	$6,9 \times 10^{-8}$	0,83	0,082	0,11	$0,63 \pm 0,07$
RB-4	$1,2 \times 10^{-7}$	0,80	0,070	0,19	$0,37 \pm 0,09$
RB-5	$2,1 \times 10^{-7}$	0,77	0,069	0,19	$0,52 \pm 0,08$
RB-6	$3,7 \times 10^{-7}$	0,74	0,060	0,22	$0,49 \pm 0,08$
RB-7	$4,1 \times 10^{-7}$	0,68	0,057	0,25	$0,55 \pm 0,08$
BBG-1	$3,6 \times 10^{-7}$	0,79	0,00	0,28	0,00
BBG-2	$7,7 \times 10^{-7}$	0,77	0,00	0,40	0,00
BBG-3	$1,1 \times 10^{-6}$	0,66	0,00	0,44	0,00
BBG-4	$1,8 \times 10^{-6}$	0,61	0,00	0,58	0,00
BBG-5	$2,9 \times 10^{-6}$	0,54	0,00	0,65	0,00

Tabla V.2. Datos de reflectancia y LIOAS para EB, RB y BBG adsorbida sobre celulosa.

Los valores del parámetro A, calculado para cada grupo de experimentos, resulta de $1,46 \pm 0,08$ en las determinaciones sobre muestras de EB y de $1,43 \pm 0,05$ en las de muestras de RB.

El valor de E_T se obtiene a partir de $h\nu_p$ usando el valor de frecuencia que corresponde al máximo de la banda de emisión de fosforescencia, como se mencionó anteriormente. Los valores para las frecuencias de fluorescencia y fosforescencia fueron tomados como $5,17 \times 10^{14} \text{ cm}^{-1}$ y $4,27 \times 10^{14} \text{ cm}^{-1}$ para EB y $4,70 \times 10^{14} \text{ cm}^{-1}$ y $4,07 \times 10^{14} \text{ cm}^{-1}$ para RB, respectivamente, a partir de los espectros de emisión capa gruesa (Figuras III.17 para EB y III.23 para RB).

En la Figura V.3 se muestran los valores de rendimiento cuántico de formación de triplete obtenidos en función de las concentraciones de los colorantes.

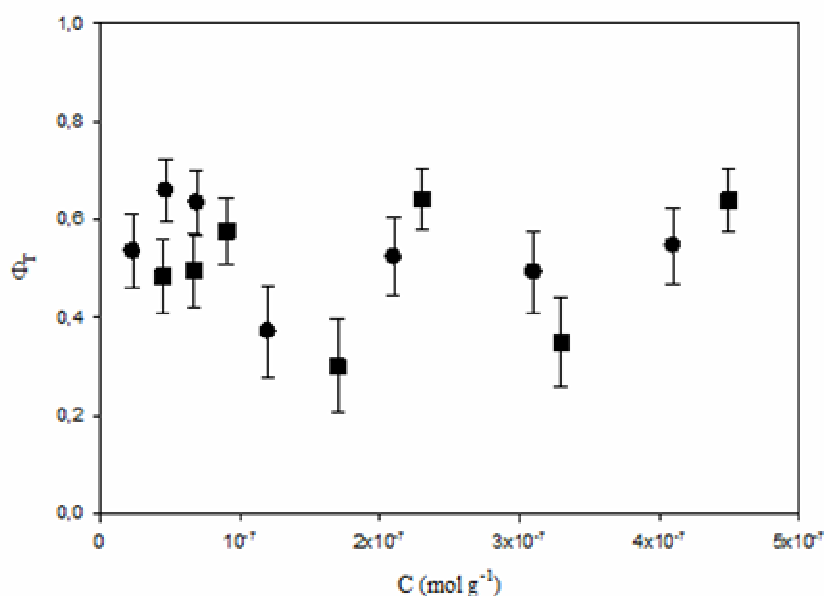


Figura V.3: Valores obtenidos de Φ_T en función de la concentración de muestras de EB (cuadrados) y RB (círculos).

Si bien los valores obtenidos presentan una alta dispersión, no muestran ninguna tendencia con la concentración. Por ello se concluye que Φ_T es constante para todas las concentraciones e igual a $0,50 \pm 0,15$ para EB y $0,54 \pm 0,10$ para RB. Las incertezas se atribuyen, principalmente, a la medida optoacústica como en el caso de la determinación de Φ_{obs} .

Puede observarse, por un lado, que los valores obtenidos no muestran ninguna dependencia aparente con la concentración. Como se vio en el capítulo II, a medida que aumenta la concentración aumenta el porcentaje de agregados. Sin embargo, esto no parece modificar la probabilidad de formación de triplete. Por otro lado, el valor obtenido resulta considerablemente más bajo que lo observado en solución para ambos colorantes. En la bibliografía se encuentra bastante variabilidad respecto a rendimientos cuánticos en distintos solventes pero todos los valores son cercanos a uno [3-7]. La primera observación será analizada desde el punto de vista de la teoría excitónica. La disminución del valor del Φ_T respecto de la solución se asocia al entorno. En el capítulo siguiente se caracteriza al estado triplete de ambas moléculas mediante técnicas complementarias con el fin de aportar herramientas a la discusión, que será presentada en el capítulo VII.

V.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Mirenda, M.; Lagorio, M. G.; San Roman, E.; Photophysics on Surfaces: Determination of absolute fluorescence quantum yields from reflectance spectra. *Langmuir* **2004**, 20, 3690-3697.

[2] Braslavsky, S.; Heibel, G. Time-resolved photothermal and photoacoustic methods applied to photoinduced processes in solution. *Chem. Rev.* **1992**, 92, 1381-1410.

[3] Encinas, M.; Rufs, A.; Bertolotti, S.; Previtali, C. Xanthene dyes/amine as photoinitiators of radical polymerization: A comparative and photochemical study in aqueous medium. *Polymer* **2009**, 50 (13), 2762-2767.

[4] Bowers, P.; Porter, G. Triplet state quantum yield for some aromatic hydrocarbons and xanthene dyes in dilution solution. *Proc. Royal Soc. London. Series A, Math. Phys. Sci.* **1967**, 348-352.

[5] Nemoto, N.; Kokubun, H.; Koizumi, M. Determination of the S*-T transition probabilities of some xanthene and thiazine dyes on the basis of the T-Energy transfer. II. Results in aqueous solution. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1969**, 42, 2464-2470.

[6] Murasecco-Suardi, P.; Gassmann, E.; Braun, A.; Oliveros, E. Determination of the Quantum Yield of Intersystem Crossing of Rose Bengal. *Helv. Chim. Acta*, **1987**, 70, 1766-1773.

[7] Gratz, H.; Penzkofer, A. Triplet-triplet absorption of some organic molecules determined by picosecond láser excitation and time-delayed picosecond light continuum probing. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1999**, 127 (1-3), 21-30.

Capítulo VI

CARACTERIZACIÓN DEL ESTADO TRIPLETE

VI.1 FOSFORESCENCIA RESUELTA EN EL TIEMPO

Los estudios de fosforescencia fueron realizados utilizando la técnica de Luminiscencia Inducida por Láser descrita en el capítulo II. Los experimentos fueron realizados sobre el conjunto de muestras de diferentes concentraciones de EB y RB adsorbidos sobre celulosa. Los espectros de emisión se obtienen a una longitud de onda de excitación de 337 nm con láser de N₂, en una ventana temporal de 1000μs y un retardo de 1μs y se adquieren espectros cada 20μs teniendo 50 series, cada una de las cuales es el resultado del promedio de la acumulación de 10 espectros.

Si bien estos colorantes tienen mayor absorción en el zona visible (ver capítulo III) existe también absorción en la zona del UV, dada la transición $S_0 \rightarrow S_2$, como se muestra en los espectros de función de remisión de la Figura VI.1. Se observa que tanto los colorantes como el soporte presentan absorción a 337 nm. Por lo tanto, en estos experimentos se excita tanto a los colorantes como al soporte de celulosa en el que se encuentran adsorbidos.

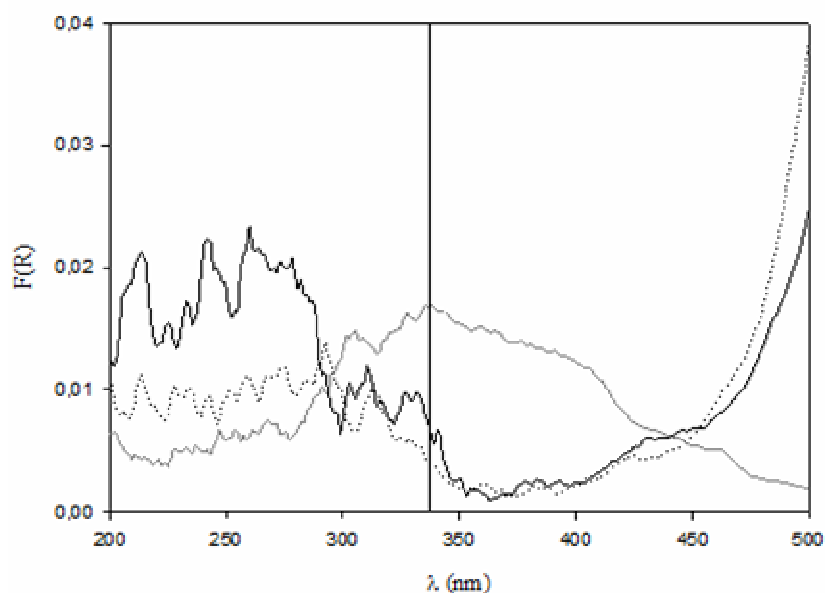


Figura VI.1: Espectros de función de remisión de muestras concentradas de RB (línea negra continua) y EB (línea negra punteada) y de un blanco de celulosa (línea gris). En el grafico se muestra la posición de la longitud de onda de excitación de 337 nm.

Se realizaron estudios a temperatura ambiente (TA) y a bajas temperaturas (77K) en N₂ líquido. Por otro lado, con el fin de estudiar el comportamiento del soporte frente a la permeabilidad del oxígeno, se trabajó con muestras de RB adsorbida sobre celulosa en presencia de oxígeno (aire) y en ausencia de oxígeno (argón). En estos experimentos se buscan evidencias de *quenching* del estado triplete por parte moléculas de O₂ en estado fundamental.

VI.1.1 MEDIDAS A TEMPERATURA AMBIENTE

ERITROSINA B

En la Figura VI.2 se muestran los resultados de experimentos de fosforescencia a temperatura ambiente para distintas concentraciones de EB sobre celulosa.

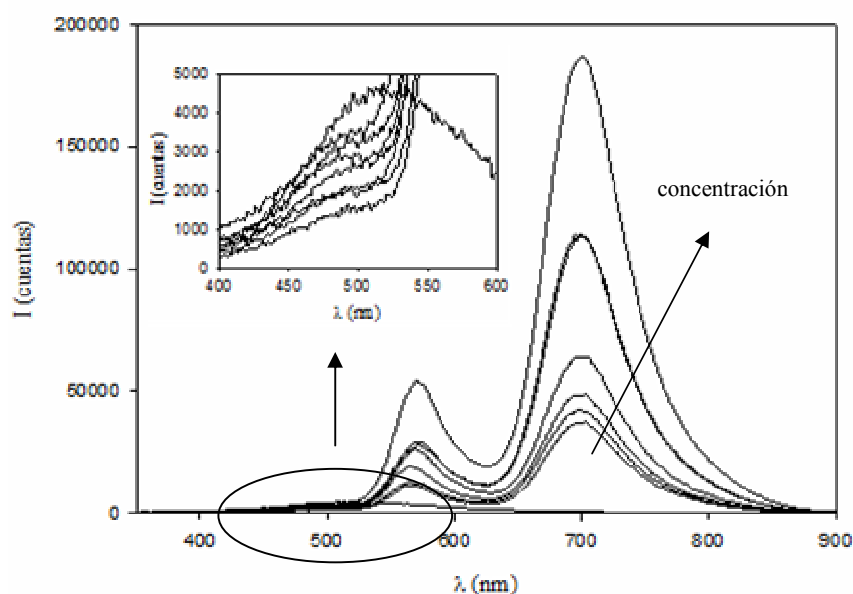


Figura VI.2: Espectros de emisión a 0,1 μ s de muestras de EB (EB-2 a EB-7) y un blanco de celulosa. En el grafico insertado se muestra en detalle de la zona marcada donde la banda simple corresponde a la emisión de celulosa.

En los espectros se observan tres bandas, correspondiendo la banda principal a la fosforescencia del EB a 700 nm, esto confirma la asignación de la banda a 703nm en mediciones de luminiscencia para capas gruesas (Figura III.17). La banda que aparece a bajas longitudes de onda, corresponde a la emisión de fosforescencia de la celulosa. Esta banda coincide con la emisión de fosforescencia evidenciada en el espectro de un blanco de celulosa y presenta un máximo aproximadamente a 520 nm. La banda intermedia tiene un máximo a 567nm para la muestra más diluida y para la más concentrada a 572 nm. Estas bandas coinciden con las observadas en los espectros de emisión para capas gruesas donde los máximos aparecen entre 568 nm y 573 nm al aumentar la concentración. Por lo tanto, esta banda puede asignarse a la retardada (DF – *delayed fluorescence*), ya que coincide con la fluorescencia observada en la técnica estacionaria, pero aparece a tiempos mayores en la técnica resuelta en el tiempo.

En la Figura VI.3 se comparan los espectros de emisión de celulosa y una muestra de EB a 0,1 μ s con los espectros de función de remisión y fluorescencia de la misma muestra.

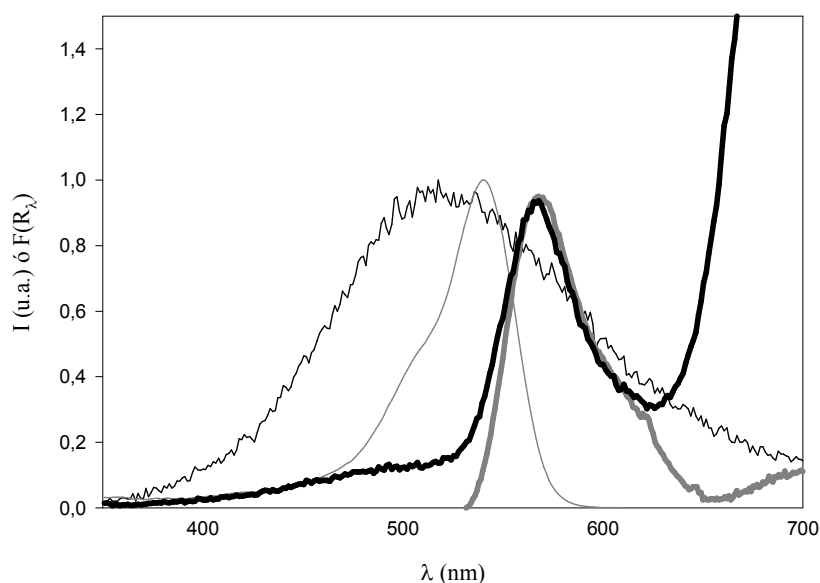


Figura VI.3. Espectro de emisión a 0,1 μ s de celulosa (línea negra fina), espectro de emisión a 0,1 μ s de una muestra EB-1 (línea negra gruesa), espectro de función de remisión (línea gris fina) y espectro de emisión en capa gruesa de la misma muestra (línea gris gruesa).

En el espectro de emisión de la muestra de colorante, la banda que corresponde a la emisión de fosforescencia de celulosa aparece corrida hacia el azul respecto a lo observado en el espectro de celulosa pura. Dado el gran solapamiento entre esta banda y el espectro de absorción del colorante, se plantea que existe reabsorción de la emisión de fosforescencia de la celulosa por parte del colorante en esta zona. Esto genera distorsión y disminución de la amplitud de la banda que corresponde a la emisión de celulosa en el espectro de la muestra de colorante. Por otro lado, en la misma figura, se observa la coincidencia entre la banda propuesta como DF y el espectro de fluorescencia en capa gruesa. Para conocer el origen de la banda de DF se realizaron experimentos a baja temperatura (ver más adelante).

De acuerdo con la posición y forma de la banda de fosforescencia del colorante puede decirse que no hay variación apreciable con la concentración para todo el conjunto de muestras estudiadas ni con el tiempo, tal como se muestra en la Figura VI.4. Por lo tanto, se considera que el proceso de desactivación radiativa del estado triplete se refiere siempre a la misma transición.

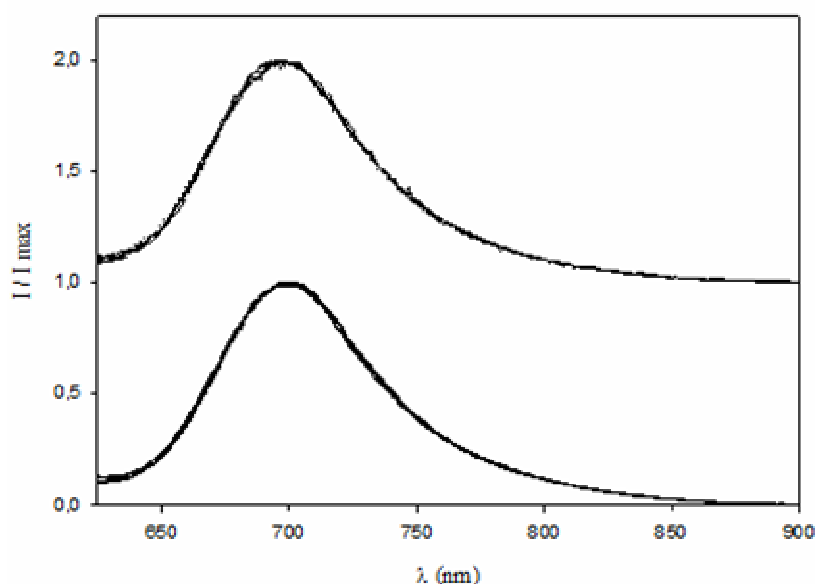


Figura VI.4. Espectros normalizados de fosforescencia (corridos 1 unidad) de todas las muestras estudiadas de EB adsorbida sobre celulosa a 0,1 μ s (arriba) y a 500 μ s (abajo).

ROSA DE BENGALA

Se tomaron los espectros de emisión a resueltos en el tiempo al grupo de muestras de RB adsorbida sobre celulosa de distintas concentraciones. Para un tiempo de $0,1 \mu\text{s}$ se muestran los resultados en la Figura VI.5 comparados con un blanco de celulosa.

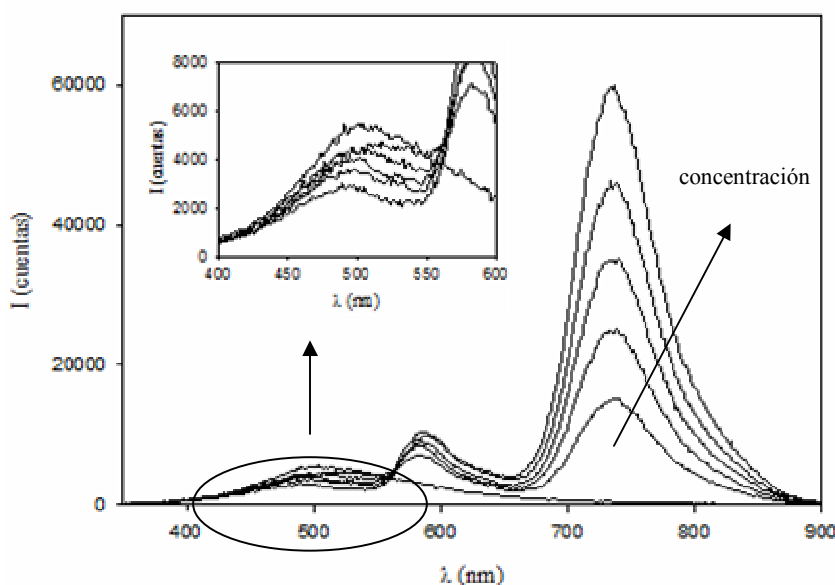


Figura VI.5. Espectros de emisión a $0,1 \mu\text{s}$ de muestras de RB (RB-2 a RB-6) y de un blanco de celulosa. En el grafico insertado se muestra en detalle de la zona marcada donde la banda simple corresponde a la emisión de celulosa.

También aquí se observan tres bandas distintas. La banda principal corresponde a la fosforescencia del RB a 737 nm , que coincide con los espectros de emisión medidos en fluorómetro para capas gruesas (ver Figura III.23) donde puede observarse la banda de emisión de fosforescencia (738 nm).

La banda que corresponde a la fosforescencia de la celulosa aparece en la misma posición que la observada anteriormente en el caso de EB (520 nm). La banda intermedia puede atribuirse a DF haciendo el mismo análisis que se realizó para EB. El máximo para la banda de DF para la muestra mas concentrada se encuentra a 587 nm y para la mas diluida a 582 nm , lo que coincide con lo observado por la técnica estacionaria para capas gruesas de muestras (588 nm y 582 nm , respectivamente).

En la Figura VI.6 se comparan los espectros de emisión de la celulosa y una muestra de RB a 0,1 μ s con los espectros de función de remisión y de fluorescencia de la misma muestra.

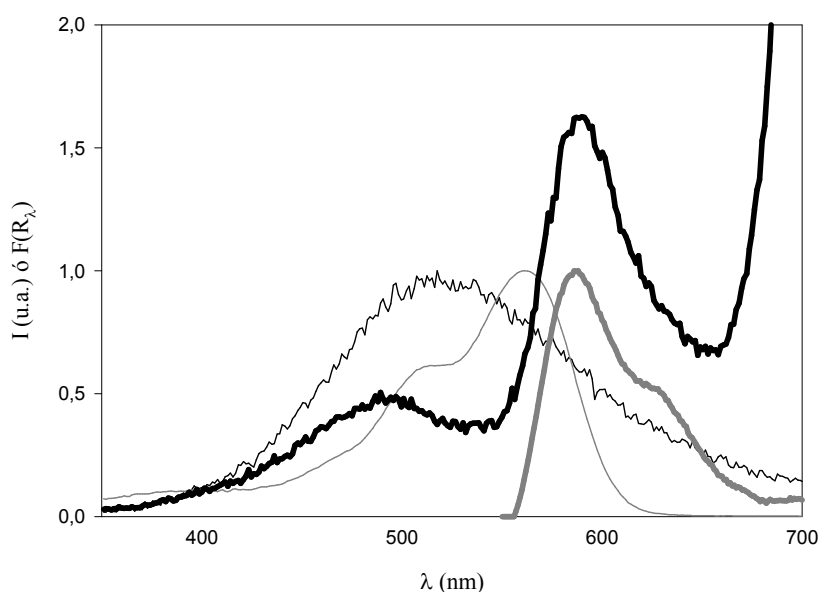


Figura VI.6. Espectro de emisión de fosforescencia de un blanco de celulosa (línea negra fina), espectro de emisión a 0,1 μ s de la muestra (línea negra gruesa) de RB-7 espectro de absorción de la muestra (línea gris fina) y espectro de emisión para capas gruesas de la misma muestra (línea gris gruesa). Gráficos no a escala.

Aquí también puede verse el efecto de la reabsorción de la emisión de fosforescencia de la celulosa por parte del colorante, lo que provoca la distorsión de esta banda de fosforescencia. La coincidencia con la banda de fluorescencia del espectro de emisión para capas gruesas y la mayor intensidad observada respecto a la emisión de la celulosa confirman la asignación de DF para la banda intermedia que aparece en el espectro de emisión estudiado.

Observando los espectros normalizados para todas las concentraciones a distintos tiempos, puede decirse que no hay variación apreciable en la posición y la forma de la

banda de fosforescencia del colorante, para todo el conjunto de muestras estudiadas, como se muestra en la Figura VI.7.

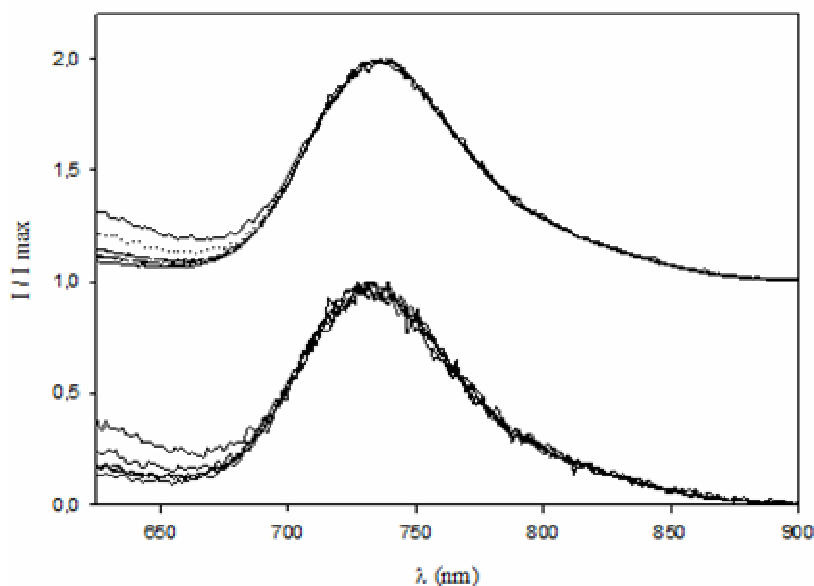


Figura VI.7. Espectros normalizados de fosforescencia de todas las muestras estudiadas de RB adsorbida sobre celulosa a 0,1 μ s (arriba) y a 500 μ s (abajo).

VI.1.2 MEDIDAS A BAJAS TEMPERATURAS

La fluorescencia retardada puede ser de tipo P y de tipo E. La primera proviene de la interacción entre dos moléculas excitadas en estado triplete y da lugar a una molécula en estado singulete fundamental S_0 y otra en estado excitado S_1 que decae radiativamente; se produce a intensidades de excitación altas y, en ausencia de difusión, requiere que ambas moléculas estén próximas para permitir el cambio de espín. De acuerdo a esto el tiempo de decaimiento es la mitad del que se observa para la fosforescencia. La tipo E resulta del cruce entre sistemas inverso $S_1 \leftarrow T_1$ (*reverse intersystem crossing*) y es un fenómeno activado; es un proceso unimolecular que se da a cualquier intensidad de iluminación y se favorece aumentando la temperatura. En este tipo de DF el decaimiento coincide con el de la fosforescencia [1].

Una forma de identificar si la fluorescencia retardada resulta a partir de un proceso tipo P o tipo E es realizar experimentos a baja temperatura, ya que la tipo E es un proceso activado térmicamente y no ocurre a bajas temperaturas. Existen referencias sobre la ocurrencia de este tipo de proceso para los xantenos halogenados como RB y EB [2-7].

Con el fin de determinar el origen de la fluorescencia retardada se tomaron espectros de emisión de fosforescencia en la misma forma que la descrita en la Sección VI.1.1 pero sometiendo a muestras de EB y RB concentradas (EB-7 y RB-7, respectivamente) a la temperatura del N₂ líquido (77K). Los espectros obtenidos, tomados a 0,1 μ s, se presentan en la Figura VI.8, en comparación con los espectros de las mismas muestras a TA.

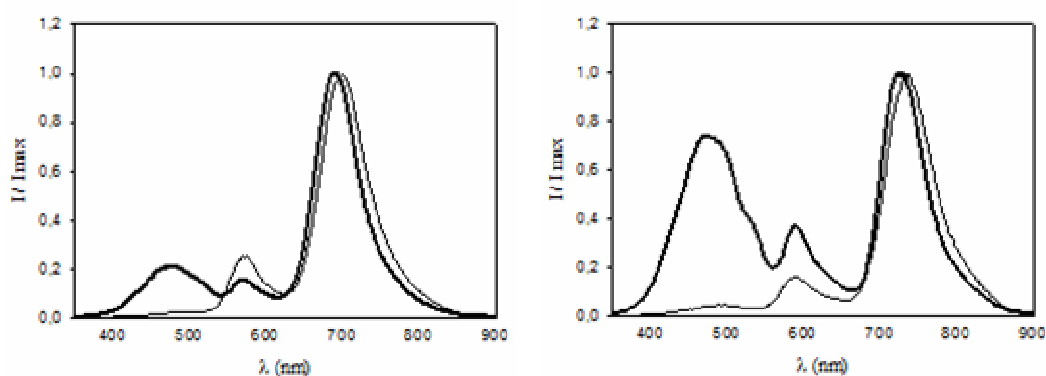


Figura VI.8. Espectros de emisión de fosforescencia normalizados de la muestra EB-VII (izquierda) y de la muestra RB-VII (derecha) a 77K (líneas gruesas) y a TA (líneas finas).

En los espectros de emisión a 77K se observa un aumento en la emisión de la celulosa respecto a lo observado a TA, aquí se hace evidente el fenómeno de reabsorción de la emisión de fosforescencia de la celulosa por parte del colorante ya para ambas muestras se presenta una depresión que coincide con la banda de absorción de los colorantes (ver Figuras VI.3 y VI.6). Las bandas presentes alrededor de 580 nm y 600 nm para muestras de EB y RB, respectivamente, son producto de la distorsión de la banda de emisión de fosforescencia de la celulosa a causa de la reabsorción mencionada. En experimentos a TA las bandas alrededor de la misma posición se asignan a DF dado que poseen mayor intensidad que las correspondientes

a la emisión de celulosa. Sin embargo en los experimentos a bajas temperaturas no se observa esta diferencia, lo que muestra, aparentemente la ausencia de bandas DF.

Puede observarse, además, que la posición de las bandas de fosforescencia del colorante y de la celulosa presentan corrimientos hacia el azul, de 12 nm para EB, 11 nm para RB y de 34 nm para la celulosa, respecto a las posiciones observadas en experimentos a TA, por efecto de las bajas temperaturas.

La aparente ausencia de bandas correspondientes a DF en los espectros de emisión de las muestras de EB y RB a 77K manifiesta que el proceso que origina la DF es de Tipo-E ya que este es un proceso activado.

VI.1.3 EFECTO DEL OXIGENO

Debido al alto rendimiento cuántico de formación de triplete que presentan en solución de etanol, las moléculas de EB y RB pueden fácilmente producir oxígeno singlete en contacto con el oxígeno del medio y de esta manera presentar bajos rendimientos cuánticos de formación de triplete.

Dado que en estudios de LIOAS se obtuvieron valores de rendimiento cuántico de formación de triplete más bajos que los observados para ambos colorantes en solución se realizaron estudios de fosforescencia con una muestra de RB en equilibrio con argón, con el fin de determinar si existe flujo de oxígeno a través de la red polimérica de la celulosa.

Los espectros obtenidos, mostrados en la Figura VI.9, resultaron invariantes en atmósfera de argón respecto a los obtenidos en atmósfera con oxígeno, con lo cual se asegura que en la celulosa no es permeable al oxígeno y que el rendimiento cuántico de formación de triplete no es menor que en solución de etanol, debido a un posible *quenching* por oxígeno molecular.

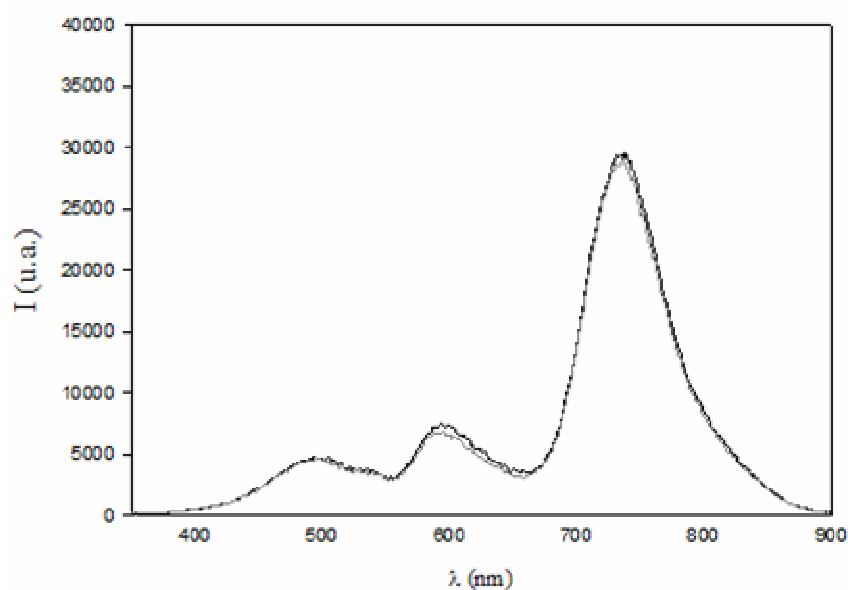


Figura VI.9. Espectros de emisión de fosforescencia normalizados de la muestra RB-7 en equilibrio con aire (línea negra) y en equilibrio con argón (línea gris).

VI.1.4 TIEMPOS DE VIDA

Todos los espectros de emisión de la muestra más concentrada y la más diluida de EB adsorbida sobre celulosa, tomados cada 20 μ s, se muestran en la Figura VI.10.

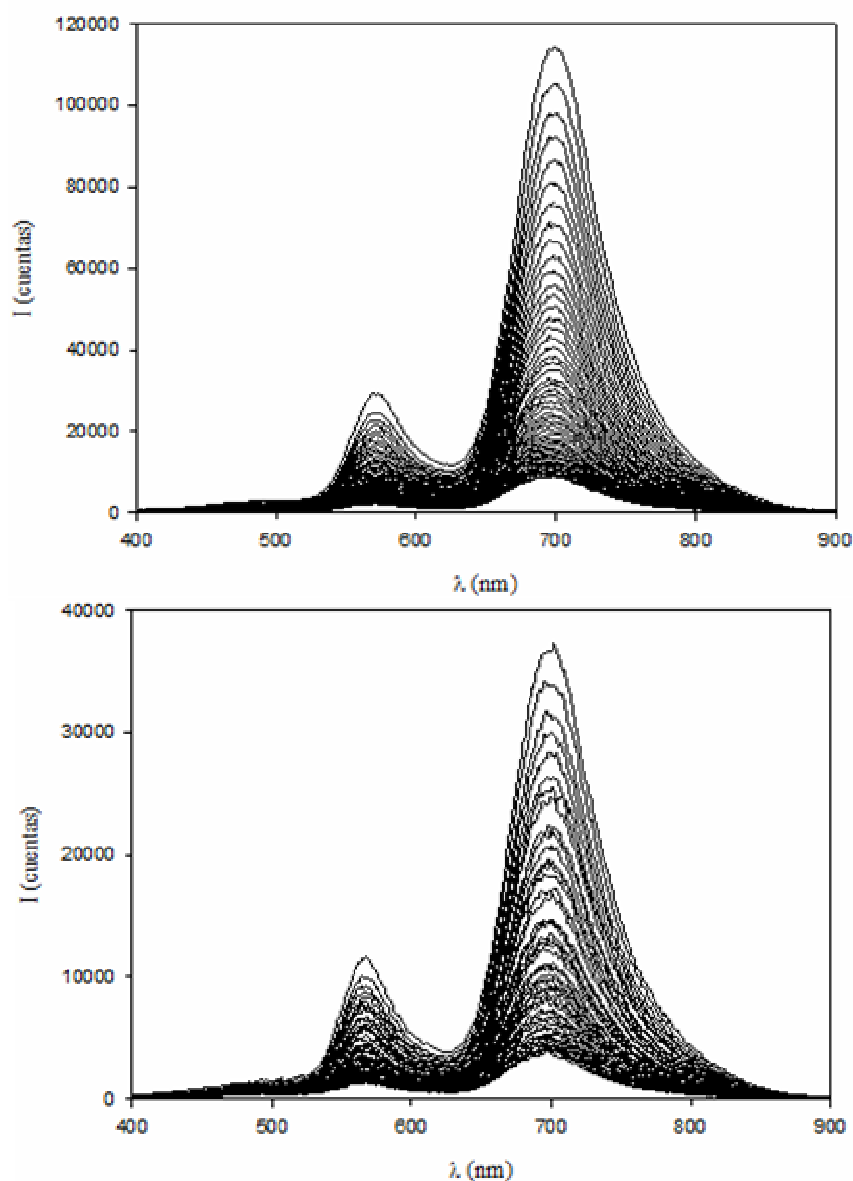


Figura VI.10. Espectros de emisión medidos entre 0,1 y 980 μs , cada 20 μs , de la muestra de EB-7 (arriba) y de EB-1 (abajo).

Los estudios cinéticos no arrojaron tiempos definidos dada la curvatura del gráfico semilogarítmico (Figura VI.11). Los tiempos de decaimiento calculados a 700 nm se encuentran entre 300 y 500 μs e incluso se han observado las mismas variaciones para un punto alejado (750 nm) y para todas las concentraciones sin encontrar tendencias.

Estos tiempos son mucho mayores que el reportado por Kamat y Fox [8] en solución de etanol ($76 \mu\text{s}$).

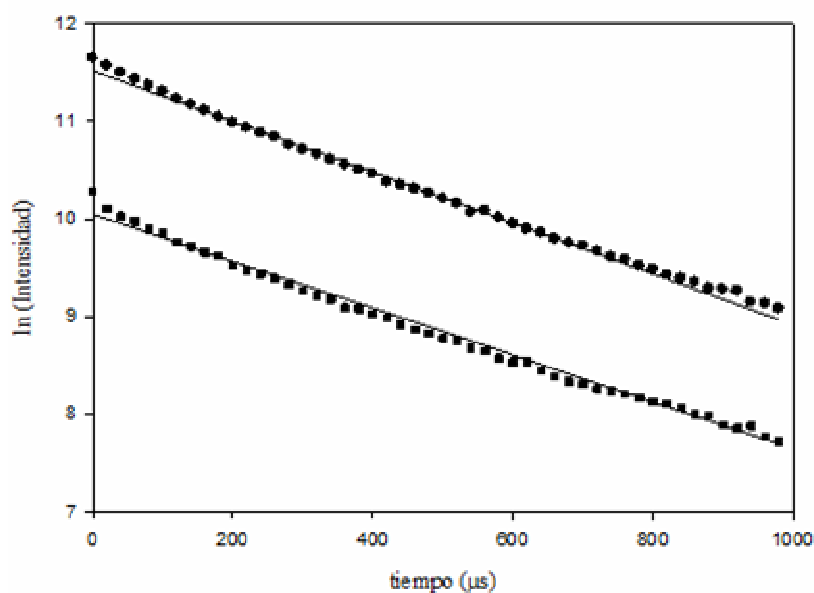


Figura VI.11. Gráfico de logaritmo de intensidad de fosforescencia a 700 nm (círculos) y de fluorescencia retardada a 570 nm (cuadrados) en función del tiempo para la muestra EB-7.

En la Figura IV.11 también se muestran los valores para la DF tomados a 570 nm. Se observa claramente que el decaimiento coincide con el de la fosforescencia. Esto resulta una evidencia concluyente para considerar que la fluorescencia retardada procede por un mecanismo de Tipo-E.

Para los estudios cinéticos de RB adsorbido sobre celulosa se colectaron espectros desde $0.1 \mu\text{s}$ a $980 \mu\text{s}$, cada $20 \mu\text{s}$ y se presentan en la Figura VI.12, para muestras concentradas y diluidas.

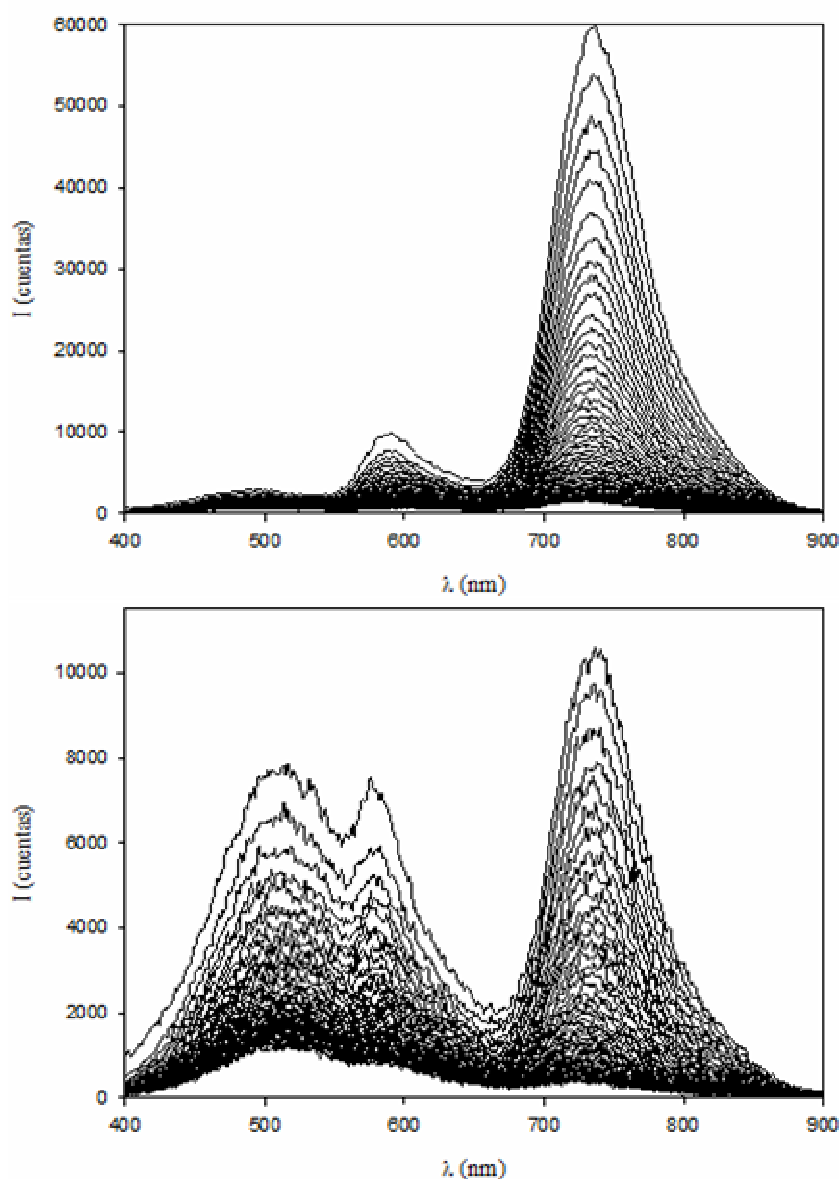


Figura VI.12. Espectros de emisión medidos entre 0,1 y 980 μ s, cada 20 μ s, de la muestra de RB-7 (arriba) y de RB-1 (abajo).

No se observan tiempos definidos dada la curvatura del grafico semilogarítmico (Figura VI.13). Los tiempos de decaimiento calculados a 737 nm se encuentran entre 220 y 340 μ s y lo mismo se observa en un punto alejado (770 nm) y para todas las concentraciones. El tiempo reportado en solución de etanol es 90 μ s [8].

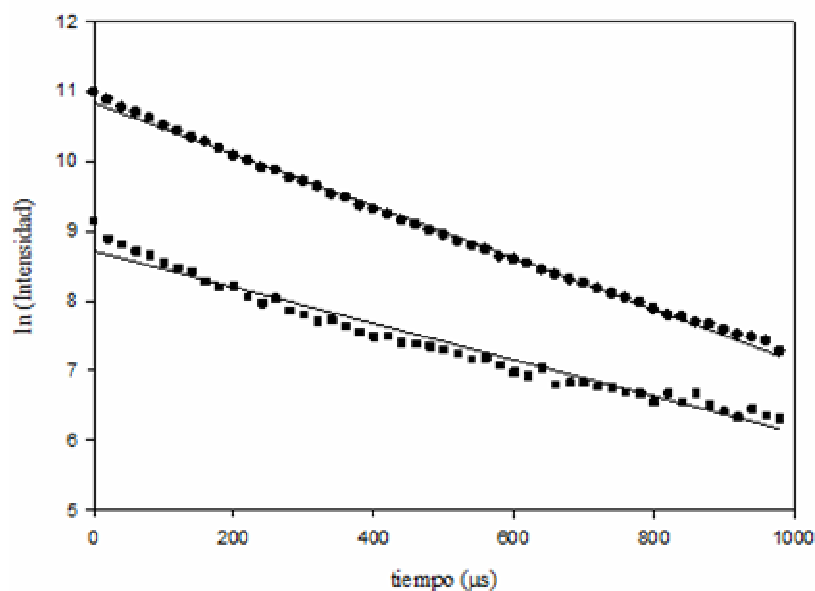


Figura VI.13. Grafico de logaritmo de intensidad de fosforescencia a 737 nm (círculos) y de fluorescencia retardada a 586 nm (cuadrados) en función del tiempo para la muestra RB-7.

El decaimiento para la banda de DF en la Figura VI.13 muestra a tiempos cortos el mismo tipo de decaimiento que presenta la banda de fosforescencia del colorante, pero a tiempos más largos es probable que sea afectado por el decaimiento de la fosforescencia de la celulosa ($\tau_p \approx 1000 \mu s$). Esto es posible, ya que según las Figuras VI.2 y VI.5 la fosforescencia de la celulosa es comparativamente más importante para RB que para EB. Sin embargo, estas observaciones coinciden con un comportamiento correspondiente a un mecanismo Tipo-E para la fluorescencia retardada.

En medios heterogéneos por lo general existe una distribución de tiempos de vida y no un único tiempo por efecto de la variabilidad del microentorno. Por esto resulta difícil encontrar estos valores a partir de los tratamientos de datos usuales. Por lo tanto, se utilizó el tratamiento para obtener la distribución de tiempos de vida, LDA, desarrollado por Branco y otros [9] brevemente descripto en la sección II.4.2.

Se analizaron los datos presentados anteriormente para una muestra concentrada, una intermedia y una diluida de EB y RB, resultando las distribuciones de las Figuras VI.14 y VI.15.

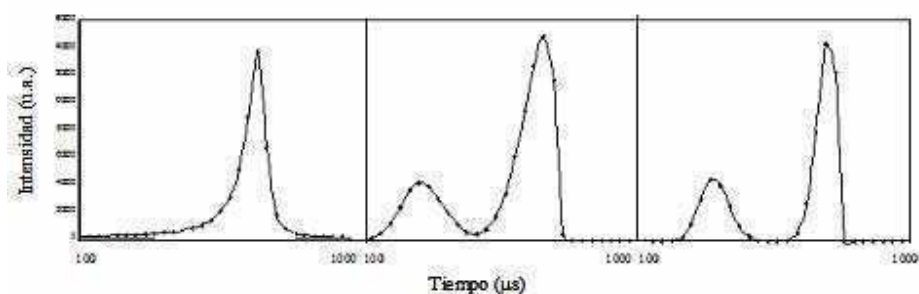


Figura VI.14. Distribución de tiempos de vida de fosforescencia para una muestra de EB-2 (a), EB-5 (b) y EB-7 (c) a TA.

Para EB, se observa un tiempo largo de relajación de entre 470 y 520 μs que aparece en todas las concentraciones, pero a concentraciones intermedias comienza a aparecer un nuevo tiempo de relajación mas corto de entre 160 y 190 μs .

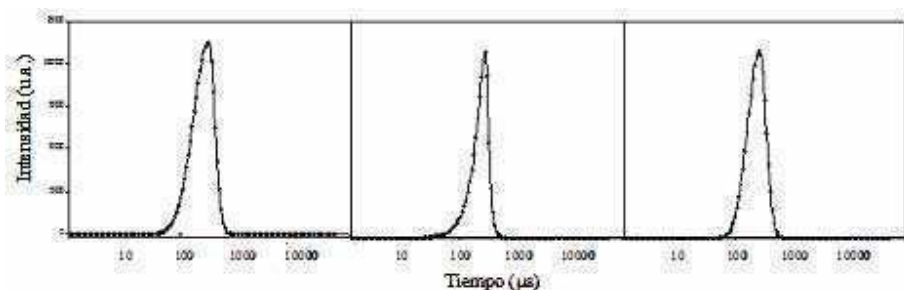


Figura VI.15. Distribución de tiempos de vida de fosforescencia para una muestra de RB-3 (a), RB-5 (b) y RB-7 (c) a TA.

En el caso de RB puede observarse que no se manifiesta más que una sola distribución de tiempos de vida para el estado triplete, que es la misma en todas las concentraciones y que incluye un gran intervalo de tiempo pero el máximo se encuentra entre 260 y 320 μs .

Puede decirse que para EB y RB adsorbidos en celulosa el tiempo de vida aumenta considerablemente respecto a la solución de etanol, así mismo se observa una

distribución de tiempos, y no un único tiempo, a causa de la microheterogeneidad del ambiente y la disponibilidad de diferentes sitios donde las moléculas se encuentran adsorbidas.

De acuerdo a lo observado anteriormente (espectros de fosforescencia y rendimientos cuánticos de triplete), el proceso de formación del estado triplete parece ser el mismo tanto para muestras diluidas como para concentradas, en que la concentración de dímeros es mayor, permitiendo a los monómeros que los integran comportarse en este estado transitorio como moléculas individuales (espectro de fosforescencia único).

Para muestras concentradas de EB se observa la aparición de un tiempo de decaimiento adicional, menor al observado a concentraciones bajas, sin embargo no se encuentran diferencias significativas entre los espectros de fosforescencia del colorante a distintas concentraciones y se presenta este fenómeno en las muestras de RB. Las observaciones sobre esto y las hechas a lo largo de este capítulo serán tratadas en el capítulo siguiente.

VI.2 FOTÓLISIS FLASH CON LÁSER POR REFLECTANCIA DIFUSA

Tal como se describe en la sección II.5, se realizaron experimentos de Fotólisis Flash en modo reflectancia difusa para muestras de EB y RB, los resultados se muestran en la Figura VI.16.

Se espera, para estas moléculas, varios estados T_n con diferencias de energía de alrededor de 1 eV [5]. Las transiciones van desde el UV hasta el IR incluyendo el visible. Éstas son difíciles de apreciar dada la fuerte absorción del estado fundamental alrededor de 600 nm.

Los valores negativos indican la despoblación del estado fundamental y reflejan el espectro de absorción de la molécula. Se obtiene el espectro transitorio esperado, donde la zona positiva en el rojo indica la absorción del estado triplete [10-14].

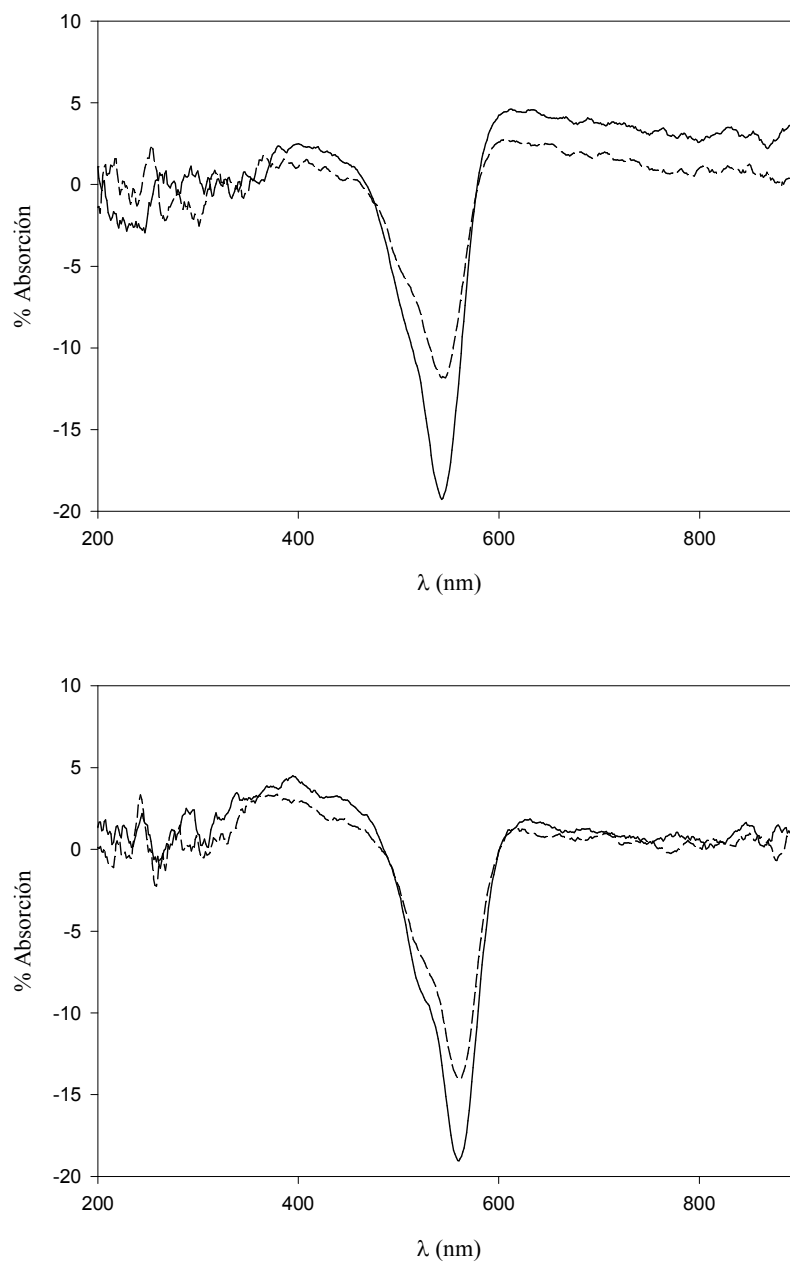


Figura VI.16. Espectros de absorción de estados transitorios de la muestra de EB-7 (arriba) medidos a 0,25 μ s (línea continua) y a 50 μ s (línea punteada) y de la muestra RB-7 (abajo) medidos a 0,10 μ s (línea continua) y a 2,5 μ s (línea punteada).

No es posible obtener conclusiones al respecto sin hacer un estudio riguroso para ambas moléculas, lo cual excede los alcances de esta Tesis.

VI.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Turro, N., Modern Molecular Photochemistry, University Science Book: Sausalito CA, **1991**.

[2] Larkin, J. Reverse intersystem crossing in rose bengal. II. Fluence dependence of fluorescence following 532 nm laser excitation. *Photochem. Photobiol.* **2002**, 75(3), 221–228.

[3] Gratz, H.; Penzkofer, A. Saturable absorption dynamics in the triplet system and triplet excitation induced singlet fluorescence of some organic molecules. *Chem. Phys.* **2001**, 263, 471–490.

[4] Lambert, C.; Kochevar, I.; Redmond, R. Differential reactivity of upper triplet states produces wavelength-dependent two-photon photosensitization using Rose Bengal. *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103 (18), 3737–3741.

[5] Larkin, J.; Donaldson, W.; Foster, T.; Knox, R. Reverse intersystem crossing from a triplet state of rose bengal populated by sequential 532- +1064-nm laser excitation. *Chem. Phys.* **1999**, 244, 319–330.

[6] Reindl, S.; Penzkofer, A. Higher excited-state triplet-singlet intersystem crossing of some organic dyes. *Chem. Phys.* **1996**, 211, 431–439.

[7] Duchowicz, R.; Ferrer, M.; Acuña, A. Kinetic Spectroscopy of Erythrosin Phosphorescence and Delayed Fluorescence in Aqueous Solution at Room Temperature. *Photochem. Photobiol.* **1998**, 68 (4), 494-501.

[8] Kamat, P.; Fox, M. Photophysics and photochemistry of xanthene dyes in polymer solutions and films. *J. Phys. Chem.* **1984**, 88 (11), 2297-2302.

[9] Branco, T.; Botelho do Rego, A.; Ferreira Machado, I.; Vieira Ferreira, L. Luminescence Lifetime Distributions Analysis in Heterogeneous Systems by the Use of Excel's Solver. *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 15958-15967.

[10] Bowers, P.; Porter, G. triplet state quantum yields for some aromatic hydrocarbons and xanthenes dyes in dilute solution. *Proc. R. Soc. London, A* **1967**, 299, 348-353.

[11] Nemoto, N.; Kokubun, H.; Koizumi, M. Determination of the S*-T transition probabilities of some xanthene and thiazine dyes on the basis of the T-Energy transfer. I. Experiments in ethanol solutions. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1969**, 42, 1223-1230.

[12] Nemoto, N.; Kokubun, H.; Koizumi, M. Determination of the S*-T transition probabilities of some xanthene and thiazine dyes on the basis of the T-Energy transfer. II. Results in aqueous solution. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1969**, 42, 2464-2470.

[13] Flamingni, L. A nanosecond laser-flash-photolysis study of intramolecular reactions in the erythrosin B/CTAB aqueous system. *J. Phys. Chem.* **1992**, 96 (8), 3331-3337.

[14] Chen, Y.; Urano, T.; Karatsu, T.; Takahara, S.; Yamaoka A.; Tokumaru, K. Effect of aggregates on the photochemical behavior of Rose Bengal peroxybenzoate initiator in PMMA film. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1998**, 2233-2237.

Capítulo VII

DISCUSIÓN

Aplicación de LIOAS para la determinación de rendimientos cuánticos de colorantes en matrices sólidas

En esta Tesis se presenta el desarrollo de un método para la determinación de rendimientos cuánticos aplicando la técnica de LIOAS a sistemas sólidos que dispersan la radiación incidente.

Los fundamentos de la aplicación de la técnica se basan en un diseño donde se subraya el uso de radiación láser y detección optoacústica (PZT) en forma directa, acoplando el detector a una placa de cuarzo sobre la que se coloca la muestra sólida, lo cual asegura un uso eficiente de la radiación incidente y una mayor respuesta en la detección. El diseño posee simetría cilíndrica, permitiendo un análisis cuantitativo relativamente simple. La experiencia del grupo sobre el manejo y el desarrollo de métodos para el estudio de este tipo de muestras permitió formular cuantitativamente las hipótesis referidas a la forma en que las muestras absorben la luz y los procesos que luego se desencadenan. El diseño utilizado asegura la máxima sensibilidad posible. Las mejoras hechas sobre el dispositivo luego de las experiencias preliminares se orientaron a optimizar el contacto acústico, mejorando la reproducibilidad de la medida.

El criterio de selección de las moléculas utilizadas en los experimentos de LIOAS tuvo en cuenta sus propiedades fotofísicas de acuerdo al sistema de iluminación y detección usados. Se requieren colorantes con alto rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ_{obs}) o rendimiento cuántico de formación de triplete (Φ_{T}), según sea el caso, con alta absorción a la longitud de onda de excitación, 532 nm. Este requerimiento fue importante para conocer la respuesta del sistema y estudiar la relación de la señal con las propiedades fotofísicas de las moléculas estudiadas. Gracias a la existencia previa de un método para la determinación de rendimiento cuántico de fluorescencia [1] pudo evaluarse la consistencia del método propuesto y fijar las condiciones necesarias para asegurar la confianza de la medida.

Como se muestra en el capítulo V, los rendimientos cuánticos de fluorescencia obtenidos por LIOAS son consistentes dentro de ± 0.1 , lo cual implica un error relativo del 20% para Φ_{obs} del orden de 0.5. La preparación de la muestra tiene un gran efecto

sobre la señal de LIOAS, tanto en su amplitud como sobre el tiempo al que llegan las ondas acústicas al detector. El establecimiento de un protocolo, tanto para la preparación de la pastilla, como para el procedimiento en la medición (ajuste de la celda en el sistema), permitió maximizar la reproducibilidad.

En principio, se podría argüir que el uso de LIOAS no aporta ningún dato adicional sobre la técnica de reflectancia, que permite obtener al mismo tiempo las reflectancias verdaderas y los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados [1]. Sin embargo, el método basado en LIOAS resultó útil para asegurar la validez del método de reflectancia para el cálculo de rendimientos cuánticos de fluorescencia. Los estudios realizados sobre colorantes con altas eficiencias de formación de triplete no pudieron ser contrastados con otro método porque hasta la actualidad no existe ninguno enteramente confiable. En el capítulo V se muestra que los resultados de rendimiento cuántico de triplete para EB y RB adsorbidos sobre celulosa son erráticos con una dispersión de un 20% considerando un valor medio independiente de la concentración. Los errores se atribuyen principalmente, como en el caso de la determinación del rendimiento cuántico de fluorescencia, a las condiciones de reproducibilidad tanto en la preparación de la muestra y ajuste de la celda como en el sistema de iluminación. Sin embargo, el resultado obtenido para cada colorante pudo ser evaluado junto con las demás propiedades del estado triplete como se muestra mas adelante.

Se puede decir, entonces, que el método propuesto es fiable dentro de las cotas de error indicadas para la determinación de rendimientos cuánticos en muestras sólidas que dispersan luz. Las señales obtenidas responden a las hipótesis de trabajo y se relacionan con los parámetros fotofísicos según la expresión planteada en la Ecuación IV.19. Por lo tanto, puede obtenerse valores de rendimiento cuántico de triplete, parámetro que no es accesible a partir de ningún método confiable desarrollado hasta el momento para este tipo de muestras.

a técnica puede ser utilizada para todo tipo de sólidos opacos ya que asegura una alta sensibilidad en la detección y un buen contacto acústico. Debe tenerse en cuenta que la señal brindará información sobre los procesos fotofísicos de los cromóforos presentes sólo si las muestras son ópticamente gruesas.

Caracterización de colorantes adsorbidos sobre celulosa. Estado triplete.

Los colorantes adsorbidos sobre celulosa estudiados muestran gran influencia del entorno sobre sus propiedades fotofísicas. A lo largo de la Tesis se han comparado los parámetros observados con los obtenidos en solución de etanol o metanol. Mientras que en solución la molécula se encuentra en un ambiente homogéneo, la situación del colorante adsorbido en celulosa es muy diferente, ya que la molécula está inmersa en un entorno rígido microheterogéneo.

La microheterogeneidad del entorno se manifiesta en los efectos sobre el espectro de absorción y de emisión, dando bandas más anchas que las esperadas y produciendo corrimientos espectrales. La ubicación de moléculas adsorbidas en las cercanías de otras promueve el efecto de filtro interno mediante los fenómenos de reabsorción y de reemisión. Esto provoca una distorsión en el espectro de emisión y causa la disminución del rendimiento cuántico de fluorescencia a medida que aumenta la carga de colorante. A su vez, aumenta la probabilidad de formación de agregados. La microheterogeneidad del medio puede manifestarse en los tiempos de vida de las especies excitadas, mostrando una distribución en vez de un único tiempo de decaimiento. En esta parte de la discusión el análisis se realiza para los monómeros de los colorantes estudiados y la situación de los dímeros se discute más adelante.

El corrimiento de la posición del máximo de una determinada banda en un espectro, en diferentes solventes, muestra una variación en la energía de los estados fundamental y excitados que presenta la molécula en este entorno. Asimismo, al modificarse la energía de estos estados, cambian los parámetros cinéticos que dominan las diferentes transiciones radiativas y no radiativas. Desde este punto de vista se discuten las observaciones realizadas en esta Tesis.

Los derivados xanténicos sobre los que se determinaron rendimientos cuánticos de formación de triplete, Rosa de Bengala y Eritrosina B, tienen propiedades fotofísicas similares. Estas moléculas contienen átomos pesados (halógenos) en su estructura que las diferencian de otros derivados xanténicos más livianos, ya que pueden formar triplete eficientemente. Esto se debe al alto valor de la constante de velocidad de cruce entre sistemas (k_{CS}) debido fundamentalmente al acoplamiento espín-órbita. El efecto

de rigidización por la adsorción de la molécula sobre la celulosa no debería influir sobre el rendimiento cuántico de triplete. Sin embargo, de acuerdo a los estudios de LIOAS, Φ_T disminuye apreciablemente para ambas moléculas en comparación con sus valores en solución, por ejemplo en agua, metanol y etanol. Por lo tanto, este resultado debe ser estudiado en el marco de la interacción de la molécula con su entorno.

La primera observación que puede hacerse es que los espectros de absorción y de emisión, para ambas moléculas, sufren un desplazamiento batocrómico respecto del espectro en solventes comunes [2-4], lo cual sugiere la estabilización del estado excitado en celulosa. La estabilización de los estados $^1(\pi\pi^*)$ se favorece cuando el entorno con el que interactúa la molécula es polar. Este no es el caso de la celulosa respecto de solventes como agua o metanol. Lo mismo se observa en los espectros de fosforescencia; el corrimiento hacia el rojo muestra una disminución de la diferencia de energía entre el estado T_1 y el fundamental S_0 , y otra vez, no es lo esperado para estados $^3(\pi\pi^*)$ en este entorno [2]. Para que ello ocurra debe modificarse también el estado fundamental de manera que la variación de energía para cada estado está dada según: $\Delta E(S_0) > \Delta E(S_1) > \Delta E(T_1)$ al aumentar la polaridad del medio. A esta conclusión llegaron Robinson y sus colaboradores [3] al explicar el aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia en la serie agua < metano < etanol < isopropanol, postulando un aumento en las constantes de desactivación no radiativas, en particular k_{CS} .

El esquema mostrado en la Figura VII.1 ilustra la situación descrita. Todos los estados se estabilizan al aumentar la polaridad del medio, lo cual está de acuerdo con la naturaleza de las transiciones $\pi\pi^*$. La diferencia de energía entre S_1 y S_0 (A) aumenta con la polaridad debido, principalmente, a que la estabilización del estado fundamental es mayor que la del estado excitado. De la misma forma, la diferencia de energía entre los estados T_1 y S_0 (B) es menor en un medio menos polar. Esto corresponde a lo observado en los espectros de absorción y emisión estudiados en esta Tesis. Las variaciones encontradas para la serie de alcoholes muestran una tendencia bien clara.

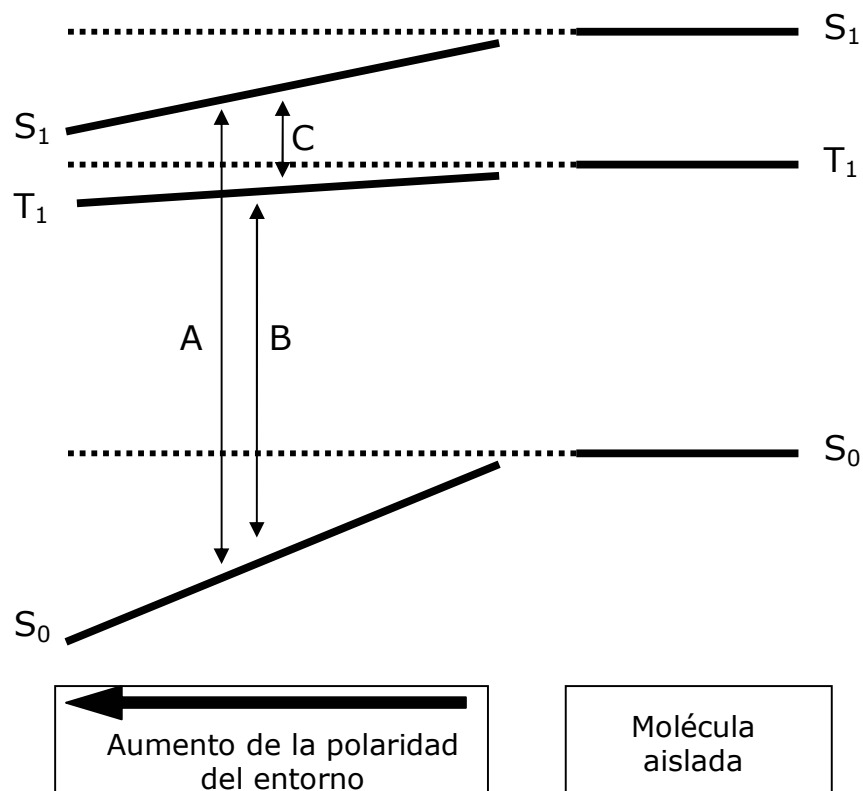


Figura VII.1: Diagrama esquemático de la variación de la posición de los niveles energéticos de los estados electrónicos de RB y EB.

En la Tabla VII.1 se muestran los valores de A, B y C para RB y EB en algunos solventes y matrices, junto con los resultados de las mediciones de muestras de los colorantes en celulosa.

	Eritrosina B					Rosa de Bengala				
solvente	A	Ref.	B	Ref.	C	A	Ref.	B	Ref.	C
Agua	224,2	[3]	187,4	[9]	36,8	211,5	[3]	172,0	[11]	39,5
Metanol	219,7	[3]				209,7	[3]	169,1	[12]	40,6
Etanol	217,3	[3]	176,1	[10]	41,2	209,0	[3]			
i-Propanol	215,0	[3]				207,9	[3]			
Silica gel	213,4	[5]	175,3	[5]	38,1					
Films PVA	214,6	[6]	173,3	[6]	41,3					
Sacarosa	215,7	[7]	177,4	[7]	38,4					
Celulosa	213,4	*	170,9	*	42,5	207,9	*	162,5	*	45,4
Acetona	213,8	[8]				209,0	[4]			

Tabla VII.1: Valores obtenidos de diferencia de energías, A, B y C (ver texto) en kJ/mol. Las referencias corresponden a valores espectrales de fluorescencia y fosforescencia. (*) corresponde a los resultados de este trabajo de Tesis.

Según estudios recientes [4], para RB la posición del máximo en los espectros de absorción varía linealmente con la polaridad del solvente si se trata de solventes próticos, indicando un corrimiento hacia menores energías al aumentar la capacidad del solvente para formar puentes H. Por lo tanto, dada la tendencia explicada para los alcoholes, puede ubicarse a la celulosa a continuación de la serie mostrada, ya que se trata de un compuesto polar del tipo R-OH. Los bajos valores en los parámetros A y B muestran una menor capacidad de la matriz para formar puente H. Si bien la celulosa presenta grupos hidroxilo, su estructura amorfa no permite que todos los grupos sean accesibles para la interacción con la molécula de colorante.

Según la teoría [13] k_{CS} es muy sensible a la diferencia de energía entre el estado T_1 y el S_1 , $\Delta E(T_1S_1)$. Por lo tanto, es esperable que una variación en $\Delta E(T_1S_1)$ provoque un cambio en el rendimiento cuántico de triplete. En la Tabla VII.1 se muestran algunos valores obtenidos para $\Delta E(T_1S_1)$ (parámetro C). Según el diagrama de niveles de energía, a medida que disminuye la polaridad $\Delta E(T_1S_1)$ se hace más grande. Esto

puede observarse para los alcoholes; para la celulosa se observa que este parámetro es mayor que para los alcoholes mostrados. Un aumento en $\Delta E(T_1S_1)$ provoca una disminución en k_{CS} , haciendo al proceso de formación de triplete menos probable, con la consecuente disminución del Φ_T respecto de los valores en solución acuosa y de alcoholes. Como se mostró en la sección V.2, se obtuvieron para ambos colorantes valores de alrededor de 0,5 para Φ_T utilizando el método desarrollado en esta Tesis.

Los espectros de emisión de fosforescencia muestran que las moléculas estudiadas en celulosa son capaces de presentar fluorescencia retardada (DF) tipo E tal como lo hacen en etanol u otros solventes. Aún teniendo valores más altos de $\Delta E(T_1S_1)$ que en solución de alcoholes, éste es lo suficientemente pequeño para que se promueva, a temperatura ambiente, la transición de cruce entre sistemas reverso desde el estado T_1 al estado S_1 .

A partir de los valores medidos puede hacerse un breve análisis sobre las constantes de velocidad de los procesos fotofísicos observados.

Dado que no pudieron obtenerse los tiempos de vida de fluorescencia para estas muestras por superposición de las bandas del colorante con las de celulosa, se toma como válida la observación de Robinson: la variación del rendimiento cuántico de fluorescencia se debe sólo a la variación de las constantes de desactivación no radiativas. Por lo tanto, puede considerarse que la constante radiativa del estado singulete (k_F) no varía apreciablemente con la polaridad del entorno. A partir de esto se toman los valores de k_F que obtuvo Robinson y se calculan las constantes para las transiciones no radiativas con los datos de rendimientos cuánticos de literatura, para RB y EB, en solución en metanol y los obtenidos para muestras adsorbidas sobre celulosa, teniendo en cuenta las siguientes expresiones:

$$(VII.1) \quad \Phi_F = \frac{k_F}{k_F + k_{CS} + k_{CI}}$$

$$(VII.2) \quad \Phi_T = \frac{k_{CS}}{k_F + k_{CS} + k_{CI}}$$

En las Tablas VII.2 y VII.3 pueden encontrarse los resultados incluyendo el cálculo del tiempo de vida de fluorescencia según:

$$(VII.3) \quad \tau_F = \frac{\Phi_F}{k_F}$$

EB	Φ_F	τ_F (ns)	k_F (1/s)	k_{nr} (1/s)	Φ_T	k_{CS} (1/s)	k_{CI} (1/s)
metanol	0,08 [3]	0,500 [3]	$1,6 \cdot 10^8$ [3]	$1,8 \cdot 10^9$ [3]	0,90 [15]	$1,8 \cdot 10^9$	$0,4 \cdot 10^8$
celulosa	0,165 (*)	1,0	$1,6 \cdot 10^8$ [3]	$0,8 \cdot 10^9$	0,50 (*)	$0,5 \cdot 10^9$	$3,2 \cdot 10^8$

Tabla VII.2: Rendimientos cuánticos de fluorescencia y de formación de triplete (Φ_F y Φ_T), tiempos de vida de fluorescencia (τ_F) y constantes de desactivación de fluorescencia (k_F), de cruce entre sistema (k_{CS}) y de conversión interna (k_{CI}) para EB en solución de metanol y en muestras adsorbidas sobre celulosa. (*) datos obtenidos en este trabajo.

RB	Φ_F	τ_F (ns)	k_F (1/s)	k_{nr} (1/s)	Φ_T	k_{CS} (1/s)	k_{CI} (1/s)
metanol	0,08 [3]	0,665 [3]	$1,2 \cdot 10^8$ [3]	$1,4 \cdot 10^9$ [3]	0,90 [15]	$1,4 \cdot 10^9$	$0,3 \cdot 10^8$
celulosa	0,13 (*)	1,1	$1,2 \cdot 10^8$ [3]	$0,8 \cdot 10^9$	0,54 (*)	$0,5 \cdot 10^9$	$3,1 \cdot 10^8$

Tabla VII.2: Rendimientos cuánticos de fluorescencia y de formación de triplete (Φ_F y Φ_T), tiempos de vida de fluorescencia (τ_F) y constantes de desactivación de fluorescencia (k_F), de cruce entre sistema (k_{CS}) y de conversión interna (k_{CI}) para RB en solución de metanol y en muestras adsorbidas sobre celulosa. (*) datos obtenidos en este trabajo.

Robinson [3] y Fox [14] observaron que Φ_F aumenta con la disminución de la polaridad atribuyéndolo exclusivamente a la disminución de k_{CS} y plantearon que la constante de desactivación por conversión interna (k_{CI}) es despreciable para estos

colorantes. Sin embargo, se observa que la suma $\Phi_T + \Phi_F$ se aleja cada vez mas de la unidad al disminuir la polaridad. Esto sugiere un aumento importante en el valor de k_{CI} . Un aumento en k_{CI} se contrapone con la disminución de k_{CS} haciendo que el valor de Φ_F no aumente demasiado con la disminución de la polaridad. Esto puede comprobarse al observar los valores en celulosa respecto de los valores en solución de metanol. Este razonamiento, junto con el supuesto sobre k_F , se corresponde con los valores mostrados en las Tablas VII.2 y VII.3.

Por otro lado, puede decirse que para EB y RB se espera que el tiempo de vida de fluorescencia aumente en muestras adsorbidas sobre celulosa respecto de la solución en etanol. Según experimentos no mostrados en esta Tesis el tiempo de decaimiento de fluorescencia de la celulosa es alrededor de 3 ns y las bandas se superponen considerablemente con las del colorante, por lo cual, el valor de tiempo de vida de fluorescencia para cada colorante resulta difícil de obtener a partir de los espectros de emisión resueltos en el tiempo.

Caracterización de dímeros de colorantes adsorbidos sobre celulosa

La adsorción de colorantes en matrices sólidas aumenta la probabilidad de formación de agregados. La variación de los espectros de absorción con la concentración demuestra que tanto EB como RB se agregan en altas proporciones a las mayores concentraciones estudiadas (Cap. III). Se observa que el porcentaje de agregación llega a un 67% para la muestra EB-7 y un 60% para la muestra RB-6.

Los espectros de absorción de los dímeros se diferencian de los de los respectivos monómeros por la intensidad absoluta de las bandas (marcado hipocromismo) y la mayor relación entre las intensidades de las bandas de mayor y menor energía [16-17]. La posición de las bandas permanece por el contrario invariable. Por otro lado, los espectros de fluorescencia corregidos por reabsorción y reemisión son invariantes con la concentración del colorante, exceptuando un pequeño corrimiento batocrómico al aumentar la concentración. Estos resultados indican que los dímeros son en ambos casos de tipo H o casi H (monómeros enfrentados ligeramente desplazados) y la interacción entre los monómeros es débil (sección II.3.4).

El análisis para la obtención de rendimientos cuánticos de fluorescencia verdaderos, realizado en el capítulo III, indica que, mientras que los dímeros de EB no son fluorescentes, los dímeros de RB sí lo son. La fluorescencia de los dímeros de RB ya había sido demostrada sobre celulosa [18] y en suspensión de nanopartículas cargadas positivamente [19]. Típicamente, los dímeros H muestran una sola banda de absorción a mayor energía que el monómero y no son fluorescentes. Debido a la débil interacción existente esta regla puede romperse dando lugar a la existencia de dímeros fluorescentes. Que esto ocurra sólo para RB indicaría que la interacción entre monómeros es mucho más débil para RB que para EB (la Figura VII.2 esquematiza esta hipótesis). En ambos casos la diferencia de energía entre ambos estados excitónicos debe ser mucho menor que la separación entre ambas bandas de absorción del colorante (EB o RB) y se traduce en un mayor ancho de cada banda sin desdoblamiento aparente. Probablemente, el mayor tamaño de RB debido a la sustitución del anillo xanténico por átomos de cloro impida un mayor acercamiento entre ambos monómeros.

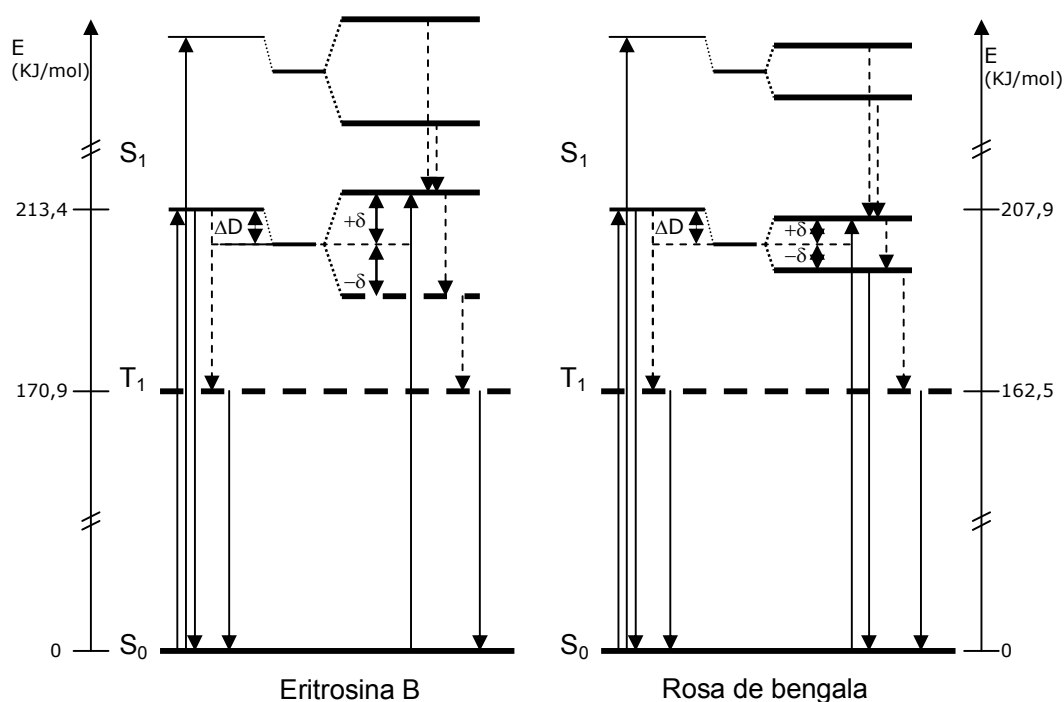


Figura VII.2: Diagrama de los niveles energéticos de los estados electrónicos de dímeros de RB y EB (la escala corresponde sólo a los monómeros).

El rendimiento cuántico de formación de triplete es independiente de la concentración para ambos colorantes. Esto implica necesariamente que la probabilidad de formación de triplete a partir de los monómeros o los dímeros es la misma. En otras, palabras, la interacción existente entre los monómeros que conforman el dímero no incide sobre dicha probabilidad. Dado que el rendimiento cuántico de fluorescencia es bajo para ambos colorantes en forma monomérica o dimérica (nulo para el dímero de EB):

$$(VII.4) \Phi_T \approx \frac{k_{CS}}{k_{CS} + k_{CI}}$$

indica que la relación k_{CS}/k_{CI} debe ser similar para el dímero que para el monómero.

Observando la Figura VII.2 y teniendo en cuenta que el desdoblamiento excitónico del estado singlete es bajo y que el estado triplete no se desdobla (el momento de transición T-S es muy bajo) es posible afirmar que las diferencias de energía S_1-S_0 y S_1-T_1 son las mismas para el dímero que para el monómero. Entonces es razonable pensar que k_{CS} y k_{CI} son iguales respectivamente para ambas formas del colorante, con lo cual Φ_T no debería cambiar con la concentración tal como se observa.

El hecho de que en los espectros de emisión la fosforescencia y la fluorescencia retardada no son afectadas por la concentración avala esta hipótesis (capítulo VI).

El decaimiento del estado triplete, sin embargo, presenta diferencias entre ambos colorantes en estudios de LDA. Mientras que para RB se obtiene una distribución monomodal de tiempos de decaimiento de fosforescencia independiente de la concentración, para EB se obtiene a una distribución bimodal a altas concentraciones, con la aparición de un decaimiento más rápido. Este decaimiento puede asociarse al del triplete del dímero. Contrariamente, al ser la interacción entre los monómeros de RB más débil, el decaimiento del triplete no se vería afectado por la dimerización.

Referencias bibliográficas

- [1] Mirenda, M.; Lagorio, M.; San Roman, E. Photophysics on Surfaces: Determination of absolute fluorescence quantum yields from reflectance spectra. *Langmuir* **2004**, 20, 3690-3697.
- [2] Cavalieri, J.; Prater, K.; Bowman, R. An investigation of the solvent dependence on the ultrafast intersystem crossing kinetics of xanthone. *Chem. Phys. Let.* **1996**, 259, 495-502.
- [3] Fleming, G. R.; Knight, A.; Morris, J.; Morrison R. y Robinson, G. Picosecond fluorescence studies of xanthene dyes. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99 (13), 4306-4311.
- [4] Rauf, M.; Graham, J.; Bukallah, S.; Al-Saedi, M. Solvatochromic behavior on the absorption and fluorescence spectra of Rose Bengal dye in various solvents. *Spectrochim. Acta Part A* **2009**, 72, 133-137.
- [5] Lam, S.; Lo, D. Time-resolved spectroscopic study of phosphorescence and delay fluorescence of dyes in silica-gel glasses. *Chem. Phys. Let.* **1997**, 281, 35-43.
- [6] Lettinga, M.; Zuilhof, H.; van Zandvoort, M. Phosphorescence and Fluorescence characterization of Fluorescein derivatives immobilized in various polymer matrices. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, 2, 3697-3707.
- [7] Pravinata, L.; You, Y.; Ludescher, R. Erythrosin B phosphorescence monitors molecular mobility and dynamic site heterogeneity in amorphous sucrose. *Biophys. J.* **2005**, 88, 3551-3561.
- [8] Bailey, R.; Cruickshank, F.; Deans, G.; Gillanders, R., Tedford, M. Characterization of a fluorescent sol-gel encapsulated erythrosin B dissolved oxygen sensor. *Anal. Chim. Acta.* **2003**, 487, 101-108.
- [9] Encinas, M.; Rufs, A.; Bertolotti, S.; Previtali, C. Xanthene dyes/amine as photoinitiators of radical polymerization: A comparative and photochemical study in aqueous medium. *Polymer* **2009**, 50 (13), 2762-2767.
- [10] Islam Shafiqul; Shoyikawa, Yoshikawa, Y.; Fijitsuka, M.; Watanabe, A.; Ito, O. studies of photochemical processes of xanthenes dyes by means of the transient absorption spectra in the visible/near-IR regions. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1998**, 71, 1543-1548.

- [11] Lambert C.; Kochevar, I.; Redmond, R. Differential Reactivity of Upper Triplet States Produces Wavelength-Dependent Two-Photon Photosensitization Using Rose Bengal. *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103, 3737-3741.
- [12] Shen, T., Zhao, Z.-G., Yu, Q., Xu, H.-J. Photosensitized reduction of benzil by heteroatom-containing anthracene dyes. *J. Photochem. Photobiol., A: Chem.* **1989**, 47 (2), 203-212.
- [13] Engleman, R.; Jortner, J. The energy gap law for radiationless transitions in large molecules. *Mol. Phys.* **1970**, 18 (2), 145-164.
- [14] Kamat, P.V. y Fox, M. A. Photophysics and photochemistry of xanthene dyes in polymer solutions and films. *J. Phys. Chem.* **1984**, 88 (11), 2297-2302.
- [15] Gratz, H.; Penzkofer, A. Triplet-triplet absorption of some organic molecules determined by picosecond laser excitation and time-delayed picosecond light continuum probing. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.* **1999**, 127 (1-3), 21-30.
- [16] Kasha, M. Energy transfer mechanisms and the molecular exciton model for aggregates. *Radiat. Res.* **1963**, 20, 55-71.
- [17] Kasha, M.; Rawls, H.; Ashraf El-Bayoumi, M. The exciton model in molecular spectroscopy. *Pure Appl. Chem.* **1965**, 11, 372-392.
- [18] Rodríguez, H.B.; Lagorio, M.G. y San Román E. Rose Bengal adsorbed on microgranular cellulose: evidence on fluorescent dimmers. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, 3 (7), 674-680.
- [19] Daraio, M.; San Román, E. Aggregation and photophysics of Rose Bengal in Alumina-coated colloidal suspensions. *Helv. Chim. Acta* **2001**, 84, 2601-2614.

Capítulo VIII

CONCLUSIONES

El interés en el estudio de sistemas compuestos por altas concentraciones de colorantes se debe a la posibilidad de analizar las interacciones entre moléculas que se encuentran muy cercanas y su efecto sobre la fotofísica del propio sistema, ya sea a través de la transferencia de energía de mediano a largo alcance o mediante la generación de trampas de la energía de excitación, con efecto positivo o negativo sobre dicha eficiencia. Asimismo, la eficiencia de los fotoprocesos que suceden en el sistema podría aumentar dado que en estas condiciones puede ser absorbida una fracción considerable de la radiación incidente.

En solución, muchos colorantes presentan altas absorbancias a concentraciones relativamente bajas, poseen alta tendencia a la agregación, especialmente si se trata de compuestos con estructuras aromáticas extendidas y el efecto de filtro interno no puede evaluarse convenientemente en forma cuantitativa. La inclusión de colorantes en soportes sólidos permite alcanzar concentraciones locales difícilmente accesibles en sistemas homogéneos. A concentraciones a las que en solución las moléculas se agregan, en sólidos, esta tendencia se reduce dado que la interacción con el soporte modifica la forma en la que interactúan las moléculas de colorante, además permite mantener las distancias intermoleculares relativamente cortas. El sólido provee un ambiente en el que las moléculas se distribuyen en forma más o menos ordenada, lo cual es requisito esencial para el desarrollo de dispositivos moleculares fotoactivos.

Para los estudios de colorantes adsorbidos, la celulosa microcristalina resultó ser un excelente soporte. Si bien los fenómenos de reabsorción y reemisión no pueden evitarse a las concentraciones usuales, éstos pueden ser fácilmente evaluados en base a un modelo simple que se basa en la teoría de Kubelka-Munk para sólidos que dispersan fuertemente la radiación incidente y emitida. Esto permitió el desarrollo de métodos y modelos para la caracterización fotofísica por parte del grupo de investigación en el que trabajé, en particular, la determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia verdaderos (corregidos por reabsorción y reemisión de la fluorescencia).

Los trabajos realizados generalmente se focalizaron en el análisis de los estados singlete de los colorantes adsorbidos. Dada la imposibilidad de determinar en forma confiable y fehaciente rendimientos cuánticos de formación de triplete, en esta Tesis se presenta un método basado en la aplicación de la Espectroscopía Optoacústica

Inducida por Láser (*Laser Induced Opto-Acoustic Spectroscopy* – LIOAS) para este fin, contribuyendo a un análisis más completo de los procesos que ocurren en estos sistemas. Como paso previo se desarrolló su aplicación a la determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia de muestras de Rodamina 6G y Rodamina 101 en celulosa. La consistencia de los resultados hallados con los resultantes de aplicar un método basado en medidas de reflectancia constituyó el antecedente necesario para ajustar detalles experimentales, verificar el cumplimiento de las premisas teóricas y ganar confianza en la aplicación de la técnica a sistemas que no registran antecedentes semejantes en la literatura. A partir de su aplicación sobre muestras de Eritrosina B (EB) y Rosa de bengala (RB) adsorbidas sobre celulosa se obtienen los rendimientos cuánticos de triplete. Si bien los resultados obtenidos muestran cierta dispersión, se demuestra que la técnica LIOAS puede ser aplicada y los resultados obtenidos pueden ser evaluados junto con las demás propiedades del estado triplete.

La posibilidad de determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia y de triplete permite conocer los procesos primarios que ocurren en cada molécula y a partir de estos la construcción de un diagrama modificado de Jablonski incluyendo las propiedades de este estado. Para esta tarea, es necesario tener también información espectroscópica y decaimientos temporales. Así, a partir de los resultados para EB y RB pudo estudiarse el comportamiento de estos colorantes al ser adsorbidos sobre celulosa. Las propiedades espectroscópicas de los colorantes xanténicos se ven modificadas por la polaridad del entorno. Las variaciones de las energías para cada estado excitado y fundamental se manifiestan en el orden: $\Delta E(S_0) > \Delta E(S_1) > \Delta E(T_1)$ según aumenta la polaridad. Los corrimientos al rojo observados en espectros de absorbancia y emisión para muestras de EB y RB muestran que el entorno en el que se encuentran es menos polar que en etanol. Por lo tanto, los valores bajos de rendimiento cuántico de formación de triplete, de alrededor de 0,5, obtenidos para las muestras pueden ser justificados por un aumento en $\Delta E(T_1S_1)$ lo cual sugiere una disminución en la constante de desactivación de cruce de sistemas (k_{CS}). Al mismo tiempo, se propone un aumento en la constante de desactivación del estado singulete excitado de conversión interna (k_{CI}). Sin embargo, para tener una información completa sobre el comportamiento de estos xantenos en celulosa se necesita un estudio temporal de la fluorescencia y de esta manera encontrar los valores para todas las constantes de velocidad. Esto no ha podido realizarse ya que la fuente Láser disponible para estudios de emisión en el tiempo no era conveniente. En trabajos

futuros se dispondrá de una fuente de irradiación LASER de 532 nm y se completará el análisis.

El estudio sistemático de las propiedades de los colorantes en función de su concentración permite extender el conocimiento de la fotofísica del sistema a concentraciones en que las interacciones entre moléculas de colorante son altas, particularmente cuando éstas conducen a la formación de agregados. Los colorantes, EB y RB, forman fácilmente agregados al ser adsorbidos sobre celulosa en altas concentraciones. Estos agregados son esencialmente un dímero de acoplamiento débil. Según las observaciones espectroscópicas pueden identificarse como dímeros tipo H. Aunque se espera que este tipo de dímeros no presente fluorescencia, ésta se observa para muestras de RB lo que sugiere que la interacción entre monómeros es mucho más débil que para el caso de EB (ver Figura VII.2). Teniendo en cuenta que en el dímero el desdoblamiento excitónico del estado singlete es bajo y que el estado triplete no se desdobla se desprende que k_{CS} y k_{CI} son iguales para el dímero y el monómero y coincide con la observación de que Φ_T no cambia con la concentración. Las diferencias de comportamiento entre las moléculas de RB y EB se manifiestan, además, en los tiempos de decaimiento de fosforescencia. Mientras que para RB resultan en una distribución independiente de la concentración, para EB se observa la aparición de un decaimiento más rápido a altas concentraciones. Este decaimiento se ha asignado al del triplete del dímero. Como la interacción entre los monómeros de RB es más débil, probablemente debido a su tamaño, el decaimiento del triplete no se vería afectado por la dimerización. Entender este fenómeno es una tarea pendiente ya que permitirá no sólo explicar cómo se dispone la molécula de colorante respecto a la superficie y a las moléculas vecinas si no también contribuir al conocimiento de las formas de transferencia de energía intermolecular.

En este trabajo se mostró que el uso de la técnica de LIOAS sobre muestras sólidas es útil para determinar rendimientos cuánticos de fluorescencia y de triplete de colorantes que se encuentran en medios dispersivos. La importancia de esta observación radica en que la posibilidad de determinar el rendimiento cuántico de triplete permite el estudio de las propiedades fotofísicas de manera completa ya que esta información no es accesible por otros métodos.