



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física

Líquidos iónicos fluorescentes de interés en energía y tecnología nuclear

**Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad
de Buenos Aires, área Química Inorgánica, Química Analítica y
Química Física**

Lic. Nicolás Ivan Krimer

Director de Tesis: Dr. Martin Mirenda

Consejero/a de Estudios: Dr. Ernesto Julio Calvo

Lugar de trabajo: Gerencia Química – Centro Atómico
Constituyentes – Comisión Nacional de Energía Atómica.

Fecha de presentación: Buenos Aires, 25/03/2024

Líquidos iónicos fluorescentes de interés en energía y tecnología nuclear

Resumen:

En el presente trabajo de tesis se desarrollan estrategias para el diseño, la síntesis y la caracterización de líquidos iónicos fluorescentes con potencial aplicación en energía y tecnología nuclear. En una primera etapa, se presenta una técnica experimental innovadora para adquirir espectros de fluorescencia en condiciones de alta absorbancia. Esta técnica, combinada con un modelo matemático propuesto también en este trabajo, permite una correcta interpretación y consideración de los fenómenos de filtro interno que ocurren en este tipo de muestras. Gracias a esta metodología novedosa se logró caracterizar la fotofísica de varios compuestos fluorescentes, incluyendo los aniones tosilato y piranina, tanto en solución como en líquidos iónicos. Estos resultados fueron fundamentales para avanzar a una segunda etapa, en la cual se presenta el diseño y la síntesis de un líquido iónico radioluminiscente. Este nuevo material, que puede ser reutilizado, demostró ser útil como solvente para determinaciones de actividad por centelleo líquido. Una de las características más destacadas de este líquido iónico radioluminiscente es su capacidad para diferenciar la emisión de partículas α y β en mezclas de radionucleidos mediante el cambio de la emisión radioluminiscente con la temperatura. Los resultados obtenidos abren un nuevo campo de investigación en el desarrollo de materiales luminiscentes basados en líquidos iónicos.

Palabras clave: Líquidos iónicos, luminiscencia, fluorescencia, reabsorción, radiación ionizante, radiación Cherenkov, radioluminiscencia.

Fluorescent Ionic Liquids of Interest in Nuclear Energy and Technology

Abstract:

Different strategies are developed for the design, synthesis and characterization of fluorescent ionic liquids with potential applications in nuclear energy and technology. In a first stage, an innovative experimental technique was achieved to acquire fluorescence spectra under high absorbance conditions. This technique, combined with a mathematical model also proposed in this work, allows a correct interpretation and consideration of the inner-filter effects that occur in this kind of samples. This novel methodology was used to characterize the photophysics of several fluorescent compounds, including tosylate and pyranine anions, both in solution and in ionic liquids. These results were fundamental to advance to a second stage, in which a radioluminescent ionic liquid was designed and synthesized. This new material, which can be reused, proved to be useful as a solvent for activity determinations by liquid scintillation. One of the most notable features of this radioluminescent ionic liquid is its ability to differentiate the emission of α and β particles in mixtures of radionuclides by changing the radioluminescent emission with temperature. The results obtained open a new field of research in the development of luminescent materials based on ionic liquids.

Keywords: Ionic liquids, luminescence, fluorescence, reabsorption, ionizing radiation, Cherenkov radiation, radioluminiscence.

Para

Mamá, Papá y Marco

Tefi, Fava y Momo

“Sacar belleza de este caos es virtud”

Gustavo Cerati

Agradecimientos

Esta tesis es consecuencia de una incommensurable cantidad de personas que aportaron ciencia y tecnología, que me apoyaron y me hicieron ir para adelante, en las buenas y en las malas. Este trabajo es gracias a todas y todos ellos. También quiero expresar mi gratitud por la sólida presencia del Estado a través de sus instituciones, con sus aciertos y errores, pero siempre presente.

A Martín, un excelente investigador pero por sobre todas las cosas una persona extremadamente buena y bondadosa. Me recibió y confió en mí con tan solo 19 años. Gracias por estos más de 12 años juntos trabajando codo a codo y por sobre todo, ponerte esta tesis al hombro en mis momentos más difíciles.

Al Puma, Jorge y Enrique por hacer posible mi ingreso a CNEA.

A Laura, porque soy el docente que soy por ella, por los chocolates y por ser la mejor madre científica que uno puede tener. A Daniel, por ser el mejor Profesor que tuve, por los almuerzos compartidos y por esos días de pileta.

A todas las personas que pasaron por del grupo. Gabi, que me enseñó a sintetizar. Darío, gracias por tu claridad y por maravillar mi lado niño. A Paulita, por tus aportes bibliográficos y culinarios. A María Clara por el tráfico de información tan necesario. Eliana, gracias por tu aporte en física a estos químicos. Y Javo, gracias por todo el trabajo final, esta tesis está escrita gracias a vos.

Hugo y Hernan, gracias por arreglar todos los problemas que surgieron en el laboratorio, y Hernan por vos no sufrí solo en CNEA por Boca. Al grupo Q-nano que me adoptó como uno más de ellos.

Rega, Ale, Paula, Andre, Vero, Diego, Jose, Meki, Rusbel, Jaz y La Fer. CNEA no hubiese sido tan bueno y divertido si no fuese por ustedes.

Al personal del CAE, Cristian Ferreyra, Cristian Balpardo y Pablo Arenillas y todo el equipo técnico, porque son los responsables de un tercio de los resultados increíbles que se muestran en esta tesis.

Al grupo de fotoquímica de la facultad, Enrique, Gabriela y Hernan, gracias por invitarme a sus seminarios y por esas discusiones tan necesarias. A Ale, la secretaria, sin quien nada de esto habría funcionado correctamente. A Ernesto, que cuando ni siquiera sabía si seguir química o física supo guiarme de una manera muy original.

A toda la gente del CIBION que me abrió las puertas, en particular Pedro y Pablo, por dejarme usar sus equipos para medir fluorescencia resuelta en el tiempo y todas las discusiones. Andy, gracias por tus simulaciones y tus chistes en los momentos más (in)oportunos.

Pero no todo este proceso fue trabajo duro, también se necesitó de tiempo para despejarme y divertirme. Por esto, quiero agradecer a Handball-Exactas por tantos entrenamientos, partidos y comidas, y a los Jodita porque ¿qué es de la vida sin diversión? Al dúo FeFla por los debates musicales aunque sean insoportables. A Raquel, mi española favorita.

A todos mis compañeros y compañeras de Elea, mi nueva segunda casa, en particular a Lala y Cami que saben aconsejarme y saben mas de mí que yo mismo.

A Emi, Mati y Nico que a pesar que están lejos y no nos vemos (casi) nunca siempre están para pelearme y hacerme reír.

A Yami, la amiga que me dio la fotoquímica. Gracias por empujarme siempre para adelante y proponerme proyectos todo el tiempo.

Al Dream Team: Tama y Alex, gracias por mantenerme alimentado a base de Chipa, Sushi y Sarkis. Gracias por estar siempre. Santi, gracias por todo, la lista sería interminable, por lo que se puede escribir acá y por lo que no. Gracias por estar siempre cuando lo necesito aun si yo no me doy cuenta que lo necesite.

A mi familia, que están comiéndose las uñas mientras escribo esto para decirles "ya terminé". A papá porque me inspiraste a recorrer este camino, por tus charlas y por tu cariño. A mamá que siempre está preocupada porque coma bien, me vista bien y que siempre sea su chiquito. A Marco que me muestra día a día que uno puede cumplir sus sueños si le pone garra. Los tengo lejos pero siempre se encargan de que sienta que están cerca.

A Tefi, mi vida entera. Gracias por acompañarme en este recorrido, en esta vida. Por mostrarme que el amar puede cambiar pero que lo único importante es que nos amemos. Fuiste la que me demostró que hago esto porque quiero y lo deseo, y que siempre se sale adelante no importa la adversidad.

Por último, y retomando el comienzo de estos agradecimientos, quiero agradecer a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA porque mi educación, mi tesis y la de muchos otros, es de calidad. A la UNSAM que me formó como docente. Al CONICET y ANPCyT por el financiamiento, y al Ministerio de Ciencia y Tecnología. Siempre ministerio, nunca aceptar menos.

ÍNDICE

1 - Introducción general.....	1-1
1.1 - Líquidos iónicos.....	1-1
1.1.1 - Características generales	1-1
1.2 - Luminiscencia molecular	1-4
1.2.1 - Procesos fotofísicos	1-4
1.2.2 - Cinética de procesos fotofísicos	1-6
1.3 - Radioluminiscencia	1-9
1.3.1 - Radiaciones ionizantes y su interacción con la materia.....	1-9
1.4 - Hipótesis y objetivos	1-18
1.4.1 - Antecedentes, motivación e hipótesis	1-18
1.4.2 - Objetivos generales y específicos.....	1-20
1.5 - Esquema y organización de la tesis	1-21
1.6 - Referencias	1-22
2 - Reactivos, equipamiento, técnicas de caracterización y métodos de síntesis.....	2-1
2.1 - Reactivos comerciales y compuestos sintetizados....	2-1
2.1.1 - LI usado como medio fluidificante.....	2-1
2.1.2 - Fluoróforos y LIFs	2-2
2.1.3 - Radionucleídos.....	2-6
2.2 - Equipamiento y técnicas de caracterización fisicoquímica	2-7
2.2.1 - Resonancia magnética nuclear	2-7
2.2.2 - Refractometría	2-7
2.2.3 - Viscosimetría	2-8
2.2.4 - Técnicas calorimétricas	2-8
2.3 - - Equipamiento y técnicas de caracterización espectroscópica.....	2-9
2.3.1 - Espectroscopía de absorción molecular UV-Visible.	2-9

2.3.2 - Espectroscopía de fluorescencia de estado estacionario	2-9
2.3.3 - Fluorescencia resuelta en el tiempo	2-11
2.4 - Cinética de formación de excímeros	2-13
2.4.1 - Ecuaciones que describen el comportamiento en el estado estacionario	2-14
2.4.2 - Ecuaciones que describen el comportamiento de los experimentos resueltos en el tiempo	2-16
2.4.3 - Cinética de formación de excímeros incluyendo agregados superiores no fluorescentes	2-19
2.5 - Detección y medición de radiación ionizante por medio de la técnica de centelleo líquido	2-21
2.5.1 - Eficiencia de detección	2-24
2.5.2 - Determinación de actividades por el modelo de TDCR	2-25
2.5.3 - Determinación de actividades por el modelo de TDCR-Cherenkov	2-27
2.6 - Referencias	2-29
3 - Medidas de fluorescencia en condiciones de gran absorbancia	3-1
3.1 - Efectos de filtro interno en medidas de fluorescencia	3-1
3.2 - El modelo diferencial para cuantificar la re-absorción	3-5
3.3 - Análisis e interpretación de la fluorescencia de muestras con gran absorbancia	3-10
3.3.1 - Caso A: Soluciones de 9,10-difelilantraceno (DPA) en tolueno	3-10
3.3.2 - Caso B: Soluciones de bisulfato de quinina (QBS) en ácido sulfúrico	3-16
3.4 - Conclusiones	3-23
3.5 - Referencias	3-25

4 - Propiedades fotofísicas del anión tosilato en solución y como parte de un líquido iónico.....	4-1
4.1 - Introducción	4-1
4.2 - Fotofísica del NaTos en solución acuosa.....	4-2
4.2.1 - Régimen diluido	4-2
4.2.2 - Dependencia con la concentración	4-5
4.3 - Fotofísica del BMImTos en BMImCl	4-16
4.3.1 - Características espectrales y rendimientos cuánticos de fluorescencia	4-17
4.3.2 - Efecto de la temperatura	4-19
4.4 - Conclusiones	4-19
4.5 - Referencias	4-21
5 - Caracterización espectroscópica del anión piranina en solución y aplicación como desplazador de longitud de onda de emisión en líquidos iónicos	5-1
5.1 - Introducción	5-1
5.2 - Fotofísica del HPTS en solución acuosa de HCl 6 M....	5-3
5.3 - Caracterización espectroscópica del BMIm₃HPTS en BMImCl.....	5-11
5.4 - Aplicación del HPTS como desplazador de longitud de onda de emisión en líquidos iónicos	5-16
5.4.1 - Aumento de la eficiencia de conteo de radiación Cherenkov por adición de HPTS en BMImCl	5-16
5.4.2 - Determinación de la concentración óptima de HPTS..	5-19
5.5 - Conclusiones	5-21
5.6 - Referencias	5-23
6 - Líquidos iónicos radioluminiscentes.....	6-1
6.1 - Introducción	6-1

6.2 - Diseño y síntesis de un RadIL	6-1
6.3 - Radioluminiscencia del [BMIm]_{2,003}[Cl][Tos][HPTS]_{0,001}	
.....	6-6
6.4 - Diferenciación de fotones provenientes de radioluminiscencia y de radiación Cherenkov	6-8
6.5 - Efecto de la temperatura en la intensidad de fluorescencia del [BMIm]_{2,003}[Cl][Tos][HPTS]_{0,001}	6-9
6.6 - Cuantificación de fotones provenientes de radioluminiscencia y de radiación Cherenkov	6-11
6.7 - Conclusiones	6-18
6.8 - Referencias	6-20
7 - Conclusiones generales y perspectivas	7-1
A - Anexo.....	A-1
A.1 - Decaimientos temporales de la fluorescencia	A-1

Capítulo 1: Introducción general

1.1. Líquidos Iónicos

1.1.1. Características generales

En las dos últimas décadas se ha observado un importante crecimiento en el número de publicaciones científicas que refieren a un nuevo tipo de materiales denominados líquidos iónicos (LIs).¹ Estas sustancias, que incluyen en su composición química un catión orgánico y un anión inorgánico u orgánico,² conforman una vasta familia de compuestos iónicos con puntos de fusión (P_f) por debajo de los 100 °C.³ La característica de combinación de iones orgánicos e inorgánicos permite a estos compuestos estar en estado líquido a temperatura ambiente, marcando una notable diferencia con respecto a la mayoría de las sales inorgánicas más comunes. El motivo por el cual los LIs pueden presentarse como sales fundidas a temperaturas cercanas a la ambiente se debe, según algunos autores, al gran tamaño, asimetría geométrica y flexibilidad conformacional de los iones involucrados.⁴ Según ellos, estas características les confieren a los LIs entalpías de red menores y entropías de red mayores que los que se obtienen con los iones inorgánicos más comunes. Como consecuencia, se alcanza una baja en la variación de energía libre de Gibbs de red con respecto a las sales inorgánicas, con la consiguiente disminución de los puntos de fusión.

Los LIs suelen tener en su estructura química cationes específicos que aseguran la licuefacción del material a temperaturas cercanas al ambiente.⁵ La Figura 1 muestra algunos cationes y aniones capaces de formar LIs. Los cationes más comúnmente utilizados son los pertenecientes a las familias

de los alquilamonios (alifáticos, piridonios, imidazolios) y de los alquifosfonios (de cadena alifática)

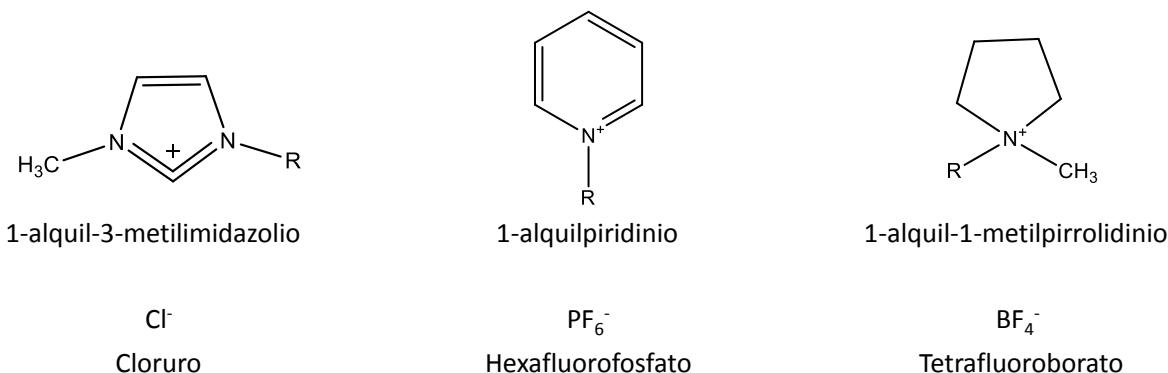


Figura 1: Estructuras químicas de cationes y aniones capaces de formar LIs.

En el presente trabajo de tesis se utilizaron LIs derivados del catión 1-butil-3-metilimidazolio (BMIm^+). En la Tabla 1 se presentan, a modo de ejemplo, los P_f de algunos LIs que son derivados alquílicos del N-metilimidazolio. Puede observarse la influencia que tienen tanto los aniones como las cadenas alquílicas de los cationes sobre los P_f . A medida que aumenta el tamaño del anión, para un mismo catión, se observa una disminución del P_f . Por otra parte, a medida que crece el tamaño de la cadena alquílica sustituyente del catión, para un mismo anión, también se observa una disminución del P_f . Se destaca el caso del BMImCl que, a pesar de tener un $P_f = 60^\circ\text{C}$, puede mantenerse líquido a temperatura ambiente debido a que forma una fase metaestable.⁶

Efecto del anión		Efecto de la cadena alquílica	
Líquido iónico	T_f (°C)	Líquido iónico	T_f (°C)
BMImCl	60 ^a	$\text{EMIm}[\text{PF}_6]$	60 ^b
$\text{BMIm}[\text{PF}_6]$	10 ^b	$\text{PrMIm}[\text{PF}_6]$	40 ^b
BMImI	-72 ^b	$\text{BMIm}[\text{PF}_6]$	10 ^b
		$\text{HeMIm}[\text{PF}_6]$	-61 ^b

Tabla 1: Temperatura de fusión de distintos LIs derivados del metilimidazolio (MIm). Las cadenas alquílicas son, respectivamente: Etil (E), Propil (Pr), isopropil (iPr), n-Butil (B), n-Hexil (He). ^a Medido por Tang y colaboradores;⁶ ^b Determinado por Huddleton y colaboradores.⁷

Debido a su naturaleza iónica, los LIs presentan características fisicoquímicas particulares como una baja presión de vapor, una baja inflamabilidad y una moderada conductividad eléctrica.⁸ Las dos primeras características enumeradas les han conferido a lo largo de los años la denominación de solventes ambientalmente sustentables (en inglés *green solvents*), debido a que evitan pérdidas por evaporación y previenen combustiones con emanaciones gaseosas contaminantes. En conjunto, estas propiedades descriptas los posicionan para diversas aplicaciones como solventes en procesos de catálisis,⁹ en electroquímica¹⁰ y en celdas solares¹¹ por citar sólo unos ejemplos. La gran diversidad de aplicaciones para las que pueden ser utilizados se fundamenta en la versatilidad de elegir los iones constitutivos con las propiedades fisicoquímicas adecuadas para la función a realizar. Esta característica les otorga la denominación de *compuestos de diseño o para tareas específicas* (del inglés *designed solvents y task specific ionic liquids*).^{12,13} De esta manera, es posible seleccionar las propiedades hidrofóbicas y/o hidrofílicas de los iones para ajustar solubilidades,¹⁴ o usar iones emisores de luz para obtener LIs luminiscentes,¹⁵ por citar otra vez sólo algunos ejemplos.

Recientemente se han reportado LIs que sirven para extracción y separación de metales, en particular lantánidos y actínidos, mostrando un incipiente potencial para su futura utilización en el reprocesamiento de material nuclear.¹⁶ En particular, los LIs que presentan capacidad para absorber luz UV-Visible y generar luminiscencia presentan gran interés ya que pueden ser usados para múltiples aplicaciones como sensores en general,¹⁷ y, en particular, como detectores de radiación por centelleo.¹⁸

A lo largo de la tesis se desarrollaron LIs luminiscentes con diversas características y propiedades. Resulta necesario entonces realizar a continuación una breve introducción sobre algunos conceptos y principios de fotofísica molecular. Estos conceptos permitirán comprender adecuadamente los resultados obtenidos en las diferentes caracterizaciones

espectroscópicas de los materiales, los cuales se presentarán en los siguientes capítulos.

1.2. Luminiscencia molecular

1.2.1. Procesos fotofísicos

La emisión de luz visible por parte de una molécula es un proceso que ocurre a partir de la relajación de un sistema desde un estado mecánico cuántico vibrónico de mayor energía (estado excitado) hacia uno de menor energía (estado basal o fundamental, para el caso del estado de menor energía más estable). Un estado excitado vibrónico molecular puede ser alcanzado mediante la absorción de energía proveniente de diferentes fuentes (lumínica, eléctrica, térmica, etc.). Los diferentes estados energéticos excitados a los que puede acceder un sistema se clasifican según su espín electrónico total (S), siendo los más típicos para moléculas orgánicas los estados singletes ($S=0$) y tripletes ($S=1$). La desexcitación energética puede ocurrir de forma térmica (sin emisión de fotones) o puede darse de manera radiativa acompañada por la emisión espontánea de fotones.

El fenómeno de luminiscencia refiere a la emisión de radiación UV-Vis producida por la desexcitación de cualquier estado excitado que previamente ha sido promovido por excitación lumínica.¹⁹ La fluorescencia y la fosforescencia representan casos particulares del fenómeno de luminiscencia. La fluorescencia es el fenómeno de emisión de luz que ocurre como producto de una transición entre estados energéticos que presentan el mismo spin, y suele tener un tiempo característico de relajación del orden de los nanosegundos. Por otra parte, la fosforescencia refiere al fenómeno de emisión de luz que ocurre como producto de una transición entre estados energéticos con distinto spin. El cambio de spin en esta transición no acompaña el principio de conservación del momento angular de spin,

considerándose una transición prohibida, motivo por el cual los tiempos de relajación (del orden de los micro hasta los segundos) suelen ser mucho más largos que los asociados a la fluorescencia.

El estado fundamental singlete de una molécula orgánica generalmente se denomina con el símbolo S_0 mientras que los sucesivos estados electrónicos excitados singletes y tripletes se denominan respectivamente como S_i y T_i , donde $i \geq 1$. Los procesos de excitación y relajación anteriormente enumerados pueden presentarse mediante un diagrama de Jablonski o de Perrin-Jablonski²⁰ como el que se muestra en la Figura 2.

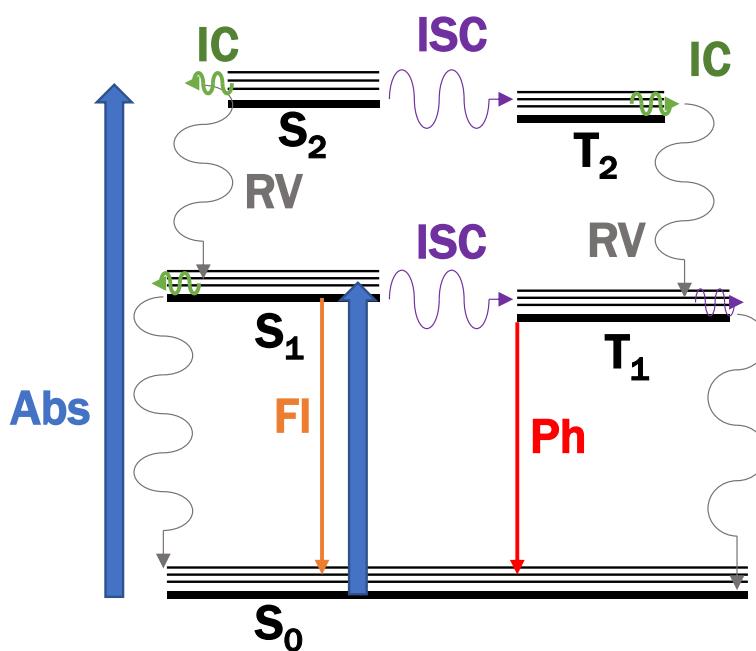


Figura 2: Diagrama simplificado de Perrin-Jablonski. Las flechas de bloque azules representan la excitación debido a la absorción de fotones (Abs). Las flechas naranja y roja representan la emisión de luz por fluorescencia (Fl) y fosforescencia (Ph) respectivamente. Las flechas onduladas representan relajaciones térmicas, donde se distinguen el cruce entre sistemas (ISC, sin cambio de energía, con cambio de espín, azul), la conversión interna (IC, sin cambio de energía y espín, verde) y la relajación vibracional (RV sin cambio de espín y con cambio de energía, gris).

La desexcitación de un estado S_i con $i \geq 2$ procederá generalmente de manera térmica al estado S_1 , desde donde podrá relajarse posteriormente de manera radiativa o no radiativa. Este fenómeno se conoce como la regla de Kasha, que establece que todo proceso luminiscente en moléculas poliatómicas, salvo contadas excepciones, ocurre desde el estado excitado de menor energía para una dada multiplicidad de spin. Por lo tanto, en principio, todas las excitaciones moleculares que presenten mayor energía a la necesaria para la excitación al nivel S_1 terminarán emitiendo con el mismo espectro asociado a la transición de menor energía.

1.2.2. Cinética de procesos fotofísicos

El rendimiento cuántico de un proceso (Φ) se define como el número de eventos registrados para ese proceso dividido por el número de fotones absorbidos. En particular, el rendimiento cuántico de fluorescencia molecular o intrínseco de una molécula (Φ_F) se define como en número de fotones de fluorescencia emitidos por una molécula dividido por el número de fotones absorbidos:²¹

$$\Phi_F = \frac{\text{nro. de fotones de fluorescencia}}{\text{nro. de fotones absorbidos}} \quad 1.1$$

Para un sistema en estado estacionario y en ausencia de toda interacción, Φ_F puede expresarse como:²²

$$\Phi_F = \frac{k_F}{k_F + k_{IM}} \quad 1.2$$

donde k_F es la constante cinética de emisión de fluorescencia y k_{IM} es la suma de las constantes cinéticas de los procesos no radiativos. La interacción con el medio circundante o solvente estará, en caso de existir, incluida dentro de k_{IM} .

Por otra parte, el tiempo de vida del estado excitado (τ) se relaciona con la inversa de la sumatoria de las constantes cinéticas de los procesos que desactivan el estado excitado:

$$\tau = \frac{1}{k_F + k_{IM}} = \frac{1}{k_M} \quad 1.3$$

Al combinar las ecuaciones 1.2 y 1.3 se puede obtener el siguiente vínculo entre Φ_F y τ :

$$\Phi_F = k_F \tau \quad 1.4$$

Cuando una molécula en estado excitado interacciona o reacciona con otra molécula, que aquí denominaremos molécula extintora o *quencher*, pueden ocurrir fenómenos o procesos de naturaleza bimolecular. Para estos casos, la interacción con la molécula extintora ofrece un camino de desactivación alternativo que, al incluirlo en el proceso cinético molecular global, proporciona la siguiente ecuación para el rendimiento cuántico de fluorescencia:

$$\Phi_F = \frac{k_F}{k_F + k_{IM} + k_Q [Q]} \quad 1.5$$

y para el tiempo de vida:

$$\tau = \frac{1}{k_F + k_{IM} + k_Q [Q]} \quad 1.6$$

En estos casos, k_Q es la constante cinética del proceso de extinción (*quenching*) y $[Q]$ es la concentración molar de la molécula causante de la extinción.

Una estrategia para tratar de analizar el mecanismo por el cual ocurre el fenómeno de extinción o *quenching* es a través del análisis de gráficos denominados de Stern-Volmer.²³ La Figura 3 muestra un gráfico de Stern-Volmer característico, obtenido en este caso para distintas soluciones de quinina bisulfato (QBS) en ácido sulfúrico 0,5 M. Se observa la autoextinción de la fluorescencia debido a la colisión de las moléculas del colorante en estado excitado con aquellas presentes en el medio en estado fundamental.²⁴ En este tipo de gráficos, el estudio de la funcionalidad de Φ^0_F/Φ_F y τ^0/τ vs [Q] puede ser utilizado para comprender el tipo de mecanismo por el cual se produce la extinción o auto-extinción del estado excitado, dependiendo si la misma se produce por moléculas extintoras de estructura química diferente a la molécula excitada o por la misma molécula a la excitada pero en estado fundamental.

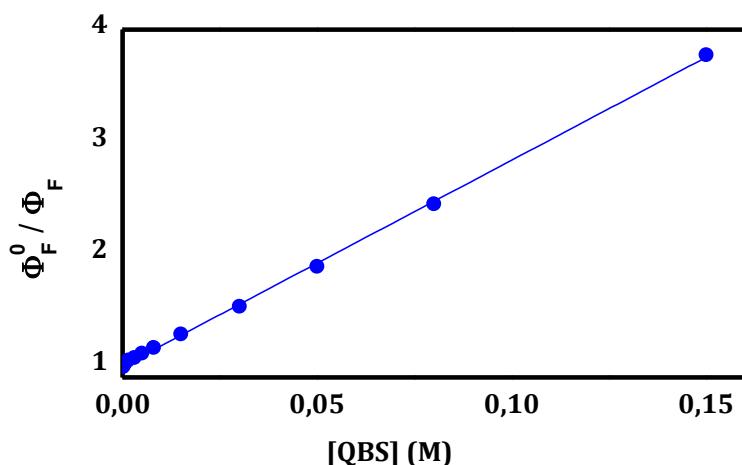


Figura 3: Gráfico de Stern-Volmer obtenido para distintas soluciones de quinina bisulfato (QBS) en solución de ácido sulfúrico 0,5 M. Se grafica el cociente Φ^0_F/Φ_F en función de la concentración analítica de QBS.

Los proceso fotofísicos hasta aquí descriptos están relacionados con procesos emisivos que se generan con posterioridad a una excitación molecular por radiación electromagnética proveniente de la región espectral del UV-Vis. En la sección siguiente nos referiremos a los procesos emisivos que se generan como consecuencia de excitaciones asociadas con radiaciones ionizantes de origen nuclear.

1.3. Radioluminiscencia

En esta sección se tratará el fenómeno de radioluminiscencia, evento por el cual una sustancia es capaz de emitir radiación lumínica a partir de una excitación producida por el pasaje de radiación ionizante de energía superior a 7 eV. La sustancia que produce radioluminiscencia se denomina centellador y el evento en sí mismo es comúnmente conocido como centelleo. Se describirán a continuación los diferentes tipos de radiaciones ionizantes que se utilizarán a lo largo de la tesis, conjuntamente con su interacción con la materia y la formación de especies moleculares excitadas, características que determinarán en gran medida la viabilidad de los procesos de centelleo.

1.3.1. Radiaciones ionizantes y su interacción con la materia

Las radiaciones nucleares más comunes consideradas desde el punto de vista de su interacción con la materia y su absorción por parte de un medio centelleador se listan en la Tabla 2.²⁵ Durante el trabajo de tesis se utilizaron fuentes emisoras de partículas α y β . Los rayos X y γ acompañan a las anteriormente mencionadas, o se producen como consecuencia del proceso de desintegración nuclear. Cada radiación nuclear presenta características particulares de carga, masa y energía que definen la forma en que interactúan con el medio que las rodea.

Radiación nuclear	Características
α (He^{2+})	Partícula Carga: +2e Masa: $6,6 \times 10^{-24}$ g Espectro de emisión discreto
β^- (e^-)	Partícula Carga: -e Masa: $9,2 \times 10^{-28}$ g Espectro de emisión continuo
β^+ (e^+)	Antipartícula Carga: +e Masa: $9,2 \times 10^{-28}$ g Espectro de emisión continuo
X, γ	Radiación electromagnética Fotones Sin carga Sin masa Espectro de emisión discreto

Tabla 2: Características distintivas de las diferentes radiaciones nucleares ($e = 1,602 \times 10^{-19}$ C).

Como resultado de la interacción de las partículas con el medio pueden producirse fenómenos de absorción, colisión y dispersión que involucren cambios tanto en dichas partículas como en los átomos y moléculas que componen el material circundante. A continuación se enumerarán las diferentes interacciones que pueden producirse entre las partículas y el medio, como así también los efectos que causan cada una de estas interacciones. Se pondrá énfasis finalmente en aquellas interacciones de mayor relevancia para la excitación molecular que desencadenan los procesos de centelleo.

1.3.1.1. Interacción de las partículas α con un medio material

Cuando una partícula α atraviesa un medio material puede interaccionar con los electrones de los átomos y moléculas que componen el medio, como así también como con los núcleos de dichos átomos y sus respectivos campos eléctricos. La Tabla 3 enumera, de manera sintética, estas

interacciones y los cambios que pueden producirse tanto en el medio como en la partícula luego de dichas interacciones.

Interacción con	Cambios observados en	
	Partícula alfa	Medio interactuante
Capa de Electrones	Desaceleración	Excitación, ionización
Núcleo atómico	Absorción nuclear	Reacción nuclear
Campo eléctrico del núcleo	Dispersión / desaceleración	Retroceso (<i>Recoil</i>) de los átomos

Tabla 3: Interacción de partículas α con el medio. Se incluyen los cambios producidos tanto en el medio como en la partícula.²⁶

De las interacciones enumeradas anteriormente, la más relevante para los sistemas en estudio, y la que consideraremos de aquí en adelante, es la que se produce con los electrones de los átomos y las moléculas del medio. Las partículas α provenientes de desintegraciones nucleares, con energías del orden de los MeV, disipan su energía al atravesar un medio predominantemente en una sucesión de colisiones inelásticas con los electrones, lo que resulta en ionizaciones y excitaciones moleculares.²⁵ Estas excitaciones electrónicas moleculares serán las responsables del fenómeno de radioluminiscencia.

1.3.1.2. Interacción de las partículas β con un medio material

Las partículas β (electrones y positrones provenientes de desintegraciones nucleares) pueden colisionar de forma inelástica con los electrones de los átomos y moléculas del medio para generar ionizaciones y/o excitaciones atómico-moleculares. Estas colisiones pueden además imprimir energía cinética a los electrones internos generando radiación electromagnética mediante el fenómeno conocido como radiación de frenado (del alemán *Bremsstrahlung*). Por otra parte, pueden dispersarse por acción del campo eléctrico de los núcleos atómicos. La Tabla 4 enumera las interacciones más comunes de las partículas β con un medio material, y los cambios que

pueden producirse tanto en el medio como en la partícula luego de dichas interacciones.

Interacción con	Cambios observados en	
	Partícula β	Medio interactuante
Capa de Electrones	Desaceleración	Excitación, ionización
Campo eléctrico del núcleo	Dispersión/desaceleración	Reacción nuclear

Tabla 4: Interacción de partículas β con el medio. Se incluyen los cambios producidos tanto en el medio como en la partícula.²⁶

Los positrones (partículas β^+) pueden además, por ser las antipartículas de los electrones, aniquilarse con los electrones del medio circundante. El resultado de la aniquilación positrón-electrón es la formación de dos fotones gamma colineales con sentido opuesto de 511 keV cada uno (511 keV corresponde a la masa del electrón/positrón en reposo).

De las interacciones enumeradas anteriormente, la más relevante para los sistemas en estudio, y la que consideraremos de aquí en adelante, es la que se produce con los electrones de los átomos y las moléculas del medio. Para energías menores a 10 MeV la interacción de mayor preponderancia es aquella que se produce con los electrones del medio provocando ionizaciones y excitaciones moleculares. Estas excitaciones electrónicas moleculares serán las responsables del fenómeno de radioluminiscencia, que depende de la energía de las partículas, y será presentada en la sección 1.3.1.5.

Existe otro fenómeno de formación de fotones UV-Visibles que, si bien no es exclusivamente generado por el pasaje de las partículas β en un medio material, puede darse con cierta frecuencia. Esta emisión se denomina radiación Cherenkov, y su origen y naturaleza se detallarán en la siguiente sección.

1.3.1.3. Radiación Cherenkov

La radiación Cherenkov es un tipo de radiación electromagnética correspondiente al espectro UV-Vis que puede generarse cuando una partícula cargada atraviesa un medio dieléctrico a una velocidad mayor que la velocidad de la luz en ese medio.²⁷ La velocidad que puede adquirir una partícula depende en gran medida de su masa. Se requieren entonces energías extremadamente grandes (en comparación con la obtenida en los procesos de desintegración nuclear más comunes) para que las partículas α alcancen la velocidad necesaria para producir radiación Cherenkov. Por otra parte, las partículas β (más de tres órdenes de magnitud más livianas que las partículas α) pueden alcanzar la velocidad necesaria con la energía con que son emitidas en las desintegraciones nucleares más comunes. Por ejemplo, para un medio con índice de refracción $\eta = 1,54$, la energía umbral para generar radiación Cherenkov (E_{Th}) es, para una partícula β , de 164 keV.¹⁸

Técnicamente la radiación Cherenkov no es considerada como un tipo de radioluminiscencia debido a que no se origina de estados excitados vibrónicos moleculares.^{19,28} Si bien no es un proceso relevante a la hora de considerar las pérdidas de energía que sufre una partícula cargada al interaccionar con el medio, esta radiación sí se utiliza ampliamente para detectar e identificar partículas cargadas, especialmente en experimentos en el campo de la física nuclear y de partículas.²⁹

1.3.1.4. Interacción de la radiación γ con un medio material

Los rayos gamma (γ) son fotones de energía mayor a 100 keV que se generan por desexcitación de los nucleones. A diferencia de las partículas que disipan su energía de manera continua en secuencias de eventos de ionización y excitación, las radiaciones electromagnéticas como los rayos γ son absorbidos o dispersados en eventos individuales. Los rayos γ son

capaces de interactuar con los núcleos o, en mayor medida, con los electrones de los átomos, teniendo mayor interacción cuando aumenta el número másico. La Tabla 5 resume las principales interacciones de los rayos γ con la materia.

Interacción con	Absorción	Dispersión*	
		Elástica	Inelástica
Capa de electrones	Efecto fotoeléctrico	Dispersión Rayleigh, Thompson	Efecto Compton
Núcleo atómico	Reacción nuclear	Dispersión	Dispersión
Campo electromagnético del núcleo	Producción positrón/electrón	--	--

Tabla 5: Interacción de fotones γ con el medio. Se incluyen los cambios producidos tanto en el medio como al fotón.²⁶ *Se define para este caso que una dispersión es elástica o inelástica en función de si el fotón pierde o no su energía y no en base al sistema físico total.

El efecto fotoeléctrico es el proceso por el cual un fotón (en este caso de radiación γ) expulsa a un electrón generalmente de alguna capa interna. En este proceso el fotoelectrón eyectado adquiere una energía igual a la diferencia entre la energía de la radiación γ incidente y la energía necesaria para extraer el electrón del átomo correspondiente. No es posible que el efecto fotoeléctrico se produzca sobre los electrones libres debido a que la conservación de la cantidad de movimiento luego de la interacción exige que el átomo residual absorba el impulso por medio de un fenómeno de retroceso. En consecuencia, la energía del fotón incidente que es absorbido en el efecto fotoeléctrico es convertida en radiación ionizante secundaria.

El efecto Compton es el proceso por el cual un fotón interacciona con un electrón "libre". Se considera a un electrón "libre" cuando la energía del fotón incidente es mucho mayor que la energía de unión del electrón al átomo. En esta colisión el fotón incidente pierde parte de la energía produciendo el desvío del electrón en un ángulo determinado. Como

resultado de este fenómeno la energía y la dirección de propagación del fotón incidente cambian.

La dispersiones de Thomson y Rayleigh pueden considerarse como los equivalentes clásicos del efecto Compton con la excepción de que no se transfiere energía (interna) sino que sólo se cambia la dirección del fotón incidente. El campo electromagnético del fotón que se propaga polariza los átomos y moléculas del medio e induce dipolos eléctricos que luego crean radiación electromagnética secundaria en todas las direcciones.

En los caso donde la energía del fotón es mayor que el doble de la energía del electrón en reposo (1,022 MeV) puede crearse un par electrón-positrón. La producción de pares requiere un tercer cuerpo para cumplir con la conservación de la energía y del momento, por lo que los pares generalmente se crean en el campo culómbico de un núcleo atómico.

1.3.1.5. Emisión radioluminiscente de materiales centelleadores

1.3.1.5.1. Dependencia con la energía de las partículas

El pasaje de una partícula α o β por un material centellador es capaz de generar ionizaciones y excitaciones electrónicas en las moléculas del medio, como se ha descripto en las secciones anteriores. Es posible entonces distinguir entre cuatro vías diferentes de interacción: a) la excitación de los electrones π a estados singletes excitados; b) la excitación de electrones σ ; c) la ionización de electrones π y d) la ionización de electrones σ . Las vías *b* y *d* conducen a vías de des-excitación térmicas o de emisión de rayos X. El proceso *a* es el proceso de excitación molecular responsable del proceso emisivo más rápida seguido por *b*. La energía liberada en forma de luminiscencia por un centelleador, cuyas moléculas han sido excitadas a lo

largo de un elemento de distancia x , $\frac{dL}{dx}$, puede describirse por la siguiente ecuación semi-empírica propuesta por Birks en los años 50:³⁰

$$\frac{dL}{dx} = \frac{S \frac{dE}{dx}}{1 + k_B B \frac{dE}{dx}} \quad 1.7$$

donde S es la eficiencia absoluta de centelleo, $\frac{dE}{dx}$ es la pérdida de energía de la partícula por unidad de distancia recorrida o pérdida de energía específica, B es una constante de proporcionalidad que relaciona la densidad de moléculas ionizadas y excitadas con $\frac{dE}{dx}$, y k_B es la constante de Birks, que se asocia a eventos de extinción unimoleculares cuando existe una gran densidad de moléculas ionizadas y excitadas.

La ecuación 1.7 es válida para partículas β lentas ($E < 125$ keV) que pueden dejar una considerable cantidad de energía en distancias cortas. Para el caso de partículas α de $E < 6$ MeV, donde se genera una gran densidad de ionizaciones y excitaciones moleculares por unidad de trayecto recorrido, la ecuación 1.7 se reduce a:

$$\frac{dL}{dx} = \frac{S}{k_B B} = cte \quad 1.8$$

que indica que L varía linealmente con x o, en otras palabras, que los fotones emitidos por el centelleador son independientes de la energía de la partícula.

Por otra parte, para el caso de partículas β rápidas ($E > 125$ keV), la ecuación 1.7 se reduce a:

$$\frac{dL}{dx} = S \frac{dE}{dx} \quad 1.9$$

Indicando que L varía linealmente con la energía α , en otras palabras, que los fotones emitidos por el centelleador son proporcionales a la energía de la partícula.

Todas estas consideraciones realizadas sobre la dependencia de la emisión radioluminiscente con la energía de las partículas α y β será utilizada en capítulos futuros para analizar la emisión proveniente de centelleadores líquidos que es posible de ser detectada.

1.3.1.5.2. Optimización de la emisión

Con el objetivo de maximizar la señal radioluminiscente de un centelleador con respecto a cada evento de desintegración pueden considerarse las siguientes dos estrategias: a) constituir el material centelleador con moléculas que presenten una gran proporción de electrones π por sobre el número de electrones totales. El motivo de esta estrategia se sustenta en que son sólo los electrones π los pasibles de ser promovidos de nivel energético y generar estados moleculares excitados. Por lo tanto, una gran proporción de electrones π en las moléculas que componen el centelleador aumenta la probabilidad, frente a un mismo evento de desintegración, de generar estados excitados moleculares que redunden finalmente en emisión radioluminiscente. b) Evitar eventos de re-absorción: i) utilizando moléculas que presenten un gran corrimiento de Stokes (una gran separación entre los espectros de absorción y emisión) o ii) utilizando fluoróforos adicionales en menor proporción molar que tienen la capacidad de absorber la emisión del compuesto original y emitirla en la región espectral (generalmente en la región del azul) donde es máxima la sensibilidad de los detectores. Estos compuestos generalmente se denominan desplazadores de longitud de onda (del inglés *Wavelength shifters*) e involucran procesos de transferencia de energía tanto radiativos como no-radiativos con las moléculas del material centelleador.

1.4. Hipótesis y objetivos

1.4.1. Antecedentes, motivación e hipótesis

A lo largo de la sección 1.1 se ha remarcado la importancia que han adquirido los LIs en referencia a los múltiples usos y aplicaciones para los cuales pueden ser utilizados. Más allá de las aplicaciones industriales y de pequeña escala en las que ya se emplean, en nuestros días el campo de conocimiento sobre los LIs está en constante desarrollo evidenciándose una continua expansión.³¹ En particular, se hará referencia de aquí en adelante a los materiales derivados de LIs luminiscentes (LILs) mas específicamente LIs fluorescentes (LIFs), los cuales ocupan un lugar preponderante en esta tesis. El motivo de ello es su potencial uso en sistemas que aprovechen de manera eficiente la energía de excitación molecular, con especial énfasis en su utilización como solventes para detección y cuantificación de radiación ionizante mediante técnicas de centelleo líquido. La bibliografía existente sobre líquidos moleculares luminiscentes, de los cuales los LILs constituyen una sub-familia, es escasa y reciente.^{32,33,34} Como primer antecedente, el grupo de trabajo donde se desarrolló la tesis publicó en el año 2014 el uso de un LI como solvente para la detección y cuantificación de radiación ionizante, por medio de la generación y detección de fotones Cherenkov. Al comienzo del trabajo de tesis, no existía en la bibliografía antecedente alguno del uso de LIFs para detección y cuantificación de radiación ionizante mediante mecanismos de radioluminiscencia.

Existen en la actualidad una gran cantidad y variedad de cócteles para centelleo líquido comerciales, cuya utilización depende del uso para el que son requeridos. En general, los cócteles de centelleo líquido comerciales más utilizados están basados en solventes orgánicos como el tolueno y el xileno. Estos cócteles tienen, en menor proporción, aditivos surfactantes para permitir el agregado de fuentes que se presenten en solución acuosa. Además contienen aditivos orgánicos como el 2,5-difeniloxasol (PPO) y el

1,4-bis(5-fenoxioxazol-2-il) benzeno (POPOP) que actúan como desplazadores de longitud de onda de emisión.³⁵ Este tipo de cócteles son muy utilizados en la actualidad. Sin embargo, presentan algunas desventajas asociadas con la naturaleza orgánica de sus constituyentes: a) su elevada volatilidad e inflamabilidad, b) su baja capacidad de disolución de analitos acuosos y c) la imposibilidad de ser reutilizados.

En este contexto, los LIFs emergen como una posibilidad concreta para su uso en centelleo líquido, atendiendo a la característica de que pueden ser diseñados específicamente para este fin. La elección adecuada de los iones constitutivos de los LIFs permite el desarrollo nuevos materiales capaces de emitir luz al interactuar con la radiación ionizante. Esta emisión de luz puede suceder por generación de fotones Cherenkov o por la generación de radioluminiscencia a partir de la excitación electrónica de las moléculas e iones constitutivos del material.

La adecuada elección de los iones del material constituye la estrategia basal para la creación de nuevos LIIs con las características deseadas. Una gran concentración de fluoróforos con una baja agregación molecular aseguraría la minimización de la presencia de canales de degradación energética no-radiativos de origen molecular y, a su vez, la obtención de materiales que alcancen una alta eficiencia de colección y aprovechamiento de la energía de excitación.

Los eventos de agregación molecular y de transferencia de energía, tanto por mecanismos radiativos como no-radiativos, pueden modularse mediante el control de ciertos parámetros fisicoquímicos como la concentración, la difusión y la temperatura. El objetivo consiste fundamentalmente en controlar la distancia media entre los distintos fluoróforos y las interacciones intermoleculares. Estas premisas son la base teórica a partir de la cual se sustentan los estudios del presente trabajo de tesis.

1.4.2. Objetivos generales y específicos

El presente trabajo se enmarca en una línea de trabajo que busca la generación de nuevos materiales líquidos iónicos con potencial aplicación en sensores y detectores de radiación. La motivación principal de este trabajo es el diseño y la síntesis de LILs que emitan luz al interactuar con la radiación nuclear para su estudio en investigación básica y su posterior aplicación en detectores de radiación alternativos.

El objetivo general de esta tesis abarca el desarrollo y caracterización de LILs para su aplicación en sistemas que requieran una elevada eficiencia de colección y aprovechamiento de la energía de excitación, en particular la energía proveniente de la radiación nuclear.

Los objetivos específicos son:

- Sintetizar nuevos LILs con características fotofísicas apropiadas para el desarrollo de sistemas que pretendan un aprovechamiento eficiente de la energía de excitación.
- Caracterizar espectroscópicamente los LILs puros y diluidos, tanto en agua como en otros solventes comunes, como así también en otros LIIs no fluorescentes, con el objeto de lograr una mejor comprensión de las propiedades fotofísicas de estos nuevos materiales.
- Evaluar procesos de agregación, formación de excímeros o exciplexos y/o procesos de autoextinción, en los nuevos materiales sintetizados y/o en sus diluciones.
- Desarrollar modelos cuantitativos sobre los fenómenos de transferencia de energía radiativa y re-absorción en LILs, con el propósito de aportar al entendimiento básico de este tipo de fenómenos.
- Evaluar el uso de soluciones de LILs como centelladores líquidos para la detección y cuantificación de radiaciones ionizantes.

1.5. Esquema y organización de la tesis

La tesis consta de 7 capítulos. Luego del Capítulo 1 de introducción, continuará el Capítulo 2 donde se describen los materiales, métodos y equipos utilizados para el desarrollo experimental. El Capítulo 3 versará sobre técnicas de medición de fluorescencia en entornos de gran absorbancia. Conjuntamente se presenta en este capítulo un modelo para la correcta consideración del fenómeno de re-absorción, que se observa en muestras fluorescentes de elevada absorbancia y con apreciable solapamiento espectral. Este modelo resultará fundamental a la hora de evaluar las características espectroscópicas de los LIs sintetizados. En el Capítulo 4 se mostrará el comportamiento fotofísico y fotoquímico del fluoróforo tosilato, tanto en solución acuosa y como parte de un LI. Los resultados obtenidos son de vital importancia pensando en el uso de este fluoróforo como recolector de la energía de excitación proveniente de desintegraciones radioactivas. El Capítulo 5 mostrará el comportamiento fotofísico y fotoquímico del fluoróforo piranina, tanto en solución acuosa ácida y como formando parte de un LI. Los resultados de este capítulo se utilizaran para evaluar el uso de este fluoróforo como desplazador de longitud de onda de emisión. El Capítulo 6 describe el desarrollo del primer LI radioluminiscente. Conjuntamente se presenta su uso para la determinación de actividades de diversos radionucleidos. La dependencia de la eficiencia de conteo con la temperatura resulta de utilidad para la separación de las señales provenientes de distintas partículas radioactivas en una mezcla de radionucleídos. En el Capítulo 7 se realiza una conclusión general y se evaluarán perspectivas a futuro. Se presenta además una lista de las publicaciones que surgieron a partir del trabajo realizado.

1.6 Referencias

- ¹ Brahma, S., Gardas, R. **(2023)** Chapter 1: History and development of ionic liquid. In: Rajkhowa, S., Singh, P. Sen, A., Sarma, J. (Eds.) *Handbook of Ionic Liquids: Fundamentals, Applications and Sustainability*. Wiley, 1 – 20.
- ² Weingartner, H. **(2008)** Understanding ionic liquids at the molecular level: facts, problems, and controversies. *Angew. Chem. Int. Ed.* 47, 654 – 670.
- ³ Welton, T. **(1999)** Room-temperature ionic liquids. Solvents for synthesis and catalysis. *Chem. Rev.* 99, 2071 – 2084.
- ⁴ Krossing, I., Slattery, J., Daguenet, C., Dyson, P., Oleinikova, A., Weingärtner, H. **(2006)** Why Are Ionic Liquids Liquid? A Simple Explanation Based on Lattice and Solvation Energies. *J. Am. Chem. Soc.* 128, 41, 13427 – 13434.
- ⁵ Yung, K., Schadock-Hewitt, A., Hunter, N. Bright, F., Baker, G. **(2011)** ‘Liquid litmus’: chemosensory pH-responsive photonic ionic liquids. *Chem. Commun.* 47, 4775 – 4777.
- ⁶ Tang, F., Wu, K., Ding, L., Yuan, J., Liu, Q., Nie, L., Yao, S. **(2008)** Purification of undiluted ionic liquids from trace colored impurities for spectroscopy by octadecylsilyl solid-phase extraction. *Sep. Purif. Technol.* 60, 245 – 250.
- ⁷ Huddleston, J., Visser, A., Matthew Reichert, W., Willauer, H., Broker, G., Rogers, R. **(2001)** Characterization and comparison of hydrophilic and hydrophobic room temperature ionic liquids incorporating the imidazolium cation. *Green Chemistry* 3, 156 – 164.

⁸ Wasserscheid, P., Welton, T. (**2002**) Ionic Liquids in Synthesis. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 41 – 127.

⁹ Lombardo, M., Quintavalla, A., Chiarucci, M., Trombini, C. (**2010**) Multiphase homogeneous catalysis: common procedures and recent applications. *Synlett.* 12, 1746 – 1765.

¹⁰ Silvester, D., Rogers, E., Barrosse-Antle, L., Broder, T., Compton, R. (**2008**) The electrochemistry of simple inorganic molecules in room temperature ionic liquids. *J. Braz. Chem. Soc.* 19, 611 – 620.

¹¹ Wei, D., Andrew, P., Ryhanen, T. (**2010**) Electrochemical photovoltaic cells-review of recent developments. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 85, 1547 – 1552.

¹² Newington, I., Perez-Arlandis, J., Welton, T. (**2007**) Ionic liquids as designer solvents for nucleophilic aromatic substitutions. *Organic letters.* 9, 5247 – 5250.

¹³ Davids, J. (**2004**) Task-specific ionic liquids. *Chem. Letters.* 33, 1072 – 1077.

¹⁴ Pinkert, A., Marsh, K., Pang, S., Staiger, M. (**2009**) Ionic liquids and their Interaction with cellulose. *Chem. Rev.* 109, 6712 – 6728.

¹⁵ Hisamitsu, S., Yanai, N., Kimizuka, N. (**2015**) Photon-Upconverting Ionic Liquids: Effective Triplet Energy Migration in Contiguous Ionic Chromophore Arrays. *Angew. Chem. Int. Ed.* 54, 11550 – 11554.

¹⁶ Sun, X., Luo, H., Dai, S. **(2012)** Ionic liquids-based extraction: a promising strategy for the advanced nuclear fuel cycle. *Chem. Rev.* 112, 2100 – 2128.

¹⁷ Galpothdeniya, W., McCarter, K., De Rooy, S., Regmi, B., Das, S., Hasan, F., Taggea, A., Warner, I. **(2014)** Ionic liquid-based optoelectronic sensor arrays for chemical detection. *RSC Adv.* 4, 7225 – 7234.

¹⁸ Mirenda, M., Rodrigues, D., Arenillas, P., Gutkowski, K. **(2014)** Ionic liquids as solvents for liquid scintillation technology. Čerenkov counting with 1-Butyl-3-Methylimidazolium Chloride. *Rad. Phys. Chem.* 98, 98 – 102.

¹⁹ Braslavsky, S., **(2007)** Glossary of terms used in photochemistry 3rd Edition (IUPAC Recommendations 2006). *Pure Appl. Chem.*, 79, 293 – 465.

²⁰ Berberan-Santos, M.N. **(2001)** Pioneering Contributions of Jean and Francis Perrin to Molecular Luminescence. En: Valeur, B., Brochon, JC. (eds) New Trends in Fluorescence Spectroscopy. Springer Series on Fluorescence, vol 1. *Springer, Berlin, Heidelberg*. 7 – 33.

²¹ Rodriguez, H.; Mirenda, M.; Lagorio, M.; San Roman, E. **(2019)** Photophysics at unusually high dye concentrations. *Acc. Chem. Res.* 52, 110 – 118.

²² Valeur, B., Berberan-Santos, M. **(2012)** Molecular Fluorescence - Principles and Applications 2nd Ed. *Wiley – VCH*, 53 – 74.

²³ Gelhen, M. **(2020)** The centenary of the Stern-Volmer equation of fluorescence quenching: From the single line plot to the SV quenching map. *J. Photoch. Photobio. C* 42, 100338

²⁴ Krimer, N., Mirenda, M. **(2017)** Re-evaluation of the steady-state self-quenching constant of quinine bisulfate from fluorescence measurements in transmission geometry. *Methods Appl. Fluoresc.* 5, 034001.

²⁵ Birks J. **(1964)** Chapter 2 - Absorption of the incident radiation. En: Birks J. (ed.) The Theory and Practice of Scintillation Counting. *Pergamon*. 15 – 38.

²⁶ Horváth, D., Vértes, A. **(2011)** Interaction of Radiation with Matter. En: Vértes, A., Nagy, S., Klencsár, Z., Lovas, R., Rösch, F. (eds.) Handbook of Nuclear Chemistry. *Springer, Boston, MA*. 365 – 393.

²⁷ Cherenkov, P. **(1964)** Nobel Lecture Radiation of Particles Moving at a Velocity Exceeding That of Light, and Some of the Possibilities for Their Use in Experimental Physics. From Nobel Lectures, Physics 1942 – 1962, *Elsevier Publishing Company, Amsterdam*.

²⁸ Rodrigues, D., Sarmiento, G., Krimer, N., Mirenda, M. **(2020)** Radioluminescent Ionic Liquids: Designer Materials for Detecting and Quantifying Ionizing Radiation. *ACS Appl. Electron. Mater.* 8, 2662 – 2668.

²⁹ Griffin, H. **(2011)** Radiation Detection. En: Vértes, A., Nagy, S., Klencsár, Z., Lovas, R., Rösch, F. (eds.) Handbook of Nuclear Chemistry. *Springer, Boston, MA*. 2259 – 2286.

³⁰ Birks J. **(1964)** Chapter 6 - The scintillation process in organic materials—II. En: Birks J. (ed.) The Theory and Practice of Scintillation Counting. *Pergamon*. 185 – 234.

³¹ Kaur, G., Kumar, H., Singla, M. **(2022)** Diverse applications of ionic liquids: A comprehensive review. *J. Mol. Liq.* 351, 118556.

³² Lu, F., Takaya, T., Iwata, K., Kawamura, I., Saeki, A., Ishii, M., Nagura, K., Nakanishi, T. (**2017**) A Guide to Design Functional Molecular Liquids with Tailorable Properties using Pyrene-Fluorescence as a Probe. *Sci. Rep.* 7, 3416.

³³ Delgado, J., Raymundo, A., Vilarigues, M., Branco, L., Laia, C. (**2015**) Characterization of a Novel Intrinsic Luminescent Room-Temperature Ionic Liquid Based on [P_{6,6,6,14}][ANS]. *Chem. Eur. J.* 21, 726 – 732.

³⁴ Jha, G., Kumar Sahu, P., Panda, S., Singh, D., Patole, S., Mohapatra, H., Sarkar, M. (**2017**) Synthesis, Photophysical Studies on Some Anthracene-based Ionic Liquids and their Application as Biofilm Formation Inhibitor. *ChemistrySelect* 2, 2426 – 2432

³⁵ Perkin Elmer. (**s.f.**) Liquid Scintillation Cocktails. www.perkinelmer.com/es/lab-products-and-services/application-support-knowledgebase/radiometric/liquid-scintillation-cocktails.html (*Poner fecha en que se visitó la página*)

Capítulo 2: Reactivos, equipamiento, técnicas de caracterización y métodos de síntesis

En el presente capítulo se describirán los reactivos y materiales utilizados a lo largo del trabajo de tesis. También se detallarán las técnicas de caracterización y el equipamiento empleado, conjuntamente con los métodos de síntesis desarrollados.

2.1. Reactivos comerciales y compuestos sintetizados

Los reactivos y compuestos utilizados a lo largo del trabajo de tesis se presentan en tres grupos diferentes según su función: i) LI fluidificante y sus precursores de síntesis; ii) colorantes y fluoróforos utilizados para las síntesis de LIFs y iii) analitos radioactivos. A continuación se procederá a una descripción más detallada de estos reactivos y su uso en las siguientes secciones.

2.1.1. LI usado como fluidificante y sus precursores de síntesis

El LI cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio (BMImCl) fue utilizado como fluidificante mediante el mezclado con otros LIs. Esta función fluidificante se sustenta en que puede mantenerse líquido a temperatura ambiente hasta temperaturas de ~5 °C, a pesar de tener un $P_f = 60$ °C,¹ debido a que forma una fase metaestable como se mencionó anteriormente en el Capítulo 1. El BMImCl fue sintetizado en el laboratorio. A continuación se describe la síntesis realizada.

Síntesis del BMImCl. El BMImCl se obtuvo siguiendo un procedimiento previamente reportados por Hallett y Welton.² La síntesis comienza con el agregado gota a gota de 69 g de 1-Clorobutano (1-BuCl, Merck, reactivo

para síntesis, 1,3 equivalentes) sobre un recipiente con 47 g de 1-metilimidazol (1-MIm, Merck, reactivo para síntesis, 1 equivalente).* El esquema de la reacción química involucrada se presenta en la Figura 2.1:

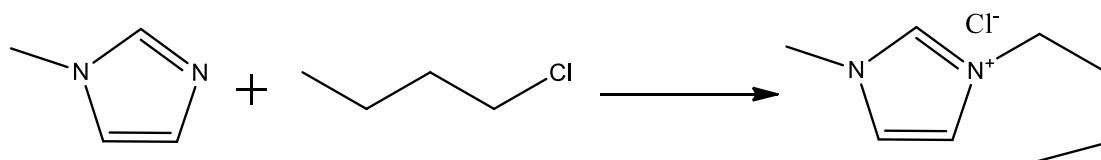


Figura 2.1: Síntesis del BMImCl a partir de 1-metilimidazol y de 1-clorobutano.

La mezcla de reacción fue mantenida posteriormente a 45 °C por 5 días bajo agitación continua en atmósfera de nitrógeno, controlando que la temperatura no supere los 50 °C. Posteriormente se enfrió a temperatura ambiente, se evaporó el exceso de 1-BuCl a presión reducida y se lavó con acetato de etilo. El producto de reacción se purificó mediante recristalización, utilizando una mezcla de acetonitrilo y acetato de etilo, obteniéndose cristales blancos. El sólido se secó en estufa de vacío a 60 °C por 24 h. El espectro de ^1H -RMN del compuesto purificado fue: (500 MHz, D_2O , δ en ppm): 8,69 (s, 1H); 7,46 (dd, 1H, $J = 2,0$ Hz, $J = 1,5$ Hz); 7,41 (dd, 1H, $J = 2,0$ Hz, $J = 1,5$ Hz); 4,18 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz); 3,88(s, 3H); 1,84 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz); 1,32 (m, 2H, $J = 7,5$ Hz) y 0,91(t, 2H, $J = 7,5$ Hz).

2.1.2. Fluoróforos y LIFs

Las moléculas fluorescentes utilizadas a lo largo de la tesis se seleccionaron con dos propósitos principales: a) para su utilización en estudios sobre fenómenos de re-absorción, los cuales se presentarán en el Capítulo 3; b) para la síntesis de LIFs.

* Previo a su uso, los reactivos fueron purificados. El 1-MIm se destiló a presión reducida. El 1-BuCl se lavó de manera sucesiva con ácido sulfúrico concentrado, y luego con solución saturada de bicarbonato de sodio y agua. Posteriormente se quitó el agua por agregado de sulfato de sodio y se destiló.

2.1.2.1. Colorantes para el estudio del fenómeno de re-absorción

Para los estudios realizados sobre el fenómeno de reabsorción se utilizaron dos colorantes comerciales: el *9,10-Difenilantraceno* (DPA, Aldrich, pureza 97%) y la quinina bisulfato (QBS, Fluka, reactivo analítico, pureza > 99%), cuyas estructuras químicas se presentan en la Fígura 2.2.

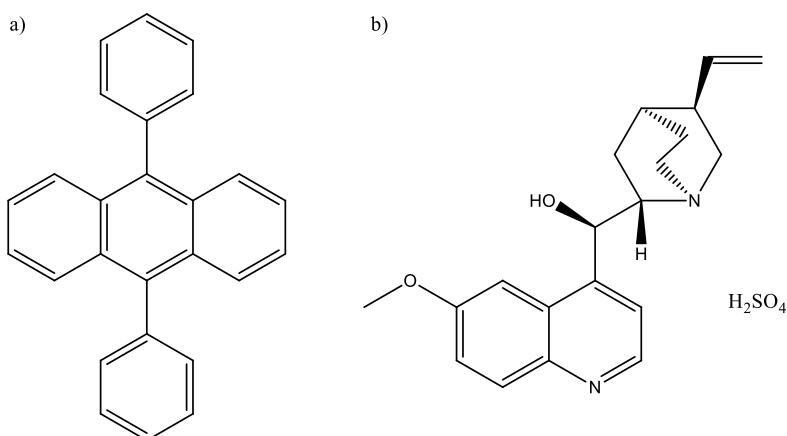


Figura 2.2: a) estructura molecular del DPA; b) estructura molecular de la QBS.

Tanto el DPA como la QBS son estándares de fluorescencia, por lo que sus rendimientos cuánticos de fluorescencia en solución y sus espectros de emisión se conocen con una excelente precisión.³ En el Capítulo 3 se describirán los motivos de su selección y las características de las soluciones utilizadas.

2.1.2.2. Fluoróforos para la síntesis de LIFs

Los fluoróforos utilizados para la síntesis de LIFs pertenecen a la familia de los compuestos orgánicos aromáticos sulfonados. Los grupos sulfonados se prefirieron en lugar de otros grupos aniónicos porque se encuentran mayoritariamente desprotonados en las condiciones de trabajo. De esta manera, se evitan hacer consideraciones ácido-base que dificultarían el posterior análisis e interpretación de los resultados espectroscópicos.

Los reactivos empleados fueron: i) el *p-toluensulfonato de sodio* (NaTos, Sigma-Aldrich, pureza 95%) y ii) el *8-hidroxipiren-1,3,6-trisulfonato de sodio* (Na₃HPTS, Sigma-Aldrich, pureza > 96%).

El Na₃HPTS fue utilizado sin recristalizar. El NaTos se recristalizó utilizando etanol (EtOH) al 96% como solvente, según el siguiente procedimiento:

Se vertió EtOH en ebullición (200 ml) en un vaso de precipitados que contenía 10 g de NaTos. La suspensión se mantuvo a 78 °C durante ~30 min hasta la completa disolución del sólido. La solución resultante se enfrió a temperatura ambiente y luego se enfrió aún más a -10 °C durante aproximadamente 1 h. Posteriormente la suspensión se filtró al vacío y se lavó el sólido con etanol frío para producir 6 g de NaTos purificado.

La selección de los fluoróforos se realizó obedeciendo a criterios principalmente espectroscópicos. Los espectros de absorción y de emisión de los compuestos utilizados abarcan distintas porciones del espectro UV-Visible. Es importante notar que cada uno de ellos ocupa regiones espectrales diferentes, observándose sistemáticamente un corrimiento hacia el rojo cuanto mayor sea el número de anillos bencénicos fusionados que presenta la estructura molecular. También se destaca el aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ_F) con la misma variable.

Los compuestos se usaron para sintetizar los siguientes LIFs:

a) *1-Butil-3-metilimidazolio 4-toluensulfonato (BMImTos)*. El LIF BMImTos se obtuvo por adición de 10 g de NaTos (1,1 equivalentes) a 25 mL de una solución que contiene 8,2 g de BMImCl (1,0 equivalentes) en diclorometano (Merck, pureza >99,9%). La mezcla de reacción fue sometida a una agitación mecánica continua durante 7 días a temperatura ambiente a resguardo de la luz. Luego fue filtrada y el solvente fue posteriormente evaporado en condiciones de presión reducida en un evaporador rotatorio.

Se obtuvo un líquido meta-estable viscoso e incoloro, que presenta un $P_F = 63,9\text{ }^{\circ}\text{C}$. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ del compuesto purificado fue: (500 MHz, D_2O , δ en ppm) 8,65 (s, 1H); 7,67 (d, 2H, $J = 7,4\text{ Hz}$); 7,42 (d, 1H, $J = 1,8\text{ Hz}$); 7,38 (d, 1H, $J = 1,8\text{ Hz}$); 7,35 (d, 2H, $J = 7,4\text{ Hz}$); 4,14 (t.n.r., 2H); 3,85 (s, 3H); 2,38 (s, 3H); 1,81 (quin, 2H, $J = 7,4\text{ Hz}$); 1,29 (sext, 2H, $J = 7,4\text{ Hz}$); 0,91 (t, 3H, $J = 7,4\text{ Hz}$). (s: singulete; d: doblete, t: triplete, t.n.r.: triplete no resuelto, quin: quintuplete, sext: sextuplete). Se obtuvo una relación estequiométrica de 1:1 entre el catión imidazolio y el anión tosilato, estimada a partir de la comparación entre las áreas integradas de los hidrógenos de ambas especies en el espectro de $^1\text{H-RMN}$.

b) *8-Hidroxipiren-1,3,6-trisulfonato de 1-butil-3-metylimidazolio (BMImHPTS)*. El LIF BMImHPTS se obtuvo mediante una reacción de metátesis entre BMImCl y el Na_3HPTS donde se evidencia un intercambio entre los aniones $[\text{Cl}^-]$ y $[\text{HPTS}^{3-}]$. La síntesis se realizó agregando 0,50 g de Na_3HPTS (1 equivalente) a 10 mL de una solución que contiene 0,45 g de BMImCl (0,9 equivalente) en diclorometano (Merk, pureza >99,9%). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación continua durante 7 días a temperatura ambiente. La solución se filtró y luego se evaporó a presión reducida. Se obtuvo un sólido amarillo/marrón (punto de fusión 136,3 °C según DSC). RMN de ^1H (500 MHz, D_2O , δ en ppm): 9,03 (s, 1H), 8,95 (d, 1H, $J = 9,7\text{ Hz}$), 8,84 (d, 1H, $J = 9,6\text{ Hz}$), 8,77 (d, 1H, $J = 9,7\text{ Hz}$), 8,53 (d, 1H, $J = 9,6\text{ Hz}$), 8,21 (t.n.r., 1H), 8,17 (s, 1H), 6,96 (t, 1H, $J = 1,8\text{ Hz}$), 6,93 (t, 1H, $J = 1,8\text{ Hz}$), 3,63 (t, 2H, $J = 7,4\text{ Hz}$), 3,56 (s, 3H), 1,37 (quin, 2H, $J = 7,4\text{ Hz}$), 0,96 (sext, 2H, $J = 7,4\text{ Hz}$), 0,64 (t, 3H, $J = 7,4\text{ Hz}$). Se estimó una relación estequiométrica de 1:3,6 entre $[\text{HPTS}^{3-}]$ y $[\text{BMIm}^+]$ mediante la comparación de las áreas integradas de los hidrógenos de ambas especies. Esto reveló la presencia de aniones $[\text{Cl}^-]$ remanentes en el producto final, indicando que la metátesis no fue completa. La adición de unas gotas de solución de AgNO_3 0,1M a una solución acuosa de BMImHPTS generó turbidez confirmado la presencia de iones cloruro.

2.1.3. Radionucleídos

Se trabajó con fuentes de partículas α y β de distintas energías. Todos los trabajos que involucraron el uso de radioisótopos se realizaron en las instalaciones del Laboratorio de Metrología de Radioisótopos ubicado en el Centro Atómico Ezeiza, siguiendo los protocolos correspondientes. El laboratorio cuenta con instalaciones y personal habilitados para el manejo de radioisótopos.

Fuente de partículas α : Se utilizó ^{241}Am ($E_{\max} = 5,277 \text{ MeV}$, $t_{1/2} = 7370 \text{ años}$)⁴ en forma de solución acuosa ácida de AmCl_3 (Solución de referencia: $^{241}\text{AmCl}_3$ en HCl 1M, luego se diluye la solución de referencia con una solución portadora cuya composición es de 23 mg de $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ disueltos en 500 mL de HNO_3 0,1 M) como fuente de partículas α . El proveedor fue Eckert & Ziegler.

Fuente de partículas β : Se utilizaron ^{14}C ($E_{\max} = 156,5 \text{ keV}$, $t_{1/2} = 5730 \text{ años}$)⁴ en forma de una solución acuosa de glucosa (10 ppm de (^{14}C) -glucosa disueltas en una solución portadora de 1000 ppm de CH_2O), y ^{32}P ($E_{\max} = 1,711 \text{ MeV}$, $t_{1/2} = 14,3 \text{ días}$)⁴ en forma de solución acuosa de NaH_2PO_4 (la solución se diluye en una solución portadora cuya composición es de 87 mg de NaH_2PO_4 y 3 mL de CH_2O al 35% en 1 L de solución acuosa de HCl 0,1 M)) como fuente de electrones. El proveedor fue la planta de Radioisótopos de la Comisión Nacional de Energía Atómica. Como fuente de positrones se utilizó ^{18}F ($E_{\max} = 633,5 \text{ keV}$, $t_{1/2} = 109,77 \text{ minutos}$)⁴ en forma de solución fisiológica de 2-deoxi-2(^{18}F)-fluor-D-glucosa. El proveedor fue el Instituto de Oncología Angel H. Roffo.

2.2. Equipamiento y técnicas de caracterización fisicoquímica

Los compuestos utilizados durante el trabajo de tesis fueron caracterizados por diferentes técnicas, las cuales se describen a continuación.

2.2.1. Resonancia magnética nuclear (RMN)

La caracterización química y estructural de los compuestos sintetizados se realizó mediante técnicas de RMN unidimensional de núcleos de ^1H y de ^{13}C ; y bidimensional de acoplamiento entre núcleos COSY (del acrónimo en inglés de *COrrelated SpectroscopY*) y HSQC (del acrónimo en inglés de *Heteronuclear Single Quantum Coherence*). Estas técnicas se emplearon además como métodos para controlar el nivel de pureza en los reactivos utilizados y los productos obtenidos. El equipo utilizado para estas determinaciones fue el modelo Avance Neo 500 de la marca Bruker, equipado con un campo de 11,75 Tesla. Las determinaciones se realizaron en instalaciones de la Unidad de Microanálisis y Métodos Físicos en Química Orgánica (UMYMFOR), ubicado en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA.

2.2.2. Refractometría

El índice de refracción es una propiedad relevante tanto para determinaciones relativas de rendimientos cuánticos de fluorescencia como también para la caracterización de los cócteles de centelleo líquido. En el primer caso, los índices de refracción de la muestra y de la referencia deben ser conocidos a fin de considerar los efectos de desviación de los haces al atravesar interfaces diferentes (ver Sección 2.3.2.2 del presente capítulo). En el segundo caso, es importante conocer el índice de refracción del medio ya que éste determina la energía umbral que debe superar un electrón o positrón en ese medio para emitir radiación Cherenkov (ver Sección 2.4.3 del presente capítulo).

Las medidas de índice de refracción se realizaron con un equipo comercial Abbemat 3000 de la marca Anton Paar, que opera con el método del ángulo límite a una longitud de onda de 589 nm.

2.2.3. Viscosimetría

La viscosidad es una propiedad de relevancia en fotofísica y fotoquímica. Muchos procesos que se producen en solución, como la extinción y la autoextinción de la fluorescencia, la formación de excímeros y exciplexos, entre otros, están controlados por eventos difusionales. La difusión de una molécula en un medio fluido está directamente vinculada a la viscosidad del medio a través del modelo de Stokes-Einstein, que establece la siguiente relación:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi n r} \quad 2.1$$

Donde k_B es la constante de Boltzman, T es la temperatura, n es la viscosidad dinámica y r es el radio de la partícula esférica.

Las medidas de viscosidad se realizaron con un equipo Lovis ME de la marca Anton Paar. El equipo utiliza el método de caída de bola rodante para la determinación, en donde se introduce el líquido de muestra dentro de un capilar calibrado conjuntamente con una pequeña bolita de acero. Se toma el tiempo en que tarda en caer la bola de acero desde un extremo al otro del capilar, colocado a un ángulo determinado, y se relaciona esta medida con la viscosidad dinámica del medio.

2.2.4. Técnicas calorimétricas

Tanto la temperatura máxima de trabajo que soportan los LIs frente a una descomposición térmica como la ventana de temperatura en la cual se

mantienen en estado líquido o líquido sobreenfriado son dos propiedades sumamente importantes a la hora de caracterizar los materiales sintetizados. Para ello se realizaron medidas de termogravimetría (TG) y de calorimetría diferencial de barrido (DSC). Se utilizó para el análisis térmico un equipo STD Q600 que permite realizar medidas simultáneas de TG y DSC.

2.3. Equipamiento y técnicas de caracterización espectroscópica

2.3.1 Espectroscopía de absorción molecular UV-Visible

Las medidas de absorción molecular UV-Vis se realizaron en un espectrofotómetro de absorción de simple haz modelo *Cary 50 Conc UV-Vis* de la marca *Varian*, equipado con un portamuestra termostatizable mediante un módulo peltier. Para las determinaciones de absorbancia se utilizaron cubetas de cuarzo espectroscópico de diferentes espesores de paso óptico: 10 mm; 2 mm; 0,5 mm; 0,1 mm y 0,01 mm, de manera de contar con la celda más adecuada para cada concentración utilizada. En cada medida se realizó la determinación del blanco correspondiente, consistente en una misma celda con solvente. Los blancos fueron convenientemente sustraídos para obtener la absorbancia de la muestra en cada caso. El ancho de bandapectral utilizado en todas las mediciones fue de 1,5 nm.

2.3.2 Espectroscopía de fluorescencia de estado estacionario

2.3.2.1 Equipo

Para la determinación de los espectros de fluorescencia estacionarios se utilizó un espectrofluorómetro modular modelo QuantaMaster 4 CW (marca PTI) equipado con una lámpara de arco de Xenon UXL-75XE de 75W y un portamuestra termostatizado. El equipo presenta la particularidad de estar

ensamblado en módulos. Esta característica permite disponer de la versatilidad de elegir configuraciones geométricas tanto de 90° como de 180° entre el haz de excitación y el detector, como se observa en la Figura 2.3. Tanto el monocromador de excitación como el de emisión cuentan con redes de difracción de 1200 líneas/mm, para los cuales 1 mm corresponde un ancho de banda de 4 nm. Por lo tanto, salvo casos especiales, las rendijas utilizadas para las mediciones fueron de 0,375 mm, que corresponden a un ancho de banda de 1,5 nm. De esta manera, se utilizó un ancho de banda similar al utilizado en el espectrofotómetro de absorción para evitar distorsiones que pudieran ocurrir por las desviaciones en la ley de Lambert-Beer.⁵

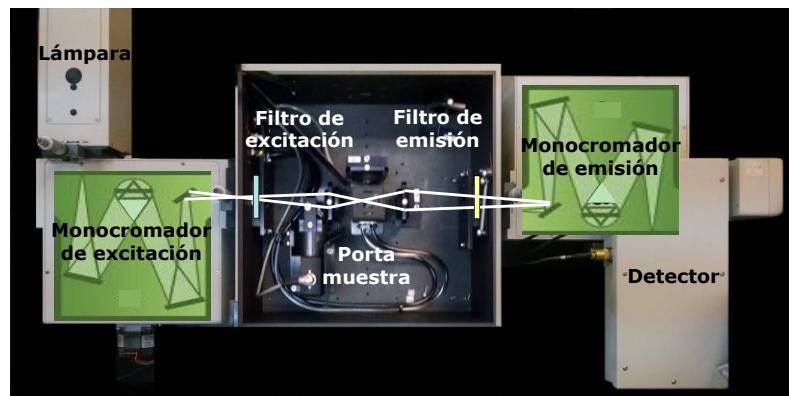


Figura 2.3: Espectrofluorómetro QuantaMaster 4 CW (PTI-Horiba) utilizado para la adquisición de espectros de fluorescencia de estado estacionario. En la foto puede apreciarse que, debido a su característica modular, es posible utilizarlo en una configuración geométrica de transmisión.

2.3.2.2 Determinación experimental de rendimientos cuánticos de fluorescencia

El rendimiento cuántico de fluorescencia observado, $\Phi_{F,obs}$, se puede obtener experimentalmente a través de la siguiente expresión:

$$\Phi_F^{obs} = \frac{\int_{\lambda} L_p^{obs}(\lambda') d\lambda}{E_p^0(\lambda_0) [1 - 10^{-A(\lambda_0)}]} \quad 2.2$$

donde $L_p^{obs}(\lambda')$ es la irradiancia espectral observada, $E_p^0(\lambda_0)$ es la irradiancia espectral de fotones de excitación de longitud de onda λ_0 incidentes sobre

la muestra y $A(\lambda_0)$ es la absorbancia de la muestra a la longitud de onda de excitación. En general, la magnitud E^0_p no es fácil de obtener experimentalmente, por lo que se suele realizar la determinación de los rendimientos cuánticos de fluorescencia relativos a un estándar de fluorescencia dispuesto en la misma configuración geométrica. Para tal propósito, es conveniente contar con una sustancia de referencia que, en principio, esté disuelta en el mismo medio de que la muestra y que emita en una región espectral similar. En estos casos, la determinación puede realizarse mediante el uso de la siguiente ecuación:

$$\Phi_F^{obs} = \Phi_{F,ref} \frac{[1 - 10^{-A_{ref}(\lambda_0)}]}{[1 - 10^{-A(\lambda_0)}]} \frac{\int_{\lambda} L_p^{obs}(\lambda') d\lambda}{\int_{\lambda} L_{p,ref}^{obs}(\lambda') d\lambda} \quad 2.3$$

Para los casos en que la referencia se encuentre disuelta en un solvente diferente al de la muestra, debe realizarse una corrección teniendo en cuenta los índices de refracción de cada medio, según la expresión:⁶

$$\Phi_F^{obs} = \Phi_{F,ref} \frac{[1 - 10^{-A_{ref}(\lambda_0)}]}{[1 - 10^{-A(\lambda_0)}]} \frac{\int_{\lambda} L_p^{obs}(\lambda') d\lambda}{\int_{\lambda} L_{p,ref}^{obs}(\lambda') d\lambda} \frac{\eta^2}{\eta_{ref}^2} \quad 2.4$$

donde η y η_{ref} son los índices de refracción de la muestra y de la referencia, respectivamente. La corrección mencionada tiene por objeto considerar las diferentes refracciones evidenciadas en la interfaces solvente/cubeta/aire, las cuales modifican la intensidad de los haces que llegan al detector.

2.3.3 Fluorescencia resuelta en el tiempo

2.3.3.1 Decaimientos temporales de la fluorescencia

Las determinaciones de los decaimientos temporales de la fluorescencia se realizaron en un fluorómetro PTI-Horiba modelo QM-8075 TCSPC (del acrónimo en inglés para *Time Correlation Single Photon Counting*) equipado

con 5 fuentes diferentes: un LED UV pulsado de 260 nm (DeltaDiode-260) y cuatro Láseres pulsados de 375 nm (DeltaDiode-375L), 405 nm (DeltaDiode-405L), 532 nm (DeltaDiode-532LN) y 650 nm (DeltaDiode-650L). En cada caso, el perfil temporal del pulso se determinó con una suspensión de nanopartículas de sílica como material dispersante. Alternativamente se utilizó también un fluorometro TCSPC-Horiba Jovin-Ivon equipado con un monocromador y polarizadores de prisma de ángulo variable tanto en la excitación como en la emisión. En este equipo la excitación se realizó con diodos pulsados de frecuencia variabe entre 10 kHz a 1 MHz con longitudes de onda: 282; 337; 373; 402; 457; 495; 559; 573; 605; 653 nm.

2.3.3.2 Espectros de emisión resueltos en el tiempo

Para la determinación de los espectros de emisión resueltos en el tiempo (TRES, de sus siglas en inglés Time Resolved Emission Spectrum) y los espectros de emisión resueltos en el tiempo normalizados por área (TRANES, de sus siglas en inglés para Time Resolved Area Normalized Emission Spectrum) se siguió el siguiente procedimiento descripto por Periasami y colaboradores.⁷ En primer lugar, se obtienen las curvas de decaimiento temporal de la fluorescencia, $L_{P,obs}(\lambda_i,t)$, para diferentes λ_i en el intervalo de longitudes de onda que abarcan el espectro de emisión estacionario. Cada uno de los decaimientos temporales de la fluorescencia debe deconvolucionarse del pulso de excitación utilizando la función de respuesta del instrumento y una función multiexponencial, generalmente con $n = 4$, con lo cual se obtiene:

$$L_P^{obs}(\lambda_i, t) \simeq \sum_{n=1}^{n=4} A_n(\lambda_i) e^{-\frac{t}{\tau_n}} \quad 2.5$$

donde A_n son los coeficientes pre-exponenciales normalizados y τ_n son los tiempos de vida utilizados para el ajuste, que no tienen ninguna

representación física. La integración temporal de $L_{P,obs}(\lambda_i,t)$ representa una magnitud proporcional a los fotones emitidos y observados para cada longitud de onda, según:

$$L_P^{obs}(\lambda_i) = \int_t L_{P,obs}(\lambda_i, t) dt \simeq \int_t \sum_{n=1}^{n=4} A_n e^{-\frac{t}{\tau_n}} dt = \sum_{n=1}^{n=4} A_n \tau_n \quad 2.6$$

Cada una de estas integrales es proporcional, a su vez, a la intensidad de emisión relativa del espectro estacionario a la longitud de onda λ_i , $\frac{L_P(\lambda_i)}{L_P(\lambda_{máx})}$.

Por lo tanto, los TRES se obtienen a partir de las siguientes funciones $L_P(\lambda,t)$, calculadas según:

$$L_P(\lambda_i, t) = \sum_{n=1}^{n=4} A_n e^{-\frac{t}{\tau_n}} \frac{\frac{L_P(\lambda_i)}{L_P(\lambda_{máx})}}{\sum_{n=1}^{n=4} A_n \tau_n} \quad 2.7$$

Finalmente los TRANES se obtienen dividiendo cada uno de los espectros temporales por su área.

2.4. Cinética de formación de excímeros

La formación de excímeros en solución puede ser descripta a través del mecanismo propuesto en la Figura 2.4. Un excímero (D^*) es un dímero que solo existe en el estado excitado y que se forma a partir del encuentro entre un estado singlete de un monomero de colorante (M) y otro monómero en estado excitado (M^*). Su desexcitación conduce a un estado disociativo y tiene como característica una banda ancha de emisión. El modelo y los símbolos utilizados obedecen a los trabajos realizados por Birks y colaboradores en los años 50.⁸

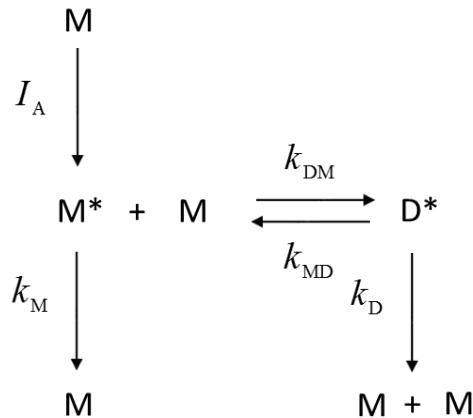


Figura 4.8: Modelo cinético que describe la formación de excímeros. Se muestran también los diferentes caminos de desactivación de los estados excitados singlete del monómero y del excímero.

En el esquema, k_M representa las vías de desactivación unimoleculares del estado excitado singlete de M^* , k_{DM} es la constante cinética bimolecular de formación del excímero a partir de M y M^* y k_{MD} representa el proceso inverso. La constante cinética k_D es el equivalente a k_M pero para la desactivación del estado excitado del excímero, que puede escribirse como $k_D = k_{FD} + k_{ID}$, donde k_{FD} es la constante cinética de fluorescencia del excímero y k_{ID} es la constante de desactivación no radiativa del excímero. k_{ID} incluye los procesos de conversión interna y de cruce entre sistemas.

2.4.1. Ecuaciones que describen el comportamiento en el estado estacionario.

El siguiente conjunto de ecuaciones describen el modelo de formación de excímeros para la condición de estado estacionario:

$$\frac{\partial[M^*]}{\partial t} = I_A - X[M^*] + k_{MD}[D^*] = 0 \quad 2.8$$

$$\frac{\partial[D^*]}{\partial t} = k_{DM}[M][M^*] - Y[D^*] = 0 \quad 2.9$$

con $X = k_M + k_{DM}[M]$ y $Y = k_{MD} + k_D$. Al sumar las ecuaciones 2.8 y 2.9 miembro a miembro se obtiene la siguiente expresión:

$$I_A = k_M[M^*] + k_D[D^*] \quad 2.10$$

que puede reescribirse, considerando la Ecuación 2.9, como:

$$I_A = k_M[M^*] + \frac{k_D k_{DM}[M][M^*]}{Y} \quad 2.11$$

La definición de rendimiento cuántico de fluorescencia establece que:

$$\Phi_{FM} = \frac{k_{FM}[M^*]}{I_A} \quad 2.12$$

Al reemplazar la ecuación 2.11 en 2.12 se obtiene:

$$\Phi_{FM} = \frac{k_{FM}}{k_M + \frac{k_D k_{DM}}{k_{MD} + k_D}[M]} \quad 2.13$$

que, para el caso de una solución tendiendo a dilución infinita, puede escribirse como:

$$\Phi_{FM}^0 = \frac{k_{FM}}{k_M} = \frac{k_{FM}}{(k_{FM} + k_{IM})} \quad 2.14$$

Dividiendo la ecuación 2.14 por la 2.13 se obtiene la siguiente expresión:

$$\frac{\Phi_{FM}^0}{\Phi_{FM}} = 1 + \frac{k_D k_{DM}}{k_{MD} + k_D}[M] \quad 2.15$$

que indica que la extinción de fluorescencia obedece a una relación lineal del tipo de Stern-Volmer.

El rendimiento cuántico de fluorescencia del excímero puede escribirse como:

$$\Phi_{FD} = \frac{k_{FD}[D^*]}{I_A} \quad 2.16$$

Al reemplazar las ecuaciones 2.9 y 2.10 en la 2.16 se obtiene:

$$\Phi_{FD} = \frac{k_{FD}k_{DM}[M]}{k_M(k_{MD}+k_D)+k_Dk_{DM}[M]} \quad 2.17$$

El rendimiento cuántico de fluorescencia total del sistema puede expresarse como la suma de los rendimientos cuánticos de fluorescencia del monómero y del excímero:

$$\Phi_{FT} = \frac{k_{FM}[M^*]+k_{FD}[D^*]}{I_A} = \Phi_{FM} + \Phi_{FD} \quad 2.18$$

que al reemplazar por las expresiones 2.13 y 2.17 queda:

$$\Phi_{FT} = \frac{k_{FM}(k_{MD}+k_D)+k_{FD}k_{DM}[M]}{k_M(k_{MD}+k_D)+k_Dk_{DM}[M]} \quad 2.19$$

donde se observa una expresión que contempla la dependencia de Φ_{FT} con la concentración de monómero.

2.4.2. Ecuaciones que describen el comportamiento de los experimentos resueltos en el tiempo.

El siguiente conjunto de ecuaciones describen el modelo de formación de excímeros para los experimentos con resolución temporal, para el caso de un pulso de excitación infinitesimal:

$$\frac{\partial[M^*]}{\partial t} = k_{MD}[D^*] - X[M^*] \quad 2.20$$

$$\frac{\partial[D^*]}{\partial t} = k_{DM}[M][M^*] - Y[D^*] \quad 2.21$$

siendo $X = k_M + k_{DM}[M]$ y $Y = k_{MD} + k_D$. Al resolver el conjunto de ecuaciones diferenciales para la condición inicial $t = 0$, $[M^*] = [M^*]_0$ y $[D^*] = 0$, se obtiene:

$$[M^*](t) = \frac{[M^*]_0}{\lambda_2 - \lambda_1} [(\lambda_2 - X)e^{-\lambda_1 t} + (X - \lambda_1)e^{-\lambda_2 t}] \quad 2.22$$

y

$$[D^*](t) = \frac{[M^*]_0 k_{DM}[M]}{\lambda_2 - \lambda_1} [e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}] \quad 2.23$$

donde

$$\lambda_{2,1} = \frac{1}{2} \left\{ X + Y \pm \left[(Y - X)^2 + 4k_{MD}k_{DM}[M] \right]^{\frac{1}{2}} \right\} \quad 2.24$$

El flujo de fotones en función del tiempo, emitidos por M^* entre las longitudes de onda λ_I y λ_F y detectados en un ángulo sólido $\Omega/4\Pi$, $i_M(t)$, puede expresarse como:

$$i_M(t) = k_{FM}[M^*] \frac{\Omega}{4\Pi} \int_{\lambda_I}^{\lambda_F} \bar{L}_{p,M} d\lambda = k_{FM}[M^*] \Lambda_M \quad 2.25$$

donde $\bar{L}_{p,M}$ es la radiancia espectral del monómero normalizada según:

$$\int_{\lambda} \bar{L}_{p,M} d\lambda = 1 \quad 2.26$$

y Λ_M representa la probabilidad de que un fotón emitido en el intervalo λ_I y λ_F sea detectado. Al reemplazar la ecuación 2.22 en la 2.25 se obtiene:

$$i_M(t) = k_{FM} \Lambda_M \frac{[M^*]_0}{\lambda_2 - \lambda_1} [(\lambda_2 - X)e^{-\lambda_1 t} + (X - \lambda_1)e^{-\lambda_2 t}] \quad 2.27$$

De manera análoga, el flujo de fotones emitidos por D^* en función del tiempo, entre las longitudes de onda λ_I y λ_F y detectados en un ángulo sólido $\Omega/4\pi$, $i_D(t)$, puede expresarse como:

$$i_D(t) = k_{FD} [D^*] \frac{\Omega}{4\pi} \int_{\lambda_I}^{\lambda_F} \bar{L}_{p,D} d\lambda = k_{FD} [D^*] \Lambda_D \quad 2.28$$

donde $\bar{L}_{p,D}$ es la radiancia espectral del excímero normalizada, según:

$$\int_{\lambda} \bar{L}_{p,D} d\lambda = 1 \quad 2.29$$

y Λ_D representa la probabilidad de que un fotón emitido en el intervalo λ_I y λ_F sea detectado. Al reemplazar la ecuación 2.23 en la 2.28 se obtiene:

$$i_D(t) = k_{FD} \Lambda_D \frac{[M^*]_0 k_{DM} [M]}{\lambda_2 - \lambda_1} [e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}] \quad 2.30$$

La expresión para el decaimiento temporal de la fluorescencia total, $i_T(t)$, que se obtiene al medir la fluorescencia en una región espectral donde emiten ambas especies, se obtiene sumando las ecuaciones 2.27 y 2.30:

$$i_T(t) = i_M(t) + i_D(t) = k_{FM} \Lambda_M \frac{[M^*]_0}{\lambda_2 - \lambda_1} [(\lambda_2 - X)e^{-\lambda_1 t} + (X - \lambda_1)e^{-\lambda_2 t}] + \\ \frac{k_{FD} \Lambda_D [M^*]_0 k_{DM} [M]}{\lambda_2 - \lambda_1} [e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}] \quad 2.31$$

La ecuación anterior es análoga a una expresión del tipo:

$$i_T(t) = i_M(t) + i_D(t) = a_1 e^{-t/\tau_1} + a_2 e^{-t/\tau_2} \quad 2.32$$

con

$$\tau_{1,2} = \frac{1}{\lambda_{1,2}} \quad 2.33$$

y

$$a_1 = [M^*]_0 \frac{k_{FM}\Lambda_M(\lambda_2 - X) + k_{FD}\Lambda_D k_{DM}[M]}{\lambda_2 - \lambda_1} ; \quad a_2 = [M^*]_0 \frac{k_{FM}\Lambda_M(X - \lambda_1) - k_{FD}\Lambda_D k_{DM}[M]}{\lambda_2 - \lambda_1} \quad 2.34$$

Los factores pre-exponentiales relativos, A_1 y A_2 , pueden expresar como:

$$A_1 = \frac{a_1}{a_1 + a_2} = \frac{k_{FM}(\lambda_2 - X) + k_{FD}\Lambda_R k_{DM}[M]}{k_{FM}(\lambda_2 - \lambda_1)} ; \quad A_2 = \frac{a_2}{a_1 + a_2} = \frac{k_{FM}(X - \lambda_1) - k_{FD}\Lambda_R k_{DM}[M]}{k_{FM}(\lambda_2 - \lambda_1)} \quad 2.35$$

siendo $\Lambda_R = \Lambda_D / \Lambda_M$.

2.4.3. Cinética de formación de excímeros incluyendo agregados superiores no fluorescentes

La figura 2.5 muestra un modelo cinético similar al de formación de excímeros donde se incluye la formación de agregados de n unidades monoméricas, M_n , que limitan la concentración de monómero libre en la solución.

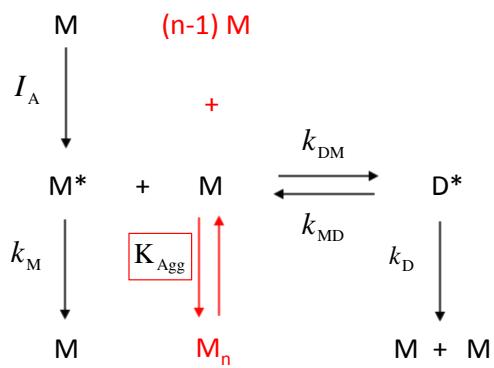


Figura 2.5: Modelo cinético que describe la formación de excímeros conjuntamente con la formación de agregados moleculares no fluorescentes. Se muestran también los diferentes caminos de desactivación de los estados excitados singlete del monómero y del excímero.

Cuando la concentración del monómero supera una concentración crítica de agregación, ocurre la formación de agregados no fluorescentes que restringen la concentración del monómero libre. El mecanismo de formación de los agregados sigue el modelo de asociación cerrada (CAM por sus siglas en inglés) y se representa en la siguiente ecuación:



siendo la expresión para la constante de equilibrio

$$K_{Agg} = \frac{[Agg]^{Z-n}}{[Na^+]^Z [M^-]^n} \quad 2.37$$

Para una concentración analítica C_0 , el balance de masa asociado al sistema puede expresarse como:

$$C_0 = [M^-] + n[Agg^{Z-n}] = [Na^+] + Z[Agg^{Z-n}] \quad 2.38$$

2.5. Detección y cuantificación de radiación ionizante por medio de la técnica de centelleo líquido

El centelleo líquido es una técnica de detección y cuantificación de radiación ionizante que se utiliza ampliamente desde hace más de 70 años.⁹ Como consecuencia del pasaje de radiación ionizante a través de un medio centelleador, se genera una señal luminosa que puede ser detectada por tubos fotomultiplicadores (PMTs) u otro tipo de detectores. En general, la señal electrónica obtenida como consecuencia de estos eventos es débil comparada con el ruido de fondo de los detectores, por lo que suelen utilizarse dos o tres PMTs en coincidencia temporal para mejorar la relación señal/ruido.

En la actualidad existen equipos comerciales para centelleo líquido que trabajan con dos PMTs en coincidencia. La Figura 2.6 muestra un esquema de los elementos básicos y las etapas electrónicas que componen un equipo de estas características.

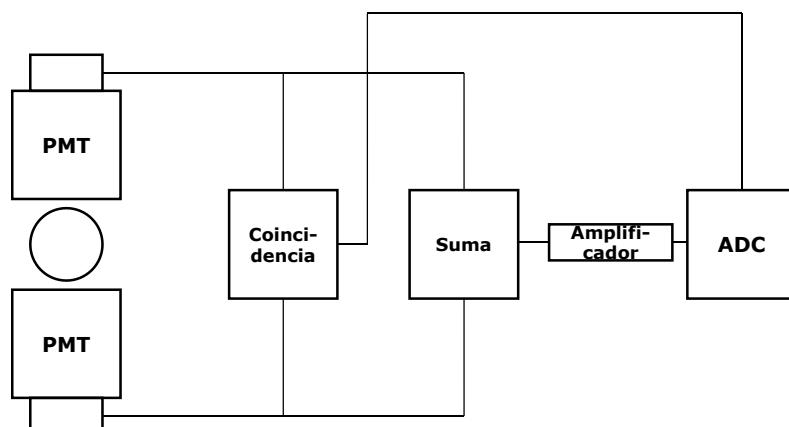


Figura 2.6: Esquema de funcionamiento de un equipo de centelleo líquido provisto de dos PMTs en coincidencia.

Los equipos comerciales de dobles coincidencia no tienen la posibilidad de variar la temperatura de la muestra libremente. Para aquellos experimentos en los que fuese necesario termostatizar la muestra se diseñó un sistema de doble coincidencias como se muestra en la Figura 2.7. Este

sistema consta de dos PMTs colineales con un portamuestras en el centro, rodeado por un caño de cobre por el que se hace circular agua a la temperatura de trabajo.

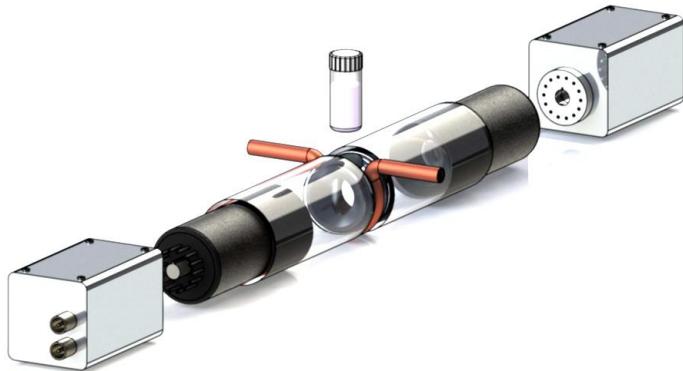


Figura 2.7: esquema del equipo termostatizable de doble coincidencias utilizado durante la tesis. (Imagen cortesía de Daniel Cartelli y Dario Rodrigues)

Los equipos que trabajan por coincidencias dobles presentan la ventaja de usar el menor número de detectores posibles con la consecuente disminución de costos. Sin embargo, debido a que se trabaja con un conteo simple de dobles coincidencias, esta técnica necesita la utilización de estándares para poder asociar la cantidad de cuentas medidas con la actividad radiactiva del analito.

Las técnicas de centelleo líquido basadas en triples y dobles coincidencias (TDCR, del acrónimo en inglés de *Triple-to-Doble Counting Rate*) utilizan equipos con tres PMTs en coincidencia dispuestos en la configuración geométrica que se observa en la Figura 2.8. Estos equipos miden simultáneamente las coincidencias dobles de todos los pares de PMTs además de las coincidencias triples. La relación entre las coincidencias dobles y las coincidencias triples está relacionada directamente con la actividad de la fuente, por lo que no necesitan de un estándar de actividad ya que constituyen en sí mismo un método absoluto.^{10,11,12}

El equipo TDCR utilizado en el presente trabajo fue ensamblado en el Laboratorio de Metroología de Radioisótopos del Centro Atómico Ezeiza de la CNEA La Figura 2.8a muestra una fotografía del aparato, compuesto de un compartimento oscuro para las muestras y tres PMTs marca Ortec Nº 265 cuyas bases fueron modificadas para aplicar voltaje positivo en el ánodo. Cada uno de los dinodos de estos PMTs se conectó directamente a un preamplificador marca Ortec Nº 113.¹⁰ Para el conteo de coincidencias dobles y triples se utilizó un módulo MAC3 como se observa en la Figura 2.8b.

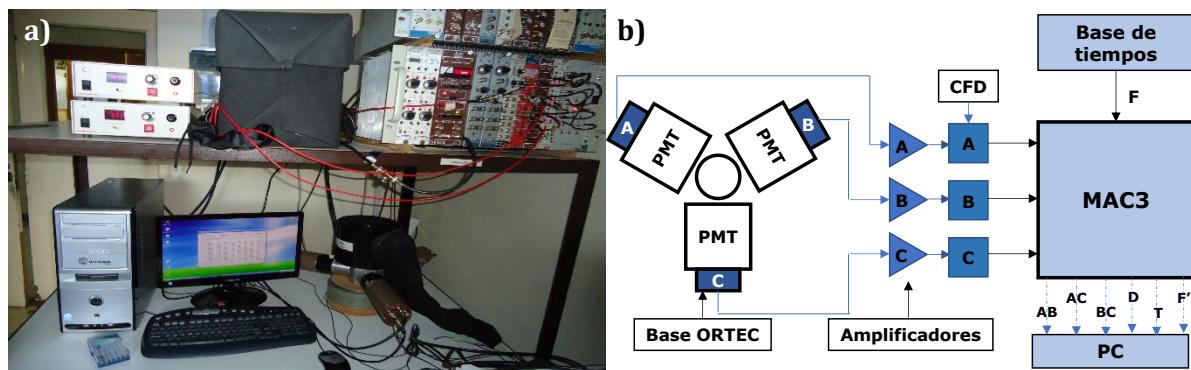


Figura 2.8: a) Fotografía del equipo utilizado en el presente trabajo de tesis (cortesía de Eliana de Paoli)¹³; b) Esquema del equipo de centelleo provisto por tres PMTs en coincidencias y sus respectivas conexiones.

Para realizar las medidas de centelleo es de vital importancia lograr que la actividad de cada vial sea pequeña, para que la probabilidad de que ocurran dos eventos de decaimiento durante el tiempo de medición y el tiempo muerto entre cada medición sea extremadamente baja. De esta manera se asegura que todos los fotones detectados durante el tiempo de integración corresponderán a un único evento de decaimiento.

2.5.1. Eficiencia de detección

La detección de los fotones emitidos por un centelleador sigue la ley estadística de Poisson. Por lo tanto, la eficiencia de conteo de fotones de un PMT, e , se puede describir como:

$$e = 1 - e^{-\nu m(E)} \quad 2.39$$

donde $m(E)$ es el número medio de fotones emitidos por el centelleador y ν es un parámetro asociado con la eficiencia del sistema de detección, que puede expresarse según:

$$\nu = \frac{\xi \varepsilon_q \mu \lambda}{hc} \quad 2.40$$

donde ξ es la eficiencia de detección de los PMTs, ε_q es la eficiencia cuántica del photocátodo, μ es el solapamiento espectral entre la fluorescencia del centellador y el espectro de respuesta del foto cátodo, λ es la longitud de onda de los fotones emitidos, h es la constante de Planck y c es la velocidad de la luz en el vacío.

Para un sistema compuesto por n PMTs, la eficiencia de conteo de fotones de cada uno de los PMTs se convierte en:

$$e = 1 - e^{-\nu m(E)/n} \quad 2.41$$

Por lo tanto, para un sistema con tres PMTs en coincidencia, la eficiencia de conteo de triples coincidencias vendrá dada por la siguiente expresión:

$$e_T = \left(1 - e^{-\nu m(E)/2}\right)^3 \quad 2.42$$

mientras que la expresión para la eficiencia de la suma lógica de dobles coincidencias, e_D , que indica la cantidad de eventos detectados de a pares en los detectores descontando la cantidad de coincidencias triples, viene dada por:

$$e_D = 3(1 - e^{-\nu m(E)/2})^2 - 2(1 - e^{-\nu m(E)/2})^3 \quad 2.43$$

Tanto e_T como e_D se utilizarán en las siguientes secciones para el cálculo de actividades.

2.5.2. Determinación de actividades por el modelo de TDCR

La utilización de un equipo de centelleo con tres PMTs en coincidencia permite obtener experimentalmente los eventos que se detectan simultáneamente en dos o tres de ellos. A partir de estos resultados puede determinarse entonces experimentalmente la relación entre coincidencias triples y la suma lógica de dobles coincidencias (T/D). Este resultado a su vez puede utilizarse para el cálculo de actividades. Para ello es necesario vincular esta magnitud con el cociente entre las expresiones 2.42 y 2.43, expresada como:

$$\frac{e_T}{e_D} = \frac{(1 - e^{-\nu m(E)/3})^3}{3(1 - e^{-\nu m(E)/3})^2 - 2(1 - e^{-\nu m(E)/3})^3} \quad 2.44$$

que, para un gran número de desintegraciones converge a T/D.

Por otra parte, para poder utilizar la expresión 2.44 en el cálculo de actividades es necesario establecer la naturaleza de la magnitud $m(E)$ para cada tipo de partícula radiactiva. Para el caso de partículas α , que presentan un espectro de emisión discreto, $m(E) = \text{cte}$ por lo expresado previamente

en la Ecuación 1.8 del Capítulo 1. La expresión queda entonces para este caso:

$$\frac{e_T}{e_D} = \frac{(1-e^{-\nu'})^3}{3(1-e^{-\nu'})^2 - 2(1-e^{-\nu'})^3} \quad 2.45$$

donde ν' es un parámetro libre que puede ser utilizado para ajustar la expresión anterior con la expresión experimental T/D.

Para el caso de partículas β , que poseen un espectro de emisión continuo, $m(E)$ es proporcional a E según la Ecuación 1.9 presentada previamente en el Capítulo 1, obteniéndose:

$$\nu m(E) = \frac{\xi \varepsilon_q \mu \lambda}{hc} \int_0^E A dE' = \frac{\xi \varepsilon_q \mu \lambda}{hc} AE = \nu AE = \nu'' E \quad 2.46$$

donde A es la figura de mérito del número de fotones emitidos por unidad de energía y ν'' es otro parámetro libre que puede ser utilizado para ajustar la expresión anterior con la expresión experimental T/D. Para partículas β , la expresión 2.42 puede escribirse entonces como:

$$\frac{e_T}{e_D} = \frac{\int_0^{E'} N(E) (1-e^{-\nu'' E})^3 dE}{3 \int_0^{E'} N(E) (1-e^{-\nu'' E})^2 dE - 2 \int_0^{E'} N(E) (1-e^{-\nu'' E})^3 dE} \quad 2.47$$

donde $N(E)$ es el espectro de emisión de las partículas β y ν'' es un parámetro libre que puede ser utilizado para ajustar la expresión anterior con la expresión experimental T/D.

Los valores de ν' y ν'' que cumplen las igualdades de las ecuaciones 2.45 y 2.47 con los valores experimentales de T/D pueden ser utilizados para calcular e_D por simple reemplazo en la expresión 2.43. La actividad de la muestra puede calcularse entonces dividiendo el conteo experimental de la

suma lógica de doble coincidencias por e_D y por la probabilidad de decaimiento del radionúclido, según:

$$Actividad = \frac{D}{e_D \cdot P} \quad 2.48$$

donde D es el conteo experimental de dobles coincidencias y P es la probabilidad de la desintegración.

2.5.3. Determinación de actividades por el modelo de TDCR-Cherenkov

La radiación Cherenkov puede utilizarse para las determinaciones de actividades por medio de la técnica de centelleo líquido, en particular la relacionada con dobles y triples coincidencias. Para este caso, el cociente e_T/e_D puede escribirse según:

$$\frac{e_T}{e_D} = \frac{\int_0^{E'} N(E) (1 - e^{-\nu\alpha_1 k(E)}) (1 - e^{-\nu\alpha_2 k(E)}) (1 - e^{-\nu\alpha_3 k(E)}) dE}{\int_0^{E'} N(E) \left\{ \left[\frac{1}{2} \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 (1 - \delta_{ij}) (1 - e^{-\nu\alpha_i k(E)}) (1 - e^{-\nu\alpha_j k(E)}) \right] - 2(1 - e^{-\nu\alpha_1 k(E)}) (1 - e^{-\nu\alpha_2 k(E)}) (1 - e^{-\nu\alpha_3 k(E)}) \right\} dE} \quad 2.49$$

donde la naturaleza anisotrópica de la radiación Cherenkov se describe a través de un único parámetro α según las siguientes expresiones:

$$\alpha_1 = \alpha; \alpha_2 = \frac{3}{2}(1 - \alpha)\alpha; \alpha_3 = 1 - \frac{3}{2}(1 - \alpha)\alpha - \alpha \quad 2.50$$

y $k(E)$ es el número de fotones Cherenkov emitidos por el medio en función de la energía de la partícula, que puede calcularse como:¹⁴

$$k(E) = \int_{E_{th}}^E 2\pi\alpha_{FS} \left(\frac{1}{\lambda_1} - \frac{1}{\lambda_2} \right) \left(1 - \frac{1}{\eta^2 \left(1 - \left(\frac{E_0}{E+E_0} \right)^2 \right)} \right) \frac{0,11 \times 22,4 \times E}{\rho \sqrt{1+22,4 \times E^2}} dE \quad 2.51$$

donde E es la energía, η es el índice de refracción, E_0 es la masa del electrón en reposo (0,511 MeV), λ_1 y λ_2 indican el intervalo de longitudes de onda de detección, α_{FS} es la constante de estructura fina, ρ es la densidad del medio y E_{th} es la energía umbral para la generación de radiación de Cherenkov, que puede determinarse según:

$$E_{th} = E_0 \left(\frac{1}{\sqrt{1 - \frac{1}{\eta^2}}} - 1 \right) \quad 2.52$$

Para los casos donde se pierde la anisotropía de la radiación Cherenkov, la expresión 2.49 puede reducirse a:

$$\frac{e_T}{e_D} = \frac{\int_0^{E'} N(E) \left(1 - e^{-v''' k(E)}\right)^3 dE}{\int_0^{E'} N(E) \left\{ \left[\frac{1}{2} \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 (1 - \delta_{ij}) \left(1 - e^{-v''' k(E)}\right)^2 \right] - 2 \left(1 - e^{-v''' k(E)}\right)^3 \right\} dE} \quad 2.53$$

donde v''' es un parámetro libre, que puede seleccionarse para hacer coincidir la expresión con el valor T/D experimental. Una vez obtenido v''' , puede calcularse e_D y por consiguiente la actividad de la muestra por medio de la Ecuación 2.48.

2.6. Referencias

- ¹ Tang, F., Wu, K., Ding, L., Yuan, J., Liu, Q., Nie, L., Yao, S. **(2008)** Purification of undiluted ionic liquids from trace colored impurities for spectroscopy by octadecylsilyl solid-phase extraction. *Sep. Purif. Technol.* 60, 245 – 250.
- ² Hallett, J., Welton, T. **(2011)** Room-temperature ionic liquids. Solvent for synthesis and catalysis. *2. Chem. Rev.*, 111, 3508 – 3576.
- ³ Lakowicz, J. (eds) **(2006)** Principles of Fluorescence Spectroscopy. Springer, Boston, MA.
- ⁴ Rodrigues, D., Sarmiento, G., Krimer, N., Mirenda, M. **(2020)** Radioluminescent Ionic Liquids: Designer Materials for Detecting and Quantifying Ionizing Radiation. *ACS Appl. Electron. Mater.* 8, 2662 – 2668.
- ⁵ Krimer, N., Rodrigues, D., Rodríguez, H., Mirenda, M. **(2017)** Steady-state Fluorescence of Highly Absorbing Samples in Transmission Geometry: a Simplified Quantitative Approach Considering Reabsorption Events. *Anal. Chem.* 89, 640 – 647.
- ⁶ Levitus, M. **(2020)** Tutorial: measurement of fluorescence spectra and determination of relative fluorescence quantum yields of transparent samples. *Methods Appl. Fluoresc.*, 8, 033001.
- ⁷ Periasamy, N., Koti, S. **(2003)** Time resolved fluorescence spectroscopy: TRES and TRANES. *Proc. Indian Natn. Sci. Acad.* 69, A, 41 – 48.
- ⁸ Birks J., Dyson D., Munro I. **(1963)** 'Excimer' fluorescence II. Lifetime studies of pyrene solutions. *Proc. R. Soc. Lond.* A275, 575–588

⁹ Birks, J. (**1964**) Chapter 1 – Introduction en Birks, J. (ed.) The Theory and Practice of Scintillation Counting. Pergamon.

¹⁰ Arenillas, P., Cassette, P. (**2006**) Implementation of the TDCR liquid scintillation method at CHEA-LMR, Argentina. *Appl. Radiat. Isotopes* 64, 1500 – 1504.

¹¹ Broda, R., Cassette, P., Kossert, K. (**2007**) Radionuclide metrology using liquid scintillation counting. *Metrologia* 44, S36 – S52.

¹² Kossert, K. (**2010**) Activity standardization by means of a new TDCR – Cherenkov counting technique. *Appl. Radiat. Isotopes* 68, 1116 – 1120.

¹³ Depaoli, E. (**2018**) Diseño, construcción y caracterización de un sistema de centelleo líquido aplicable a la determinación de actividad en soluciones radiactivas [Tesis de licenciatura en Ciencias Físicas, LMR-CNEA/FCEN-UBA]

¹⁴ Grau Malonda, A., Grau Carles, A. (**1998**) The anisotropy coefficient in Cherenkov Counting. *Appl. Radiat. Isotopes* 49, 1049 – 1053.

Capítulo 3: Medidas de fluorescencia en condiciones de gran absorbancia

3.1 Efectos de filtro interno en medidas de fluorescencia

La determinación de los espectros y los rendimientos cuánticos de fluorescencia experimentales no resulta una tarea sencilla en medios con elevada absorbancia debido a la existencia de efectos de filtro interno.¹ El efecto de filtro interno primario, o de TIPO 1, toma lugar cuando la luz de excitación es principalmente absorbida en la región cercana a la superficie de la celda desde donde se produce la excitación. De esta forma, en una configuración geométrica de 90 grados entre la excitación y la detección, se impide la penetración de la luz de excitación hasta la zona de detección. Este fenómeno se puede observar claramente en la Figura 3.1. La fluorescencia de una solución $1,3 \times 10^{-4}$ M de rodamina B emerge desde una región espacial cada vez más cerca de la cara de la celda desde donde se produce la excitación, a medida que se incrementa la absorción por el cambio de longitud de onda de excitación.

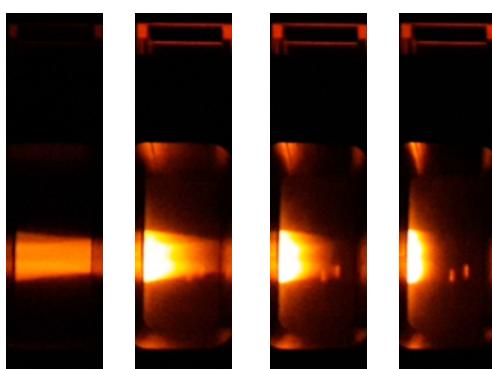


Figura 3.1: Fotografías de una celda de paso óptico 1 cm conteniendo una solución de Rodamina B en etanol de concentración $1,3 \times 10^{-4}$ M. La celda es iluminada desde el lado izquierdo con luz de diferente longitud de onda: a) 450 nm, b) 551 nm, c) 553 nm y d) 550 nm. A medida que aumenta la longitud de onda de excitación aumenta la absorbancia de la muestra y, como consecuencia del filtro interno primario, la fluorescencia emerge cada vez más cerca de la cara donde se produce la excitación.

El efecto de filtro interno secundario, también conocido como transferencia de energía radiativa, transferencia de energía trivial, de TIPO 2 o simplemente reabsorción (de la luz de emisión), tiene lugar cuando la luz emitida se reabsorbe a medida que intenta escapar de la muestra hacia el detector, como consecuencia del solapamiento entre los espectros de emisión y absorción.

Tanto los efectos de filtro interno de TIPO 1 como los de TIPO 2 producen una disminución de la intensidad de emisión total detectada, lo que lleva en general a subestimar los rendimientos cuánticos de emisión si no se aplican correcciones adecuadas. Los de TIPO 2, además, producen distorsiones espectrales debido a que disminuyen la intensidad de emisión en la zona de solapamientopectral.

La luz de fluorescencia reabsorbida puede, en algunos casos, volver a emitirse dando lugar a un fenómeno conocido como reemisión. En los casos donde la reemisión es detectada se provoca también una distorsiónpectral debido a un incremento de la intensidad de emisión en las longitudes de onda más largas del espectro.

La magnitud de los efectos enumerados depende de: a) la disposición geométrica entre el haz de excitación y la dirección de la detección, b) la geometría y el camino óptico de la celda, c) la concentración de la sustancia absorbente y, d) la superposición entre los espectros de absorción y emisión.² Las dos primeras consideraciones son de índole geométrica, mientras que las dos restantes son de índole fisicoquímica.

Existen tres posibilidades para la disposición geométrica entre el haz de excitación y la dirección de la detección: a) una geometría frontal o de reflexión, en la que la emisión se recoge en desde el mismo lado en el que la muestra se irradia; b) una geometría de 90° o en ángulo recto, en

la que la emisión se detecta en una dirección perpendicular al haz incidente después de atravesar la muestra; y (c) una geometría colineal de transmisión, en la que la emisión se recoge del lado opuesto al que se efectúa la excitación.³ Estas disposiciones geométricas pueden observarse en la Figura 3.2.

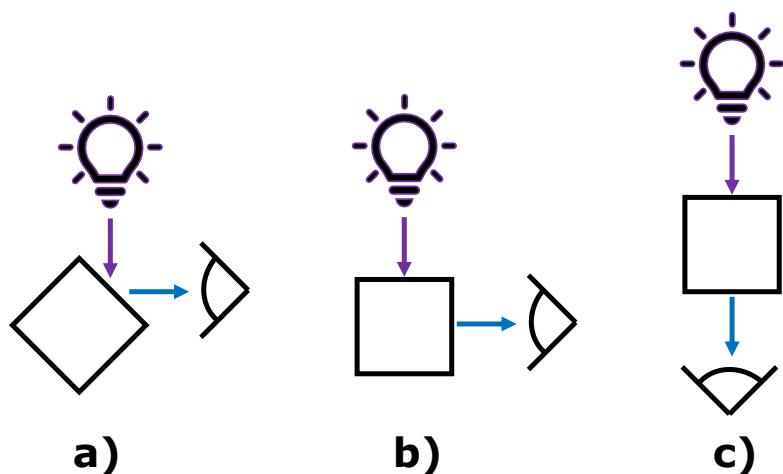


Figura 3.2: Disposiciones geométricas posibles entre el haz de excitación y la dirección de la detección: a) frontal o de reflexión, b) de 90° o en ángulo recto y (c) colineal de transmisión.

La geometría frontal, que generalmente utiliza ángulos pequeños entre la colección y la excitación, ha sido muy utilizada durante los primeros años de desarrollo de las medidas de fluorescencia.^{4,5} En particular, esta geometría tiene la desventaja de que la penetración de la luz de excitación en la muestra disminuye a medida que aumenta la absorbancia, lo que produce que el volumen en el que se genera la fluorescencia no coincida con el volumen de la zona de detección. Por otra parte, esta configuración suele generar resultados extremadamente sensibles a pequeños cambios en los ángulos de incidencia y detección, lo que dificulta su aplicación práctica.

Las medidas en geometría de 90° comenzaron a ser populares después de un trabajo de Weber y Teale del año 1957.⁶ Posteriormente, varios autores realizaron mucho esfuerzo para obtener diversas expresiones matemáticas capaces de cuantificar los efectos de la reabsorción y la

reemisión en esta geometría.^{7,8,9,10,11} De manera similar al caso anterior, la mayor dificultad que se presenta al utilizar esta geometría surge en la imposibilidad de determinar de manera precisa la cantidad de luz de excitación que se absorbe en el volumen de detección, principalmente en muestras con gran absorbancia. Por esta razón, se requieren simulaciones de Monte Carlo para realizar cálculos numéricos completos, atendiendo a la naturaleza probabilística del transporte radiativo.¹²

Finalmente, la geometría de transmisión constituye la configuración menos explorada. Aunque se menciona en varios textos clásicos, su baja implementación probablemente se deba a la posibilidad de que la luz de excitación alcance y dañe el detector.^{13,14} Sin embargo, esta configuración tiene una ventaja geométrica en comparación con las otras consideradas porque, para haces de excitación y emisión paralelos colimados, asegura la superposición completa entre los volúmenes de excitación y detección. Los espectrofluorómetros comerciales actuales exhiben complejidades geométricas adicionales en comparación con los más antiguos, sobre todo las relacionadas con la presencia de lentes convergentes, que son incluidas por los fabricantes para maximizar la señal de emisión proveniente de analitos muy diluidos. Estas lentes enfocan la luz de excitación y permiten la detección de la emisión de un volumen de muestra muy pequeño, causando un incremento en el límite de detección de fluorescencia. Esta nueva característica de convergencia en el haz agrega dificultades adicionales que, sin embargo, pueden ser subsanadas con el uso de celdas de paso óptico pequeño, como se verá más adelante.

Durante el trabajo de tesis se realizaron medidas de fluorescencia de muestras con elevados valores de absorbancias. Para tal fin se utilizó la geometría colineal de transmisión. El uso de esta geometría, conjuntamente con la utilización de celdas de paso óptico pequeño, permitió el desarrollo de un modelo matemático fenomenológico que reproduce de manera cuantitativa los efectos de filtro interno de TIPO 1 y

de TIPO 2 en los espectros de fluorescencia. En la siguiente sección se presenta el desarrollo del modelo mencionado.

3.2 El modelo diferencial para cuantificar la reabsorción

El modelo diferencial de reabsorción (DRM, del acrónimo en inglés para Differential Reabsorption Model) es un modelo fenomenológico que describe y reproduce los espectros y los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados de muestras afectadas por reabsorción.¹⁵ El desarrollo matemático que se presenta a continuación comienza, en primer lugar, con la descripción de la emisión fluorescente de muestras con una baja absorbancia, donde no se verifican fenómenos de reabsorción. Posteriormente el desarrollo matemático lleva a la descripción de la emisión fluorescente de muestras con reabsorción. La nomenclatura utilizada se adecúa a las recomendaciones realizadas por la IUPAC para los términos fotoquímicos.¹⁶

Emisión en ausencia de reabsorción. Cuando un haz de luz monocromático incide sobre una celda óptica de caras paralelas que contiene una muestra homogénea fluorescente (por ejemplo una solución de colorante) se produce una emisión policromática en todas las direcciones desde la región espacial donde se produjo la absorción. En una disposición geométrica de transmisión, con un ángulo de 180° entre la dirección de detección y el haz incidente, solo una porción de esta fluorescencia alcanza el detector, como se muestra en la Figura 3.3.

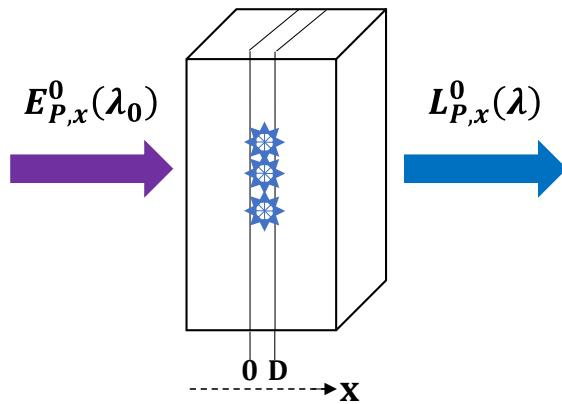


Figura 3.3: Configuración geométrica colineal de transmisión utilizada para la descripción de la emisión fluorescente

El haz de excitación se atenúa a medida que penetra en la celda, producto de la absorción producida por las moléculas. Esta atenuación es proporcional al diferencial de la distancia recorrida dentro de la celda, y puede expresarse según:

$$dE_{p,x}(\lambda_0, C, x) = -E_{p,x}^0(\lambda_0) \cdot \epsilon'(\lambda_0) \cdot C \cdot e^{-\epsilon'(\lambda_0) \cdot C \cdot x} dx \quad 3.1$$

donde $\epsilon'(\lambda_0)$ es el coeficiente de absorción neperiano a la longitud de onda de excitación λ_0 [$\epsilon'(\lambda_0) = \ln(10) \times \epsilon(\lambda_0)$ siendo $\epsilon(\lambda_0)$ el coeficiente de absorbividad molar], x es la distancia desde la cara frontal de la celda, C es la concentración molar y $E_{p,x}^0(\lambda_0)$ y $E_{p,x}(\lambda_0, C, x)$ representan la irradiancia espectral de fotones de excitación que inciden sobre la superficie de la celda y a una distancia x con respecto a la superficie, respectivamente. A medida que el haz de excitación se absorbe en su paso por la celda se genera un diferencial de población de moléculas excitadas que es capaz de generar a su vez un diferencial de luz fluorescente, $dL_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C, x)$, que se emite en todas las direcciones (isotrópico). En ausencia de eventos de reabsorción, y asumiendo válida la regla de Kasha-Vavilov enunciada en el Capítulo 1, esta magnitud puede expresarse según la siguiente ecuación:

$$dL_{p,\Omega_x}(\lambda_0, \lambda, C, x) = \frac{1}{4\pi} \cdot \Phi_F \cdot \bar{L}_p(\lambda) \cdot dE_{p,x}(\lambda_0, C, x) \quad 3.2$$

donde $L_{p,\Omega_x}(\lambda_0, \lambda, C, x)$ es la radiancia espectral de fotones de emisión por unidad de ángulo sólido Ω_x , $\bar{L}_p(\lambda)$ es la radiancia espectral de fotones de emisión normalizada, que satisface $\int_{\lambda} \bar{L}_p(\lambda) d\lambda = 1$ y Φ_F es el rendimiento cuántico de fluorescencia molecular. La integración de la ecuación 3.2 entre $x = 0$ y $x = D$, donde D es el paso óptico de la celda, produce el siguiente resultado:

$$L_{p,\Omega_x}(\lambda_0, \lambda, C) = \frac{1}{4\pi} \cdot \Phi_F \cdot \bar{L}_p(\lambda) \cdot E_{p,x}^0(\lambda_0) \cdot f_x(\lambda_0, C) \quad 3.3$$

donde, en ausencia de reabsorción, se observa una proporcionalidad directa entre el factor de absorción $f_x(\lambda_0, C) = (1 - e^{-\epsilon'(\lambda_0) \cdot C \cdot D})$ y la intensidad de emisión.

Emisión en presencia de reabsorción. Una vez generados los fotones por excitación primaria, estos son susceptibles de ser reabsorbidos al atravesar el medio. La Ecuación 3.3 puede reescribirse entonces incorporando un factor exponencial que tiene en cuenta la atenuación del haz de emisión en la dirección x , de acuerdo con:

$$dL_{p,\Omega_x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C, x) = \frac{1}{4\pi} \cdot \Phi_F \cdot \bar{L}_p(\lambda) \cdot e^{-\epsilon'(\lambda) \cdot C \cdot (D-x)} \cdot dE_{p,x}(\lambda_0, C, x) \quad 3.4$$

Al integrar de la Ecuación 3.4 entre $x = 0$ y $x = D$ se obtiene:

$$L_{p,\Omega_x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C) = \frac{1}{4\pi} \cdot \Phi_F \cdot \bar{L}_p(\lambda) \cdot E_{p,x}^0(\lambda_0) \cdot f_x(\lambda_0, C) \cdot \frac{\epsilon'(\lambda_0)(e^{-\epsilon'(\lambda) \cdot C \cdot D} - e^{-\epsilon'(\lambda_0) \cdot C \cdot D})}{\epsilon'(\lambda_0) - \epsilon'(\lambda)} \quad 3.5$$

que describe el efecto de la reabsorción de la luz de emisión en la dirección x . Combinando las Ecuaciones 3.3 y 3.5 se alcanza:

$$L_{p,\Omega_x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C) = L_{p,\Omega_x}(\lambda_0, \lambda, C) \cdot \gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C) \quad 3.6$$

con

$$\gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C) = \frac{\epsilon'(\lambda_0)}{\epsilon'(\lambda_0) - \epsilon'(\lambda)} \cdot \frac{(e^{-\epsilon'(\lambda) \cdot C \cdot D} - e^{-\epsilon'(\lambda_0) \cdot C \cdot D})}{(1 - e^{-\epsilon'(\lambda_0) \cdot C \cdot D})} \quad 3.7$$

El factor $\gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ relaciona el espectro de fluorescencia afectado por reabsorción con uno no afectado, y puede interpretarse como la probabilidad de que un fotón primario, emitido a una longitud de onda λ después de una excitación a λ_0 , escape de la muestra en la dirección x hacia el detector. A fines prácticos, este factor puede convenientemente expresarse en términos de absorbancias como:

$$\gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C) = \frac{A(\lambda_0, C)}{A(\lambda_0, C) - A(\lambda, C)} \cdot \frac{(10^{-A(\lambda, C)} - 10^{-A(\lambda_0, C)})}{(1 - 10^{-A(\lambda_0, C)})} \quad 3.8$$

donde $A(\lambda, C)$ y $A(\lambda_0, C)$ son las absorbancias a las longitudes de onda λ y λ_0 , respectivamente. El factor $\gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ es igual al reportado tiempo atrás por Budó y Ketskeméty¹⁷ para la misma geometría de detección, y similar a los obtenidos por otros autores para otras geometrías.^{18,19} Sin embargo, en aquellos reportes no se ha aplicado de manera explícita este factor para la predicción de espectros y su posterior comparación con los espectros obtenidos experimentalmente.

Cálculo de espectros y de rendimientos cuánticos de fluorescencia usando el DRM. Para establecer una comparación apropiada entre el espectro de emisión experimental, $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$, y el espectro de emisión calculado, $L_{p,\Omega_x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$, debe realizarse una aproximación con respecto al

ángulo sólido de colección de fotones, $\Omega_{det}(x)$. En principio, $\Omega_{det}(x)$ depende de la posición desde la cual se genera la emisión dentro de la celda. Sin embargo, se puede establecer $\Omega_{det}(x) \approx \Omega_{det}$ que se sustenta por las condiciones de medida experimentales. Estas condiciones indican que el paso óptico utilizado de $D = 0,2$ cm es apreciablemente menor que la distancia desde la celda hasta a la lente óptica de detección de 5 cm. Por lo tanto, las variaciones de ángulo sólido con respecto a la posición son mínimas, lo que permite el uso de $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$ en lugar de $L_{p,\Omega x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$ en la Ecuación 3.6.

Para realizar el cálculo de un espectro de emisión afectado por reabsorción usando el DRM se debe proceder de la siguiente manera: (a) se debe seleccionar un espectro de emisión de una muestra diluida, $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C_0)$; (b) este espectro se debe dividir por $f_x(\lambda_0, C_0) = (1 - e^{-\epsilon'(\lambda_0) \cdot C_0 \cdot D})$ y multiplicar por $f_x(\lambda_0, C) = (1 - e^{-\epsilon'(\lambda_0) \cdot C \cdot D})$ para obtener $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C)$ de la concentración deseada; (c) el espectro $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C)$ se debe multiplicar por $\gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ para obtener $L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$. El cálculo total a realizar queda expresado entonces como:

$$L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C) = L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C_0) \cdot \frac{f_x(\lambda_0, C)}{f_x(\lambda_0, C_0)} \cdot \gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C) \quad 3.9$$

Para realizar el cálculo del rendimiento cuántico de fluorescencia afectado por reabsorción, $\Phi_{F,x}^{DRM}(C)$, se debe dividir la Ecuación 3.9 por $\int_{\lambda} L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C) d\lambda$ y luego integrar sobre todo el intervalo de longitudes de onda. Se obtiene entonces la siguiente ecuación:

$$\Phi_{F,x}^{DRM}(C) = \Phi_F [1 - P_{0,x}^{DRM}(\lambda_0, C)] \quad 3.10$$

donde $P_{0,x}^{DRM}(\lambda_0, C)$ representa la probabilidad de reabsorción de un fotón primario emitido en la dirección x , definida como:

$$P_{0,x}^{DRM}(\lambda_0, C) = \int \bar{L}_p(\lambda) \cdot [1 - \gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)] d\lambda \quad 3.11$$

La Ecuación 3.11 es similar a la reportada por Birks tiempo atrás pero difiere en el procedimiento por el cual $P_{0,x}^{DRM}(\lambda_0, C)$ es calculado.¹⁴ Una vez obtenidos los valores de $\Phi_{F,x}^{DRM}(C)$, deben compararse con los valores de $\Phi_{F,x}^{obs}(C)$ para corroborar si el modelo reproduce o no los resultados experimentales.

3.3 Análisis e interpretación de la fluorescencia de muestras con gran absorbancia

A continuación se presentan dos ejemplos en los que se utiliza el DRM para analizar e interpretar los resultados experimentales. Los sistemas estudiados fueron soluciones de: a) 9,10-difenilantraceno (DPA) en tolueno y, b) quinina bisulfato (QBS) en ácido sulfúrico. En ambos casos los estudios se realizaron en un amplio intervalo de concentraciones desde soluciones diluidas con muy baja absorción hasta el límite de solubilidad. Se estudiaron tanto los espectros de emisión como los rendimientos cuánticos de fluorescencia, buscando evaluar la aplicabilidad del DRM, como así también su alcance y limitaciones.

3.3.1 Caso A: Soluciones de 9,10-difenilantraceno (DPA) en tolueno

El DPA es un colorante de la familia de los antracenos, cuya sustitución con anillos bencénicos en las posiciones 9 y 10 le confieren un Φ_F cercano a la unidad en solución de tolueno desgasificado.²⁰ Presenta también una apreciable superposición entre los espectros de absorción y emisión, como se observa en la Figura 3.4. Este solapamientopectral es la causa de la aparición de efectos de filtro interno significativos en soluciones suficientemente concentradas.²¹ Por otra parte, no presenta eventos de autoextinción (*self-quenching*) ni agregación en un amplio intervalo de concentraciones que va desde soluciones diluidas hasta el límite de la

solubilidad.³ Todas estas características lo convierten en un excelente candidato para evaluar la viabilidad del DRM en la reproducción de espectros experimentales afectados por reabsorción, como se verá en los experimentos que se presentan a continuación.

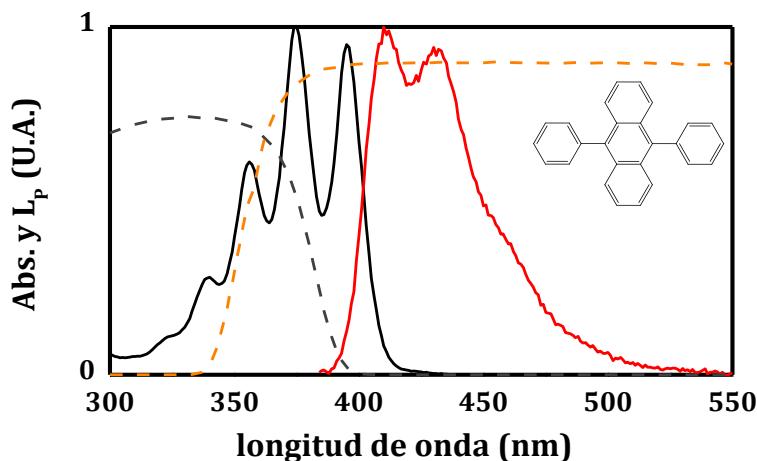


Figura 3.4: Espectros de absorción (negro) y fluorescencia (rojo) normalizados, para una solución de DPA $3,23 \times 10^{-5}$ M en solución aireada de tolueno. Transmitancia de los filtros ópticos UG11 (líneas punteadas grises) y WG360 (líneas punteadas naranjas) utilizados para las medidas.

Se obtuvieron experimentalmente los espectros de absorción de diferentes soluciones de DPA en tolueno sin desgasificar, en un intervalo de concentraciones que va desde $1,12 \times 10^{-5}$ hasta $1,30 \times 10^{-2}$ M. En la Figura 3.5 se muestran los valores de $f_x(\lambda, C)$, obtenidos para cada concentración en función de la longitud de onda.

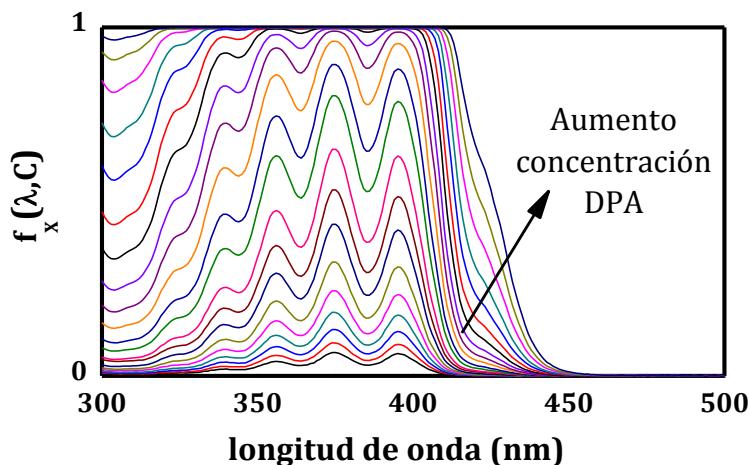


Figura 3.5: Factor de absorción de soluciones de DPA en tolueno sin desgasificar, para concentraciones que van desde $1,12 \times 10^{-5}$ hasta $1,30 \times 10^{-2}$ M.

Se puede observar que, para concentraciones mayores a $2,22 \times 10^{-3}$ M, el factor de absorción a $\lambda_{exc} = 350$ nm toma el valor unitario, indicando una absorción total de la luz para el paso óptico utilizado de 0,2 cm. En estas condiciones es de esperar que los espectros de fluorescencia de las muestras sean iguales, tanto en forma como en intensidad, siempre que no se verifiquen efectos de filtro interno o algún otro fenómeno de naturaleza fotofísica o fotoquímica. Veremos a continuación la validez de esta afirmación.

Los espectros de fluorescencia en estado estacionario del mismo conjunto de soluciones, obtenidas por excitación a 350 nm, se muestran en la Figura 3.6. Se puede observar que la intensidad de emisión se incrementa a medida que la concentración aumenta, alcanzando un máximo para concentraciones por encima de $2,22 \times 10^{-3}$ M. Por otra parte, la forma del espectro cambia en el lado azul. Estos cambios se producen en la región de solapamiento entre los espectros de absorción y emisión, y pueden ser atribuidos al efecto de la reabsorción. En el caso de que la luz reabsorbida fuese eventualmente reemitiada y detectada, los cambios en el lado azul del espectro debiesen ser acompañados por cambios proporcionales en el lado rojo. En el presente caso no se observa este fenómeno, indicando que la luz reemitiada, de existir, no es detectable en esta configuración.

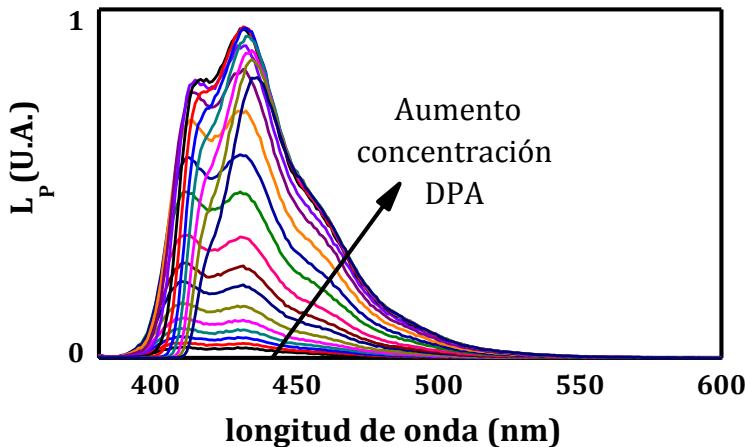


Figura 3.6: Espectros de fluorescencia de soluciones sin desgasificar de DPA en tolueno, para concentraciones que van desde $1,12 \times 10^{-5}$ hasta $1,30 \times 10^{-2}$ M. ($\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm)

Se obtuvieron los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados, relativos a una solución diluida, para una longitud de onda de emisión fija $\lambda_F = 460$ nm, $\Phi_{F,x,\lambda_F}^{\text{obs,R}}(C)$, por medio de la Ecuación 2.3 del Capítulo 2. Se utilizó como referencia la solución de concentración $C_0 = 1,12 \times 10^{-5}$ M. Los valores obtenidos para cada concentración se presentan en la Figura 3.7. Se observa que $\Phi_{F,x,\lambda_F}^{\text{obs}}(C)$ permanece constante en todo el intervalo de concentraciones. Esta observación indica que, ante la ausencia de eventos fotofísicos y fotoquímicos, el rendimiento cuántico de fluorescencia se mantiene constante cuando se calcula a una longitud de onda donde la reabsorción es despreciable. La emisión del DPA a 460 nm no se ve afectada por reabsorción porque la absorbancia a esa longitud de onda no es significativa, incluso para las concentraciones más altas.

En la Figura 3.7 se muestran también los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados, relativos a una solución diluida, y calculados mediante la integración de los espectros de emisión, $\Phi_{F,x}^{\text{obs,R}}(C)$, a partir de la Ecuación 2.3 del Capítulo 2. Se observa que $\Phi_{F,x}^{\text{obs,R}}(C)$ decrece cuando la concentración aumenta. La disminución de la emisión total es causada, en este caso, por la reabsorción.

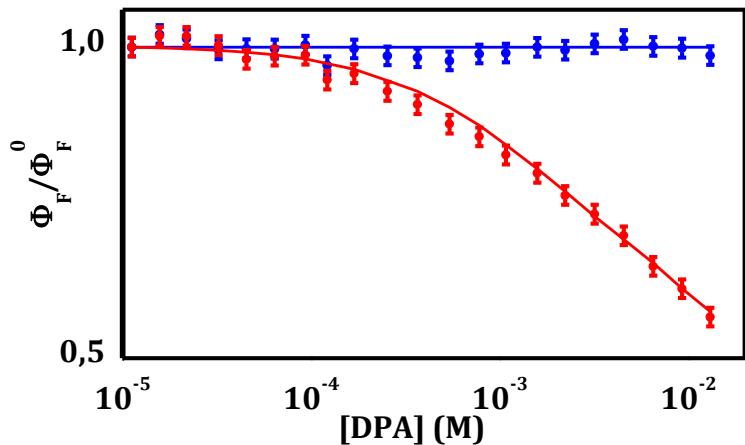


Figura 3.7: $\Phi_{obs,F,\lambda F}$ (puntos azules), $\Phi_{obs,F,x}$ (puntos rojos), Φ_F (línea azul), $\Phi_{DRM,F,x}$ (línea roja) para soluciones sin desgasificar de DPA en tolueno de concentraciones entre $1,12 \times 10^{-5}$ a $1,30 \times 10^{-2}$ M. Las magnitudes graficadas son todas relativas a la concentración $1,12 \times 10^{-5}$ M.

Con el propósito de realizar una descripción cuantitativa de los efectos de la reabsorción sobre los espectros y los rendimientos cuánticos de fluorescencia, se calculó $\gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ para todo el intervalo de concentraciones, por medio de la Ecuación 3.8. La Figura 3.8 muestra las funciones obtenidas para algunas concentraciones seleccionadas, como así también el espectro de emisión normalizado de una solución de DPA de concentración $1,12 \times 10^{-5}$ M. Esta solución constituye la muestra de mayor concentración para la cual la reabsorción no es significativa, siendo $P_{0,x}^{DRM} = 0,015$.

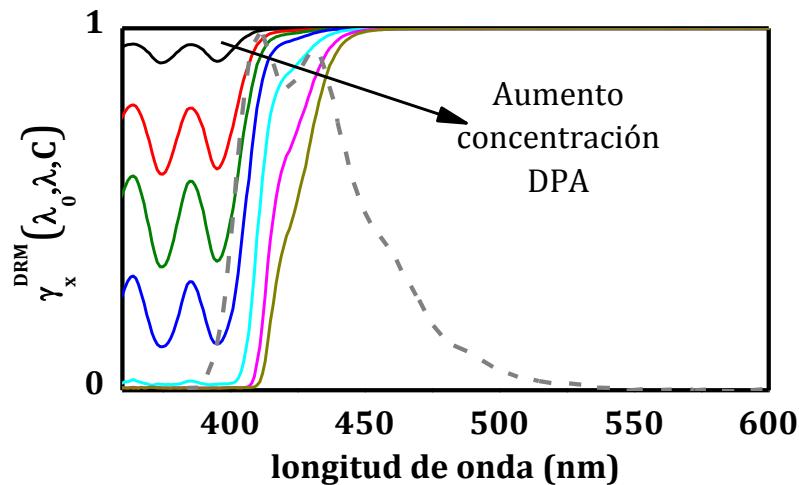


Figura 3.8: $\gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ en función de la longitud de onda de emisión para soluciones de DPA en tolueno de $3,23 \times 10^{-5}$ M, $1,69 \times 10^{-4}$ M, $3,66 \times 10^{-4}$ M, $7,77 \times 10^{-4}$ M, $2,22 \times 10^{-3}$ M, $6,49 \times 10^{-3}$ M, $1,30 \times 10^{-2}$ M. Se agrega el espectro de emisión normalizado del DPA en tolueno de $3,23 \times 10^{-5}$ M (línea rayada gris).

Las funciones $\gamma_x^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ fueron utilizadas para el cálculo de los espectros y los rendimientos cuánticos de fluorescencia afectados por reabsorción, mediante las Ecuaciones 3.9 y 3.10, respectivamente. Las Figuras 3.7 y 3.9 muestran una excelente concordancia entre los resultados experimentales y los datos calculados. Estos resultados indican que, para todo el intervalo de concentraciones estudiado, tanto el cambio de forma de los espectros de fluorescencia como la disminución de $\Phi_{F,x}^{obs,R}(C)$ con el aumento de la concentración pueden explicarse asumiendo únicamente la presencia de efectos de filtro interno, descartando cualquier otro evento fotofísico o fotoquímico en el sistema.

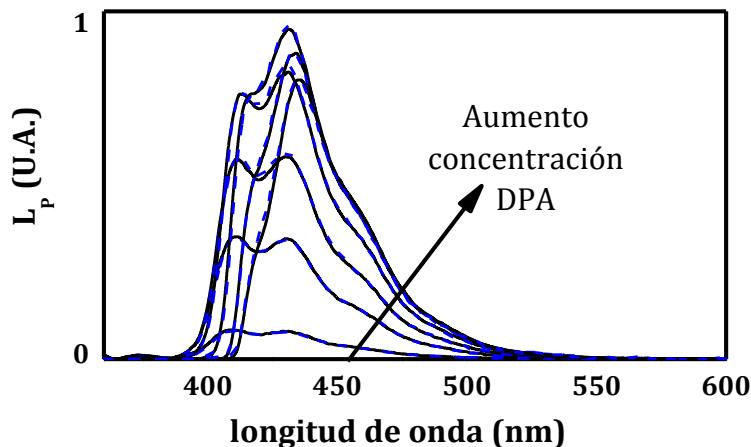


Figura 3.9: Espectros de fluorescencia experimentales (líneas sólidas negras) y calculados utilizando el DRM (líneas rayadas azules) para soluciones seleccionadas de DPA en tolueno.

3.3.2 Caso B: Soluciones de bisulfato de quinina (QBS) en ácido sulfúrico.

El QBS disuelto en ácido sulfúrico es un estándar ampliamente utilizado en fluorescencia. Presenta ciertas características que motivan su elección: (i) tiene un Φ_F relativamente alto (0,546(11)) a dilución infinita, (ii) no muestra una extinción de fluorescencia significativa debido al oxígeno disuelto, (iii) sus espectros de absorción y fluorescencia exhiben una mínima superposición, previniendo eventos de reabsorción en gran escala.

Su utilización como estándar requiere de un valor certero de rendimiento cuántico de fluorescencia. Uno de los valores más aceptados es el de 0,546(11), reportado originalmente por Melhuish²² en 1961 a partir del método absoluto de Vavilov por extrapolación a dilución infinita de la gráfica de Stern-Volmer, utilizando una constante de autoextinción en estado estacionario de $K_{SV} = 15,0 \text{ M}^{-1}$. Más recientemente, Suzuki y colaboradores han llevado a cabo una reevaluación de los valores de Φ_F y K_{SV} para este colorante utilizando un método basado en una esfera integradora. Estos autores reportaron un valor de $\Phi_F = 0,60(2)$ para una solución acuosa de concentración $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ en 0,5 M de H_2SO_4 , y una K_{SV}

de $28,5 \text{ M}^{-1}$.²³ La discrepancia entre los valores de Φ_F sugiere la necesidad de un análisis detallado de las causas. Como los valores de Φ_F se obtienen a partir de la extrapolación a dilución infinita del gráfico de Stern-Volmer usando la pendiente K_{SV} , es necesario contar con valores confiables de dicha constante.

La determinación experimental de la K_{SV} a partir de medidas de luminiscencia en estado estacionario requiere de muestras con grandes concentraciones de soluto. En este contexto es necesario considerar los efectos de filtro interno en los espectros, aun cuando éstos no sean en gran escala, para una correcta interpretación de los datos. Para tal fin, se midieron los espectros de absorción y de emisión en estado estacionario de soluciones de QBS en un amplio intervalo de concentraciones, desde $1,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ hasta $1,5 \times 10^{-1} \text{ M}$. Las medidas se realizaron utilizando la geometría de transmisión, y aplicando luego el DRM.²⁴

La Figura 3.10 muestra los espectros de absorción y emisión normalizados de una solución de QBS $1,52 \times 10^{-4} \text{ M}$. Puede observarse que existe un mínimo solapamiento entre ambos espectros. En la misma figura se muestran también las transmitancias de los filtros UG 11 y WG360 (ambos marca Schott) utilizados para las medidas. El filtro UG 11 se intercaló entre la excitación y la muestra para evitar que luz espuria alcance el detector. El filtro Schott WG360 se colocó entre la muestra y el detector para evitar que la luz de excitación, de haber atravesado la muestra, alcance el detector.

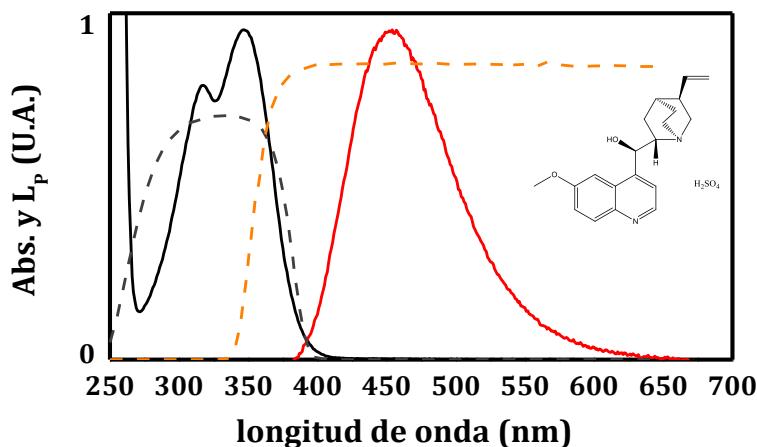


Figura 3.10: Espectros de absorción (negro) y fluorescencia (rojo) normalizados, para una solución de QBS $1,52 \times 10^{-4}$ M en H_2SO_4 0,5M. Transmitancia de los filtros ópticos UG11 (líneas punteadas grises) y WG360 (líneas punteadas naranjas) utilizados para las medidas.

La Figura 3.11 muestra los factores de absorción para todas las soluciones de QBS. Se puede observar que, para concentraciones mayores que $1,52 \times 10^{-3}$ M, alcanza el valor unitario para $\lambda_{\text{exc}} = 345$ nm, indicando la absorción total de la luz de excitación.

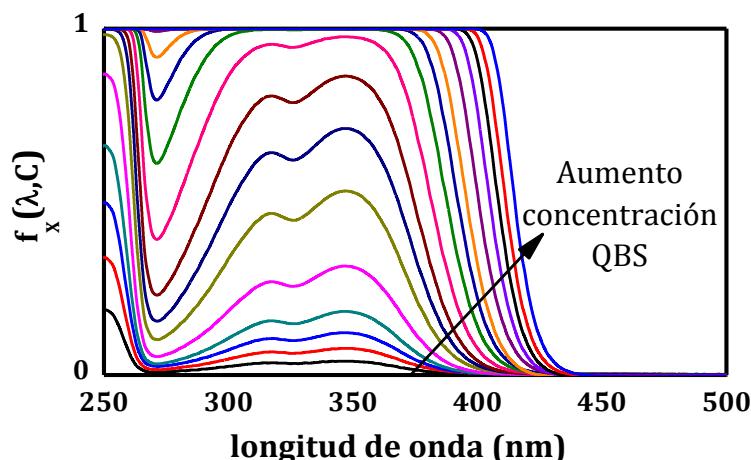


Figura 3.11: Factores de absorción de soluciones de QBS en H_2SO_4 0,5M. Las concentraciones varían entre $1,52 \times 10^{-5}$ M y $1,51 \times 10^{-1}$ M.

Los espectros de fluorescencia del mismo conjunto de soluciones se muestran en la Figura 3.12. Para concentraciones menores a $1,52 \times 10^{-3}$ M, la intensidad de emisión aumenta a medida que se incrementa el factor de absorción, como puede observarse en la Figura 3.12.a. Por otro lado, para concentraciones mayores que $1,52 \times 10^{-3}$ M, la intensidad de

emisión decrece, a pesar de que el factor de absorción alcanza su valor unitario, como puede observarse en la Figura 3.12.b. La disminución de intensidad de fluorescencia observada en este caso se debe al fenómeno de autoextinción.

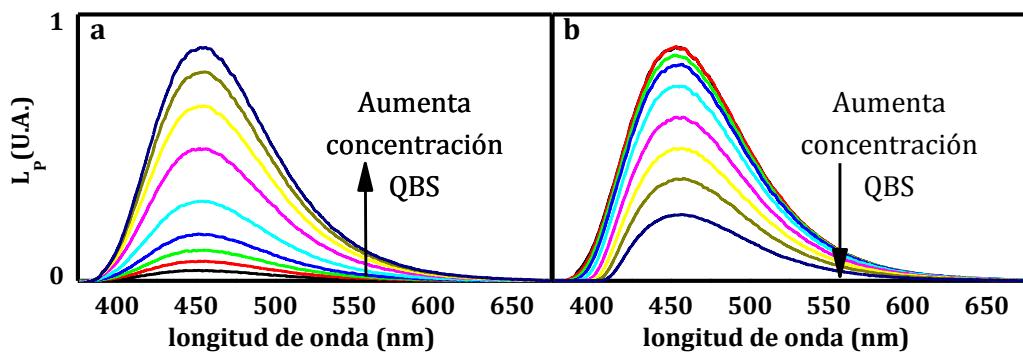


Figura 3.12: Espectros de fluorescencia experimentales de soluciones de QBS en H_2SO_4 0,5M, para concentraciones entre: a) $1,52 \times 10^{-5}$ M hasta $1,51 \times 10^{-3}$ M; b) $3,04 \times 10^{-3}$ M hasta $1,51 \times 10^{-1}$ M. El paso óptico utilizado fue de 0,2 cm.

La Figura 3.13 muestra los espectros de fluorescencia normalizados en la longitud de onda correspondiente al máximo de emisión. Para concentraciones mayores a $1,52 \times 10^{-2}$ M el espectro cambia entre las longitudes de onda 375 y 430 nm. Esta regiónpectral coincide con la región de solapamiento entre los espectros de absorción y emisión. Por lo tanto, el cambio spectral puede asignarse al fenómeno de reabsorción, a pesar de que el colorante presenta un gran corrimiento de Stokes, como fue mencionado previamente.

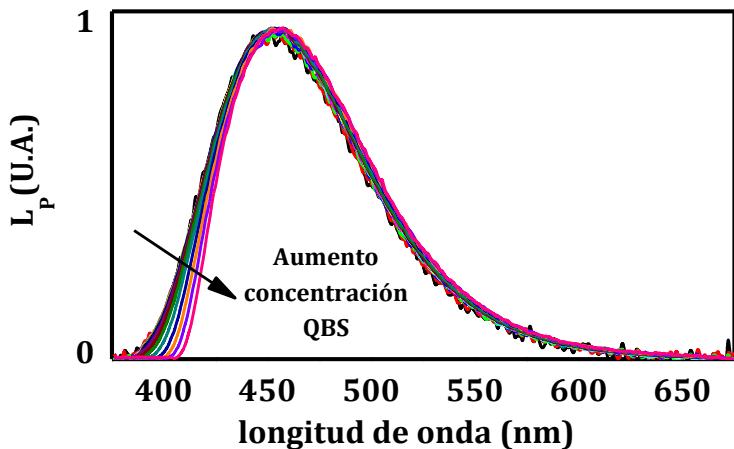


Figura 3.13: Espectros de fluorescencia normalizados de QBS en H_2SO_4 0,5M para soluciones de concentración creciente. Los cambios observados en el lado azul del espectro para concentraciones mayores que $1,52 \times 10^{-2}$ M se deben a la reabsorción. El paso óptico utilizado fue de 0,2 cm.

Se calcularon los espectros moleculares esperados para cada solución, $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C)$, y los espectros afectados por la reabsorción, $L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$. Para los cálculos se utilizaron los factores de absorción y el espectro de fluorescencia de la solución de concentración $1,52 \times 10^{-4}$ M. Esta concentración representa la máxima para la cual la porción del espectro autoextinguida resulta despreciable. La Figura 3.14 compara $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C)$, $L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ y $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$ para cuatro soluciones diferentes de QBS. Para la solución de concentración $3,04 \times 10^{-4}$ M los tres espectros coinciden, según se muestra en la Figura 3.14a. Esta solución resulta suficientemente diluida como para presentar fenómenos de reabsorción y autoextinción. Para la solución de concentración $3,04 \times 10^{-3}$ M se observa que $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C) \approx L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$, lo que sugiere la ausencia de reabsorción. Sin embargo, para la misma concentración se observa que $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C) \approx L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C) \neq L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$ indicando que ha comenzado el fenómeno de autoextinción, como se observa en la Figura 3.14b. Para concentraciones iguales o mayores que $3,04 \times 10^{-2}$ M, se observa que $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C) \neq L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ revelando la presencia de reabsorción, como se muestra en las figuras 3.14.c y 3.14.d. Las similitudes entre las formas de los espectros normalizados $L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ y $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$ sugieren la ausencia de otras especies emisoras.

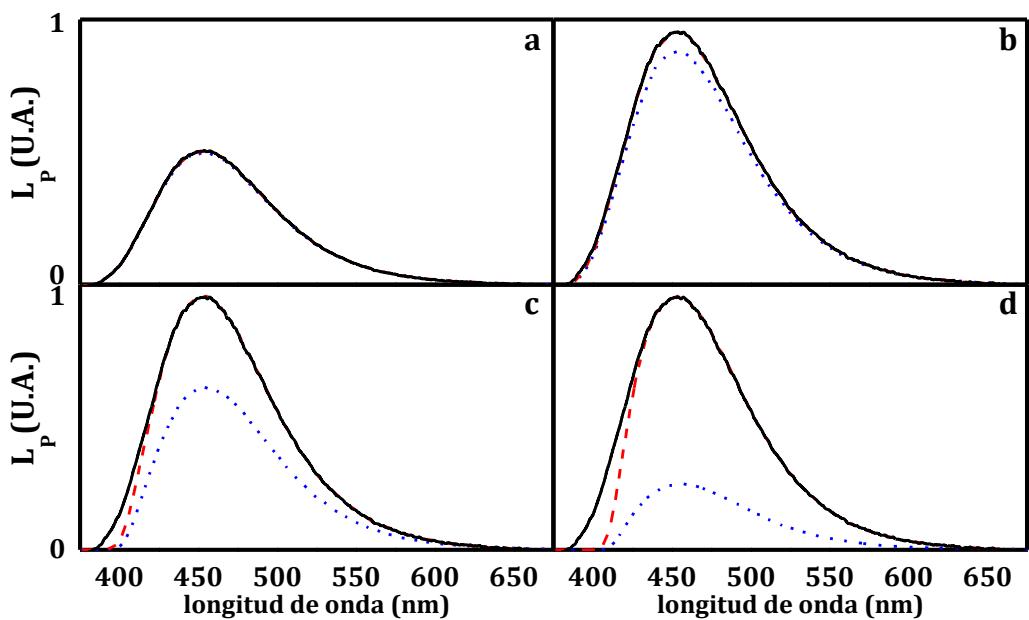


Figura 3.14: Espectros de fluorescencia moleculares calculados, $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C)$, (líneas sólidas negras), afectados por reabsorción, $L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$, (líneas rayadas rojas) y observados, $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$, (líneas punteadas azules) para las concentraciones: a) $3,04 \times 10^{-4}$ M, b) $3,04 \times 10^{-3}$ M; c) $3,04 \times 10^{-2}$ M y d) $1,52 \times 10^{-1}$ M.

La K_{SV} se obtuvo a partir de pendiente del gráfico de $\Phi^{DRM}_{F,x}/\Phi^{obs}_{F,x}$ vs. C.
La relación $\Phi^{DRM}_{F,x}/\Phi^{obs}_{F,x}$ se calculó como:

$$\frac{\Phi_{F,x}^{DRM}(C)}{\Phi_{F,x}^{obs}(C)} = \frac{\int_{\lambda} L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C) d\lambda}{\int_{\lambda} L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C) d\lambda} \quad 3.12$$

donde las integrales se realizaron sobre todo el intervalo de longitudes de onda de emisión. La Figura 3.15 muestra el gráfico citado. De la pendiente se obtiene $K_{SV} = 18,4(1) \text{ M}^{-1}$. Por otro lado, si se grafica $\Phi^{obs}_{F,x}(C_0)/\Phi^{obs}_{F,x}(C)$, es decir sin tener en cuenta los efectos de la reabsorción, se obtiene una $K_{SV} = 19,9(2) \text{ M}^{-1}$.

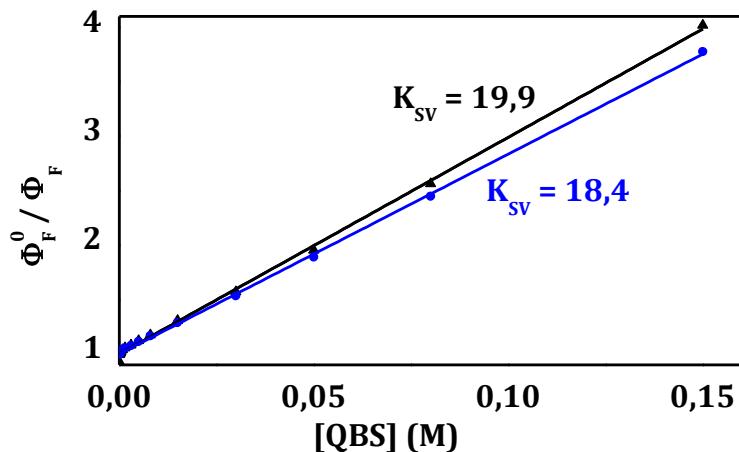


Figura 3.15: Gráficos de Stern-Volmer. $\Phi_{F,x}^{obs}(C_0)/\Phi_{F,x}^{obs}(C)$ vs. C (triángulos negros) y $\Phi_{F,x}^{DRM}(C)/\Phi_{F,x}^{obs}(C)$ vs. C (círculos azules). Las líneas continuas se corresponden con el ajuste lineal de los datos.

La disminución de la intensidad espectral en el lado azul del espectro al aumentar la concentración, efecto observado en la Figura 3.13, provoca un cambio en la pendiente del gráfico de Stern-Volmer comparado con el caso donde no se considera dicho fenómeno.

La K_{sv} obtenida en este estudio es similar a la reportada por Melhuish ($K_{sv} = 15,0 \text{ M}^{-1}$) tiempo atrás.²² Por otra parte, contrasta con el valor reportado más recientemente por Suzuki y colaboradores ($K_{sv} = 28,5 \text{ M}^{-1}$) presentando una significativa discrepancia.²³ Una razón posible de esta discrepancia puede deberse a que los autores, en su publicación, no realizan ninguna consideración sobre el fenómeno de reabsorción aún cuando hayan utilizado una esfera integradora para las determinaciones. En el párrafo anterior se mostró que la no consideración de este fenómeno conlleva a sobreestimaciones del valor de la constante.

Mishra y colaboradores reportaron tiempo atrás una $K_{sv} = 19 \text{ M}^{-1}$ que coincide con el valor obtenido en esta tesis.²⁵ En este caso, el valor reportado surge de utilizar los tiempos de vida obtenidos de los decaimientos temporales de la fluorescencia, los cuales no se modifican por la presencia de eventos de reabsorción.

3.4 Conclusiones

En este capítulo se presentó una nueva metodología para la interpretación de espectros y de rendimientos cuánticos de fluorescencia afectados por el fenómeno de reabsorción. La metodología incluye: a) la medida experimental de los espectros de fluorescencia en una configuración de transmisión con un paso óptico pequeño y, b) el desarrollo de un modelo fenomenológico (DRM) para una descripción cuantitativa del fenómeno de reabsorción.

La aplicación de esta metodología permitió estudiar dos sistemas con características diferentes. Las soluciones de DPA en tolueno mostraron cambios espectrales y una disminución del rendimiento cuántico de fluorescencia observado con la concentración. Ambos fenómenos pudieron ser cuantitativamente descriptos por el DRM. Este experimento muestra la excelente capacidad de reproducción del fenómeno de reabsorción por parte del DRM, a la luz de que el DPA no presenta fenómenos de agregación, tanto en el estado fundamental como en el estado excitado, ni tampoco autoextinción de la fluorescencia en todo el intervalo de concentraciones estudiado. Por otra parte, las soluciones de QBS presentan un fenómeno de autoextinción de la fluorescencia a medida que aumenta la concentración. Este fenómeno obedece a procesos difusionales mostrando una funcionalidad lineal en un gráfico de Stern-Volmer. La pendiente de este gráfico depende de considerar o no la reabsorción. Mediante el uso del DRM fue posible determinar de manera certera la constante de Stern-Volmer para este proceso. Esto presenta un aporte significativo a la literatura pensando en la utilización de dicha constante para establecer el rendimiento cuántico de fluorescencia, por extrapolación a dilución infinita, de este estándar de fluorescencia.

Los sistemas estudiados en este capítulo constituyen sólo dos ejemplos de la potencialidad de uso de la técnica y el modelo para describir

cuantitativamente los efectos de la reabsorción. La técnica cobrará de vital importancia en los capítulos siguientes, donde se utilizará para el estudio de LIFs, considerando la gran concentración de fluoróforos que presentan estos materiales. Se verá entonces que, cuando el DRM no sea capaz de describir el comportamiento espectral y los cambios en los rendimientos cuánticos de fluorescencia, será necesario contemplar la presencia de algún fenómeno fisicoquímico o fotoquímico para explicar los resultados obtenidos.

3.5 Referencias

- ¹ Würth C., Grabolle M., Pauli J., Spieles M., Resch-Genger U. **(2013)** Relative and absolute determination of fluorescence quantum yields of transparent samples. *Nat Protoc.* 8, 1535 – 1550.
- ² Miller, J. **(1981)** Chapter 5 – Inner filter effects, sample cells and their geometry in fluorescence spectrometry. En: Miller, J. (ed.) Standards in Fluorescence Spectrometry. *Springer, Netherlands*, 27 – 43.
- ³ Birks J. **(1976)** Fluorescence quantum yield measurements *J. Res. Natl Bur. Stand. A* 10, 389 – 399.
- ⁴ Wawilow S. (1925) Die Auslöschung der Fluoreszenz von Farbstofflösungen bei großen Konzentrationen. *Z. Physik*, 31, 750 – 764.
- ⁵ Budó A., Dombi J., Szöllösy L. **(1956)** Über die Bestimmung der absoluten Quantenausbeute fluoreszierender Lösungen. *Acta Phys. Chem. Szeged.* 2, 18 – 27.
- ⁶ Weber, G., Teale, F. **(1957)** Fluorescence excitation spectrum of organic compounds in solution. Part 1. Systems with quantum yield independent of the exciting wavelength. *Trans. Faraday Soc.* 53, 646 – 655.
- ⁷ Parker, C., Rees, W. **(1960)** Correction of fluorescence spectra and measurement of fluorescence quantum efficiency. *Analyst.* 85, 587 – 600.
- ⁸ Holland, J., Teets, R., Kelly, P., Timnick, A. **(1977)** Correction of Right-Angle Fluorescence Measurements for the Absorption of Excitation Radiation. *Anal. Chem.* 49, 706 – 710.

⁹ Lutz, H., Luisi, P., **(1983)** Correction for Inner Filter Effects in Fluorescence Spectroscopy. *Helv. Chim. Acta* 66, 1929 – 1935.

¹⁰ Kubista, M., Sjöback, R., Eriksson, S., Albinsson, B. **(1994)** Experimental correction for the inner-filter effect in fluorescence spectra *Analyst* 119, 417 – 419.

¹¹ MacDonald, B., Lvin, S., Patterson, H. **(1997)** Correction of fluorescence inner filter effects and the partitioning of pyrene to dissolved organic carbon *Anal. Chim. Acta* 338, 155 – 162.

¹² Nunes Pereira E., Berberan-Santos M., Martinho J. **(1996)** Molecular radiative transport: II. Monte Carlo simulation *J. Chem. Phys.* 104, 8950 – 8965.

¹³ Parker, C. A. Photoluminescence of solutions; Elsevier: London, 1968.

¹⁴ Birks, J. B. Photophysics of aromatic molecules, 1st ed.; John Wiley & Sons Ltd: London, 1970.

¹⁵ Krimer, N., Rodrigues, D., Rodríguez, H., Mirenda, M. **(2017)** Steady-state Fluorescence of Highly Absorbing Samples in Transmission Geometry: a Simplified Quantitative Approach Considering Reabsorption Events. *Anal. Chem.* 89, 640 – 647.

¹⁶ Braslavsky, S. **(2007)** Glossary of terms used in photochemistry, 3rd edition (IUPAC Recommendations 2006) *Pure Appl. Chem.* 79, 293 – 465.

¹⁷ Budó, A., Ketskeméty, I. **(1957)** Über den einfluss der sekundärfloreszenz auf die emissionsspektren fluoreszierender lösungen. *Acta Phys. Acad. Sci. Hung.* 7, 207 – 223.

¹⁸ Rohatgi, K., Singhal, G. (**1968**) A method for the correction of quantum yields of fluorescence in solutions. *Photochem. Photobiol.* 7, 361 – 367.

¹⁹ Lopez Arbeloa, I. (**1980**) Fluorescence quantum yield evaluation: corrections for re-absorption and re-emission *J. Photochem.* 14, 97 – 105.

²⁰ Heinrich, G., Schoof, S., Gusten, H. (**1974**) 9,10-Diphenylanthracene as a fluorescence quantum yield standard. *J. Photochem.* 3, 315 – 320.

²¹ Martinho, J., Macanita, A., Berberán-Santos, M. (**1989**) The effect of radiative transport on fluorescence emission. *J Chem. Phys.* 90, 53 – 59.

²² Melhuish W. (**1961**) Quantum efficiencies of fluorescence of organic substances: effect of solvent and concentration of the fluorescent solute. *J. Phys. Chem.* 65, 229 – 235.

²³ Suzuki K., Kobayashi A., Kaneko S., Takehira K., Yoshihara T., Ishida H., Shiina Y., Oishi S., Tobita S. (**2009**) Reevaluation of absolute luminescence quantum yields of standard solutions using a spectrometer with an integrating sphere and a back thinned CCD detector. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 11, 9850 – 9860.

²⁴ Krimer, N., Mirenda, M. (**2017**) Re-evaluation of the steady-state self-quenching constant of quinine bisulfate from fluorescence measurements in transmission geometry. *Methods Appl. Fluoresc.* 5, 034001.

²⁵ Mishra H., Pant D., Pant T., Tripathi H. (**2006**) Edge excitation red shift and energy migration in quinine bisulphate dication. *J. Photochem. Photobiol. A.* 177, 197 – 204.

Capítulo 4: Propiedades fotofísicas del anión tosilato en solución y como parte de un líquido iónico

4.1. Introducción

El diseño y desarrollo de materiales que contengan una elevada concentración de moléculas fluorescentes constituye un desafío tecnológico y científico.^{1,2} En general, una elevada concentración de fluoróforos dispuestos al azar en un material da como resultado el surgimiento de eventos de desactivación no radiativos del estado excitado, frecuentemente asociados a la presencia de agregados moleculares o trampas de energía.³ Estas especies provocan una degradación de la energía de excitación, generalmente mediante disipaciones térmicas, con la consecuente pérdida de eficiencia del material.

Los LIIs constituyen un medio conveniente en vistas de alcanzar elevadas concentraciones de fluoróforos con un control de los procesos de agregación y formación de trampas. Los iones de su estructura pueden usarse, *a priori*, para modular la agregación entre entidades moleculares con la misma carga eléctrica. Además, la selección adecuada de los sustituyentes químicos de los iones orgánicos pueden dar lugar a posibles estrategias para controlar la distancia, orientación y agregación de las moléculas cargadas de manera similar a como se observa en líquidos orgánicos moleculares.^{4,5}

En este capítulo se estudiará el comportamiento fotofísico y fisicoquímico del anión p-toluensulfonato, también llamado tosilato (Tos), tanto en solución acuosa o formando parte constitutiva de un LI. La razón de la elección del Tos para los estudios obedece principalmente a tres motivos: a) el grupo sulfonato, portador de la carga negativa, no depende significativamente del pH en el intervalo de concentraciones estudiado; b)

la semejanza en estructura química que presenta con respecto a su molécula análoga no cargada, el tolueno, provee de un marco conceptual de partida para el estudio de sus propiedades fotofísicas; y c) la proporción de electrones π con respecto al número de electrones totales en su molécula favorece la interacción con las partículas α y β para generar estados excitados moleculares con posterior emisión radiofluorescente. Los estudios desarrollados en este capítulo permitirán obtener información significante sobre los procesos de agregación y las vías de desactivación que aparecen con el incremento de la concentración. Esta información resultará de vital importancia para la constitución de los LIs de diseño, que serán preparados con elevadas concentraciones del citado fluoróforo.

4.2. Fotofísica del NaTos en solución acuosa

A continuación se mostrarán los resultados obtenidos en los experimentos de fluorescencia para el NaTos disuelto en agua. En primer lugar se presentan los resultados en el régimen de concentración diluido, que permiten la caracterización fotofísica del monómero. Posteriormente se mostrarán los resultados que se obtuvieron al aumentar la concentración, conjuntamente con los modelos utilizados para su interpretación.

4.2.1. Régimen diluido

La figura 4.1 muestra los espectros de absorción y de fluorescencia normalizados, obtenidos de una solución de NaTos en agua de concentración $1,3 \times 10^{-4}$ M. La banda de absorción entre 240 y 280 nm presenta un $\epsilon(\lambda_{\text{Máx}} = 260 \text{ nm}) = 353 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Esta banda corresponde a una transición prohibida del tipo ${}^1\text{A}_g \leftarrow {}^1\text{B}_{2u}$, observable también en el benceno y sus derivados p-disubstituidos.⁶ El espectro de emisión, obtenido por excitación a 260 nm, presenta un máximo en 285 nm y un solapamiento parcial con el espectro de absorción.

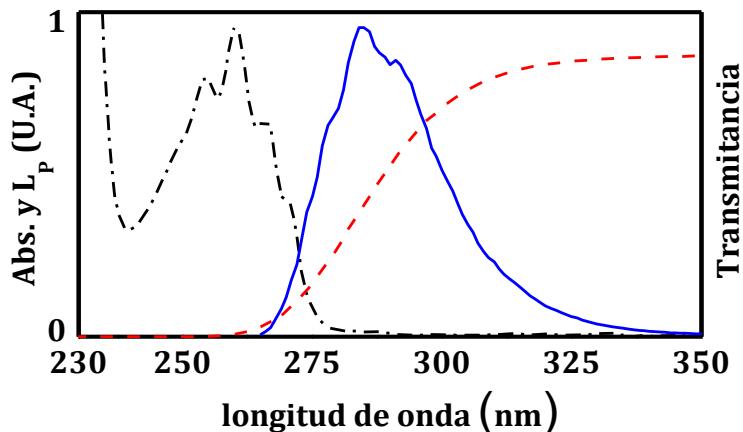


Figura 4.1. Espectro de absorción (línea negra de puntos y rayas) y de emisión (línea azul llena, $\lambda_{\text{exc}} = 260 \text{ nm}$) normalizados, de una solución acuosa de NaTos de concentración $1,3 \times 10^{-4} \text{ M}$. Se incluye la transmitancia del filtro WG 280 (línea roja a rayas) interpuesto entre la muestra y el detector en las medidas de fluorescencia realizadas en modo transmisión.

El rendimiento cuántico de fluorescencia de esta solución se determinó experimentalmente mediante el uso de la Ecuación 2.4 del Capítulo 2. Se obtuvo un valor de $\Phi_{\text{FM}}^0 = 0,055(5)$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, relativo a una solución de tolueno en ciclohexano desgasificado. En la Tabla 4.1 se presentan las magnitudes utilizadas para el cálculo.

	Tolueno en ciclohexano	NaTos en agua
η_D	1,423(1)	1,332(1)
L_p (u. a.)	3895(12)	2125(12)
F_X	0,0817(2)	0,0964(2)
Φ_F	0,17(1)	0,055(5)

Tabla 4.1: Magnitudes experimentales utilizadas para el cálculo del Φ_F del NaTos en agua. η_D es el índice de refracción, F_X es la fracción de luz absorbida a $\lambda_{\text{exc}} = 260 \text{ nm}$ y L_p es la irradiancia espectral de fotones emitidos, obtenida por integración del espectro de emisión.

El tiempo de vida obtenido para la misma solución fue de $\tau_M = 4,1(1) \text{ ns}$. A partir de este resultado se obtuvo un valor para la constante de decaimiento del estado excitado de $k_M = 2,39(6) \times 10^8 \text{ s}^{-1}$, según la Ecuación 1.3 del Capítulo 1.

La Ecuación 1.4 del Capítulo 1 muestra una dependencia lineal entre Φ_{FM} y τ_M , donde la constante de proporcionalidad es k_{FM} . En general, k_{FM} es independiente de la temperatura y puede obtenerse con precisión determinando Φ_{FM} y τ_M para diferentes temperaturas. La Figura 4.2a muestra los decaimientos temporales de la fluorescencia de una solución de NaTos $1,3 \times 10^{-4}$ M en agua para diferentes temperaturas. Se observa claramente una disminución del tiempo de vida al aumentar la temperatura. En la Figura 4.2b se observa la relación lineal prevista entre los valores de Φ_{FM} y los valores de τ_M , obtenidos para el intervalo de temperaturas comprendido entre 25 y 85 °C. La relación lineal entre estas dos variables verifica que k_{FM} es independiente de la temperatura. A partir de la pendiente del ajuste lineal realizado se obtuvo un valor de $k_{FM} = 1,53(1) \times 10^7$ s⁻¹.

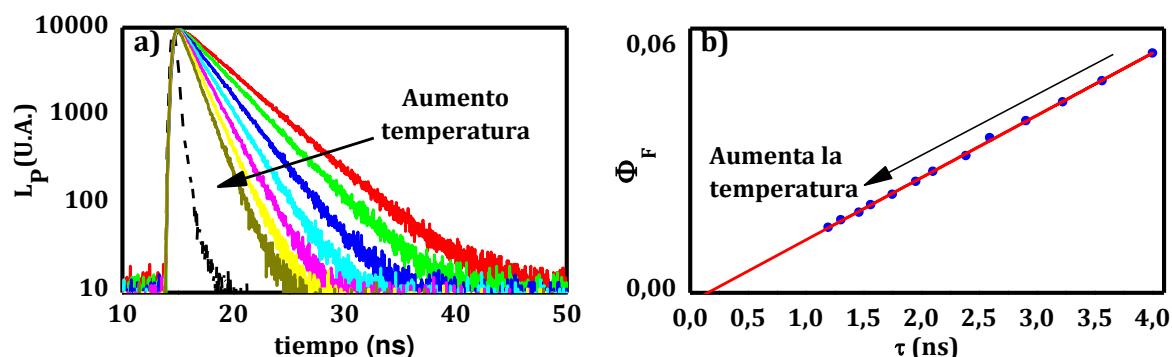


Figure 4.2: a) Decaimientos temporales de la fluorescencia, obtenidos para una solución acuosa de NaTos de concentración $1,3 \times 10^{-4}$ M en un intervalo de temperaturas comprendido entre 25 y 85 °C cada 5 °C; b) Φ_{FM} vs. τ_M , para el mismo intervalo de temperaturas. La línea sólida roja indica el ajuste lineal a partir de la cual se obtuvo el valor de k_{FM} .

Al ser k_{FM} independiente de la temperatura, los cambios en k_M con dicha variable pueden adjudicarse de los cambios en k_{IM} . La dependencia de Φ_{FM}^0 con la temperatura puede observarse en la Figura 4.3.

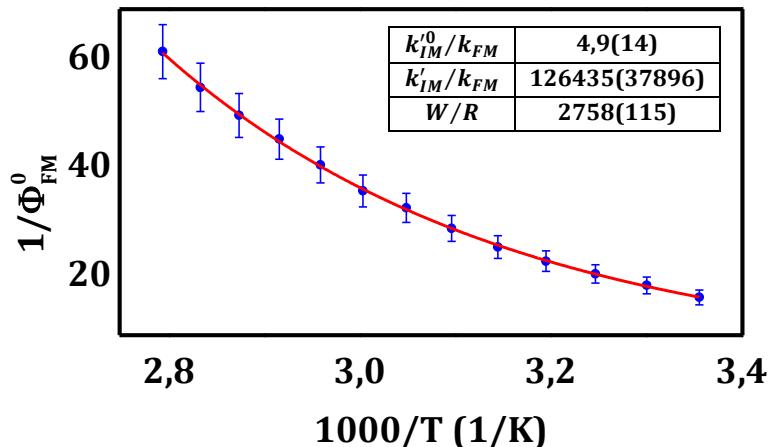


Figure 4.3: $1/\Phi_0^0$ vs. $1/T$ para una solución acuosa de NaTos de concentración $1,3 \times 10^{-4}$ M en un intervalo de temperaturas comprendido entre 25 y 85 °C.

La funcionalidad observada puede describirse mediante la siguiente ecuación:⁷

$$\frac{1}{\Phi_0^0} = \frac{k_M}{k_{FM}} = 1 + \frac{k'^0_{IM}}{k_{FM}} + \frac{k'_{IM}}{k_{FM}} \times e^{-\frac{W_{IM}}{RT}} \quad 4.1$$

donde k'^0_{IM} y k'_{IM} son las contribuciones a k_{IM} independientes de la temperatura, y W_{IM} es la energía de activación asociada al proceso de desactivación. El valor de $W_{IM} = 23(1)$ kJ/mol obtenido aquí será luego utilizado para comparar los resultados de las siguientes secciones.

4.2.2. Dependencia con la concentración

4.2.2.1. Fluorescencia en el estado estacionario

La Figura 4.4 muestra los espectros de fluorescencia en el estado estacionario del NaTos en agua, divididos por el factor de absorción, en función de la concentración, a 25 °C. Se observa que, a medida que aumenta la concentración, la intensidad del espectro inicial disminuye y aparece una nueva banda fluorescente con un máximo en 314 nm. La presencia de un punto isoemisivo a 310 nm, si bien no

es determinante, sugiere la presencia de sólo dos especies fluorescentes. Puede considerarse entonces que, a medida que decrece la emisión del monómero, aparece la emisión de una segunda especie. A su vez, puede observarse que el lado azul de los espectros de emisión cambia, producto de la reabsorción.

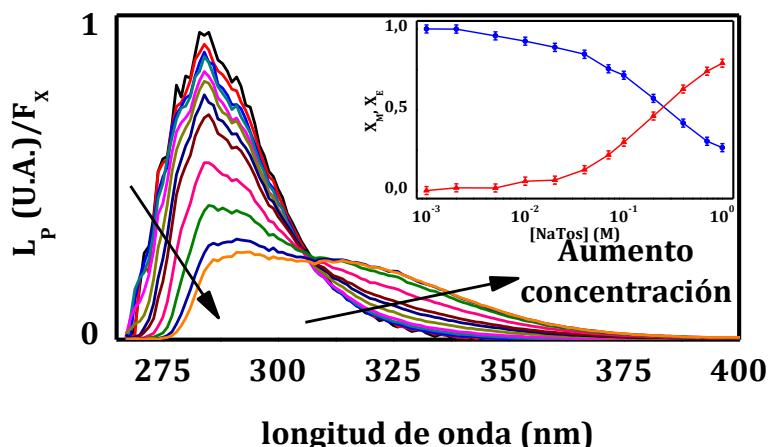


Figure 4.4: Espectros de fluorescencia, divididos por el factor de absorción, de soluciones de NaTos en agua de concentración creciente desde 0,001 M hasta 1 M. Inset: fracción espectral de monómero (X_M , línea sólida azul) y excímero (X_E , línea sólida roja) como resultado de la deconvolución de los espectros obtenidos.

Los cambios en los espectros de fluorescencia no se correlacionan con cambios en los espectros de absorción. La Figura 4.5 muestra que los espectros de absorción permanecen invariantes en función de la concentración, indicando la ausencia de agregados en el estado fundamental, por lo menos desde el punto de vista espectroscópico. Por lo tanto, los cambios observados en los espectros de fluorescencia podrían asignarse en principio a la formación de excímeros. Pierola y Palacios han reportado ya previamente en forma cualitativa la formación de excímeros en agua, tanto para el ácido p-toluenulfónico (HTos) como para el tosilato de 1-etil-3-metilimidazolio (EMImTos).⁸ Este mismo comportamiento también se observa para eltolueno disuelto en ciclohexano a temperaturas más bajas.⁹

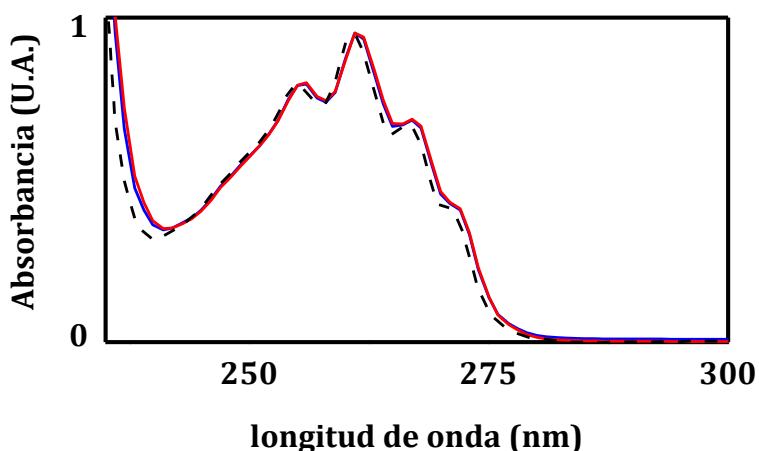


Figura 4.5: Espectros de absorción normalizados, medidos en una celda de 10 μm de paso óptico, para soluciones acuosas de NaTos de concentración 0,40 M (línea llena azul) y 0,70 M (línea llena roja). Se presenta también el espectro de absorción normalizado de una solución $1,3 \times 10^{-4}$ M (línea a rayas negras), medido en una celda de 10 mm de paso óptico.

Para describir cuantitativamente la formación de excímeros es necesario reproducir los espectros experimentales de la Figura 4.4 por una combinación lineal de los espectros de las especies puras. El espectro del monómero puro puede obtenerse sin mayores dificultades de la solución más diluida. Sin embargo, no es posible establecer el espectro del excímero de manera directa a partir del espectro de una muestra de concentración elevada. La Figura 4.6 muestra los espectros de emisión normalizados en 290 nm (el máximo de emisión del monómero) para las soluciones de NaTos en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0,4 y 1,0 M. Se observa que la formación de excímeros no es total, debido a que no se obtienen al menos dos espectros iguales. Esto ocurre a pesar de que la distancia promedio entre las moléculas de $\sim 6\text{\AA}$ (estimada para una solución 1 M a partir de la fórmula $d = 1/\sqrt[3]{Na \cdot C}$ donde Na es el número de Avogadro) es menor que la distancia promedio recorrida difusionalmente por una molécula excitada de ~ 28 \AA (estimada a partir de la expresión de Einstein-Smoluchowski $d = \sqrt{2D\tau_F}$ con $D(\text{H}_2\text{O}) = 2,6 \times 10^{-9} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ y $\tau_M = 4,1 \text{ ns}$) Este resultado sugiere la existencia

de un fenómeno adicional que impide que la formación de excímeros resulte completa.

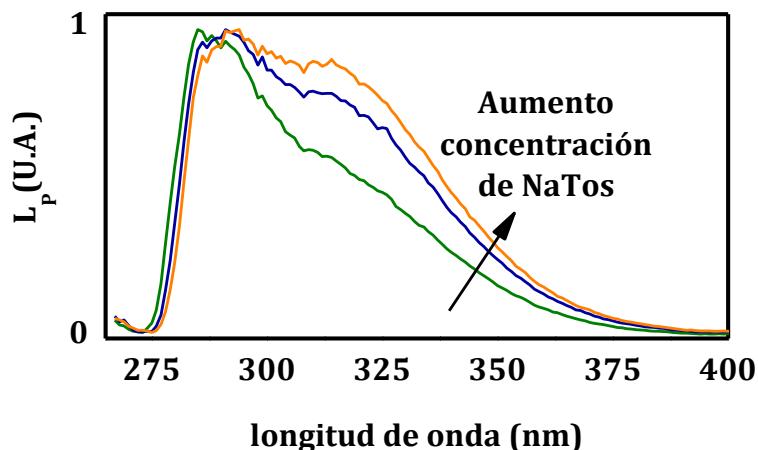


Figura 4.6: Espectros de fluorescencia normalizados de NaTos en solución acuosa 0,40 M (verde), 0,70 M (azul) y 1,00 M (amarillo).

Para la obtención del espectro de emisión del excímero puro se recurrió a la estrategia de utilizar espectro de una solución acuosa de poliestirensulfonato (PSS) de sodio en 1M de BaCl₂. En la Figura 4.7 puede observarse la semejanza que existe entre la estructura química del grupo estirensulfonato y la del tosilato. Esta similitud química, sobre todo en el grupo cromóforo, provoca que ambas especies presenten un espectro de emisión similar en solución acuosa.

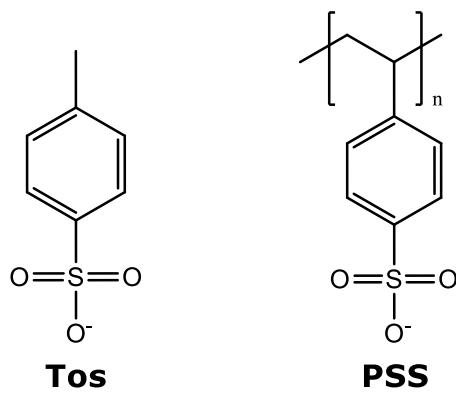


Figura 4.7: Estructura química del anión tosilato y del poliestirensulfonato.

La cercanía de los grupos tosilato dentro de la cadena del PSS provoca que algunos de ellos se encuentren suficientemente cerca como para formar excímeros. Esta condición se exacerba con el agregado de

Ba^{2+} . Este catión genera el apantallamiento de los grupos sulfonatos permitiendo el ovillado del polímero y la completa formación de excímeros.¹⁰ En la Figura 4.8 se representa el efecto del agregado de Ba^{2+} en el polímero.

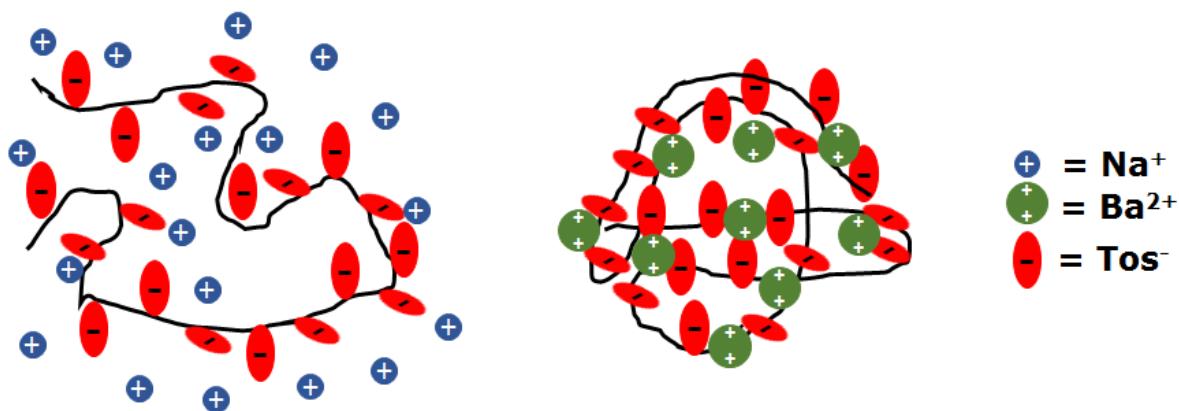


Figura 4.8: Disposición espacial esquemática que adopta el PSS en agua pura (izquierda) y en solución acuosa 1 M de BaCl_2 .

En la Figura 4.9 se observan los espectros de emisión de una solución acuosa de NaTos 1×10^{-4} M y de una solución acuosa de PSS 1×10^{-4} M, cuya concentración refiere a unidades monoméricas. El espectro de la solución de NaTos corresponde al espectro de la especie monomérica, mientras que el del PSS muestra, además del espectro de la especie monomérica, una contribuciónpectral del excímero. En la misma figura puede observarse que, al agregar una solución de Ba^{2+} , el espectro de la solución de PSS presenta una forma característica de excímero. Este espectro muestra una distribución gaussiana en energía, como se observa en la Figura 4.9b.

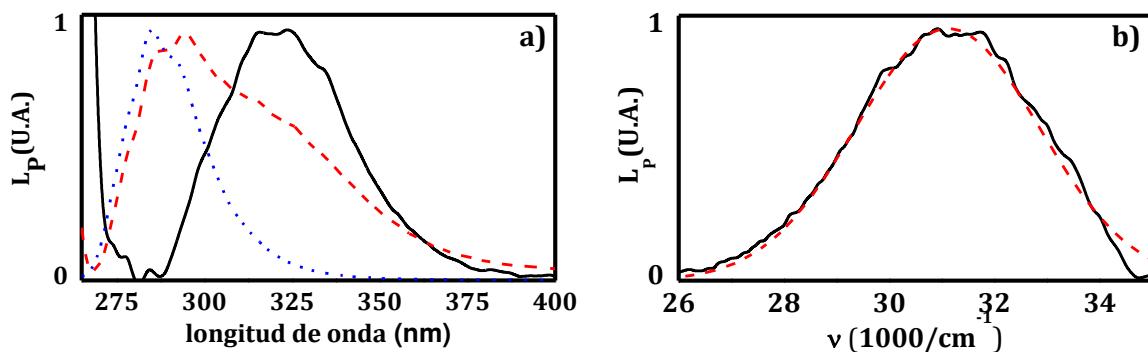


Figura 4.9: a) Espectros de fluorescencia normalizados de una solución acuosa de NaTos 1×10^{-4} M (línea punteada azul), PSSNa 1×10^{-4} M en monómeros (línea a rayas roja) y una solución acuosa de PSSNa 1×10^{-4} M en monómeros en 1 M de BaCl₂ (línea sólida negra); b) Espectro de fluorescencia normalizado de solución acuosa de poliestirensulfonato de sodio 1×10^{-4} M en monómeros en 1 M de BaCl₂ (negro) en función del número de onda. La línea a trazos roja representa un ajuste por una función gaussiana en energía.

A partir de los resultados obtenidos en la sección anterior, se realizó la composición de los espectros experimentales de la Figura 4.4. El procedimiento se llevó a cabo a partir de los espectros del monómero y del excímero, este último obtenido de los experimentos con PSSNa y corregido en intensidad y en posición para coincidir con el punto isoemisivo. El resultado de la convolución se muestra en el inset de la misma figura. La extinción de la fluorescencia del monómero en función de la concentración se representa en la Figura 4.10 en un gráfico de Stern-Volmer. Se observa un comportamiento lineal para concentraciones menores a 0,25 M, y un posterior achatamiento para concentraciones mayores. Este comportamiento es bastante diferente al esperado para la formación de excímeros según la Ecuación 2.15 del Capítulo 2, donde se predice una funcionalidad lineal creciente.

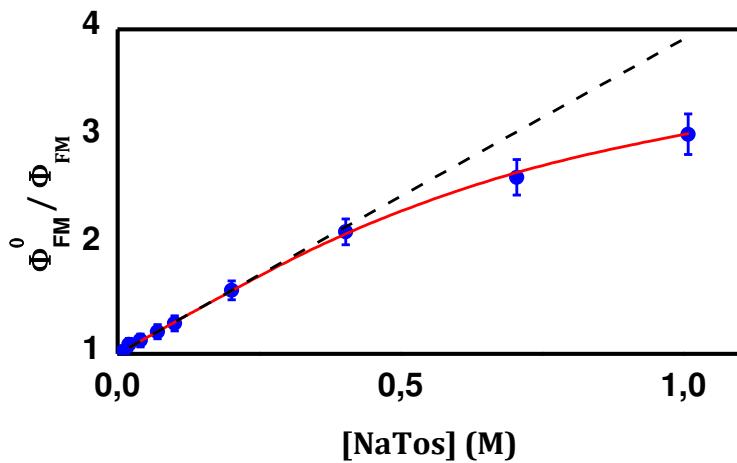


Figura 4.10: Grafico de Stern-Volmer para la emisión del monómero de Tos en agua. La línea punteada negra representa el comportamiento esperado según el modelo tradicional de excímeros. La línea llena roja representa el ajuste con el modelo de formación de excímeros incluyendo agregados superiores no fluorescentes.

Los resultados de los experimentos para NaTos en agua muestran, a elevadas concentraciones, una saturación en el gráfico de Stern-Volmer. Esta saturación no puede ser explicada con el modelo clásico de formación de excímeros. Los resultados inducen a pensar que a partir de una cierta concentración, no todas las moléculas de M están disponibles para interactuar con los M^* .

Hace ya algunos años Ho y colaboradores han mostrado, mediante el uso de la técnica de dispersión de neutrones a bajo ángulo (SANS, del acrónimo en inglés para inglés *small angle neutron scattering*), la presencia de agregados en soluciones acuosas de NaTos. Estos agregados están conformados por seis unidades monoméricas de Tos y aparecen recién para concentraciones mayores a 1,15 M a 25 °C.¹¹ Teniendo en cuenta estos resultados, es válido suponer que la presencia de estos agregados pueda limitar la concentración de Tos libre para poder formar excímeros.

Para poder contemplar la presencia de los agregados superiores en la descripción de los resultados fotofísicos se adicionó, al modelo cinético de formación de excímeros, un equilibrio de formación de estas entidades no

fluorescentes. Este modelo, que se encuentra descripto en la Sección 2.4.3 del Capítulo 2, utiliza las mismas ecuaciones que el modelo tradicional de formación de excímeros pero obteniendo la concentración de Tos a partir del equilibrio de agregación. Para ello se realiza un proceso iterativo conjuntamente con las ecuaciones 2.37 y 2.38 referidas al equilibrio y las Ecuaciones 2.15, 2.24 y 2.35 que describen los observables experimentales. En la Figura 4.10 se muestra la bondad del ajuste para la magnitud Φ^0_F/Φ_F en función de la concentración.

El ajuste global y simultáneo de todos los datos experimentales involucra los rendimientos cuánticos de fluorescencia, los tiempos de vida y los factores pre-exponenciales. Por lo tanto, fue necesario realizar medidas de fluorescencia resuelta en el tiempo de las mismas soluciones acuosas utilizadas en las mediciones de estado estacionario. Los experimentos se realizaron en una celda de 2 mm de paso óptico, en geometría de 90º. La excitación se realizó con un led pulsado a 260 nm con un FWH = 0,65 ns. La emisión se registró a dos longitudes de onda diferentes: a 290 nm, que corresponde al máximo de emisión del monómero; y a 320 nm, que corresponde al máximo de emisión del excímero. En la Figura 4.11 se muestran las curvas de decaimiento de la fluorescencia obtenidas.

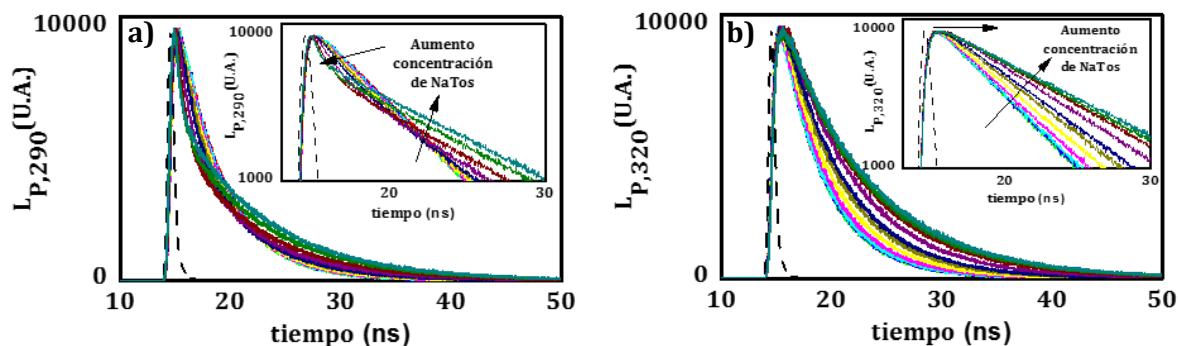


Figura 4.11: Curvas de decaimiento de la fluorescencia a 290 nm (a) y 320 nm (b) de soluciones de NaTos en agua de concentración creciente desde 0,001 M hasta 1 M. ($\lambda_{exc} = 260$ nm). En ambos gráficos se agrega el perfil temporal del pulso de excitación (línea negra a rayas).

Para ambas longitudes de onda se realizaron ajustes mono y biexponentiales. Observando los residuos de cada ajuste se concluye que el mejor ajuste es el realizado por una función biexponencial. Cada uno de los decaimientos temporales se muestra en la Sección A.1 del Anexo al final del documento.

En la Figura 4.12 se presentan los valores de tiempos de vida y los factores pre-exponentiales en función de la concentración. Se puede observar que los tiempos de vida muestran comportamientos similares en función de la concentración para ambas longitudes de onda de emisión, debido a que no dependen de esta variable. La mayor dispersión observada para concentraciones bajas en los tiempos de vida más cortos a 320 nm se debe a la poca señal de fluorescencia del excímero que se produce en estas condiciones. El tiempo de vida designado como τ_1 toma un valor de 4,1 ns a concentraciones bajas que corresponde al tiempo de vida del Tos. A medida que la concentración aumenta, este tiempo de vida aumenta tendiendo al valor del tiempo de vida del excímero. El tiempo de vida designado como τ_2 no es relevante para concentraciones bajas, y luego decrece a medida que aumenta la concentración tendiendo al valor $1/(k_M + k_{MD} + k_{DM}[M])$.⁷

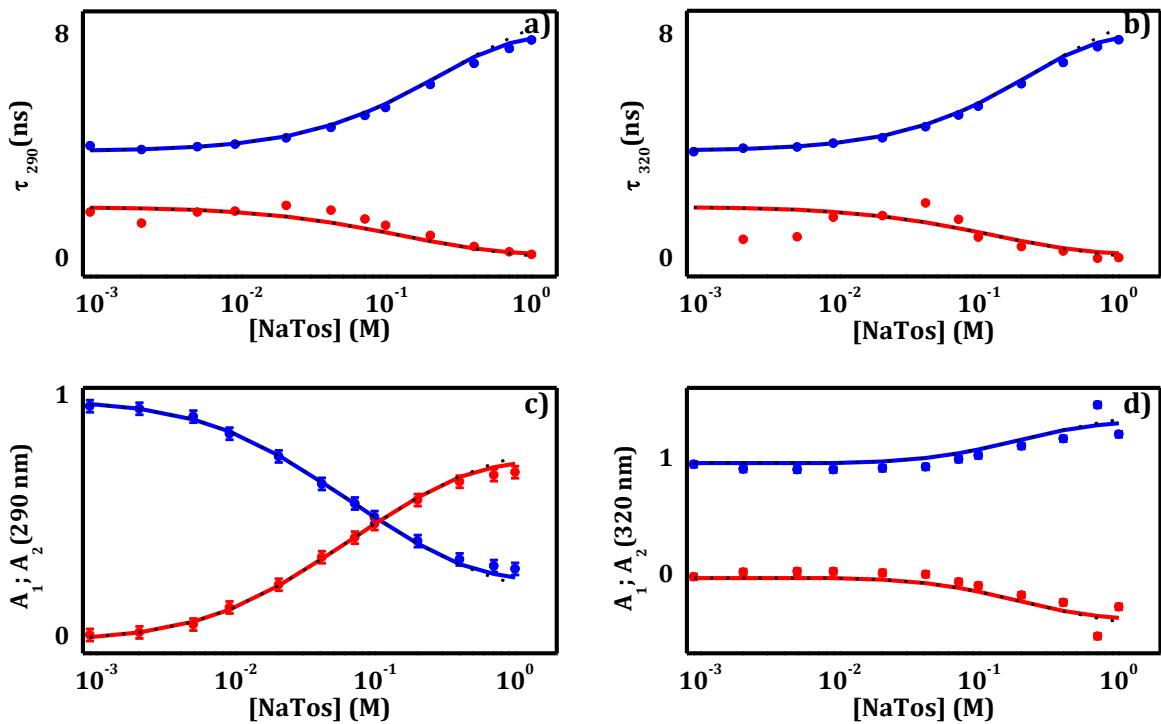


Figura 4.12: Tiempos de vida de NaTos en agua en función de la concentración, medidos a 290 nm (a) y a 320 nm (b). Factores pre-exponenciales de NaTos en agua en función de la concentración, medidos a 290 nm (c) y a 320 nm (d). En todos los casos las líneas punteadas negras representan el ajuste por el modelo tradicional de formación de excímeros y las líneas sólidas azules y rojas el ajuste con el modelo de formación de excímeros incluyendo agregados superiores no fluorescentes.

Las tendencias observadas en función de la concentración para los factores pre-exponenciales normalizados sí presentan una fuerte dependencia con la longitud de onda de emisión. El factor pre-exponencial A_1 , obtenido a 290 nm, muestra una disminución con la concentración mientras que el mismo factor obtenido a 320 nm muestra un incremento, como producto de la aparición del excímero. Por otra parte, el factor A_2 obtenido a 320 nm toma valores negativos a medida que se incrementa la concentración, debido a que τ_2 constituye un tiempo de inducción (*rise-time*) que precede a la emisión del excímero.

En la Tabla 4.1 se muestran los valores de todas las constantes cinéticas del modelo de formación de excímero incluyendo agregados superiores no fluorescentes. Las constantes k_{FM} y k_M se obtuvieron a partir de los estudios realizados en el régimen diluido, presentados en la Sección 4.2.1. Todas

las demás constantes fueron obtenidas a partir del ajuste múltiple de Φ^0_F/Φ_F , τ_1 , τ_1 , A_1 y A_1 en función de la concentración.

Constante	Valor
k_{FM}	$1,53 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$
k_M	$2,78 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$
k_{FD}	$1,50 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$
k_D	$1,15 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$
k_{DM}	$3,50 \times 10^9 \text{ s}^{-1} \times \text{M}^{-1}$
k_{MD}	$4,00 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$
K_{Agg}	$2,50 \times 10^{-1}$

Tabla 4.1: Constantes cinéticas y de agregación que describen el comportamiento fotofísico y fotoquímico del Tos en solución acuosa.

A partir de las constantes de la tabla se puede obtener un valor para $\Phi^0_{FD} = 0,13$ a 25 °C, que resulta significativamente mayor que Φ^0_{FM} . El valor de $k_{DM} = 3,50 \times 10^9 \text{ s}^{-1} \times \text{M}^{-1}$ es compatible con un proceso difusional para la formación del excímero. Esto indica que un monómero excitado M* difunde y, si se encuentra con un monómero M antes de decaer al estado fundamental, forma el excímero. Finalmente, el valor de $K_{Agg} = 2,50 \times 10^{-1}$ indica que la formación de agregados superiores no fluorescentes se produce a concentraciones elevadas, tal lo esperado por las medidas de SAXS previamente citadas.

La Figura 4.13 muestra los TRANES de NaTos en agua a 25 °C para: (a) una solución de concentración 0,1 M y (b) una solución de concentración 1 M. Cada uno de los TRANES se obtuvo por excitación con un LED pulsado de 260 nm. Se midió la fluorescencia resuelta en el tiempo entre 275 y 385 nm cada 2 nm.

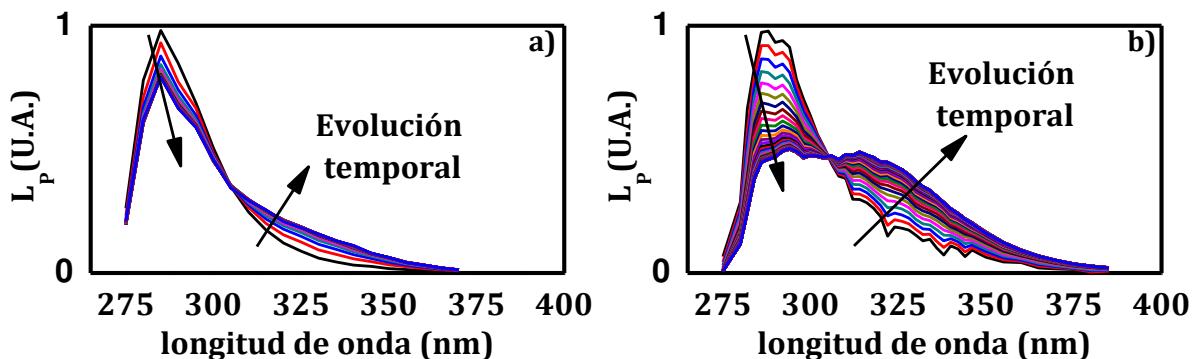


Figura 4.13: TRANES para una solución acuosa de NaTos a 25 °C, de concentración: a) 0,1 M para tiempos de 1 a 30 ns cada 1ns; y b) 1 M para tiempos de entre 0,05 a 5 ns con intervalos de 0,05 ns.

El espectro observado a tiempo de 1 ns para la concentración 0,1 M (Figura 4.13a) se corresponde al del monómero. Para ambas concentraciones, la intensidad de emisión del espectro del monómero decrece con el tiempo mientras que emerge una nueva banda de emisión, a mayores longitudes de onda, asociada al excímero. Se observa que la interconversión neta de monómero en excímero se detiene, y luego ambas especies evolucionan temporalmente de manera idéntica, no logrando obtenerse en ningún caso el espectro del excímero puro. Se observa que la proporción de monómero y excímero para la cual el sistema decae en conjunto es distinta para las dos concentraciones.

4.3. Fotofísica del BMImTos en BMImCl

Una vez estudiada la fotofísica del Tos en solución acuosa se procedió a estudiar la fotofísica del mismo anión pero formando parte de la estructura química de un LI. Para ese propósito, se sintetizó BMImTos según lo descripto en la Sección 2.1 del Capítulo 2. El BMImTos se encuentra en estado líquido a temperatura ambiente. Sin embargo, al ser un líquido metaestable, pequeñas perturbaciones como enfriamientos o burbujas inducen una rápida cristalización que impiden su estudio. Para resolver este inconveniente, se sintetizó el LI BMIm₂TosCl por mezclado de BMImTos y de BMImCl en proporción molar 1:1. La mezcla se realizó en cloruro de

metíleno para permitir una correcta homogenización. Con posterioridad, el solvente se evaporó a presión reducida a temperatura <30 °C para evitar la degradación térmica. El LI obtenido, si bien sigue siendo un líquido metaestable, es mucho más estable frente a las perturbaciones mencionadas con anterioridad. Esta mayor estabilidad permite su utilización para fines específicos, como se mostrará en capítulos siguientes, y su caracterización fotofísica, la cual se presenta a continuación.

4.3.1. Características espectrales y rendimientos cuánticos de fluorescencia.

Se obtuvieron los espectros de absorción y de fluorescencia del BMIm₂TosCl en cubeta de cuarzo de 2 mm de paso óptico. En la Figura 4.14 se compara el espectro de absorción del BMIm₂TosCl con los espectros de absorción del Tos en solución acuosa diluida y en solución acuosa concentrada. Se observa que la estructura vibrónica de la banda de absorción se conserva, indicando la ausencia de agregados en el estado fundamental. Por otra parte, el ligero corrimiento de 3 nm hacia el rojo puede adjudicarse al aumento de la fuerza iónica del medio.

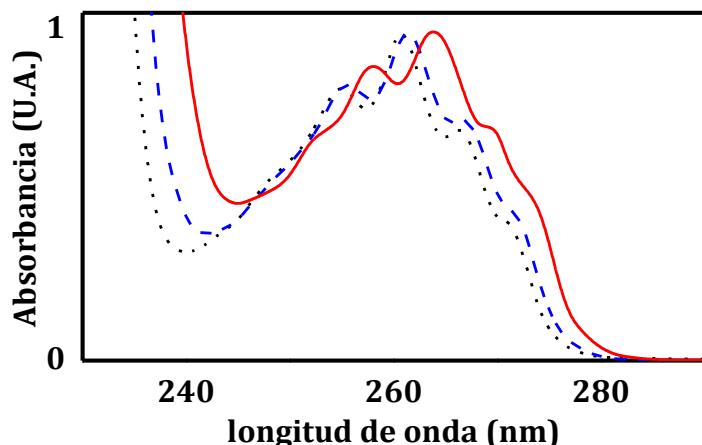


Figura 4.14: Espectros de absorción normalizados de una solución de NaTos en agua de concentración 2×10^{-3} M (línea punteada negra), de una solución de NaTos en agua de concentración 1 M (línea de trazos azul) y del BMIm₂TosCl (línea sólida roja)

El espectro de fluorescencia del $\text{BMIm}_2\text{TosCl}$ fue adquirido en geometría de trasmisión. En la Figura 4.15 se compara el espectro de emisión del $\text{BMIm}_2\text{TosCl}$ con los espectros de emisión del Tos en solución acuosa diluida y en solución acuosa concentrada. El espectro del LI es similar al del Tos en solución acuosa diluida, con menor resolución vibrónica y desplazado hacia el rojo unos 3 nm. Sin embargo, difiere sustancialmente del espectro del Tos en solución concentrada de ~ 2 M, que presenta la banda característica del excímero.

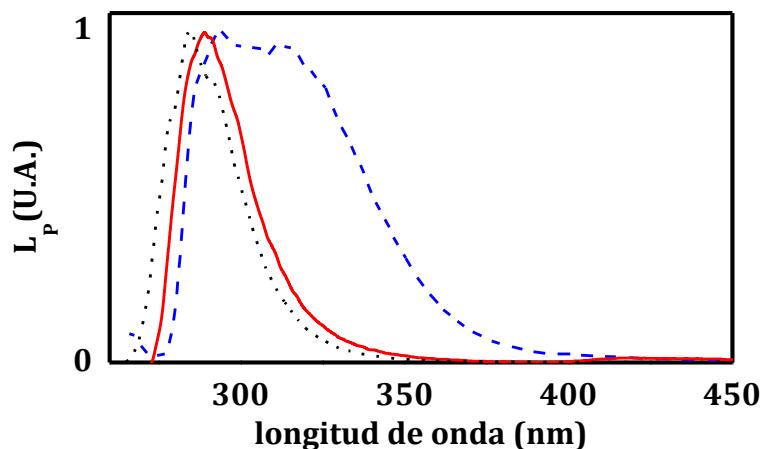


Figura 4.15: Espectros de fluorescencia normalizados de una solución de NaTos en agua de concentración 2×10^{-3} M (línea punteada negra), de una solución de NaTos en agua de concentración 1 M (línea de trazos azul) y del $\text{BMIm}_2\text{TosCl}$ (línea sólida roja).

El Tos también se encuentra en una concentración de ~ 2 M en el $\text{BMIm}_2\text{TosCl}$ ($\frac{1 \text{ mol Tos}}{M_r(\text{BMIm}_2\text{TosCl})} \delta_{LI} = 2,1 \text{ M, con } \delta_{LI} = 1,07 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$). Constituye un resultado notorio de destacar que el Tos en el LI, a una concentración molar similar al del caso concentrado en agua, no presenta la banda característica del excímero. Una hipótesis plausible para este suceso se basa en que, en ausencia de agua, los aniones tosilatos están solvatados por cationes BMIm^+ más voluminosos que los iones Na^+ , generando un mayor impedimento estérico para la formación eficiente de excímeros.

4.3.2. Efecto de la temperatura

Se determinó el rendimiento cuántico de fluorescencia del Tos en el LI BMIm₂TosCl, midiendo el espectro de fluorescencia estacionaria a distintas temperaturas. En la Figura 4.16 se muestra la dependencia de $1/\Phi_F$ con $1/T$. Los datos fueron ajustados por la Ecuación 4.1. El valor de $W_{IM} = 15,1(15)$ kJ/mol obtenido del ajuste de los datos experimentales no difiere significativamente al obtenido para el Tos en solución acuosa. Esta semejanza sugiere que el proceso de desactivación no radiativo afectado por la temperatura es independiente del solvente, siendo una característica intrínseca de la molécula. Esta dependencia será utilizada en capítulos posteriores para el desarrollo de líquidos iónicos radioluminiscentes con emisión regulable por temperatura.

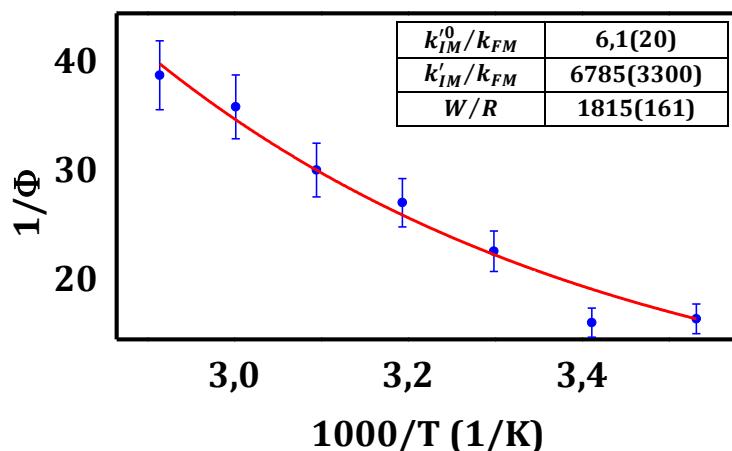


Figura 4.16: Grafico de $1/\Phi_F$ vs $1/T$ para el BMIm₂TosCl. La línea sólida roja representa el ajuste de los datos experimentales de acuerdo a la Ecuación 4.1.

4.4. Conclusiones

En el presente Capítulo se llevó a cabo la descripción fotofísica del Tos en solución acuosa y como parte del LI BMIm₂TosCl. Los estudios realizados en el régimen de solución acuosa diluida demostraron que la fluorescencia del Tos es apreciablemente sensible a la temperatura. Por otra parte, en el

régimen concentrado se verifica la formación de excímeros. Esta formación de excímeros es de origen difusional, donde los Tos excitados difunden para encontrarse con monómeros en el estado fundamental. Para concentraciones mayores a 0,7 M se observa que la formación de excímeros no sigue el modelo tradicional, debido a la presencia de agregados moleculares superiores no fluorescentes. A partir de mediciones de fluorescencia en estado estacionario y resuelto en el tiempo se lograron determinar todas las constantes fotofísicas que describen al sistema.

Como parte de un LI, el Tos tiene un comportamiento fotofísico similar al observado para el mismo compuesto en una solución acuosa infinitamente diluida. Esto sucede a pesar de que la concentración de fluoróforo en el BMIm₂TosCl es de ~2 M, concentración para la cual se forman excímeros en solución acuosa. Como parte del LI, la emisión del Tos muestra también una dependencia con la temperatura con una funcionalidad similar a la que se obtuvo para el monómero en solución acuosa diluida. Estos resultados muestran que, a pesar de que el entorno iónico y viscoso de los LIs afecta los procesos de agregación, no influye significativamente en los cambios en la emisión del Tos por efecto de la temperatura.

4.5. Referencias

- ¹ Banal, J., White, J., Ghiggino, K., Wong, W. **(2014)** Concentrating Aggregation-Induced Fluorescence in Planar Waveguides: A Proof-of-Principle. *Sci. Rep.* 4, 4635.
- ² Machnev, A., Ofer, D., Shishkin, I., Kozlov, V., Diaferia, C., Accardo, A., Morelli, G., Apter, B., Inberg, A., Rosenman, G., Ginzburg, P. **(2021)** Amplified spontaneous emission and gain in highly concentrated Rhodamine-doped peptide derivative. *Sci. Rep.* 11, 17609.
- ³ Rodriguez, H.; Mirenda, M.; Lagorio, M.; San Roman, E. **(2019)** Photophysics at unusually high dye concentrations. *Acc. Chem. Res.* 52, 110 – 118.
- ⁴ Ghosh, A., Nakanishi, T. **(2017)** Frontiers of solvent-free functional molecular liquids. *Chem. Commun.* 53, 10344 – 10357.
- ⁵ Babu, S., Hollamby, M., Aimi, J., Ozawa, J., Saeki, A., Seki, S., Kobayashi, K., Hagiwara, K., Yoshizawa, M., Möhwald H., Nakanishi, T. **(2013)** Nonvolatile liquid anthracenes for facile full-colour luminescence tuning at single blue-light excitation. *Nat. Commun.* 4, 1969.
- ⁶ Barrow, G. **(1962)** Introduction to Molecular Spectroscopy. *Institute of technology, Cleveland. McGraw-Hill.*
- ⁷ Birks, J. **(1970)** Photophysics of aromatic molecules, 1st ed.; John Wiley & Sons Ltd: London.
- ⁸ Pierola, I., Pacios, I. **(2012)** Fluorescence Study on the Structure of Ionic Liquid Aggregates in Aqueous Solutions. *J. Fluoresc.* 22, 145 – 150.

⁹ Greenleaf, J., Lumbs, M., B. Birks, J. (**1968**) Molecular and excimer fluorescence of toluene. *J. Phys. B: Atom. Mol. Phys.* 1, 1157.

¹⁰ Hansch, M., Hämisich, B., Schweins, R., Prévost, S., Huber, K. (**2018**) Liquid-liquid phase separation in dilute solutions of poly(styrene sulfonate) with multivalent cations: Phase diagrams, chain morphology, and impact of temperatura. *J. Chem. Phys.* 148, 014901

¹¹ Ho, P., Triolo, J., Johnson, J. (**1995**) Small-Angle Neutron Scattering from Solutions of Low-Equivalent-Weight Organic Salts in D₂O. *J. Phys. Chem.* 99, 9581 – 9588.

Capítulo 5: Caracterización espectroscópica del anión piranina en solución y aplicación como desplazador de longitud de onda de emisión en líquidos iónicos.

5.1. Introducción

Los LIIs representan una alternativa atractiva para el desarrollo de nuevos materiales centelleadores. Estos compuestos pueden diseñarse para disolver un amplio espectro de muestras con polaridad muy diferente, evitar pérdidas por evaporación y minimizar riesgos de flamabilidad, por citar sólo algunas ventajas. En la Sección 1.4 del Capítulo 1 se mencionó el primer antecedente registrado en bibliografía sobre el uso del BMImCl como medio disolvente para centelleo líquido. Este antecedente refiere a la estandarización de una solución acuosa de ^{18}F por el método de TDCR-Cherenkov¹ aprovechando la generación de este tipo de radiación en el BMImCl. Como resultado destacable se hace mención a una eficiencia de detección de dobles coincidencias (e_D) para este radioisótopo del 6,7 %. Este valor presenta un incremento de alrededor del 250% con respecto a la eficiencia del mismo radioisótopo en solución acuosa de HCl 1 M de $e_D \approx 2\%$.²

Para la optimización de la eficiencia de conteo de la radiación Cherenkov generada en centelladores líquidos existen diversas estrategias. Una de ellas consiste en el uso de solventes con elevado índice de refracción para disminuir la energía umbral de generación de radiación Cherenkov.³ La reducción de la E_{th} del medio implica una mayor generación de fotones con el consecuente aumento de la eficiencia de conteo. Otra estrategia radica en la incorporación de desplazadores de longitud de onda (en inglés *wavelength-shifters*) capaces de convertir los fotones UV de la radiación Cherenkov en fotones UV-Vis con energías tales que sean detectados de manera más eficiente por los PMTs.⁴

Los LIs derivados del imidazol presentan generalmente índices de refracción elevados ($\sim 1,5$) comparados con el agua (1,33). Por lo tanto, estos LIs maximizan de por sí las condiciones para la generación de radiación Cherenkov a través de la disminución de la energía umbral. Por otra parte, es posible adicionar a los LIs sustancias que actúen como desplazadores de longitud de onda de emisión. Para ello, es necesario conocer la respuesta espectral de los PMTs. Los PMTs comerciales utilizados en los sistemas de LSC y TDCR generalmente poseen la máxima eficiencia de detección entre 375 y 450 nm. Los PMTs Quantacom™ Burle 8850 utilizados en este trabajo cumplen con esta condición, como se puede observar en la Figura 5.1. A partir de este dato técnico se propone incorporar al anión piranina (HPTS) al BMImCl para que actúe como desplazador de longitud de onda de emisión de la radiación Cherenkov. El HPTS presenta, en su forma ácida, un espectro de absorción con varias bandas en el UV capaces de absorber la radiación Cherenkov y un espectro de emisión con un máximo cerca de 450 nm. El espectro de emisión de esta especie solapa adecuadamente con la curva de eficiencia de los PTMs utilizados, como puede observarse también en la Figura 5.1.

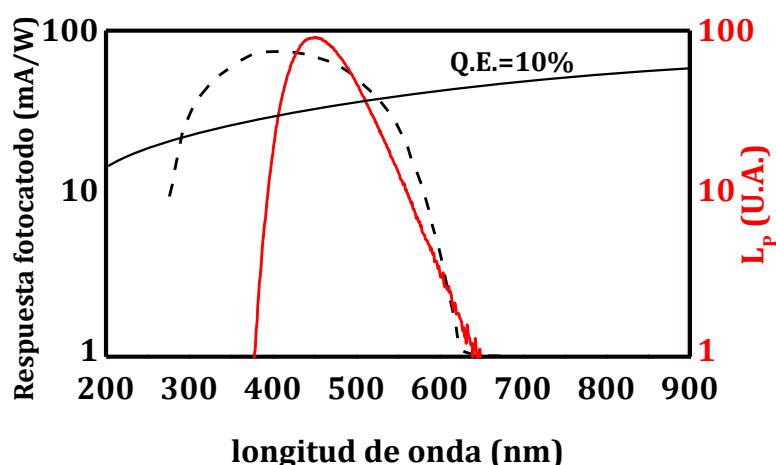


Figura 5.1: Respuesta del fotocátodo de los fotomultiplicadores BURLE 8250 (línea negra a rayas). Se incluye el espectro de emisión de la especie ácida del HPTS (línea continua roja). La curva transversal representa el intervalo de respuesta a partir del cual se tiene una eficiencia cuántica (Q.E. del inglés *quantum efficiency*) del 10%.

La cantidad óptima de HPTS que se debe incorporar al BMImCl debe ser aquella que maximice el número de fotones que escapan del sistema. Se debe tener en cuenta que, al aumentar la concentración de un fluoróforo en un medio, se producen en general dos efectos competitivos: a) a bajas concentraciones, la intensidad de la emisión aumenta al aumentar la concentración, ya que hay más especies emisoras pasibles de ser excitadas; b) a concentraciones moderadas o altas, la emisión disminuye al aumentar la concentración, debido a la reabsorción y/o a la presencia de eventos no radiativos de desactivación tales como agregación, autoextinción, etc. Para encontrar la concentración óptima en las siguientes secciones se analizará el comportamiento fotofísico, en función de la concentración, del HPTS en HCl y en BMImCl. Estos estudios brindarán los conocimientos de base para encontrar la concentración óptima o acotar la búsqueda a un intervalo de concentraciones reducido.

5.2. Fotofísica del HPTS en solución acuosa de HCl 6M

El HPTS presenta propiedades ácido-base tanto en el estado fundamental ($pK_a = 7,4$) como en el estado excitado ($pK_a^* = 0,4$).⁵ La forma ácida de este colorante es la que interesa para su utilización como desplazador de longitud de onda debido a que posee un espectro de emisión con un máximo en 450 nm, mientras que la forma básica posee un máximo en 517 nm. Para asegurar que esta especie esté presente en el LI a diseñar, no es suficiente contar con la especie ácida en estado fundamental, sino que también es necesario inhibir la transferencia de protón en estado excitado. La Figura 5.2a muestra el espectro de absorción del HPTS a $pH < 5$, el cual posee varias bandas en la región del UV pasibles de ser excitadas. La figura 5.2b muestra los espectros de emisión de las formas ácidas y básicas del HPTS.

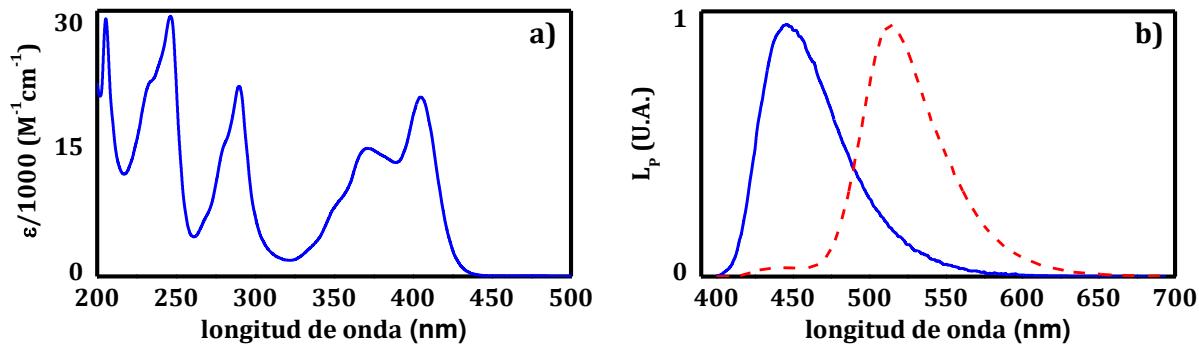


Figura 5.2: a) Espectro de absorción como coeficiente de abortividad molar, ϵ , de las soluciones acuosas de HPTS con $\text{pH} < 5$. b) Espectros de emisión normalizados ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) de HPTS en $\text{HCl } 6 \text{ M}$ (línea sólida azul) y en solución acuosa a $\text{pH } 5$ (línea punteada roja).

El solapamiento entre el espectro de absorción y de emisión, observado para la especie ácida, será responsable de la reabsorción de luz del lado azul del espectro de fluorescencia en las soluciones más concentradas, como se observará más adelante. El efecto de la reabsorción no solo disminuye la cantidad total de fotones que podrían extraerse del sistema. También genera una distorsiónpectral que provoca la pérdida de fotones que presentan una mayor probabilidad de ser detectados por los PMTs.

El comportamiento fotofísico de la especie ácida del HPTS se estudió, en primer lugar, en solución acuosa de $\text{HCl } 6 \text{ M}$. El motivo es el de evitar la formación de la especie básica tanto en el estado fundamental como en el estado excitado. El rendimiento cuántico de fluorescencia de la especie ácida se determinó experimentalmente mediante el uso de la Ecuación 2.4 del Capítulo 2. Las medidas se realizaron sobre una solución diluida ($3,9 \times 10^{-5} \text{ M}$) de HPTS en $\text{HCl } 6 \text{ M}$. Se obtuvo un valor de $\Phi_F = 0,84$, determinado en forma relativa frente a una solución de QBS de concentración $1,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ en ácido sulfúrico $0,5 \text{ M}$ según lo descripto en el Capítulo 2. En la tabla 5.1 se presentan las magnitudes utilizadas para el cálculo.

	QBS	HPTS
η_D	1,338(1)	1,378(1)
L_P (u. a.)	2528(12)	2853(12)
F_X	0,1854(2)	0,1440(2)
Φ_F	0,546(11)	0,84(3)

Tabla 5.1: Magnitudes experimentales utilizadas para el cálculo del Φ_F de la especie ácida del HPTS. η_D es el índice de refracción, F_X es la fracción de luz absorbida a $\lambda_{exc} = 350$ nm y L_P es irradiancia espectral de fotones emitidos, obtenida por integración del espectro de emisión.

Con el objetivo de encontrar una concentración o un intervalo de concentraciones que maximicen la cantidad de fotones emitidos en la región espectral de interés, se estudió el cambio en la emisión del HPTS en función de la concentración. Para tal propósito se realizaron medidas de absorción y de fluorescencia de soluciones de concentración creciente de HPTS en HCl 6 M.

En la Figura 5.3 se muestran los espectros de absorción en función de la concentración. Los espectros de absorción de las soluciones de concentración mayor a 3×10^{-4} M se midieron en cubeta micrométrica con un paso óptico de ~ 100 micrones y luego se re-escalaron a la absorbancia que tendrían en una cubeta de 2 mm de paso óptico. Puede observarse un aumento de la absorbancia sin modificación de la forma espectral a medida que aumenta la concentración. Este resultado descarta la formación de especies agregadas en el estado fundamental, al menos desde el punto de vista espectroscópico. Con el aumento de la concentración, se hace evidente un incremento de la absorción en la región comprendida entre 400 y 450 nm que corresponde a la región de solapamiento entre los espectros de absorción y de emisión.

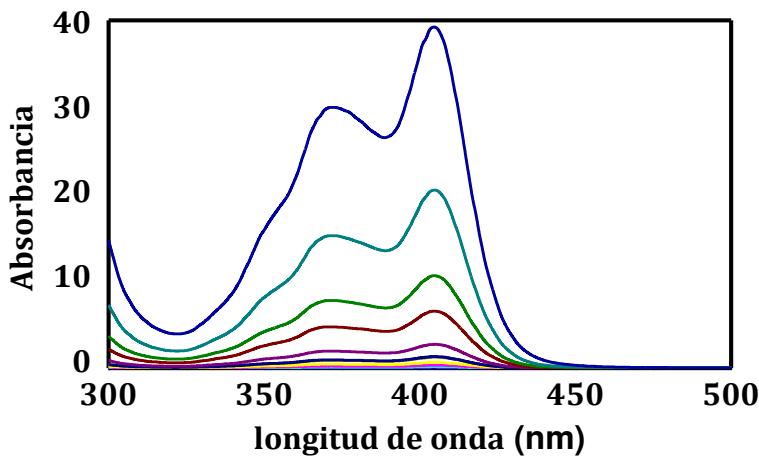


Figura 5.3: Espectros de absorción de soluciones de HPTS en HCl 6 M, en el intervalo de concentraciones comprendido entre 2×10^{-5} M y 1×10^{-2} M. Las absorbancias de las soluciones de concentración mayor a 3×10^{-4} M se midieron en cubeta micrométrica con un paso óptico de ~ 100 micrones y luego se re-escalaron a la absorbancia que tendrían en una cubeta de 2 mm de paso óptico.

Las medidas de fluorescencia estacionaria de las mismas soluciones se realizaron en una geometría de transmisión. Para tal propósito se utilizó una celda de paso óptico de 2 mm. Se interpusieron un filtro UG11 entre la excitación y la muestra, y un filtro WG360 entre la muestra y el detector, para minimizar la luz espuria. En la Figura 5.4a se observa que los espectros de fluorescencia aumentan en intensidad al aumentar la concentración de HPTS. Por otra parte, luego de superar la concentración de $1,25 \times 10^{-3}$ M, la intensidad de emisión disminuye al aumentar la concentración, como puede observarse en la Figura 5.4b. Esto sucede a pesar de que el factor de absorción alcanza su valor unitario. La disminución de intensidad de fluorescencia observada en este caso puede atribuirse en primer lugar al fenómeno de reabsorción. Sin embargo, como se verá más adelante, este único fenómeno no es capaz de reproducir la disminución de la intensidad observada, por lo que es evidente la presencia de un fenómeno de autoextinción que se hace más relevante para las cuatro soluciones más concentradas.

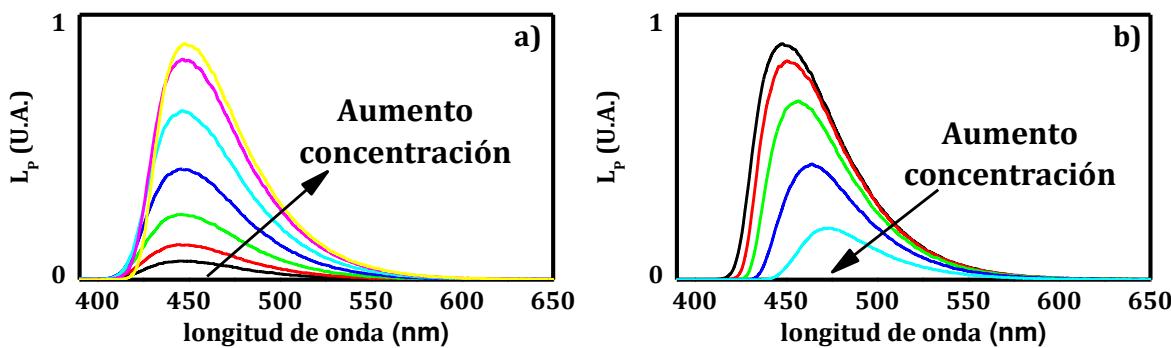


Figura 5.4: Espectros de fluorescencia de soluciones de HPTS en HCl 6 M Concentraciones comprendidas entre: a) $1,92 \times 10^{-5}$ M y $1,25 \times 10^{-3}$ M; b) $1,25 \times 10^{-3}$ M y $2,00 \times 10^{-2}$ M. El paso óptico utilizado fue de 0,2 cm. $\lambda_{exc} = 350$ nm.

La Figura 5.5 compara los valores de $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C)$, $L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ y $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$ para cuatro soluciones de HPTS de concentraciones diferentes. Para la solución de concentración $1,56 \times 10^{-4}$ M los tres espectros coinciden, según se observa en la Figura 5.5a. Esta solución resulta suficientemente diluida como para presentar fenómenos de reabsorción y autoextinción. Para la solución de concentración $6,25 \times 10^{-4}$ M (Figura 5.5b) se observa que $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C) \neq L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C) \approx L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$, lo que evidencia la presencia de reabsorción aunque todavía no se hace evidente el fenómeno de autoextinción. Esto difiere notablemente del comportamiento observado para la QBS en el Capítulo 3, donde primero se evidenciaba el fenómeno de autoextinción y luego, a concentraciones más grandes, el de reabsorción. Esta diferencia puede atribuirse al apreciable solapamiento entre los espectros de absorción y emisión del HPTS, que hace anticipar el fenómeno de reabsorción al de la autoextinción en comparación con la QBS. Para concentraciones iguales o mayores que $4,97 \times 10^{-3}$ M, se observa que $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C) \neq L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ revelando ahora sí la aparición del fenómeno de autoextinción, como se muestra en las Figuras 5.5c y 5.5d. Las similitudes entre las formas de los espectros normalizados de $L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ y de $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$ sugieren, en principio, la ausencia de otras especies emisoras.

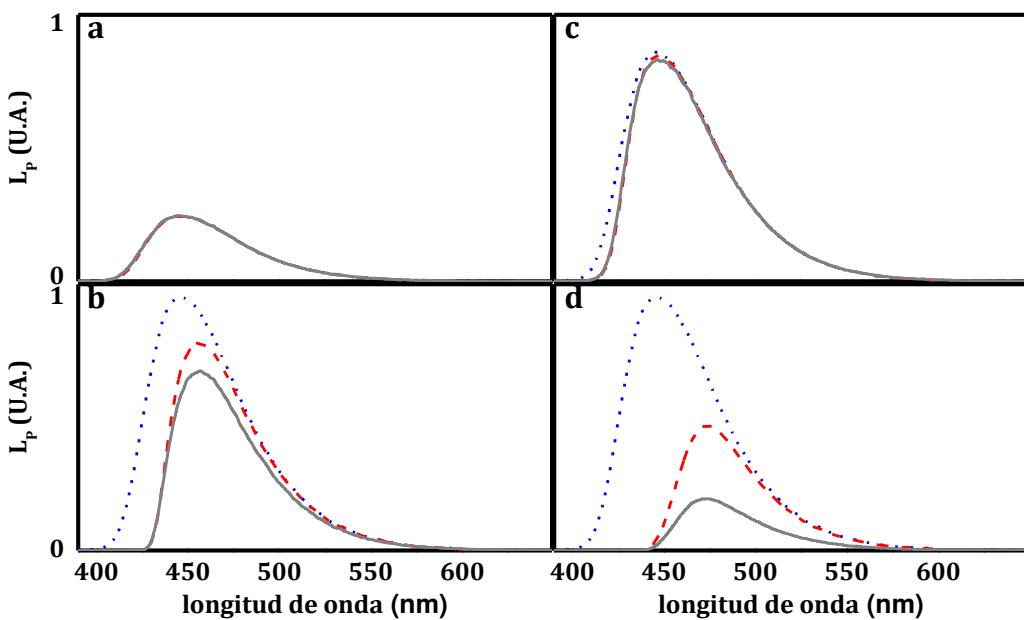


Figura 5.5. Espectros de fluorescencia calculados sin reabsorción, $L_{p,x}(\lambda_0, \lambda, C)$, (líneas punteadas azules), afectados por reabsorción, $L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$, (líneas a rayas naranjas) y observados experimentalmente, $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$, (líneas sólidas grises) para las siguientes concentraciones: a) $1,56 \times 10^{-4}$ M, b) $6,25 \times 10^{-4}$ M; c) $4,97 \times 10^{-3}$ M y d) $2,00 \times 10^{-2}$ M.

La Figura 5.6 muestra un gráfico de Stern-Volmer, obtenido al representar el cociente $\Phi^{DRM_F}/\Phi^{obs_F}$ vs la concentración de HPTS. En este caso, el cociente $\Phi^{DRM_F}/\Phi^{obs_F}$ es utilizado en lugar del habitual cociente Φ^0_F/Φ_F debido a la imposibilidad práctica de obtener valores experimentales de Φ_F de soluciones concentradas que están afectadas por reabsorción. Esta forma de construir un gráfico de Stern-Volmer es formalmente correcta, y constituye una estrategia completamente novedosa y útil para el análisis de fenómenos de autoextinción, en particular para aquellos casos donde no existe una longitud de onda de emisión que no esté afectada por reabsorción. El hecho de que la forma de los espectros de emisión calculados por el DRM sea la misma que la de los obtenidos experimentalmente (ver Figura 5.5), permite inferir la ausencia de otro tipo de emisión, validando la metodología utilizada.

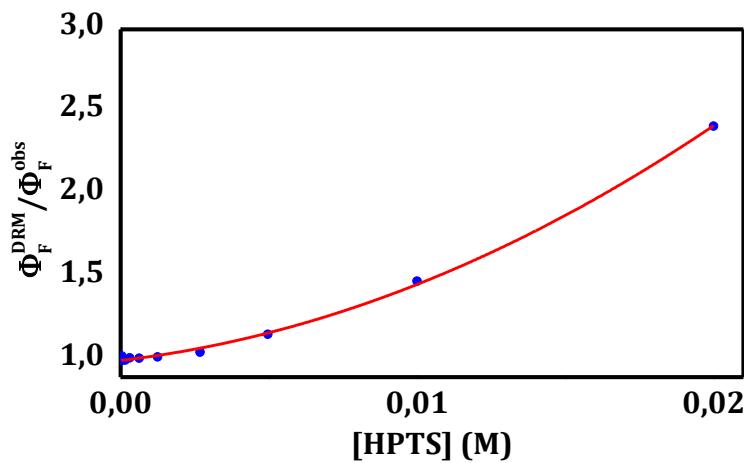


Figura 5.6: Gráfico de Stern Volmer representando la autoextinción de la fluorescencia del HPTS en HCl 6 M. La línea continua muestra el ajuste realizado con una ecuación polinómica de segundo grado.

El mejor ajuste se obtiene con una función polinómica de segundo grado, como puede observarse en la Figura 5.6. Este comportamiento dista del comportamiento lineal comúnmente esperado para fenómenos de autoextinción en solución. Su naturaleza cuadrática evidencia un comportamiento más complejo, cuyo análisis debe ser completado por medidas de tiempos de vida y que se encuentra alejado del propósito del presente capítulo. Solamente dejaremos constancia en esta etapa que la especie ácida del HPTS muestra un fenómeno de autoextinción al incrementar la concentración en solución acuosa de HCl 6 M, sin ahondar por el momento sobre el mecanismo por el cual que lleva a dicho fenómeno.

Una forma alternativa de adquirir información cuantitativa sobre cómo la reabsorción y la autoextinción afectan a cada sistema es analizar el comportamiento de las magnitudes $\Phi_{F,\lambda SR}^{obs}$, Φ_F^{obs} y Φ_F^{DRM} en función de la concentración, donde λ_{SR} representa una longitud de onda de emisión donde no haya reabsorción. En la Figura 5.7 se muestran estas tres magnitudes para el HPTS en solución de HCl 6M, siendo en este caso $\lambda_{SR} = 520$ nm.

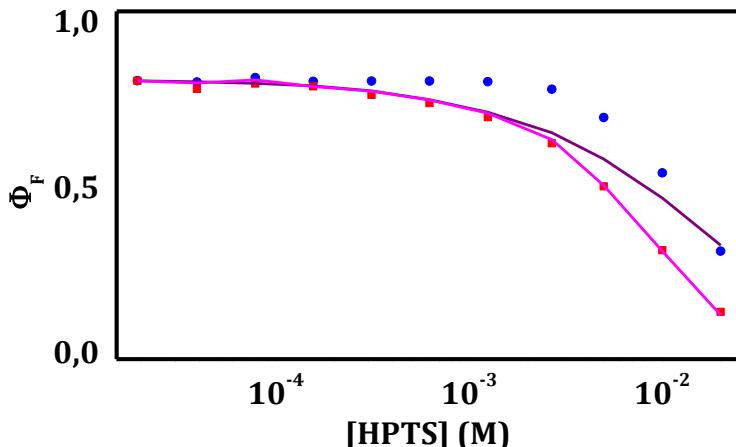


Figura 5.7: $\Phi^{\text{obs}}_{\text{F},520\text{nm}}$ (círculos azules), $\Phi^{\text{obs}}_{\text{F}}$ (cuadrados rojos), $\Phi^{\text{DRM}}_{\text{F}}$ (línea llena violeta) y $\Phi^{\text{obs}}_{\text{F},520\text{nm}} \times \Phi^{\text{DRM}}_{\text{F}}$ (línea llena rosa) en función de la concentración de HPTS en HCl 6M.

El cambio de $\Phi^{\text{obs}}_{\text{F},520\text{nm}}$ a medida que se incrementa la concentración de HPTS se debe únicamente al fenómeno de autoextinción, debido a que la emisión a esta longitud de onda no está afectada por la reabsorción. Por otra parte, la funcionalidad del $\Phi^{\text{DRM}}_{\text{F}}$ con la concentración refleja solamente el efecto de la reabsorción, mientras que los valores del $\Phi^{\text{obs}}_{\text{F}}$ indican el efecto de ambos fenómenos al mismo tiempo.

Puede observarse en la Figura 5.7 la validez de la siguiente expresión: $\Phi^{\text{obs}}_{\text{F},520\text{nm}} \times \Phi^{\text{DRM}}_{\text{F}} \approx \Phi^{\text{obs}}_{\text{F}}$. Esta expresión muestra cuantitativamente cual es la contribución de cada uno de los efectos mencionados al descenso de los fotones de emisión detectados. La autoextinción de la fluorescencia es un fenómeno independiente de las dimensiones y de la geometría de la celda. Sin embargo, la reabsorción es dependiente de la geometría del sistema y, por lo tanto, puede diferir considerablemente al cambiar el tamaño de la celda. No es posible por lo tanto extrapolar los resultados obtenidos aquí para una celda óptica ortoédrica de dimensiones de $3 \times 1 \times 0,2$ cm a un vial de centelleo cilíndrico de 5 cm de alto y 1,5 cm de radio. Además, en este último caso, las excitaciones se darán homogéneamente dentro del líquido en el vial de centelleo aumentando la complejidad de sistema en comparación con el caso donde la excitación se produce desde el exterior de la celda. Por lo tanto, los experimentos fotofísicos realizados, si bien no

brindan la concentración óptima de HPTS que debe utilizarse en los viales de centelleo para obtener una máxima emisión, sirven para establecer un intervalo acotado de concentraciones. Este intervalo acotado permitirá la posterior realización de los experimentos de centelleo para obtener la concentración óptima buscada.

Como los procesos fotofísicos del HPTS dependen fuertemente del entorno, en la próxima sección se presentará el estudio de este anión en el BMImCl. La fotofísica en este medio más viscoso y fuertemente iónico brindará información más precisa para la evaluación final de la concentración óptima de HPTS en el medio centelleador.

5.3. Caracterización espectroscópica del BMImHPTS en BMImCl

La inclusión del HPTS en el BMImCl se realizó por medio de la mezcla, en diferentes proporciones, de BMImHPTS en BMImCl. Estas mezclas se realizaron disolviendo ambos LIs en diclorometano. Una vez homogeneizadas, se efectuó la evaporación del solvente en un evaporador rotatorio. Posteriormente las muestras se secaron en estufa de vacío a 60 °C durante 48 hs para minimizar el contenido de agua de las mismas.

En la Figura 5.8 se comparan los espectros de absorción normalizados del HPTS en HCl 6 M y del BMImHPTS en BMImCl. Se observan algunas diferencias entre las bandas, en particular una variación entre los valores relativos del máximo a 406 nm y el mínimo local a 394 nm. El cociente entre estas dos magnitudes es un indicador de la polaridad del medio, como ha sido reportado previamente por varios autores.⁶ Para HCl 6M se obtiene una relación de bandas de 1,57, mientras que para BMImCl se obtiene un valor de 1,92, similar al obtenido para HPTS en 1-propanol.

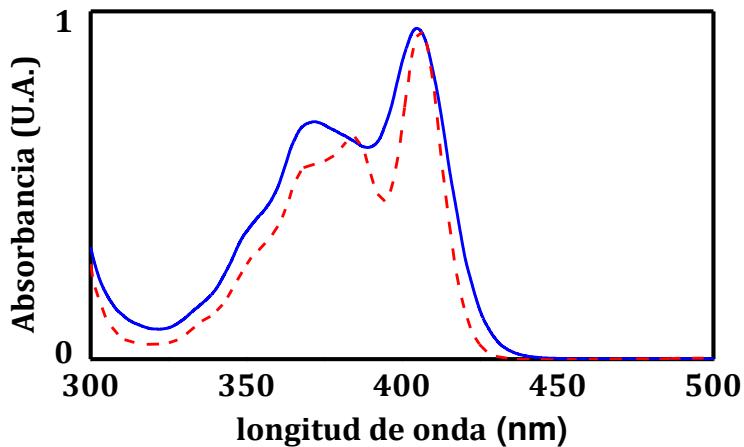


Figura 5.8: Espectros de absorción normalizados de una solución de HPTS $3,9 \times 10^{-5}$ M en HCl 6 M (línea llena azul) y de BMImHPTS $2,7 \times 10^{-5}$ M en BMImCl (línea rayada roja).

En la Figura 5.9 se comparan los espectros de emisión normalizados del HPTS en HCl 6 M y del BMImHPTS en BMImCl. La similitud en la forma espectral sugiere que la emisión del BMImHPTS se corresponde a la del HPTS en su forma ácida. El corrimiento hacia el azul del espectro del BMImHPTS en BMImCl, en comparación al del HPTS en HCl 6 M, se debe al cambio de la polaridad del medio. Este corrimiento favorece la emisión de fotones en la región espectral de mayor eficiencia de detección de los PMTs.

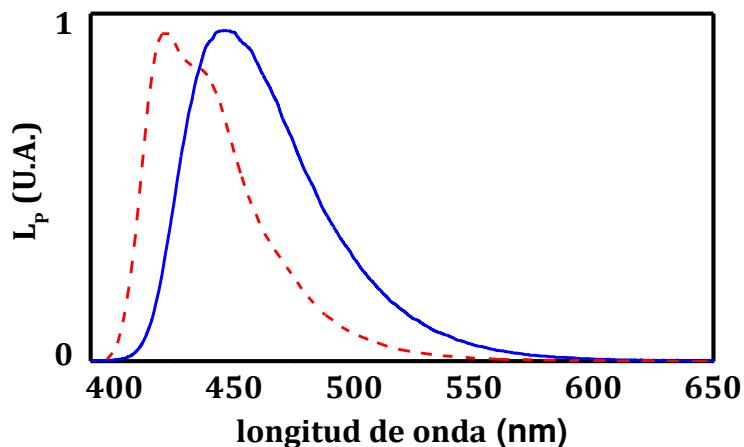


Figura 5.9: Espectros de emisión normalizados de una solución de HPTS $3,9 \times 10^{-5}$ M en HCl 6 M (línea llena azul) y de BMImHPTS $2,7 \times 10^{-5}$ M en BMImCl (línea rayada roja).

El BMImCl no posee en su estructura química especies aceptoras de protón. Por lo tanto, es esperable que el HPTS se encuentre en su forma ácida en

el entorno del LI. La afirmación realizada es cierta sólo si se controla la cantidad de agua de manera minuciosa, como se realizó en este caso.

El rendimiento cuántico de fluorescencia se determinó experimentalmente mediante el uso de la Ecuación 2.4 del Capítulo 2. Las medidas se realizaron sobre una solución $2,7 \times 10^{-5}$ M de BMImHPTS en BMImCl. Se obtuvo un valor de $\Phi_F = 0,98$, (determinado en forma relativa a una solución de QBS de concentración $1,5 \times 10^{-5}$ M en ácido sulfúrico 0,5 M). En la Tabla 5.2 se presentan las magnitudes utilizadas para el cálculo.

	QBS	BMImHPTS
η_D	1,338(1)	1,520(1)
L_p (U.A.)	2528(12)	1598(12)
F_X	0,1854(2)	0,0841(2)
Φ_F	0,546(11)	0,98(4)

Tabla 5.2: Magnitudes experimentales utilizadas para el cálculo del Φ_F del BMImHPTS en BMImCl. η_D es el índice de refracción, F_X es la fracción de luz absorbida $\lambda_{exc} = 350$ nm y L_p es irradianciapectral de fotones emitidos, obtenida por integración del espectro de emisión.

En la Figura 5.10a se muestran los espectros de absorción y de emisión normalizados del BMImHPTS en BMImCl. El solapamiento espectral observado, mayor que en el caso del HPTS en HCl, será el responsable de la reabsorción en las soluciones más concentradas, como se observará más adelante. En la Figura 5.10b se muestran los espectros de emisión de algunas soluciones de BMImHPTS en BMImCl. De manera similar al HPTS en HCl se observa que, en primer lugar, los espectros de fluorescencia aumentan en intensidad al aumentar la concentración. A partir de la muestra de concentración $2,6 \times 10^{-3}$ M los espectros decrecen en intensidad al aumentar la concentración, a pesar de que el factor de absorción alcanza su valor unitario. Sin embargo, la disminución de intensidad de fluorescencia en este caso no es consistente con un fenómeno de autoextinción, como se verá más adelante. Se observa que la máxima cantidad de fotones emitidos y detectados se obtiene para soluciones con una concentración $\sim 0,001$ M.

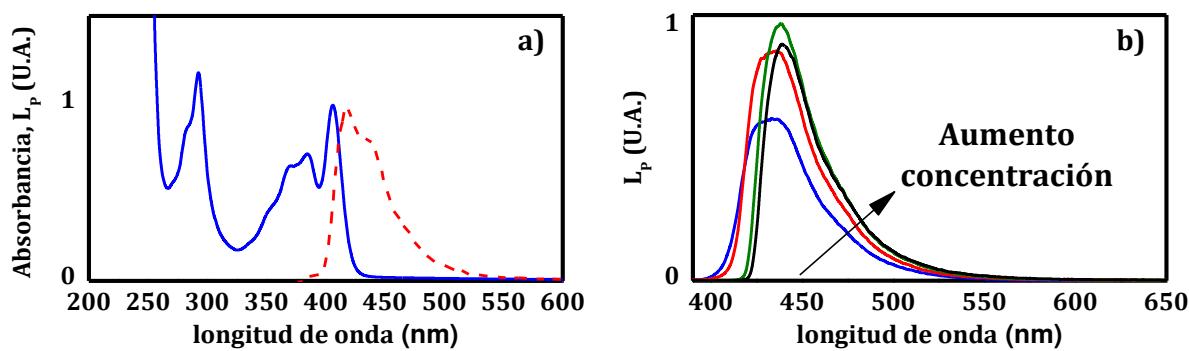


Figura 5.10: a) Espectros de absorción (línea sólida azul) y emisión (línea rayada naranja) normalizados de BMImHPTS $2,7 \times 10^{-5}$ M en BMImCl; b) Espectros de emisión de BMImHPTS $2,3 \times 10^{-4}$ M (línea azul), $6,8 \times 10^{-4}$ M (línea roja), $1,1 \times 10^{-3}$ M (línea verde) y $4,8 \times 10^{-3}$ M (línea negra) en BMImCl.

En la Figura 5.11 se grafican las magnitudes Φ^{obs_F} y Φ^{DRM_F} en función de la concentración.

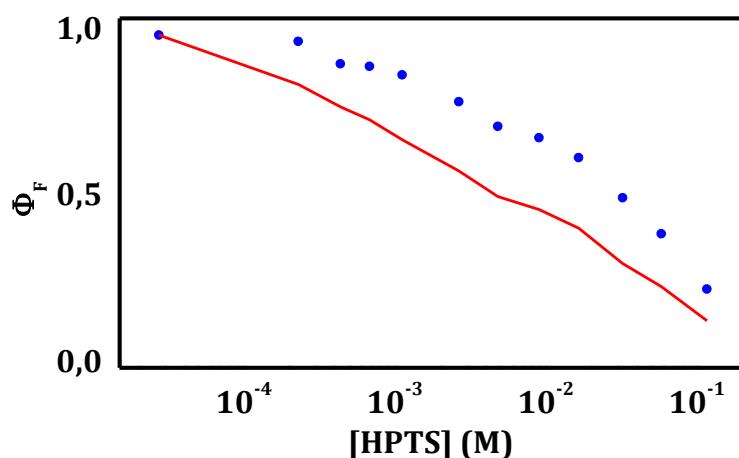


Figura 5.11: Φ^{obs_F} (puntos azules) y Φ^{DRM_F} (línea roja) para BMImHPTS en BMImCl.

Se observa que el DRM no es capaz de reproducir el comportamiento en todo el intervalo de concentraciones. Para las concentraciones más elevadas se obtienen valores de Φ^{obs_F} mayores a los esperados al considerar los efectos de la reabsorción. Este hecho puede, en principio, atribuirse a un fenómeno de re-emisión. El sistema presenta un rendimiento cuántico de fluorescencia cercano a la unidad y un gran solapamiento espectral. Por lo tanto, es posible que fotones que en primera instancia no fueron emitidos

en dirección al detector, puedan ser reabsorbidos y re-emitidos nuevamente para ser detectados.

En la Figura 5.12 se muestran $L_{p,x}^{DRM}(\lambda_0, \lambda, C)$ y $L_{p,x}^{obs}(\lambda_0, \lambda, C)$ para tres soluciones de BMImHPTS en BMImCl de concentración diferente. Puede observarse, para la concentración más diluida de $1,3 \times 10^{-4}$ M, que el DRM reproduce correctamente tanto la forma como la intensidad del espectro de emisión. Sin embargo, para las dos concentraciones más grandes de $1,1 \times 10^{-3}$ y de $5,8 \times 10^{-2}$ M se observa que el DRM puede describir de manera acertada la forma de los espectros pero no sus intensidades. En estos dos casos, los espectros experimentales tienen mayor intensidad que los espectros calculados. En la Figura 5.12 puede apreciarse también que para la solución más concentrada aparece un ligero crecimiento de la intensidad en el lado rojo del espectro que puede estar asociado a la presencia de una pequeña fracción de la especie básica del HPTS o algún agregado superior.

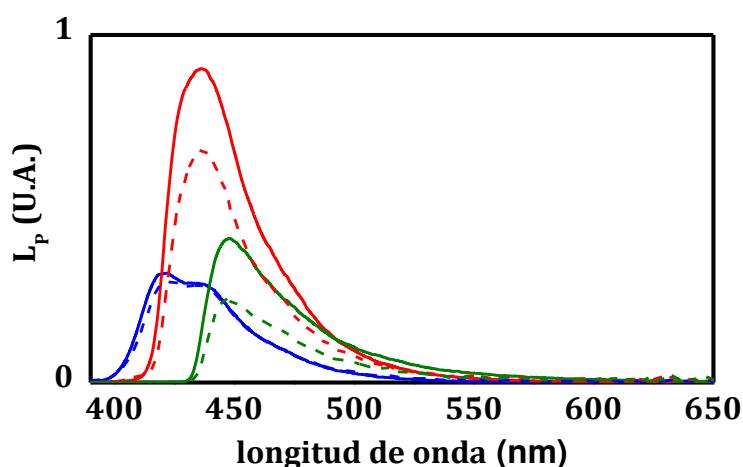


Figura 5.12: Espectros de emisión experimentales (líneas llenas) y calculados por el DRM (líneas de trazos) de BMImHPTS en BMImCl para las siguientes concentraciones: $1,1 \times 10^{-3}$ M (azul); $1,6 \times 10^{-2}$ M (rojo) y $5,8 \times 10^{-2}$ M (verde).

El valor de 0,001 M obtenido para la concentración donde se obtienen la mayor cantidad de fotones emitidos constituye solamente una aproximación de primer orden, como ya se ha mencionado previamente. La geometría de los viales y la configuración del detector en los

experimentos de centelleo pueden diferir considerablemente de los utilizados aquí, además de que el BMIm⁺ y los iones cloruros juegan un papel importante al interaccionar con la radiación ionizante. Como el paso óptico utilizado en estos experimentos es muy pequeño en comparación con los viales de centelleo, es posible inferir que el valor de 0,001 M constituya una cota superior para la concentración óptima buscada. Por lo tanto, en la siguiente sección se evaluarán como cócteles de centelleo líquido soluciones de BMImHPTS en BMImCl de concentraciones iguales o menores a la reportada.

5.4. Aplicación del HPTS como desplazador de longitud de onda de emisión en líquidos iónicos

En las secciones anteriores se mostró que es posible aumentar la eficiencia de conteo de fotones Cherenkov mediante el agregado de sustancias que actúen como desplazadoras de la longitud de onda de emisión. En esta sección se estudiará la influencia que produce el agregado del BMImHPTS al BMImCl sobre los espectros de emisión y la eficiencia de detección de las señales producidas por los radionucleidos ¹⁸F y ³²P. En estos experimentos se determinará también la concentración óptima de HPTS que proporcione la mejor eficiencia de conteo.

5.4.1. Aumento en la eficiencia de conteo de radiación Cherenkov por adición de HPTS a BMImCl

Para confirmar que la adición del BMImHPTS al BMImCl produce un corrimiento espectral de la luz Cherenkov hacia longitudes de onda mayores, es necesario contar con los espectros de la luz emitida por el BMImCl sólo y luego del agregado del BMImHPTS, en experimentos donde se genere radiación Cherenkov. El espectro fotónico de la radiación Cherenkov se conoce desde hace ya unos cuantos años.⁷ Sin embargo, el espectro de emisión que escapa del centelleador se encuentra distorsionado

por la propia auto-absorción de la matriz. No es posible medir estos espectros en un espectrofluorómetro comercial debido a la baja cantidad de fotones generados por cada evento de desintegración, sumado a que los monocromadores filtran un elevado porcentaje de fotones. Para obtener estos espectros se diseñó un arreglo experimental que cuenta con un porta muestra metálico equipado con un portafiltros y un tubo fotomultiplicador Hamamatsu™ R938-14. Este detector tiene una región de detección extendida con respecto a los Burle 8250 previamente mencionados con una eficiencia cuántica mayor al 5% entre 190 a 700 nm. La disposición espacial de los componentes se muestra en la Figura 5.13a. Para el experimento se prepararon dos fuentes por el agregado de 10 μ L de una solución acuosa de ^{32}P (β^- , $E_{\max} = 1,709 \text{ MeV}$, $t_{1/2} = 14,3$ días, actividad de $\sim 500 \text{ kBq}$) a dos celdas de cuarzo de $10 \times 10 \times 30 \text{ mm}$ conteniendo cada una BMImCl y BMImHPTS $2,6 \times 10^{-4} \text{ M}$ en BMImCl. Al momento de efectuar las medidas, con cada fuente se fueron intercalando entre la cubeta y el detector, de a uno a la vez, seis filtros ópticos de corte (WG295, WG345, GG395, GG435, GG475 and OG530, marca Schott™). La transmitancia de los filtros utilizados se muestran en la Figura 5.13b.

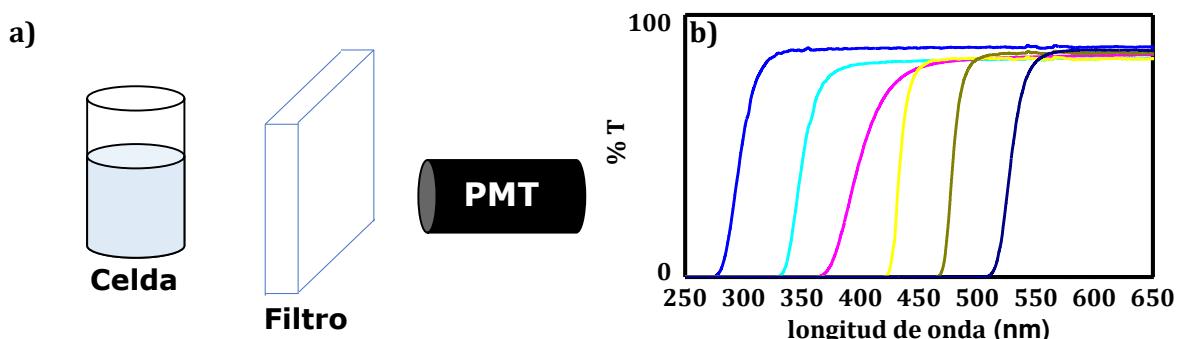


Figura 5.13: a) Esquema del equipo utilizado para la medición del espectro Cherenkov, donde pueden observarse el vial de centelleo, el filtro óptico y el PMT; b) Transmitancia porcentual de los filtros WG295 (azul), WG345 (naranja), GG395 (gris), GG435 (amarillo), GG475 (celeste) y OG530 (verde).

Para obtener el espectro Cherenkov se registró el número de eventos en función de la altura del pulso (es decir, el espectro de altura del pulso) para

cada filtro de corte interpuesto. El número de fotones correspondientes a cada intervalo se calculó como la diferencia entre el total de eventos (ponderados por la altura del pulso) en dos filtros consecutivos. La longitud de onda de corte de cada filtro se tomó como la longitud de onda correspondiente a la media de los valores mínimo y máximo de transmitancia. En la Figura 5.14 se muestra el espectro Cherenkov que escapa del BMImCl y el espectro de emisión del BMImHPTS en BMImCl.⁸

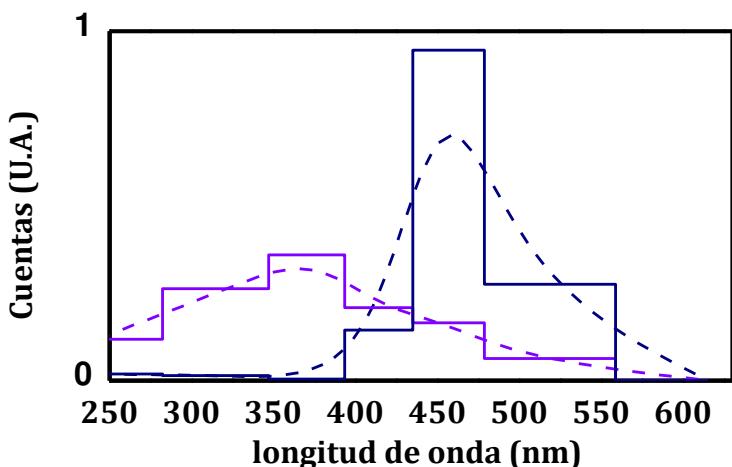


Figura 5.14: Espectro de emisión Cherenkov que emerge del BMImCl puro (línea violeta) y con el agregado de BMImHPTS (línea azul). Las líneas discontinuas representan un suavizado. El radionucleído utilizado fue ^{32}P .

Puede observarse que el agregado del BMImHPTS al BMImCl produce una reducción de los fotones Cherenkov en las longitudes de onda más cortas y un aumento de fotones de fluorescencia en longitudes de onda comprendidas en el intervalo entre 420 y 550 nm. Este resultado indica la ocurrencia de procesos de transferencia de energía radiativa o transferencia de energía trivial, donde los aniones HPTS absorben la luz Cherenkov y la reemiten en forma de fluorescencia.

Los resultados obtenidos en esta sección corroboran el corrimiento de los fotones Cherenkov hacia longitudes de onda más largas. En la sección siguiente se evaluará el impacto que produce la concentración del

BMImHPTS en este desplazamiento y su efecto sobre la eficiencia de detección.

5.4.2. Determinación de la concentración óptima de HPTS

Para determinar el efecto de la concentración del BMImHPTS sobre la e_D se realizaron mediciones con la técnica TDCR-Cherenkov descripta en la Sección 2.5.3 del Capítulo 2. Para tal fin se prepararon muestras con diferentes concentraciones de BMImHPTS en BMImCl que van, desde cero (BMImCl puro) hasta 0,0015 M. Este valor de concentración utilizado como cota máxima se obtuvo de los experimentos presentados en las secciones anteriores. Para la preparación de las fuentes radioactivas se introdujeron 10 μ L de una solución acuosa de ^{18}F o de ^{32}P en las distintas muestras. La actividad de cada radionucleído en cada una de las soluciones se estimó en ~4 kBq.

La Tabla 5.3 resume los resultados obtenidos en los experimentos de TDCR-Cherenkov. El parámetro libre v'' se ajustó para recuperar el valor de T/D experimental usando las Ecuaciones 2.49 y 2.53 del Capítulo 2 para los casos anisotrópicos ($\alpha = 0,42$) e isotrópicos ($\alpha = 1/3$), respectivamente. Para los cálculos se utilizaron los espectros normalizados de las partículas β de ambos radionucleidos N(E). Finalmente, los valores de e_D se obtuvieron a partir de los denominadores de ambas expresiones. Los valores experimentales de e_D se calcularon a partir del recuento de las coincidencias dobles obtenido con el método TDCR-Čerenkov de manera relativa a los obtenidos con el método TDCR LSC con Ultima Gold AB™. No se tuvo en cuenta para los cálculos la probabilidad de captura electrónica del ^{18}F ni la posible interacción gamma dentro de los fotocátodos a través del efecto Compton.

Concentración (mM)	T/D	e_D		
		$\alpha = 0,42$	Experimental	$\alpha = 1/3$
^{18}F				
0	0,1186	0,0547	0,0563(9)	0,0493
0,015	0,1300	0,0630	0,0592(9)	0,0568
0,15	0,2198	0,1319	0,1264(19)	0,1206
1,5	0,1312	0,0639	0,0589(9)	0,0576
^{32}P				
0	0,5455	0,5734	0,5769(43)	0,5472
0,015	0,5941	0,6117	0,6064(45)	0,5862
0,035	0,6253	0,6351	0,6245(47)	0,6103
0,071	0,6384	0,6447	0,6317(47)	0,6202
0,14	0,6643	0,6633	0,6495(49)	0,6395
0,31	0,6777	0,6727	0,6576(49)	0,6494
0,72	0,6688	0,6665	0,6514(49)	0,6498
1,4	0,6397	0,6456	0,6324(47)	0,6212

Tabla 5.3: Eficiencias teóricas y experimentales para la suma lógica de dobles coincidencias para BMImHPTS en BMImCl. Las eficiencias teóricas se calcularon para los modelos completamente isotrópicos ($\alpha = 1/3$) y anisotrópicos ($\alpha = 0,42$).

Para el ^{18}F el máximo valor de $e_D \sim 13\%$ se obtuvo para una concentración de BMImHPTS de $1,5 \times 10^{-4} \text{ M}$. Este valor de eficiencia representa un incremento de $\sim 100\%$ con respecto a la obtenida para el BMImCl puro. Para el ^{32}P , la $e_D \sim 66\%$ es máxima para la concentración de $3 \times 10^{-4} \text{ M}$, mostrando un incremento del 14% respecto a la alcanzada por el BMImCl puro. Las diferencias observadas entre las concentraciones óptimas para el ^{18}F y el ^{32}P pueden ser atribuidas, en principio, a los diferentes intervalos entre concentraciones consecutivas que se utilizaron para cada radionucleido.

El porcentaje de aumento relativo de las eficiencias es mayor cuanto más pequeño es el valor de la eficiencia. Este hecho es una consecuencia directa

de la relación exponencial evidenciada entre el número medio de fotones detectados y la probabilidad de detección, como se observa en la Ecuación 2.39 del Capítulo 2. Por lo tanto, esta estrategia de mejora en la eficiencia de conteo por el agregado de un desplazador de longitud de onda de emisión resulta particularmente útil para los casos en que las partículas β tengan energías cercanas a la energía umbral.

Al comparar la e_D experimental con las calculadas por los modelos anisotrópicos e isotrópicos de la Tabla 5.3 se observa que, en ausencia de BMImHPTS, los valores experimentales coinciden con el caso anisotrópico. Por otra parte, los valores de e_D experimental tienden al caso isotrópico a medida que aumenta la concentración de BMImHPTS. Esto se debe a que, a medida que crece la concentración de BMImHPTS, es mayor la proporción de fotones emitidos por el colorante (isotrópicos) en comparación con los fotones generados directamente por Cherenkov (anisotrópicos).

5.5. Conclusiones

El estudio del HPTS en solución de HCl 6 M reveló la presencia de fenómenos de reabsorción y de autoextinción a medida que se incrementa la concentración. En este contexto, se logró determinar que la máxima eficiencia de emisión de fotones se da para concentraciones de $\sim 1\text{mM}$.

Al cambiar el entorno químico se evidencian grandes cambios en el comportamiento fotofísico del HPTS. En el BMImCl, que proporciona un entorno completamente iónico y una mayor viscosidad, no se evidencia autoextinción apreciable. Por el contrario, se registra un aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia y, asociado a ello, la detección de reemisión. En este caso también se logró determinar que la máxima eficiencia de emisión de fotones se da para concentraciones de $\sim 1\text{mM}$, como en el caso del HPTS en HCl.

Los experimentos de centelleo revelaron que el espectro de luminiscencia de la radiación Cherenkov generado en el BMImCl se desplaza hacia mayores longitudes de onda debido al agregado del BMImHPTS. Para una concentración de BMImHPTS en BMImCl cercana a 0,1 mM, las eficiencias de detección de ^{18}F y ^{32}P se incrementan en $\sim 124\%$ y $\sim 14\%$ respectivamente, comparado con el BMImCl puro. Además se verifica que el agregado de una sustancia que actúe como desplazador de la longitud de onda de emisión rompe con la anisotropía de la radiación Cherenkov. La mejora presentada es particularmente útil para la detección de electrones con energías cercanas a la energía umbral de generación de radiación Cherenkov.

5.6. Referencias

- ¹ Kossert, K. (2010) Activity standardization by means of a new TDCR – Cherenkov counting technique. *Appl. Radiat. Isotopes* 68, 1116 – 1120.
- ² Mirenda, M., Rodrigues, D., Arenillas, P., Gutkowski, K. (2014) Ionic liquids as solvents for liquid scintillation technology. Čerenkov counting with 1-Butyl-3-Methylimidazolium Chloride. *Rad. Phys. Chem.* 98, 98 – 102.
- ³ Ross, H. (1976) Theory and application of Čerenkov counting. In: Noujaim, A., Ediss, C., Wiebe, L. (Eds.), *Liquid Scintillation Science and Technology*. Academic Press, New York, 79 – 91.
- ⁴ Wiebe, L., Helus, F., Maier-Borst, W. (1978) Čerenkov counting and Čerenkov-scintillation counting with high refractive index organic liquids using a liquid scintillation counter. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 29, 391 – 394.
- ⁵ Nandi, R., Amdursky, N. (2022) The Dual Use of the Pyranine (HPTS) Fluorescent Probe: A Ground-State pH Indicator and an Excited-State Proton Transfer Probe. *Acc. Chem. Res.* 55, 2728 – 2739.
- ⁶ Barrash-Shiftan, N., Brauer, B., Pines, E. (1998) Solvent Dependence of Pyranine Fluorescence and UV-visible Absorption Spectra. *J. Phys. Org. Chem.* 11, 743 – 750.
- ⁷ Fülöp, L., Biró, T. (1992) Cherenkov radiaton spectrum. *Int. J. Theor. Phys.* 31, 61 – 74.
- ⁸ Mirenda, M., Rodrigues, D., Ferreyra, C., Arenillas, P., Sarmiento, G., Krimer, N., Japas, M. (2018) Ionic Liquids as Solvents for Čerenkov Counting and the Effect of a Wavelength Shifter. *Appl. Radiat. Isot.* 134, 275 – 279.

Capítulo 6: Líquidos iónicos radioluminiscentes

6.1. Introducción

Tanto la radiación Cherenkov como la radioluminiscencia pueden ser utilizadas para la determinación de la actividad de diferentes radioisótopos mediante la técnica de centelleo líquido. En el Capítulo 5 se ha descripto el uso del BMImCl como solvente de centelleo, ya sea puro o con el agregado del BMImHPTS, aprovechando la generación de radiación Cherenkov con algunos radioisótopos como el ^{18}F . En este capítulo se presentan los diferentes pasos para el diseño y la síntesis de un líquido iónico radioluminiscente (RadIL, del acrónimo en inglés para *Radioluminescent Ionic Liquid*). La radioluminiscencia, a diferencia de la radiación Cherenkov, se origina en las des-excitaciones vibrónico-moleculares del material. Consecuentemente, se presentan también los experimentos que describen las principales características fisicoquímicas y fotofísicas del RadIL, las cuales hacen posible la detección y cuantificación de radiación ionizante. Es necesario notar que, hasta el desarrollo de la presente tesis, no había registro alguno en la literatura sobre la existencia de LIs radioluminiscentes.

6.2. Diseño y síntesis de un RadIL

De todas las interacciones enumeradas y descriptas en el Capítulo 1 entre la materia y las partículas α y β , se considerarán únicamente para el diseño de un RadIL las colisiones con los electrones de las moléculas del medio. Estas interacciones constituyen las de mayor relevancia a la hora de evaluar los eventos principales que causan la emisión de un centelleador líquido. En cada colisión las partículas ionizantes van perdiendo su energía produciendo la excitación o la ionización de las moléculas. La optimización de la emisión del centelleador radica en comprender y manejar los procesos

fotofísicos que ocurren dentro del material una vez generadas las excitaciones electrónicas y/o los fotones de luminiscencia. A continuación se listan una serie de recomendaciones a tener en cuenta para optimizar la emisión radioluminiscente de un centelleador líquido:

- 1) El material centelleador debe estar constituido de moléculas capaces de excitarse electrónicamente y emitir luminiscencia. Para que la excitación molecular resulte eficaz se deben utilizar moléculas que presenten una gran proporción de electrones π con respecto al número de electrones totales, como se mencionó previamente en el Capítulo 1. Además, para lograr una alta eficiencia de emisión, deben utilizarse luminóforos con elevado rendimiento cuántico de emisión.
- 2) El material centelleador no debe presentar una elevada densidad óptica a la longitud de onda de emisión para evitar fenómenos de reabsorción. En caso de que esto no sea posible, una estrategia eficaz para sortear este inconveniente es la de adicionar sustancias que actúen como desplazadoras de longitud de onda de emisión, cómo se realizó en el Capítulo 5. Estas sustancias actúan absorbiendo, de manera radiativa o no-radiativa, la emisión original del material para posteriormente re-emitirla en una región espectral más hacia al rojo. De esta manera cumplen con la doble función de evitar la reabsorción y re-emitir en una longitud de onda donde es mayor la eficiencia de los fotodetectores.
- 3) El material centelleador debe ser líquido en las condiciones de trabajo para asegurar una correcta homogenización de la muestra.
- 4) El material centelleador debe ser capaz de disolver la muestra radioactiva.

Las dos primeras consideraciones son de naturaleza fotofísica, mientras que las dos restantes obedecen a características fisicoquímicas. Todas ellas han

sido evaluadas para el diseño y la síntesis del RadIL que aquí se presenta, cuya composición es $[BMIm]_{2,003}[Cl][Tos][HPTS]_{0,001}$. El proceso de síntesis del material se realizó mediante el mezclado en proporciones equimolares de BMImCl y BMImTos; y un posterior agregado BMImHPTS hasta alcanzar la concentración deseada.

Cada componente del RadIL fue seleccionado para cumplir con una función específica:

- a) el BMImCl brinda la característica líquida iónica al material, evitando la solidificación el mismo;
- b) los aniones Tos actúan como colectores de la energía que ceden las partículas ionizantes en su paso por el medio. Presentan una elevada proporción de electrones π con respecto al número de electrones totales, cómo ha sido mencionado ya en la Sección 4.1 del Capítulo 4. Esto favorece la interacción con las partículas α y β para generar estados excitados moleculares con posterior emisión radiofluorescente;
- c) el anión HPTS sirve como desplazador de longitud de onda. Es capaz de absorber la luz emitida por el Tos y emitirla en la región de máxima eficiencia de los fototubos multiplicadores. La concentración de este componente fue determinada a partir de los resultados ya expuestos en el Capítulo 5.

Se realizó la caracterización espectroscópica tanto de los componentes por separado como del RadIL sintetizado. La Figura 6.1a muestra los espectros de absorción y emisión normalizados de los iones por separado. Los espectros de absorción y emisión del Tos, los cuales fueron presentados previamente en la Sección 4.3.1 del Capítulo 4, son semejantes en forma a los registrados para el mismo anión en solución acuosa diluida pero con un corrimiento de 3 y 5 nm hacia el rojo respectivamente. A pesar de la

elevada concentración del anión (~ 2 M) en el LI, no se observan evidencias espectroscópicas de agregación tanto en el estado fundamental como en el estado excitado. El espectro de emisión del Tos solapa eficientemente con una de las bandas del espectro de absorción del HPTS. Esta adecuada superposiciónpectral favorece los eventos de transferencia de energía entre ambas especies. Debido a la concentración del HPTS en el RadIL de $2,2 \times 10^{-4}$ M, es de esperar que los eventos de transferencia de energía sean mayoritariamente de naturaleza radiativa. Para estas concentraciones, la distancia media entre aniones HPTS es del orden de ~ 200 nm, estimada a partir de la fórmula $d = 1/\sqrt[3]{Na \cdot C_0}$ donde Na es el número de Avogadro, lo cual representa distancias mucho mayores a las esperadas para eventos de transferencia de energía no-radiativa.

La Figura 6.1b muestra los espectros normalizados de absorción y emisión del RadIL. Puede observarse que la emisión del RadIL presenta una banda con un máximo en 420 nm. Esta banda corresponde a la emisión del HPTS y concuerda con la longitud de onda de máxima sensibilidad de los fotomultiplicadores comerciales más utilizados en centelleo, como se mostró en el Capítulo 5. También se observa una banda de emisión con un máximo alrededor de 300 nm. Esta banda pertenece a la emisión del Tos y se encuentra parcialmente distorsionada con respecto a su forma original debido a la reabsorción sufrida por el HPTS.

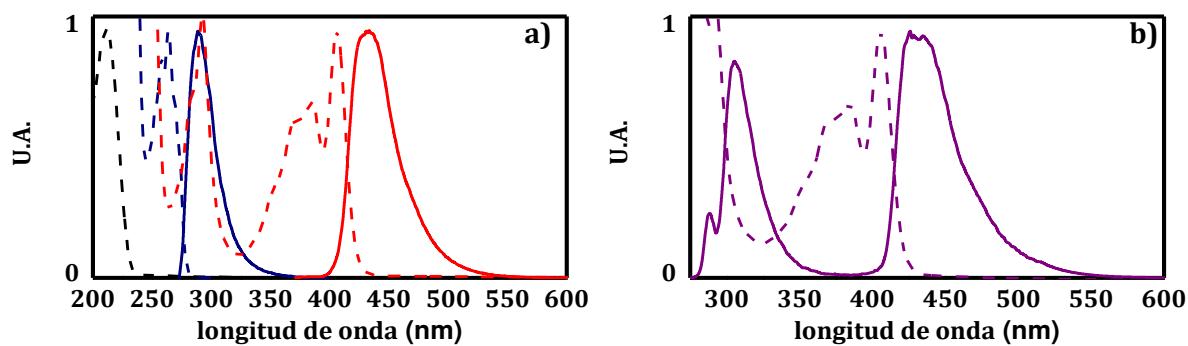


Figura 6.1: (a) Espectros de absorción y emisión normalizados de los iones constitutivos del RadIL: BMIMCl en agua (línea punteada negra), $[\text{BMIM}^+]_2[\text{Cl}^-][\text{Tos}^-]$ (líneas azules a rayas y sólida, $\lambda_{\text{exc}} = 260 \text{ nm}$), y BMIMHPTS en BMIMCl (líneas de punto y raya y sólida rojas $\lambda_{\text{exc}} = 345 \text{ nm}$); (b) Espectros de absorción (línea discontinua violeta) y de fluorescencia (línea continua violeta) normalizados del RadIL, medidos en geometría de trasmisión con un paso óptico de 0,2 cm y $\lambda_{\text{exc}} = 260 \text{ nm}$.

El esquema de la Figura 6.2b representa el mecanismo que tiene lugar en el RadIL, comenzando por la excitación vibrónica del Tos por el pasaje de radiación ionizante o luz. Posterior a la excitación se representan los eventos de transferencia de energía radiativa hacia el HPTS y la posterior emisión de fotones que escapan del centelleador.

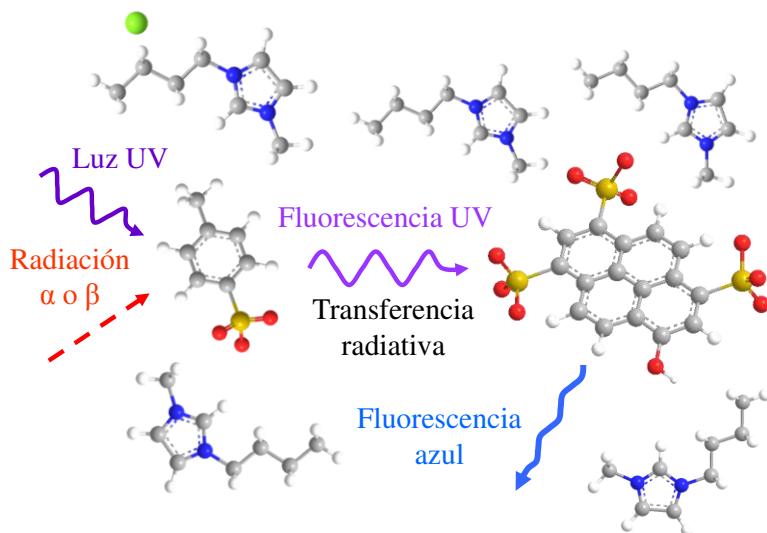


Figura 6.2: Esquema representando la excitación vibrónico-molecular del Tos por luz UV o partículas α y β , seguido de los eventos de transferencia de energía radiativa al HPTS con la consecuente emisión final de fotones azules con máximo en 420 nm.

6.3. Radioluminiscencia del [BMIm]_{2,003}[Cl][Tos][HPTS]_{0,001}

Una vez finalizado el diseño y la síntesis del RadIL se llevaron a cabo experimentos de centelleo líquido para corroborar su capacidad radioluminiscente. Los experimentos se realizaron de la siguiente manera: a) se prepararon cuatro viales de centelleo; a los viales 1 y 2 se les introdujo [BMIm]_{2,003}[Cl][Tos][HPTS]_{0,001} y a los viales 3 y 4 se les introdujo el LI [BMIm]_{1,003}[Cl][HPTS]_{0,001}; b) a los viales 1 y 3 se les agregó, posteriormente, unas gotas de solución de ¹⁴C, mientras que a los viales 2 y 4 se les agregó unas gotas de una solución de ²⁴¹Am. Para ambos pares de viales, se agregaron entre 10 y 40 µL de la solución acuosa del radionucleido correspondiente (equivalente a una actividad entre 5 a 20 kBq). Los viales con las fuentes se introdujeron, de a uno a la vez, en un equipo de centelleo portátil provisto de dos PMTs en coincidencia, cuya descripción fue realizada previamente en el Capítulo 2. Finalmente se registró el número de coincidencias dobles para cada vial.

Los radionucleidos ¹⁴C (β^- ; $E_{\max} = 156$ keV; $T_{1/2} = 5730$ años) y ²⁴¹Am (α ; 5,486 MeV; $T_{1/2} = 432,2$ años) no generan fotones Cherenkov en los LIs utilizados. Las partículas β^- , provenientes de la desintegración de los núcleos de ¹⁴C, no tienen la suficiente energía para superar la energía umbral ($E_{\max} = 156$ keV < $E_{\text{Th}} = 164$ keV). Las partículas α , emitidas por el ²⁴¹Am, son muy pesadas en comparación con los electrones y no logran alcanzar la velocidad necesaria, a pesar de tener energía de más de un orden de magnitud mayor.

En la Figura 6.3 se observa que ambos radionucleidos producen señales significativamente por encima del nivel del fondo cuando se disuelven en el [BMIm]_{2,003}[Cl][Tos][HPTS]_{0,001}. Por otra parte, no se observa señal por encima del nivel del fondo en los viales con [BMIm]_{1,003}[Cl][HPTS]_{0,001}. Queda claro que el anión Tos cumple un rol fundamental, como era de esperarse por el diseño propuesto, en la generación de emisión por parte

del material centelleador. Al quedar desestimada la generación de radiación Cherenkov, es lógico que el $[BmIm]_{1,003}[Cl][HPTS]_{0,001}$ no emita señal por encima del nivel del fondo. Este LI no es posible de generar radioluminiscencia por no contar con el anión Tos en su estructura.

Se descartaron los siguientes fenómenos que podrían ser causa de la señal observada en el RadIL: i) una eventual contribución a la señal por la interacción entre rayos X, producidos por la *Bremsstrahlung*, o rayos γ con el photocátodo al no observarse señal de coincidencias por encima del nivel del fondo cuando se interpone un papel oscuro entre el fototubo y el vial; ii) la eventual generación de fotones Cherenkov en el vidrio de los fototubos multiplicadores, como resultado de la interacción de fotones de aniquilación que escapan del RadIL e interactúan vía dispersión de Compton, ya que no se observó señal de coincidencias por encima del nivel del fondo al interponer un papel oscuro entre el fototubo y el vial; iii) la generación de fotones Cherenkov por parte de los electrones libres, eventualmente originados en el RadIL a causa del efecto fotoeléctrico o del efecto Compton, ya que no debiesen tener la suficiente energía para superar la energía umbral.

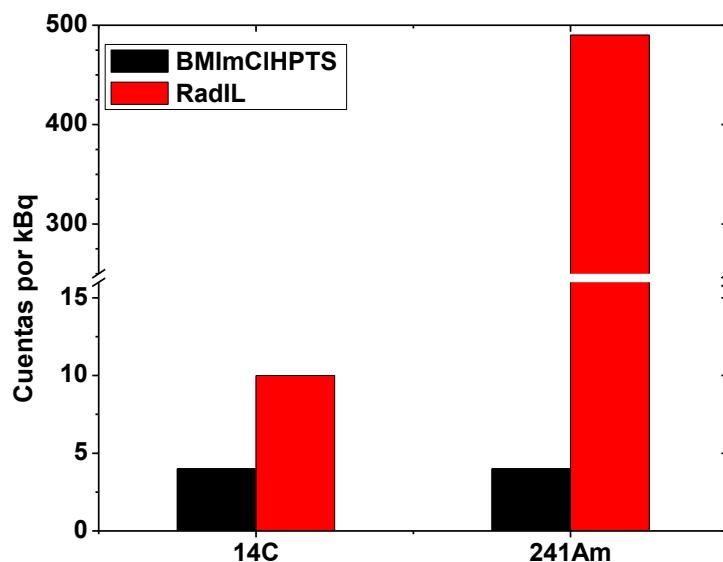


Figura 6.3: Conteo de coincidencias dobles por kBq obtenidos en $[BmIm]_{1,003}[Cl][HPTS]_{0,001}$ (barras negras) y RadIL ($[BmIm]_{2,003}[Cl][Tos][HPTS]_{0,001}$) (barras rojas), para ^{14}C y ^{241}Am . Todas las medidas se realizaron a 20 °C.

Todos los motivos anteriormente enumerados establecen argumentos sólidos para concluir que las coincidencias detectadas al usar el $[BMIm]_{2,003}[Cl][Tos][HPTS]_{0,001}$ se originan en un fenómeno de radioluminiscencia en el RadIL. Este resultado representa la primera evidencia reportada en la bibliografía de este tipo de fenómeno en LIs.¹ En la siguiente sección se mostrarán experimentos que utilizan el radionucleido ^{32}P que puede, además de generar radioluminiscencia en el RadIL, generar también radiación Cherenkov.

6.4. Diferenciación de fotones provenientes de radioluminiscencia y de radiación Cherenkov

Luego de realizados los experimentos con los radionucleidos ^{14}C y ^{241}Am , los cuales no pueden generar Radiación Cherenkov en los LIs utilizados, se realizaron nuevos ensayos, esta vez con el radionucleido ^{32}P (β^- ; $E_{max} = 1,704 \text{ MeV}$; $T_{1/2} = 14,268 \text{ días}$).² Los electrones emitidos por el ^{32}P sí son capaces de generar radiación Cherenkov en los LIs, debido a que existe una fracción del espectro de emisión β^- del ^{32}P que posee energía por encima de la energía umbral ($E_{max} = 1,704 \text{ MeV} > E_{Th} = 164 \text{ keV}$). La Figura 6.4 muestra que el $[BMIm]_{1,003}[Cl][HPTS]_{0,001}$ genera una señal por encima del nivel del fondo, hecho que no ocurre con los anteriores radionucleidos.

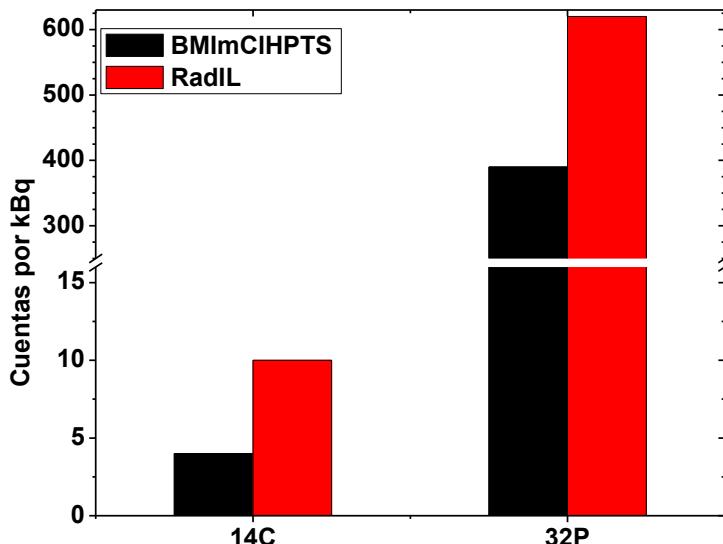


Figura 6.4: Conteo de coincidencias dobles por kBq obtenidos en $[\text{BMIm}_{1,003}][\text{Cl}][\text{HPTS}_{0,001}]$ (barras negras) y RadIL ($[\text{BMIm}_{2,003}][\text{Cl}][\text{Tos}][\text{HPTS}_{0,001}]$) (barras rojas), para ^{14}C y ^{32}P . Todas las medidas se realizaron a 20 °C.

El $[\text{BMIm}]_{2,003}[\text{Cl}][\text{Tos}][\text{HPTS}]_{0,001}$ genera un número de coincidencias dobles un orden de magnitud mayor que el $[\text{BMIm}]_{1,003}[\text{Cl}][\text{HPTS}]_{0,001}$. Este hecho podría ser atribuido, en un principio, a la absorción de los fotones Cherenkov por parte del Tos, y una posterior transferencia de energía desde este anión al HPTS. Sin embargo, se demostró en la sección anterior que las partículas β^- provenientes del ^{14}C producen radioluminiscencia, por lo que no existe razón alguna para que los emitidos por el ^{32}P , que son un orden de magnitud mayor en energía, no generen el mismo efecto. En base al razonamiento anterior puede inferirse que el RadIL es capaz de generar luminiscencia mediante dos mecanismos distintos, radioluminiscencia y radiación Cherenkov.

6.5. Efecto de la temperatura en la intensidad de fluorescencia del $[\text{BMIm}]_{2,003}[\text{Cl}][\text{Tos}][\text{HPTS}]_{0,001}$

Una característica fundamental de la fluorescencia del $[\text{BMIm}]_{2,003}[\text{Cl}][\text{Tos}][\text{HPTS}]_{0,001}$ es la dependencia de su intensidad con la temperatura. La Figura 6.5a muestra una disminución de la intensidad de fluorescencia del RadIL con el aumento de la temperatura.

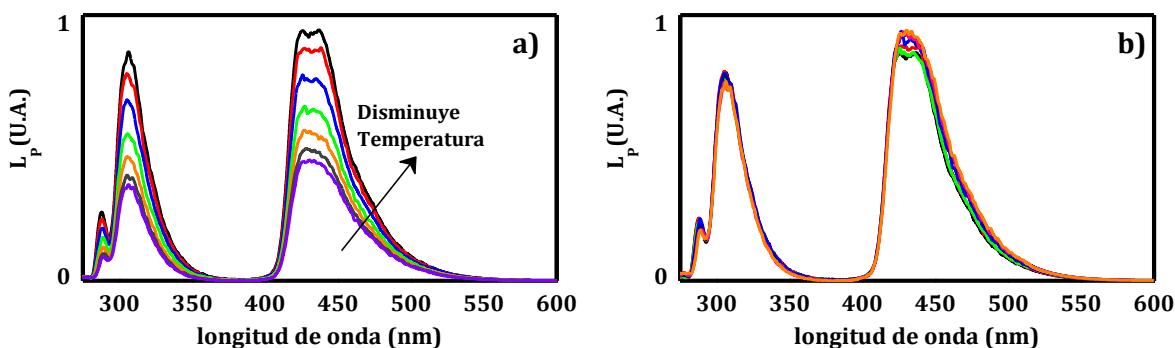


Figura 6.5. a) Espectros de fluorescencia estacionaria del $[BMIm]_{2,003}[Cl][Tos][HPTS]_{0,001}$, obtenidos por excitación a 260 nm, en función de la temperatura; b) Espectros de fluorescencia de la Figura 6.5.a normalizados en 310 nm.

El espectro de fluorescencia del RadIL presenta dos bandas bien definidas, como se mencionó previamente en la Sección 6.2. La banda con un máximo en 310 nm corresponde a la emisión remanente del anión Tos que no ha sido reabsorbida por los aniones HTPS. La banda con máximo en 410 nm corresponde a la emisión del anión HTPS, que ha sido excitado mediante un proceso de transferencia de energía radiativa a partir de la emisión del Tos. La disminución de la intensidad de fluorescencia se produce de manera análoga en ambas bandas de emisión. Esto puede corroborarse al observar la Figura 6.5.b, donde se presentan los espectros de emisión del RadIL para las diferentes temperaturas pero normalizados en 310 nm. Puede observarse mediante esta estrategia que la intensidad de fluorescencia del HPTS prácticamente no cambia con la temperatura. Por lo tanto, la disminución de la fluorescencia del RadIL puede atribuirse, en principio, al cambio de la emisión fluorescente del anión Tos con la temperatura.

Para analizar la hipótesis del párrafo anterior es necesario recordar que la disminución del rendimiento cuántico del anión Tos en solución acuosa con el aumento de la temperatura fue previamente descripta en el Capítulo 4, y está asociado al cambio de la constante no radiativa del anión con dicha variable. Este hecho provoca que un aumento de la temperatura en el RadIL redunde en una menor emisión del Tos, con la consecuente disminución de la excitación de los aniones HPTS por el mecanismo de transferencia de

energía radiativa. De esta manera, la emisión total del RadIL disminuye conforme aumenta la temperatura.

La sensibilidad del RadIL con la temperatura en conjunto con el doble mecanismo de generación de luminiscencia (radioluminiscencia – Radiación Cherenkov), nos permitirá en la siguiente sección analizar resultados que harán posible cuantificar la actividad de una mezcla de radioisotopos.

6.6. Cuantificación de fotones provenientes de radioluminiscencia y de radiación Cherenkov

La disminución de la fluorescencia del RadIL con la temperatura se traduce en cambios en la eficiencia de conteo de coincidencias dobles, normalizadas por actividad, cuando este compuesto se usa como solvente para experimentos de centelleo líquido. Como la extinción de la luminiscencia se corresponde únicamente con cambios en la emisión y la transferencia de energía del Tos hacia el HPTS, la eficiencia de conteo de fotones Cherenkov no se ve afectada por esta variable. La posibilidad de extinguir los fotones de radioluminiscencia sin modificar los fotones Cherenkov permite, a priori, utilizar esta característica para cuantificar la actividad de una mezcla de dos radionucleidos. Esta mezcla deberá estar compuesta por emisores de partículas beta puros de alta energía, es decir, con energía suficiente para generar radiación Cherenkov, y partículas que no generen radiación Cherenkov, es decir, partículas alfa y betas de baja energía.

Se realizaron experimentos para corroborar la hipótesis propuesta. Con ese objetivo se determinó, mediante LSC, la eficiencia de conteo de dobles coincidencias, e_D , del RadIL en función de la temperatura para tres casos diferentes: i) para el agregado de un radionucleido emisor beta puro (^{32}P); ii) para el agregado de un radionucleido emisor alfa puro (^{241}Am) y iii) para una mezcla de ambos radionucleidos con actividad conocida. Los resultados obtenidos se resumen en la Figura 6.6.

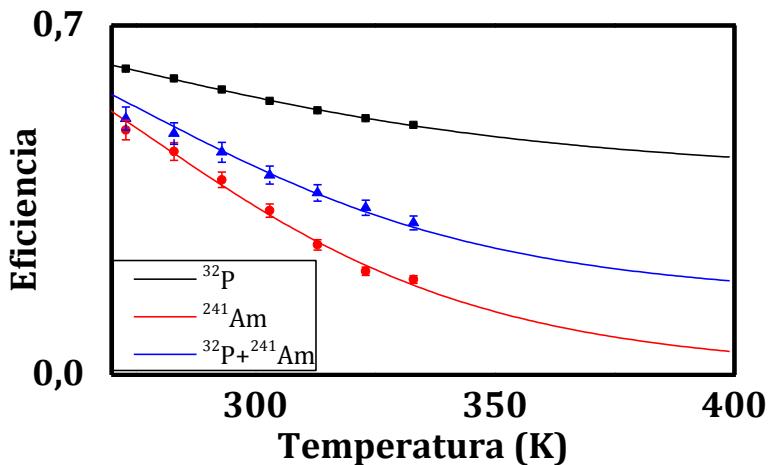


Figura 6.6: Eficiencia de conteo de doble coincidencias en función de la temperatura del RadIL para el agregado de ^{241}Am (círculos rojos), ^{32}P (cuadrados negros) y una mezcla de ambos radionucleidos (triángulos azules). Las líneas llenas corresponden a la descripción teórica del fenómeno observado (ver texto).

La eficiencia de conteo disminuye en los tres casos al aumentar la temperatura. Sin embargo, las funcionalidades son diferentes.

La eficiencia de conteo de coincidencias dobles, e_D , puede ser expresada a partir de la Ecuación 2.41 del Capítulo 2 de la siguiente manera:

$$e_D(T) = [1 - e^{-\nu m(T)}]^2 \quad 6.1$$

donde en este caso se explicita la dependencia con la temperatura en el número medio de fotones emitido por el centelleador, $m(T)$, siendo ν un parámetro asociado con la eficiencia del sistema de detección. El número medio de fotones emitidos por el centelleador es proporcional al número de estados excitados, N_{exc} , y puede expresarse como:

$$m(T) = K N_{\text{exc}} \Phi_F(T) \quad 6.2$$

donde K es una constante de proporcionalidad geométrica y $\Phi_F(T)$ es el rendimiento cuántico de fluorescencia, que depende de la temperatura con la funcionalidad expresada en la Ecuación 4.1 del Capítulo 4.

Para el caso de partículas α , la generación de estados excitados es prácticamente independiente de la energía de la partícula, obteniéndose $N_{\text{exc}} = \text{cte}$. En este caso, al combinar Ecuación 4.1 del Capítulo 4 con las Ecuaciones 6.1 y 6.2 se obtiene la dependencia de la eficiencia de detección de las dobles coincidencias generadas por una desintegración α con la temperatura, $e_{D,\alpha}(T)$:

$$e_{D,\alpha}(T) = \left[1 - e^{-\frac{\nu'}{A+B\frac{W_i}{RT}}} \right]^2 \quad 6.3$$

donde ν' , A, B y W_i son parámetros ajustables.

Para partículas β^- capaces de generar radiación Cherenkov, la eficiencia de dobles coincidencias puede expresarse como:

$$e_{D,\beta+Ch}(T) = \int_0^{E'} N(E) \left(1 - e^{-[\nu_\beta m(E,T) + \nu_{Ch} k(E)]} \right)^2 dE \quad 6.4$$

donde E es la energía, $N(E')$ es el espectro de las partículas β^- , $m(E,T)$ es número medio de fotones emitidos por el centelleador, $k(E')$ es el número de fotones Cherenkov, y ν_β y ν_{Ch} son dos parámetros ajustables.³

En este caso, el número de estados excitados explicitados en la Ecuación 6.2 depende de manera proporcional a la energía de la partícula

$$N_{\text{exc}} = kB \times E \quad 6.5$$

siendo kB la constante de Birks. Por otra parte, $k(E)$ puede calcularse resolviendo las siguientes ecuaciones:³

$$k(E) = \int_{E_{th}}^E \frac{dk}{dx} \frac{1}{\rho \frac{dE}{dx}} dE \quad 6.6a$$

$$\frac{dk}{dx} = 2\pi\alpha_{FS} \left(\frac{1}{\lambda_1} - \frac{1}{\lambda_2} \right) \left(1 - \frac{1}{\eta^2 \times \beta^2} \right) \quad 6.6b$$

donde x representa la distancia recorrida por la partícula β ; λ_1 y λ_2 son los límites inferiores y superiores de la longitud de onda de los fotones Cherenkov emitidos, η es el índice de refracción del medio, β es la fracción de la velocidad de la partícula con respecto a la velocidad de la luz en el vacío, y α_{FS} es la constante de estructura fina. dE/dx se calcula interpolando linealmente los valores de la base de datos ESTAR.⁴

Reemplazando Ecuación 4.1 del Capítulo 4 y las expresiones 6.2, 6.5, 6.6a y 6.6b en la Ecuación 6.4 se obtiene:

$$\varepsilon_{\beta+Ch}(T) = \int_0^E N(E') \left(1 - e^{-\left[\frac{\nu'' E'}{A+B \frac{W_i}{RT}} + \nu''' k(E') \right]} \right)^2 dE' \quad 6.7$$

Los datos experimentales se ajustaron mediante las Ecuaciones 6.3 y 6.7. Los ajustes se muestran en la Figura 6.6 y los parámetros correspondientes a dichos ajustes se presentan en la Tabla 6.1.

La disminución de la eficiencia con la temperatura pudo ser explicada en todos los casos mediante la utilización de los mismos parámetros A, B y W que para el caso del [BMIm]₂[Cl][Tos]. Este resultado refuerza el razonamiento realizado con anterioridad en donde se argumentó que el anión Tos es el que determina el comportamiento con la temperatura del RadIL.

Parámetro	Valor
A	6,68(104)
B	7179(3222)
$W_i /(\text{kJ/mol})$	15,43(129)
v'	18,655(609)
v''	20,27(103)
$v''' \times 10^5$	1,115(29)

Tabla 6.1: Parámetros obtenidos del ajuste de las eficiencias de conteo de coincidencias dobles en función de la temperatura para ^{241}Am , ^{32}P y una mezcla de ambos radionucleidos, utilizando $[\text{BMIM}]_{2,003}[\text{Cl}][\text{Tos}][\text{HPTS}]_{0,001}$ como solvente de centelleo.

La tasa de extinción de la e_D con la temperatura para el ^{32}P es menor que la observada para el ^{241}Am . Esto obedece a que, en el caso del ^{32}P , se produce la extinción de los fotones de radioluminiscencia pero quedan remanentes los provenientes de la radiación Cherenkov. El índice de refracción del LI sufre sólo una pequeña variación con la temperatura, como puede observarse en la Tabla 6.2. Este resultado implica que la intensidad de fotones Cherenkov permanece prácticamente constante en el intervalo de temperaturas estudiado.

T / °C	nD	T / °C	nD
10	1,533(1)	50	1,522(1)
15	1,532(1)	55	1,520(1)
20	1,530(1)	60	1,519(1)
25	1,529(1)	65	1,518(1)
30	1,527(1)	70	1,516(1)
35	1,526(1)	75	1,515(1)
40	1,525(1)	80	1,514(1)
45	1,523(1)	85	1,513(1)

Tabla 6.2: Índice de refracción del RadIL a 589,3 nm en función de la temperatura.

La Figura 6.6 muestra que los valores de las eficiencias de la mezcla de ^{241}Am y ^{32}P , $e_M(T)$, se encuentran comprendidos entre los valores de

eficiencia obtenidos para los radionucleidos de manera individual. Por lo tanto, $e_M(T)$ puede obtenerse mediante una combinación lineal de las actividades de cada uno de los radionucleidos por separado, ponderadas por sus respectivas eficiencias.

En la actualidad es posible determinar las actividades de radiounclídeos en una mezcla con métodos basados en diferenciación espectral. Esta técnica requiere de un equipamiento específico capaz de medir la energía de las partículas provenientes de las desintegraciones. Además, depende de que los espectros de estas partículas no se superpongan de manera apreciable en el intervalo de energía de medición. A diferencia de esta técnica, la propuesta presentada aquí sólo necesita realizar el conteo de dobles coincidencias a diferentes temperaturas.

El RadIL permite cuantificar la actividad de radionucleidos que se encuentren en una mezcla mientras que se cumpla la premisa de que uno de ellos genere radiación Cherenkov y el otro no. Para ello se requieren dos determinaciones de la actividad total a temperaturas diferentes. El procedimiento es el siguiente:

Se preparan tres muestras X, Y y Z, en viales de centelleo separados que contengan RadIL. En cada uno se coloca:

- a) actividad conocida del radionucleido emisor de una partícula que no sea capaz de generar Cherenkov (Muestra X);
- B) actividad conocida del radionucleido emisor beta, capaz de generar radiación Cherenkov, presente en la mezcla (Muestra Y);
- C) la mezcla de los radionucleidos cuyas actividades se quiere determinar (Muestra Z).

En una segunda instancia, se determina el número de coincidencias dobles en las muestras X, Y y Z a dos temperaturas diferentes, T_1 y T_2 . Dividiendo el número de coincidencias dobles de las muestras X e Y por las respectivas

actividades se obtienen las eficiencias de detección para cada temperatura: para la Muestra X: e_1^1 , e_2^1 ; para la Muestra Y: e_1^2 y e_2^2 , donde e_i^j es la eficiencia de detección del radionucleido j a la temperatura i. Finalmente, el número de coincidencias dobles de la muestra Z a dos temperaturas diferentes permite formular el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned}Z_1 &= e_1^1 A^{(1)} + e_1^2 A^{(2)} \\Z_2 &= e_2^1 A^{(1)} + e_2^2 A^{(2)}\end{aligned}$$

donde Z_i es el número de coincidencias dobles de la muestra Z a la temperatura i, y $A^{(j)}$ es la actividad del radionucleido j en la mezcla. De este sistema de ecuaciones pueden obtenerse las actividades de los radionucleidos en la mezcla. La precisión del método puede mejorarse significativamente, por ejemplo, realizando mediciones en un número mayor de temperaturas diferentes.

En caso de utilizarse el método TDCR, no es necesario obtener por un método alternativo las actividades de las soluciones de los radionucleidos por separado, ya que se trata de un método absoluto. Las mismas pueden obtenerse de ajustar el cociente T/D y posterior cálculo, cómo se explicitó en la Sección 2.5.2 del Capítulo 2. En el transcurso de la tesis no se utilizó este método debido a que el equipo provisto con tres PMTs no cuenta con el módulo que permite termostatizar las muestras.

No se conoce, hasta la fecha, registro o antecedente en donde se describa un procedimiento que permita cuantificar las actividades de los radionucleidos presentes en una mezcla con la simple variación de la temperatura del líquido centellador.

6.7. Conclusiones

En este capítulo se presentó el desarrollo, la síntesis y la caracterización fisicoquímica de un LI capaz de emitir radioluminiscencia. Este RadIL es el primero en ser reportado en la literatura. Fue diseñado eligiendo especialmente al Tos y al HPTS para poder manejar eficientemente la energía de excitación y emitir luz a longitudes de onda adecuadas para los PMTs comerciales. Los experimentos realizados con ^{14}C y ^{241}Am demostraron la capacidad radioluminiscente del material.

La dependencia de la radioluminiscencia con la temperatura constituye la característica clave del RadIL. Esta característica se probó para la cuantificación de mezclas de radionucleidos α/β y puede extenderse a cualquier par de radionucleidos donde uno de ellos genere radiación Cherenkov y el otro no. Esta propiedad no la presentan los centelladores comerciales, generalmente constituidos por solventes volátiles e inflamables que impiden su calentamiento.

Debido a su naturaleza iónica, el RadIL puede ser reutilizado luego de mezclarse con radionucleidos de vida media corta que se encuentren disueltos en solventes volátiles. Esto se consigue por simple evaporación en estufa de vacío del solvente remanente, una vez decaída la actividad del radionucleido en cuestión. Por el hecho de ser reutilizable, resulta más ventajoso que los cócteles de centelleo actualmente disponibles los cuales no son reutilizables.

El RadIL puede emplearse también en la determinación de actividad en forma absoluta (sin la necesidad de patrones) utilizando la temperatura como parámetro de extinción en una adaptación del método absoluto de estandarización conocido como CIEMAT-NIST.⁵ Esta característica constituye una diferencia muy relevante con respecto a los cócteles de centelleo líquido comerciales actualmente disponibles. Para poder realizar

la extinción de la emisión con estos últimos, y calibrar los detectores, resulta imprescindible utilizar alguna sustancia externa como por ejemplo CCl_4 . No se conoce hasta la fecha algún antecedente en donde se describa la utilización de la temperatura para variar la emisión de un cóctel de centelleo líquido y poder así calibrar la eficiencia de detección de un sistema.

6.8. Referencias

¹ Rodrigues, D., Sarmiento, G., Krimer, N., Mirenda, M. (**2020**) Radioluminescent Ionic Liquids: Designer Materials for Detecting and Quantifying Ionizing Radiation. *ACS Appl. Electron. Mater.* 8, 2662 – 2668.

² Jensen, E., N., Nichols, R., Clement, J., Pohm, A. (**1951**) The beta spectra of P-32 and P-33. Ames Laboratory – United State Atomic Energy Commission. ISC-157 Technical Reports. 27.

http://lib.dr.iastate.edu/ameslab_iscreports/27.

³ Kossert, K. (**2010**) Activity standardization by means of a new TDCR – Cherenkov counting technique. *Appl. Radiat. Isotopes* 68, 1116 – 1120.

⁴ ESTAR (**2009**)

<http://physics.nist.gov/PhysRefData/Star/Text/ESTAR.htmlIS>

⁵ Grau Malonda, A., Garcia-Toraño, E. (**1982**) Evaluation of counting efficiency in liquid scintillation counting of pure β -ray emitters. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 33, 249 – 253.

Capítulo 7: Conclusiones generales y perspectivas

El trabajo de tesis se ha centrado principalmente en el diseño y la obtención de líquidos iónicos luminiscentes, con potencial uso en aplicaciones que requieran un eficiente uso de la energía de excitación. En particular, se ha logrado la obtención de un primer líquido iónico radioluminiscente, capaz de generar luminiscencia a partir de la relajación de estados vibrónicos-moleculares excitados, a su vez producidos por el pasaje de radiación ionizante. El RadIL obtenido presenta la particularidad de que puede ser calentado y enfriado sin riesgo de volatilidad ni flamabilidad. Además, se encontró que la eficiencia de conteo del RadIL depende fuertemente de la temperatura, característica que se utilizó para la cuantificación α/β en mezclas de radionucleidos. Este logro tecnológico alcanzado, cuya descripción se realizó a lo largo del Capítulo 6, representa un primer avance cuantitativo para el desarrollo de este tipo de nuevos materiales.

La obtención del RadIL no hubiese sido posible sin un desarrollo previo de técnicas y experimentos de naturaleza científica básica. El estudio de las propiedades fotofísicas de los componentes del RadIL requirió la medición de soluciones que poseían una elevada densidad óptica. Para la correcta caracterización espectroscópica de estos compuestos fue necesario adaptar un espectrofluorómetro comercial a una la geometría de transmisión y desarrollar un modelo de reabsorción diferencial (DRM) que permitió cuantificar la reabsorción de luz que ocurre en las mediciones de fluorescencia. Todas estas herramientas desarrolladas se presentaron a lo largo del Capítulo 3.

Existe variedad de LIIs comerciales como el BMImCl. Además de su elevado costo, se encontró que el BMImCl comercial con pureza mayor a 99% presenta coloración fuertemente amarilla y luminiscente a las

longitudes de onda de trabajo. Entonces, los LIs sintetizados debieron obtenerse con calidad espectroscópica, es decir, sin impurezas que absorban o emitan luz para evitar que interfieran en los estudios fotofisicos presentados. Es por ello que debieron optimizarse las condiciones de síntesis para evitar la formación de impurezas coloreadas.

Por otra parte, la caracterización espectroscópica básica de los aniones Tos y HPTS, tanto en solución como en los LIs, permitió establecer valoraciones y fundamentos sólidos para la toma de decisiones a la hora de diseñar el RadIL. Contar con los espectros no distorsionados por efectos de filtro interno de las especies constitutivas del RadIL permitió evaluar los procesos de transferencia de energía en el material. Describir el efecto de la temperatura sobre la luminiscencia del Tos desde un punto de vista de principios básicos, permitió la cabal comprensión del comportamiento del RadIL con esta variable. Todos estos resultados se mostraron a lo largo de los Capítulos 4 y 5.

El RadIL sintetizado resultó ser buen material centellador ya que logró generar radioluminiscencia observable y mensurable al disolver una variedad de radionucleidos de distinta naturaleza y energía. Sin embargo, las eficiencias alcanzadas hasta el momento no se comparan aún con las que presentan los cócteles centelleadores comerciales. La selección de distintos aniones constitutivos de los LIs permitirá optimizar en un futuro los procesos de captación eficiente de energía proveniente de los radionucleidos, mejorar la eficiencia de transferencia de energía y la emisión radioluminiscente, en vías de encontrar materiales con eficiencias comparables a los cócteles comerciales. La aparición de PMTs de tecnología híbrida, con elevada sensibilidad de detección en todo el intervalo de luz visible, amplía la posibilidad de uso de colorantes alternativos que pueden también utilizarse para aumentar la eficiencia de emisión de los LIFs. Una dificultad encontrada en el desarrollo de este tipo de materiales es el costo más elevado de los LIs respecto a los productos

comerciales. Sin embargo, los LIs no están pensados en principio para sustituir a los cócteles comerciales que ya se utilizan con éxito, sino para ocupar lugares de vacancia donde los materiales comerciales no pueden ofrecer una solución tecnológica.

En un futuro quizás sea posible combinar las propiedades luminiscentes y radioluminiscentes de los LIs junto con propiedades complejantes y/o magnéticas. Esto posibilitaría generar sistemas de recuperación y/o de reprocesamiento de material nuclear monitoreando la actividad del líquido. Todos estos posibles desarrollos tienen un puntapié inicial en la presente tesis.

A lo largo del desarrollo de la Tesis, se han realizado una mayor cantidad de trabajos que no han sido incluidos por falta de espacio y tiempo. Así, se destacan los estudios de agregación del ibuprofeno y del ibuprofenato de sodio, desarrollados en el contexto de la pandemia de COVID-19, teniendo en cuenta que este último compuesto había sido propuesto en su momento como principal componente de soluciones nebulizables para el tratamiento compasivo de esta enfermedad. En esos estudios, además de utilizarse técnicas de fluorescencia haciendo uso del DRM, se utilizaron técnicas de SAXS y SANS. También se realizaron estudios con los derivados sulfonados de naftaleno y DPA, con el objetivo de contar con fluoróforos alternativos para mejorar la eficiencia de futuros RadILs. Estas líneas se continúan hoy en el grupo de trabajo.

Como resultado del trabajo de tesis se logró la publicación de cinco trabajos en revistas científicas y de una patente de invención, que se listan a continuación:

Krimer, N., Rodrigues, D., Rodríguez, H., Mirenda, M. **(2017)** Steady-state Fluorescence of Highly Absorbing Samples in Transmission Geometry: a Simplified Quantitative Approach Considering Reabsorption Events. *Anal. Chem.* 89, 640 – 647.

Krimer, N., Mirenda, M. **(2017)** Re-evaluation of the steady-state self-quenching constant of quinine bisulfate from fluorescence measurements in transmission geometry. *Methods Appl. Fluoresc.* 5, 034001.

Mirenda, M., Rodrigues, D., Ferreyra, C., Arenillas, P., Sarmiento, G., Krimer, N., Japas, M. **(2018)** Ionic Liquids as Solvents for Čerenkov Counting and the Effect of a Wavelength Shifter. *Appl. Radiat. Isot.* 134, 275 – 279.

Rodrigues, D., Sarmiento, G., Krimer, N., Mirenda, M. **(2020)** Radioluminescent Ionic Liquids: Designer Materials for Detecting and Quantifying Ionizing Radiation. *ACS Appl. Electron. Mater.* 8, 2662 – 2668.

Steinberg, P., Krimer, N., Sarmiento, G. Rodrigues, D., Huck-Iriart, C., Clemens, D., Zelcer, A., Mirenda, M. **(2022)** Ibuprofen molecular aggregation by direct back-face transmission steady-state fluorescence. *Photochem. Photobiol. Sci.* 21, 1637 – 1645.

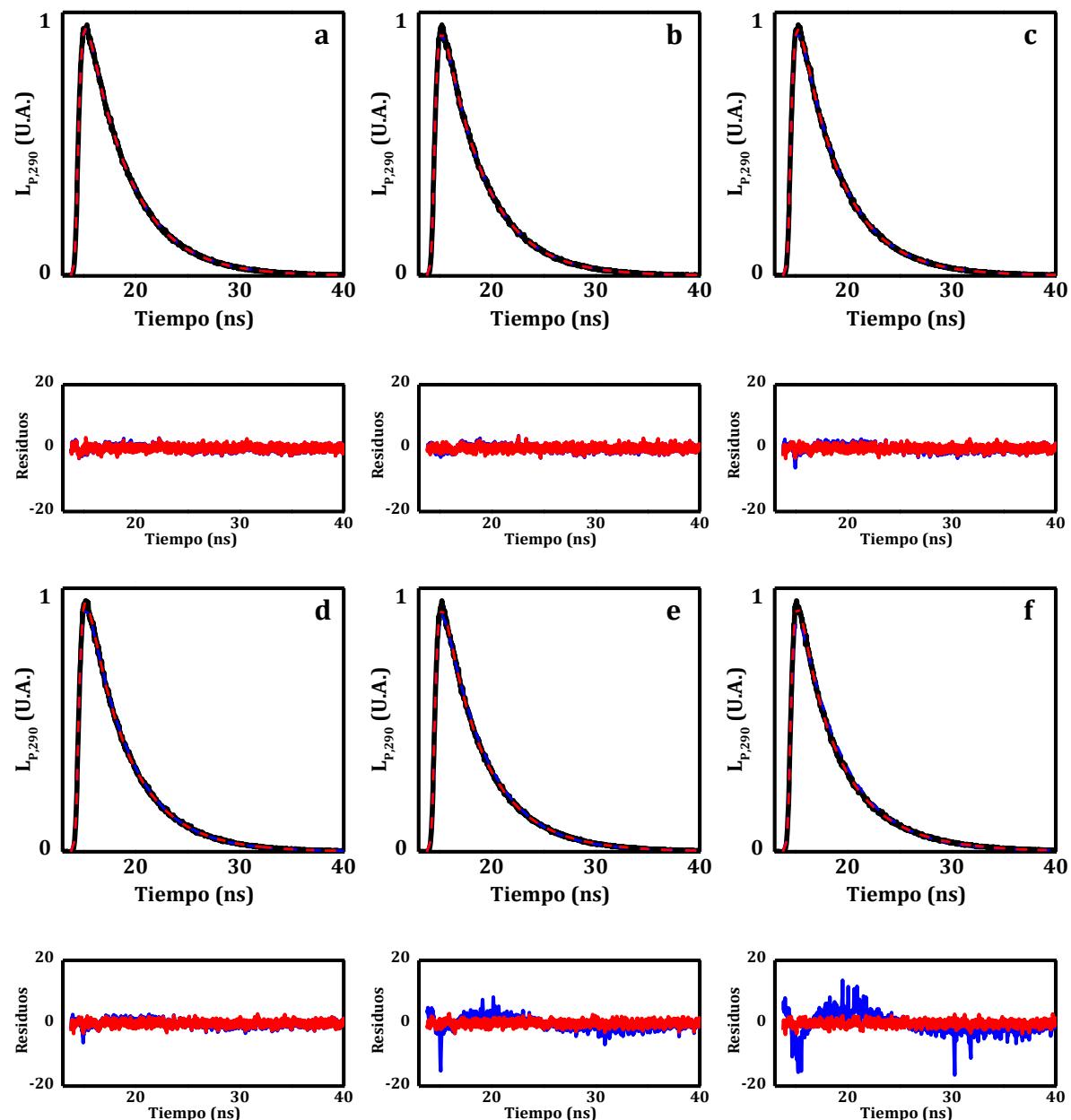
Sarmiento, G., Krimer, N., Rodrigues, D., Mirenda, M. **(2023)** Un líquido iónico radioluminiscente con intensidad de emisión regulable por temperatura y procedimiento para discriminar y cuantificar radionucleidos emisores mediante un contador de centelleo que lo utiliza. Patente de

invención AR115181B1. Fecha otorgación: 30/03/2023. Disposición: DI-2023-101-APN-ANP#INPI. Nº solicitud INPI: 20180103091 de Fecha: 23/10/2018.

Anexo

A.1. Decaimientos temporales de la fluorescencia de NaTos en agua

A continuación se muestran las curvas de decaimiento de la fluorescencia a 290 nm (Figura A.1) y 320 nm (figura A.2) de NaTos en solución acuosa, para distintas concentraciones ($\lambda_{\text{exc}} = 260 \text{ nm}$). Se muestran los ajustes mono y bi-exponentiales para cada medición, junto con los residuos correspondientes a cada ajuste.



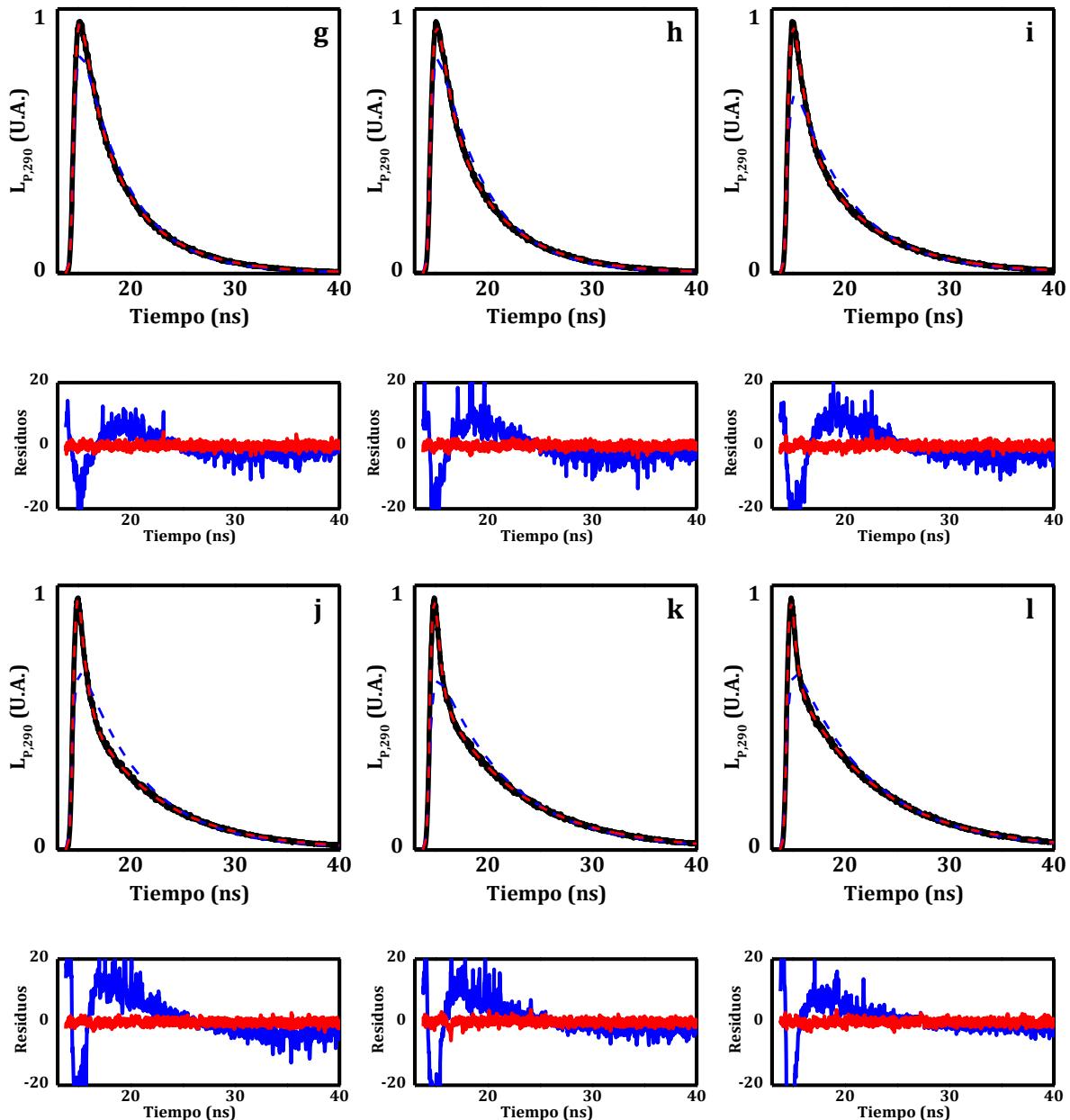
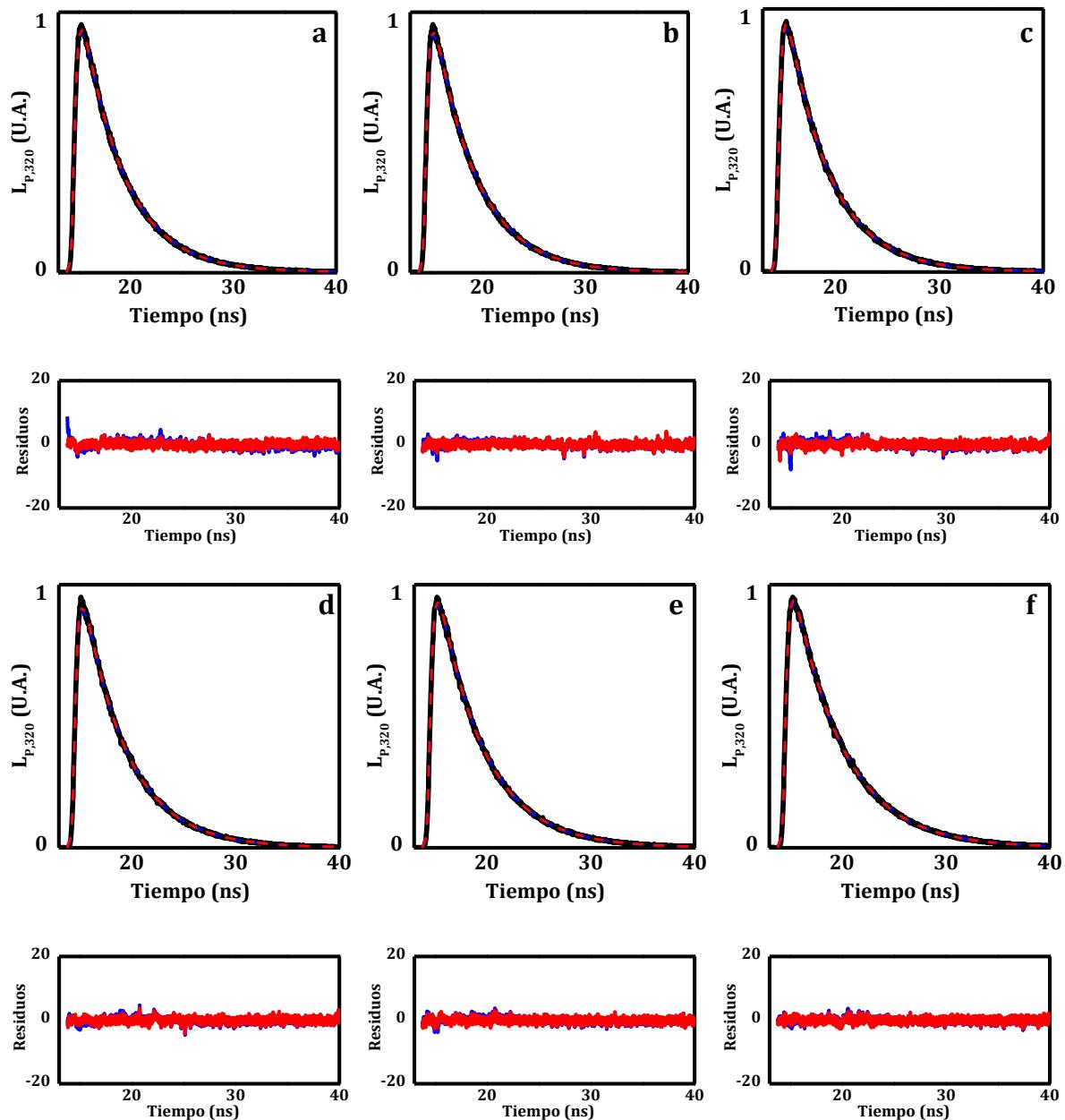


Figura A.1: Decaimientos temporales de la fluorescencia (línea sólida negra, $\lambda_{\text{exc}} = 260 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 290 \text{ nm}$), obtenidos para una solución acuosa de NaTos de concentración $9,54 \times 10^{-4} \text{ M}$ (a), $1,89 \times 10^{-3} \text{ M}$ (b), $4,88 \times 10^{-3} \text{ M}$ (c), $9,67 \times 10^{-3} \text{ M}$ (d), $1,94 \times 10^{-2} \text{ M}$ (e), $3,99 \times 10^{-2} \text{ M}$ (f), $6,88 \times 10^{-2} \text{ M}$ (g), $9,80 \times 10^{-2} \text{ M}$ (h), $1,96 \times 10^{-1} \text{ M}$ (i), $3,97 \times 10^{-1} \text{ M}$ (j), $6,95 \times 10^{-1} \text{ M}$ (k), $9,33 \times 10^{-1} \text{ M}$ (l). Se muestran las curvas resultantes del ajuste mono-exponencial (líneas a rayas azules) y bi-exponencial (líneas a rayas rojas). Debajo de cada gráfico de decaimiento temporal se muestra el gráfico de los residuos del ajuste mono-exponencial (líneas a rayas azules) y bi-exponencial (líneas a rayas rojas).



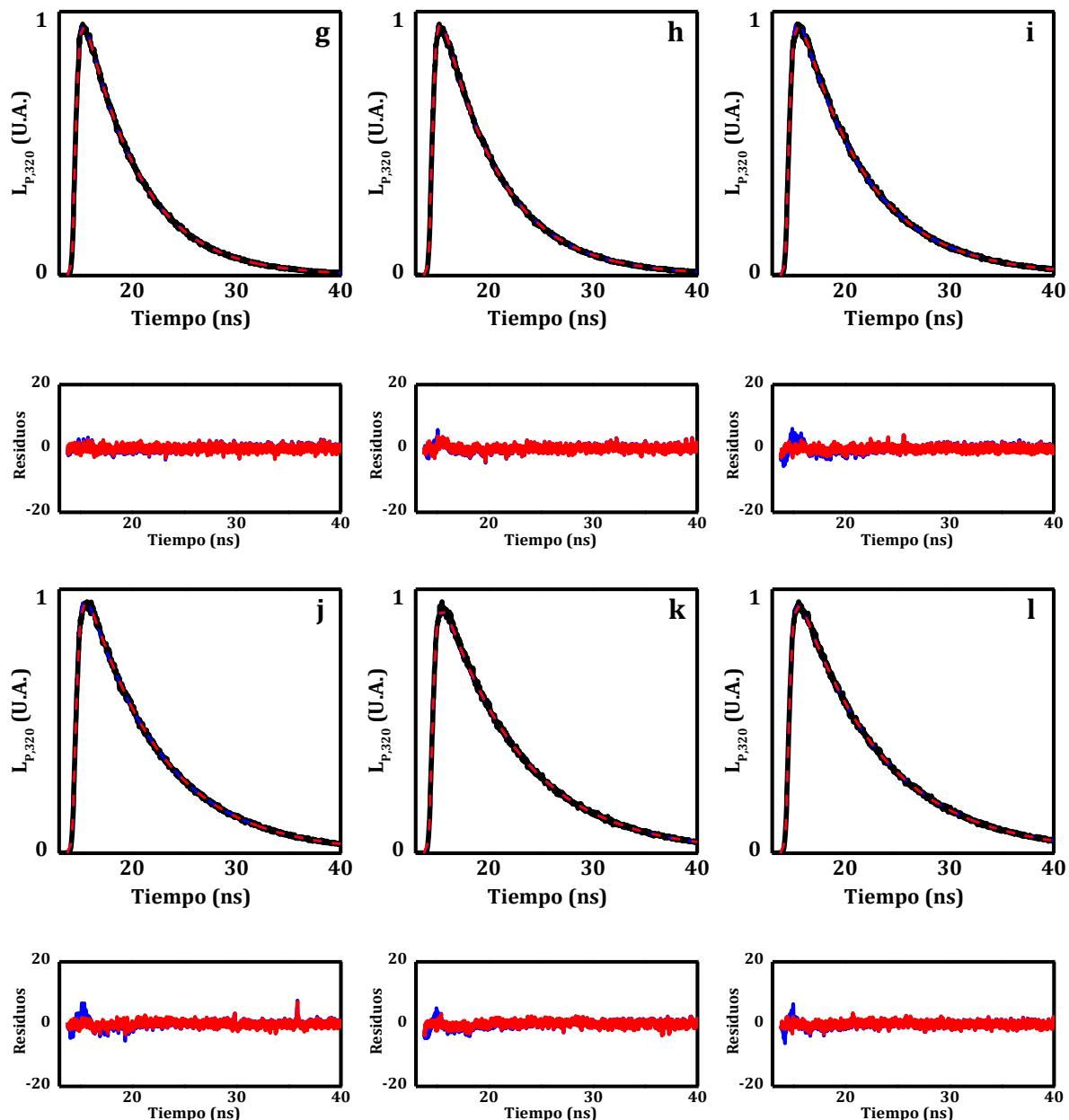


Figura A.2: Decaimientos temporales de la fluorescencia (línea sólida negra, $\lambda_{\text{exc}} = 260 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 320 \text{ nm}$), obtenidos para una solución acuosa de NaTos de concentración $9,54 \times 10^{-4} \text{ M}$ (a), $1,89 \times 10^{-3} \text{ M}$ (b), $4,88 \times 10^{-3} \text{ M}$ (c), $9,67 \times 10^{-3} \text{ M}$ (d), $1,94 \times 10^{-2} \text{ M}$ (e), $3,99 \times 10^{-2} \text{ M}$ (f), $6,88 \times 10^{-2} \text{ M}$ (g), $9,80 \times 10^{-2} \text{ M}$ (h), $1,96 \times 10^{-1} \text{ M}$ (i), $3,97 \times 10^{-1} \text{ M}$ (j), $6,95 \times 10^{-1} \text{ M}$ (k), $9,33 \times 10^{-1} \text{ M}$ (l). Se muestran las curvas resultantes del ajuste mono-exponencial (líneas a rayas azules) y bi-exponencial (líneas a rayas rojas). Debajo de cada gráfico de decaimiento temporal se muestra el gráfico de los residuos del ajuste mono-exponencial (líneas a rayas azules) y bi-exponencial (líneas a rayas rojas).