

Tesis Doctoral

Fotofísica de colorantes sobre sólidos particulados: interacciones moleculares y transferencia de energía

Rodríguez, Hernán Bernardo

2009

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

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

Cita tipo APA:

Rodríguez, Hernán Bernardo. (2009). Fotofísica de colorantes sobre sólidos particulados: interacciones moleculares y transferencia de energía. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Rodríguez, Hernán Bernardo. "Fotofísica de colorantes sobre sólidos particulados: interacciones moleculares y transferencia de energía". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2009.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física

**Fotofísica de colorantes sobre sólidos
particulados: interacciones moleculares y
transferencia de energía**

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

Hernán Bernardo Rodríguez

Director de Tesis: Dr. Enrique San Román

Buenos Aires, 2009

Fotofísica de colorantes sobre sólidos particulados: interacciones moleculares y transferencia de energía

Resumen

La heterogeneidad cumple un rol fundamental en muchos procesos naturales y artificiales inducidos por irradiación ultravioleta y visible. El estudio de la fotofísica y la fotoquímica de colorantes en medios heterogéneos es relevante para la comprensión de los procesos naturales y el desarrollo de nuevos materiales con vastas aplicaciones en el ámbito científico, tecnológico y de la salud.

La obtención de materiales fotoactivos capaces de utilizar eficientemente la energía lumínica en una amplia zona del espectro electromagnético requiere el empleo de altas concentraciones de colorante. Ello garantiza la absorción de una fracción importante de la radiación incidente y posibilita el diseño de sistemas antena-receptor para canalizar convenientemente la energía de excitación. En estas condiciones, se verifican fenómenos tales como el acoplamiento excitónico y la transferencia y el atrapamiento de la energía de excitación. La ocurrencia de estos fenómenos, sumados a la dispersión de luz en sistemas opacos constituidos en general por micropartículas o agregados de nanopartículas, hace que la caracterización fotofísica de dichos materiales requiera contar con herramientas analíticas especiales.

En este trabajo se caracterizan los procesos fotofísicos que tienen lugar en sistemas de colorantes distribuidos al azar en sólidos particulados, utilizando micropartículas de celulosa como soporte modelo, y el efecto de las interacciones moleculares sobre sus propiedades fotofísicas, a fin de obtener criterios para el diseño de materiales fotoactivos eficientes. Se hace énfasis en los procesos fotofísicos originados en el estado singlete del colorante, en especial la transferencia de energía singlete-singlete, en sistemas altamente concentrados de un único colorante y en sistemas conformados por dos colorantes que presentan un importante solapamiento espectral (sistemas donador-aceptor). A tal fin debieron desarrollarse métodos y modelos originales, sobre los cuales existen escasos antecedentes en la literatura.

Palabras clave: sólidos particulados, colorantes, dispersión de luz, reabsorción, reemisión, agregación molecular, transferencia de energía, Förster, atrapamiento de energía, trampas estadísticas, rendimiento cuántico de fluorescencia.

Photophysics of dyes on particulate solids: molecular interactions and energy transfer

Summary

Heterogeneity bears a fundamental role in many natural and artificial processes induced by ultraviolet and visible irradiation. The photophysical and photochemical characterization of dyes in heterogeneous media is relevant to the understanding of natural processes and the development of materials with vast applications in the field of science, technology and medicine.

Obtaining photoactive materials capable of using efficiently light energy in a broad range of the electromagnetic spectrum requires the usage of high dye concentrations. This ensures absorption of an important fraction of the incident radiation and allows the design of antenna systems that enable the channelling of the excitation energy. Under these conditions, exciton coupling and excitation energy transfer and trapping can take place. The occurrence of these phenomena, in addition with light scattering in opaque systems consisting generally of microparticles or aggregates of nanoparticles, impose the need of special analytical tools to characterize the photophysics of such materials.

In this work, the photophysical processes that take place in systems composed of dyes randomly distributed on particulate solids, using cellulose microparticles as model support, and the effect of molecular interactions on their photophysics are characterized in order to obtain criteria for the design of efficient photoactive materials. Emphasis is made on the photophysical processes originated in the singlet state of the dye, especially singlet-singlet energy transfer, in systems composed of a highly concentrated single dye and pairs of dyes with a strong spectral overlap (donor-acceptor systems). For this purpose, original methods and models, on which scarce precedents exist in the literature, were developed.

Keywords: particulate solids, dyes, light scattering, reabsorption, reemission, molecular aggregation, energy transfer, Förster, energy trapping, statistical traps, fluorescence quantum yield.

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a mi esposa Claudia y a mi hija María José, ya que son los pilares en mi vida y sin su amor y comprensión no hubiera sido esto posible; y a mi director, Enrique, por su apoyo, su incentivo y por la libertad con la que me ha permitido desarrollarme.

También agradezco a mis padres, que me han apoyado y ayudado desde el comienzo.

A mi hermano Anibal, porque siempre estuvo ahí y la hemos luchado juntos.

Y en general a toda mi extensa familia, que han seguido mis pasos y me han apoyado y alentado a continuar.

A mis compañeros de trabajo: Sergio, Martín, Analía, Bea, Betty, Virginia, Eugenia, Gabriela, por hacer un ambiente cordial de trabajo.

En especial quiero agradecer a Analía, por el aguante en los comienzos, paciencia y colaboración; a Sergio, por tantos almuerzos y charlas compartidas, por la amistad, por su apoyo y colaboración y por la lectura y sugerencias respecto del trabajo; a Martín, por las charlas y análisis de los trabajos.

A Gabriela, por su cordialidad y aporte.

A Gregor, por su aporte en el estudio de la rodamina 6G.

A Lelia y a Pedro.

A mis profesores y alumnos.

A toda la gente del departamento de Química Inorgánica.

A la UBA, FCEN, DQIAyQF/INQUIMAE por el cargo docente y el lugar de trabajo.

A CONICET por la beca de doctorado.

A CONICET, ANPCyT y UBA por el financiamiento de los trabajos.

Gracias!

Publicaciones y presentaciones a congresos originadas en este trabajo

Artículos publicados

- 1) Silvia E. Braslavsky, Eduard Fron, Hernán B. Rodríguez, Enrique San Román, Gregory D. Scholes, Gerd Schweitzer, Bernard Valeur and Jakob Wirz (2008) Pitfalls and limitations in the practical use of Förster's theory of resonance energy transfer. *Photochem. Photobiol. Sci.* **7**: 1444-1448.
- 2) Hernán B. Rodríguez and Enrique San Román (2008) Excitation energy transfer and trapping in dye-loaded solid particles. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1130**: 247-252.
- 3) Hernán B. Rodríguez and Enrique San Román (2007) Energy transfer from chemically attached rhodamine 101 to adsorbed methylene blue on microcrystalline cellulose particles. *Photochem. Photobiol.* **83**: 547-555.
- 4) Hernán B. Rodríguez, Analía Iriel and Enrique San Román (2006) Energy transfer among dyes on particulate solids. *Photochem. Photobiol.* **82**: 200-207.
- 5) Hernán B. Rodríguez, M. Gabriela Lagorio and Enrique San Roman (2004) Rose Bengal adsorbed on microgranular cellulose: evidence on fluorescent dimers. *Photochem. Photobiol. Sci.* **3**: 674-680.

Manuscrito en preparación

- 1) Hernán B. Rodríguez, Gregor Worringer, Enrique San Román. *Quenching of the excitation energy of rhodamine 6G on cellulose: aggregates or statistical traps?* En redacción.

Trabajos presentados en reuniones científicas

- 1) Hernán B. Rodríguez and Enrique San Román. *Excitation energy transfer and trapping in dye-loaded solid particles.* 10th Conference on Methods and Applications of Fluorescence: Spectroscopy, Imaging and Probes (MAF10). Salzburg, Austria. Septiembre 9-12, 2007.
- 2) Hernán B. Rodríguez y Enrique San Román. *Transferencia de energía singlete-singlete en sólidos.* XV Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Tandil, Buenos Aires, Argentina. Abril 17-20, 2007.
- 3) Gregor Worringer, Hernán B. Rodríguez and Enrique San Román. *Rhodamine 6G adsorbed on microcrystalline cellulose: Concentration self-quenching by excitation energy migration and trapping.* 17th I-APS Winter Conference. Salvador, Bahia, Brasil. Junio 11-16, 2006.

- 4) Hernán B. Rodríguez and Enrique San Román. *Energy transfer from chemically linked rhodamine 101 to adsorbed methylene blue on microcrystalline cellulose particles*. XXIst IUPAC Symposium on Photochemistry. Kyoto, Japón. Abril 2-7, 2006.
- 5) Analía Iriel, Hernán B. Rodríguez and Enrique San Román. *Modeling energy transfer among dye molecules on particles*. Reactive Intermediates in Photochemistry. An International Symposium Celebrating Tito Scaiano's Achievements. Ottawa, Canadá. Agosto 24-26, 2005.
- 6) Analía Iriel, Hernán B. Rodríguez and Enrique San Román. *Efficient energy transfer among dye molecules randomly distributed on surfaces*. 9th International Conference on Methods and Applications of Fluorescence: Spectroscopy, Imaging and Probes. Lisboa, Portugal. Septiembre 4-7, 2005.
- 7) Hernán B. Rodríguez y Enrique San Román. *Materiales fotoactivos basados en la transferencia de energía electrónica*. XIV Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. Termas de Río Hondo, Santiago del Estero, Argentina. Abril 11-14, 2005.
- 8) Hernán B. Rodríguez and Enrique San Román. *Photophysics of Rhodamine 101 Linked to Cellulose*. VIII Encuentro Latinoamericano de Fotoquímica y Fotobiología. La Plata, Buenos Aires, Argentina. Noviembre 8-12, 2004.

Índice general

Índice de Figuras.....	xii
Índice de Tablas.....	xv
Listado de Símbolos.....	xvi

I. Introducción general

I.1. Fotofísica y fotoquímica en sistemas heterogéneos.....	3
I.2. Objetivos.....	4
I.3. Desarrollo de la Tesis.....	5
I.4. Bibliografía.....	8

II. Antecedentes teóricos y metodología de trabajo

II.1. Introducción.....	13
II.2. Espectroscopia de reflectancia y teoría de Kubelka-Munk.....	14
II.3. Fluorescencia estacionaria y resuelta en el tiempo.....	23
II.4. Rendimientos cuánticos de fluorescencia observados.....	24
II.5. Agregación molecular y teoría excitónica.....	26
II.6. Análisis experimental de la agregación de colorantes.....	32
II.7. Transferencia de energía.....	34
II.8. Efectos de reabsorción y reemisión.....	35
II.9. Teoría de Förster.....	40
II.10. Bibliografía.....	43

III. Desarrollo teórico

III.1. Transferencia no radiativa de energía.....	49
III.2. Mecanismos de transferencia y migración de la energía de excitación.....	58
III.3. Bibliografía.....	65

IV. Sistemas de un único colorante: efectos de reabsorción y reemisión

IV.1. Introducción.....	69
-------------------------	----

IV.2. Rodamina 101 unida químicamente sobre celulosa.....	69
IV.2.1. Reactivos y preparación de las muestras.....	71
IV.2.2. Absorción y emisión.....	72
IV.2.3. Rendimientos cuánticos de fluorescencia.....	76
IV.2.4. Discusión.....	77
IV.3. Rosa de bengala adsorbido sobre celulosa.....	79
IV.3.1. Reactivos y preparación de las muestras.....	80
IV.3.2. Absorción y análisis de agregación.....	80
IV.3.3. Emisión.....	84
IV.3.4. Rendimientos cuánticos de fluorescencia.....	86
IV.3.5. Espectros de excitación.....	89
IV.3.6. Discusión.....	91
IV.4. Azul de metileno adsorbido sobre celulosa.....	94
IV.4.1. Reactivos y preparación de las muestras.....	94
IV.4.2. Absorción y emisión.....	95
IV.4.3. Rendimientos cuánticos de fluorescencia.....	99
IV.4.4. Discusión.....	100
IV.5. Conclusiones.....	100
IV.6. Bibliografía.....	103

V. Sistemas donor-aceptor

V.1. Introducción.....	111
V.2. Feofórbido-a y azul de metileno coadsorbidos en celulosa.....	112
V.2.1. Reactivos y preparación de las muestras.....	113
V.2.2. Absorción.....	114
V.2.3. Emisión.....	117
V.2.4. Transferencia de energía.....	120
V.2.5. Discusión.....	125
V.3. Rodamina 101 unida y azul de metileno adsorbido en celulosa.....	126
V.3.1. Reactivos y preparación de las muestras.....	127
V.3.2. Absorción.....	128
V.3.3. Emisión y rendimientos cuánticos de fluorescencia.....	130
V.3.4. Transferencia de energía.....	133
V.3.5. Discusión.....	137

V.4. Conclusiones.....	138
V.5. Bibliografía.....	141

VI. Sistemas de un único colorante: atrapamiento de la energía de excitación

VI.1. Introducción.....	145
VI.2. Azul de metileno adsorbido sobre celulosa.....	145
VI.2.1. Transferencia no radiativa y atrapamiento de la energía de excitación.....	145
VI.2.2. Discusión.....	148
VI.3. Rodamina 6G adsorbida sobre celulosa.....	149
VI.3.1. Reactivos y preparación de las muestras.....	149
VI.3.2. Absorción y emisión.....	150
VI.3.3. Rendimientos cuánticos y tiempos de vida de fluorescencia.....	155
VI.3.4. Transferencia no radiativa y atrapamiento de la energía de excitación.....	158
VI.3.5. Migración de la energía de excitación.....	164
VI.3.6. Identidad de las trampas.....	166
VI.3.7. Discusión.....	167
VI.4. Conclusiones.....	168
VI.5. Bibliografía.....	169

VII. Conclusiones generales y prospectiva

VII.1. Conclusiones generales.....	175
VII.1.1. Fotofísica en ambientes restringidos.....	176
VII.1.2. Dispersión de la luz y procesos de reabsorción y reemisión.....	177
VII.1.3. Interacciones intermoleculares.....	177
VII.2. Prospectiva.....	182

Índice de Figuras

II. Antecedentes teóricos y metodología de trabajo

Fig. II.1. Componentes del flujo fotónico en un sólido.....	18
Fig. II.2. Camino óptico medio dentro de una capa de material.....	18
Fig. II.3. Esquema general de una esfera integradora.....	22
Fig. II.4. Diagrama de energía de un dímero con dipolos paralelos.....	29
Fig. II.5. Diagrama de energía de un dímero con dipolos colineales.....	30
Fig. II.6. Diagrama de energía de un dímero con dipolos oblicuos.....	31
Fig. II.7. Reabsorción y reemisión en un sistema de una única especie emisora... 36	

III. Desarrollo teórico

Fig. III.1. Flujo de excitación en un sistema de dos componentes.....	49
Fig. III.2. Transferencia de energía en un sistema de dos especies emisoras.....	51
Fig. III.3. Eficiencias de transferencia de energía en función de la concentración de aceptor.....	63

IV. Sistemas de un único colorante: efectos de reabsorción y reemisión

Fig. IV.1. Estructura general de rodaminas y R101.....	70
Fig. IV.2. Función de remisión máxima de R101 vs masa de DCC.....	72
Fig. IV.3. Espectros de F(R) y emisión de R101.....	74
Fig. IV.4. Espectros de emisión de R101 experimentales y corregidos.....	76
Fig. IV.5. Rendimientos cuánticos de fluorescencia de R101.....	77
Fig. IV.6. Diagrama de flujo de excitación para R101 en celulosa.....	78
Fig. IV.7. Estructura de RB.....	79
Fig. IV.8. Espectros de F(R) de RB.....	81
Fig. IV.9. Espectros de F(R)/C ₀ experimentales y calculados.....	82
Fig. IV.10. Espectros de absorción de monómero y dímero de RB.....	83
Fig. IV.11. Espectros de emisión de RB en capa gruesa.....	84
Fig. IV.12. Espectros de emisión de RB experimentales y corregidos.....	85
Fig. IV.13. Espectros de emisión de RB en capa gruesa corregidos.....	86
Fig. IV.14. Rendimientos cuánticos de fluorescencia de monómero y dímero.....	88

Fig. IV.15. Espectros de excitación de RB corregidos.....	90
Fig. IV.16. Diagrama de flujo de excitación para RB en celulosa.....	93
Fig. IV.17. Estructura de MB.....	94
Fig. IV.18. Espectros de $F(R)/C_0$ experimentales y calculados.....	96
Fig. IV.19. Espectros de absorción de monómero y dímero de MB.....	97
Fig. IV.20. Espectros de emisión de MB experimentales y corregidos.....	98
Fig. IV.21. Espectros de emisión de MB en capa gruesa corregidos.....	99

V. Sistemas donador-aceptor

Fig. V.1. Estructura de Pheo.....	113
Fig. V.2. Espectros de $F(R)$ de Pheo y mezclas Pheo-MB.....	115
Fig. V.3. Espectros de $F(R)/C_0$ de Pheo y MB en celulosa.....	117
Fig. V.4. Espectros de emisión de Pheo-MB en capa gruesa y fina.....	118
Fig. V.5. Descomposición espectral de la emisión de Pheo-MB.....	119
Fig. V.6. Eficiencia de transferencia de energía de Pheo a MB en función de la concentración de MB.....	121
Fig. V.7. Solapamientos espectrales entre Pheo y MB.....	122
Fig. V.8. Solapamientos espectrales entre R101 y MB.....	127
Fig. V.9. Espectros de $F(R)$ de R101 y mezclas R101-MB.....	129
Fig. V.10. Espectros de emisión de R101-MB en capa gruesa y fina.....	131
Fig. V.11. Espectros de emisión de R101-MB experimentales y corregidos.....	132
Fig. V.12. Rendimientos cuánticos de fluorescencia observados de R101-MB.....	133
Fig. V.13. Eficiencias de transferencia de energía de R101 a MB en función de la longitud de onda de excitación.....	134
Fig. V.14. Eficiencias de transferencia de energía de R101 a MB en función de la concentración de MB.....	135
Fig. V.15. Diagrama de flujo de excitación en un sistema donador-aceptor.....	139

VI. Sistemas de un único colorante: atrapamiento de la energía de excitación

Fig. VI.1. <i>Quenching</i> de la fluorescencia de MB por transferencia de energía hacia los dímeros.....	148
Fig. VI.2. Estructura de R6G.....	149
Fig. VI.3. Espectros de $F(R)$ de R6G.....	151

Fig. VI.4. Espectros de emisión de R6G en capa gruesa.....	153
Fig. VI.5. Espectros de emisión de R6G experimentales y corregidos.....	154
Fig. VI.6. Espectros de emisión de R6G en capa gruesa corregidos.....	154
Fig. VI.7. Rendimientos cuánticos de fluorescencia observados de R6G.....	155
Fig. VI.8. Rendimientos cuánticos de fluorescencia verdaderos de R6G.....	156
Fig. VI.9. Decaimiento de fluorescencia de R6G en celulosa.....	157
Fig. VI.10. <i>Quenching</i> de la fluorescencia de R6G: ajuste por modelo de dimerización	161
Fig. VI.11. <i>Quenching</i> de la fluorescencia de R6G: ajuste por modelo de trampas estadísticas.....	163
Fig. VI.12. Comparación de modelos de atrapamiento e importancia relativa de los mecanismos de <i>quenching</i> estático y dinámico.....	164
Fig. VI.13. <i>Quenching</i> de la fluorescencia de R6G: simulaciones.....	166
Fig. VI.14. Diagrama de flujo de excitación en sistemas de un único colorante con trampas perfectas de la energía de excitación.....	168

VII. Conclusiones generales y prospectiva

Fig. VII.1. Imagen general de las interacciones moleculares en sistemas de un único colorante.....	179
Fig. VII.2. Esquema general de flujo de excitación para colorantes sobre sólidos particulados.....	180
Fig. VII.3. Esquema de una nanopartícula fotoactiva idealizada tipo <i>core-shell</i> ...	183

Índice de Tablas

IV. Sistemas de un único colorante: efectos de reabsorción y reemisión

Tabla IV.1. Fluorescencia de RB en celulosa..... 81

Tabla IV.2. Agregación y fluorescencia de MB en celulosa..... 95

V. Sistemas donador-aceptor

Tabla V.1. Eficiencias de transferencia de energía para el sistema Pheo-MB.....114

Tabla V.2. Eficiencias de transferencia de energía para el sistema R101-MB.....128

VI. Sistemas de un único colorante: atrapamiento de la energía de excitación

Tabla VI.1. Fluorescencia de R6G en celulosa.....152

Listado de los símbolos y acrónimos más usados

Φ_{obs} : rendimiento cuántico de fluorescencia observado

Φ : rendimiento cuántico de fluorescencia

λ_0 (nm): longitud de onda de excitación

λ (nm): longitud de onda

κ^2 : factor de orientación (Förster)

α_i : fracción de luz absorbida por la especie i

α_{0i} : fracción de luz de excitación absorbida por la especie i

S (cm⁻¹): coeficiente de dispersión

R_t : reflectancia total

r_Q (Å): radio de *quenching*

R_d : reflectancia difusa

R_0 (Å): radio de Förster

Q_i : probabilidad de que la radiación emitida por la especie i escape de la muestra

q_i : probabilidad de que la energía de excitación de la especie i se emita y escape de la muestra

p_{ij} : probabilidad de transferencia de energía por resonancia de la especie i a la especie j

p_{ij} : probabilidad de transferencia de energía de la especie i a la especie j

P_{ij} : probabilidad de que la radiación emitida por la especie i sea reabsorbida por la especie j

p_{iA} : probabilidad de transferencia de energía por resonancia de la especie i hacia algún aceptor

P : probabilidad de que la radiación emitida sea reabsorbida por la muestra

K_d (g μmol^{-1}): constante de dimerización

K (cm⁻¹): coeficiente de absorción

J (u.a.): área bajo el espectro de fluorescencia

J (M⁻¹ cm⁻¹ nm⁴): integral de solapamiento de Förster

I_0 (W): intensidad de luz incidente

f_λ (nm⁻¹): espectro de emisión verdadero normalizado a área unitaria

$f_{\text{obs},\lambda}$ (nm⁻¹): espectro de emisión observado de la muestra normalizado a área unitaria

$F(R)$: función de remisión

E_{ij} : eficiencia de transferencia no radiativa de energía de la especie i a la especie j

C_0 ($\mu\text{mol g}^{-1}$): concentración de colorante en el sólido

$\gamma_{\lambda,\lambda_0}$: fracción de luz emitida a λ que escapa de la muestra excitada a λ_0

E_{ij}^{rad} : eficiencia de transferencia radiativa de energía de la especie i a la especie j

σ (\AA^{-2}): concentración superficial total de colorante

δ (\AA^{-2}): concentración superficial de aceptores o trampas

R101: rodamina 101

RB: rosa de bengala

MB: azul de metileno

Pheo: feoforbido-a

R6G: rodamina 6G

Capítulo I

Introducción general

I. Introducción general

I.1. Fotofísica y fotoquímica en sistemas heterogéneos

La fotofísica y la fotoquímica de colorantes en medios heterogéneos ha sido ampliamente estudiada en las últimas décadas debido a sus reales o potenciales aplicaciones en diversos campos, entre ellos la fotosíntesis (natural o artificial),^{1,2} la fotosensibilización,³ la fotocatalisis,^{4,5} la física de los láseres⁶ y el desarrollo de celdas solares modificadas por colorantes.^{7,8} La obtención de materiales fotoactivos sintéticos capaces de utilizar eficientemente la energía lumínica en una amplia zona del espectro electromagnético requiere diseñar sistemas antena-receptor que permitan canalizar convenientemente la energía de excitación. Para lograr este objetivo, y garantizar al mismo tiempo la absorción de una fracción importante de la radiación incidente, se requieren altas concentraciones locales; en estas condiciones, se verifican fenómenos tales como el acoplamiento excitónico y la transferencia y el atrapamiento de la energía de excitación. Éstos, sumados a la dispersión de luz en sistemas opacos, constituidos en general por micropartículas o agregados de nanopartículas, hacen que la caracterización de estos materiales desde el punto de vista metodológico y teórico sea mucho más compleja que la de los sistemas homogéneos, dificultando la interpretación de los resultados fotofísicos y fotoquímicos. Como contrapartida, la heterogeneidad, especialmente cuando está ligada a la organización molecular y la microestructura, permite desarrollar funciones imposibles en los sistemas fluidos. Por todo ello, el estudio racional de la fotofísica de estos sistemas es de crucial importancia para el diseño inteligente de materiales fotoactivos con alta eficiencia.

Muchos procesos naturales dependientes de la absorción de energía solar, entre ellos la producción de oxígeno molecular singlete a partir de ácidos húmicos⁹ o la de radicales hidroxilo mediante óxidos semiconductores,¹⁰ tienen lugar en sistemas heterogéneos.¹¹ A nivel biológico, el proceso paradigmático es la fotosíntesis, mientras que existen numerosos sistemas heterogéneos susceptibles de aplicación práctica, en los cuales se busca exacerbar o limitar procesos físicos, químicos o biológicos inducidos por la radiación ultravioleta y visible. El aprovechamiento artificial de la energía luminosa, ya sea con fines sintéticos, como fuente de energías alternativas o para la

generación de estados excitados o especies reactivas, conlleva generalmente la necesidad de recurrir a sistemas heterogéneos. Ello es así, ya sea porque la heterogeneidad facilita la aplicación de un fármaco fotoactivo o la separación ulterior de un fotosensibilizador o un fotocatalizador, o porque se requiere un alto grado de organización molecular para llevar a cabo el proceso en forma eficiente.

Los procesos fotofísicos y fotoquímicos en medios heterogéneos pueden diferir de aquellos en solución. Esto se debe a que las especies activas están confinadas en entornos muy reducidos y las propiedades del entorno, tales como el pH, la viscosidad y la polaridad, entre otras, pueden diferir mucho respecto de las propiedades del conjunto y variar significativamente sobre pequeñas distancias. De esta manera, la proximidad entre las especies activas, su disposición espacial, el confinamiento y las características del entorno pueden afectar las propiedades físicas y químicas de las moléculas. A pesar de la relevancia de este tema, existen relativamente pocos textos y artículos de revisión que tratan sobre la fotofísica y la fotoquímica en estos medios.¹²⁻¹⁶

La hipótesis central en el abordaje propuesto consiste en que, mediante la caracterización fotofísica de colorantes en sistemas heterogéneos (sólidos particulados), recurriendo al desarrollo de métodos experimentales y de modelos fisicomatemáticos que permitan interpretar los resultados cuando los existentes son insuficientes, es posible identificar las variables que operan sobre la eficiencia en la utilización de la energía para la función deseada, de tal modo de optimizar el diseño de nuevos materiales y contribuir a la comprensión de procesos fotoquímicos naturales.

I.2. Objetivos

El objetivo general del presente trabajo consiste en caracterizar los procesos fotofísicos que tienen lugar en sistemas de colorantes distribuidos al azar en sólidos particulados y el efecto de las interacciones moleculares sobre sus propiedades fotofísicas, a fin de obtener criterios para el diseño de materiales fotoactivos eficientes.

En particular se buscó:

- Caracterizar los procesos fotofísicos originados en el estado singlete, en especial la transferencia de energía singlete-singlete, en a) sistemas altamente

concentrados de un único colorante y b) sistemas conformados por dos colorantes que presentan un importante solapamiento espectral (sistemas donador-aceptor).

- Desarrollar métodos y modelos para la cuantificación de las propiedades fotofísicas en sistemas heterogéneos.
- Estudiar el efecto de las interacciones intermoleculares sobre las propiedades fotofísicas del sistema.

I.3. Desarrollo de la Tesis

En este trabajo se discutirán los procesos que tienen lugar entre moléculas de colorante adsorbidas o unidas químicamente sobre micropartículas de celulosa. Este soporte resulta fácil de manejar y ofrece al colorante una adecuada superficie para su adsorción. Es un soporte inerte, abundante en la naturaleza y de bajo costo. Su estructura impone un ordenamiento en dos (o tres) dimensiones a las moléculas adsorbidas.

La celulosa que se utilizó es un sólido blanco, microcristalino, cuyas partículas presentan un tamaño promedio de 20 micrones, es fácilmente manejable, compresible, y ofrece un área superficial variable según las condiciones de preparación de las muestras, debido a que sufre diferentes grados de hinchamiento dependiendo del tipo de solvente.¹⁷ La superficie es hidrofílica e interactúa con las moléculas adsorbidas mediante la formación de puentes de hidrógeno. Presenta numerosos grupos hidroxilo susceptibles de funcionalización para el anclaje de colorantes.

Los colorantes fueron adsorbidos en la celulosa a través de la preparación de suspensiones del sólido en soluciones del mismo y posterior evaporación del solvente y secado de las muestras. La totalidad de los estudios que componen esta Tesis se realizaron sobre el sólido seco.

Para la caracterización de los sistemas en estudio se emplearon una serie de técnicas experimentales y modelos físicomatemáticos, algunos desarrollados previamente y otros en el transcurso de esta Tesis que se discuten, respectivamente, en los Capítulos II y III. Cabe mencionar que el énfasis fue puesto en mayor medida en la

caracterización de los procesos fotofísicos involucrados en estos sistemas y en el desarrollo de métodos y modelos novedosos para dicho fin, más que en el desarrollo de sistemas particulares, aplicándose en todos los casos a colorantes cuyas propiedades fotofísicas son ampliamente conocidas en solución.

En el Capítulo IV se describen sistemas compuestos por un único colorante, adsorbido o unido químicamente al soporte, y se evalúan los efectos de la reabsorción y la reemisión de la luminiscencia sobre la fotofísica del sistema. Se estudió la fotofísica de la rodamina 101 unida químicamente a la celulosa y del rosa de bengala y el azul de metileno adsorbidos sobre las partículas. Para el primer sistema se evaluó el efecto de la unión química sobre la espectroscopia y la fotofísica del colorante. Para el segundo sistema se halló evidencia sobre la formación de dímeros fluorescentes, hecho poco común, ya que los agregados moleculares suelen ser fotoquímicamente inactivos. En el caso del azul de metileno se observó un descenso en el rendimiento cuántico de fluorescencia a altas concentraciones de colorante, que no puede explicarse considerando sólo la agregación y la reabsorción y reemisión de la fluorescencia. Por ello su tratamiento se completa en el Capítulo VI.

El Capítulo V aborda el estudio de la transferencia de energía en sistemas mixtos, compuestos por un colorante donador capaz de transferir su energía de excitación a un segundo colorante, que actúa como aceptor. Se estudiaron los siguientes sistemas: a) feofórbido-a y azul de metileno coadsorbidos y b) rodamina 101 unida químicamente y azul de metileno adsorbido en celulosa. Este capítulo tiene un doble propósito: además de evaluar la transferencia de energía en estos sistemas, se trató el tema como posible estrategia para mejorar el aprovechamiento espectral de la energía de excitación en materiales fotoactivos. En particular, pudo demostrarse que la energía de excitación puede transferirse eficientemente del donador al aceptor, con eficiencias globales de transferencia de hasta un 80% (sistema b), principalmente por un mecanismo no radiativo, sin necesidad de un ordenamiento molecular específico.

En el Capítulo VI se aborda nuevamente el estudio de sistemas con un único colorante, pero ahora evaluando el atrapamiento de la energía de excitación por parte de agregados del mismo. Se retoma el estudio del azul de metileno y se incluye la rodamina 6G adsorbidos sobre celulosa. Se demuestra que los agregados del azul de metileno actúan como trampas de la energía de excitación por transferencia no radiativa de energía, particularmente en las muestras más concentradas, lo que explica cuantitativamente el descenso de su rendimiento cuántico de fluorescencia una vez

corregido por la agregación y la reabsorción y reemisión de la fluorescencia. En el caso de la rodamina 6G, aún cuando no se observa evidencia de agregación, el *quenching* de la fluorescencia con el aumento de concentración pudo explicarse considerando la formación de trampas diméricas. En ambos casos se evaluaron los mecanismos responsables del atrapamiento.

Por último, en el Capítulo VII se resumen las conclusiones generales de la Tesis y se describen los lineamientos de una posible extensión del trabajo. Entre las conclusiones, la más relevante indica que tanto los procesos fotofísicos en los sistemas donor-aceptor como en los sistemas de un único colorante pueden representarse mediante un único esquema general, especializable para todos y cada uno de los casos en estudio.

I.4. Bibliografía

¹ G. B. Cordón and M. G Lagorio (2006) Re-absorption of chlorophyll fluorescence in leaves revisited. A comparison of correction models. *Photochem. Photobiol Sci.* **5**: 737-740.

² S. Fukuzumi (2008) Development of bioinspired artificial photosynthetic systems. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10**: 2283-2297.

³ D. E. Wetzler, D. García-Fresnadillo and G. Orellana (2006) A clean, well-defined solid system for photosensitized ¹O₂ production measurements. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **8**: 2249-2256.

⁴ D. Chatterjee and S. Dasgupta (2005) Visible light induced photocatalytic degradation of organic pollutants. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* **6**: 186-205.

⁵ C. Wang, J. Li, G. Mele, G. -M. Yang, F. -X. Zhang, L. Palmisano and G. Vasapollo (2007) Efficient degradation of 4-nitrophenol by using functionalized porphyrin-TiO₂ photocatalysts under visible irradiation. *Appl. Catal. B: Environ.* **76**: 218-226.

⁶ S. Singh, V. R. Kanetkar, G. Sridhar, V. Muthuswamy and K. Raja (2003) Solid-state polymeric dye lasers. *J. Lumin.* **101**: 285-291.

⁷ M. Grätzel (2003) Dye-sensitized solar cells. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* **4**: 145-153.

⁸ B. Li, L. Wang, B. Kang, P. Wang and Y. Qiu (2006) Review of recent progress in solid-state dye-sensitized solar cells. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* **90**: 549-573.

⁹ A. Paul, S. Hackbarth, R. D. Vogt, B. Röder, B. K. Burnison and C. E. W. Steinberg (2004) Photogeneration of singlet oxygen by humic substances: comparison of humic substances of aquatic and terrestrial origin. *Photochem. Photobiol. Sci.* **3**: 273-280.

- ¹⁰ K. Rajeshwar, M. E. Osugi, W. Chanmanee, C. R. Chenthamarakshan, M. V. B. Zaroni, P. Kajitvichyanukul and R. Krishnan-Ayer (2008) Heterogenous photocatalytic treatment of organic dyes in air and aqueous media. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* **9**: 15-36.
- ¹¹ M. C. González and E. San Román (2005) Environmental photochemistry in heterogeneous media. In *The Handbook of Environmental Chemistry*, Volume 2M: Environmental Photochemistry Part II. Springer-Verlag, Berlin, pp. 49-75.
- ¹² K. Kalyanasundaram (1987) *Photochemistry in Microheterogeneous Systems*. Academic Press, New York.
- ¹³ M. Anpo and T. Matsuura (1989) *Photochemistry on Solid Surfaces*. Elsevier, New York.
- ¹⁴ V. Ramamurthy (1991) *Photochemistry in Organized and Constrained Media*. VCH Publishers, New York.
- ¹⁵ P. V. Kamat (1993) Photochemistry on nonreactive and reactive (semiconductor) surfaces. *Chem. Rev.* **93**: 267–300.
- ¹⁶ A. Fujishima, T. N. Rao, D. A. Tryk (2000) Titanium dioxide photocatalysis. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* **1**: 1-21.
- ¹⁷ L. F. Vieira Ferreira, A. R. García and M. R. Freixo (1993) Photochemistry on surfaces: solvent-matrix effect on the swelling of cellulose. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **89**: 1937-1944.

Capítulo II

Antecedentes teóricos y metodología de trabajo

II. Antecedentes teóricos y metodología de trabajo

II.1. Introducción

En este capítulo se describirán los fundamentos teóricos de los métodos y modelos corrientemente utilizados para la caracterización fotofísica de colorantes en sólidos particulados (micropartículas de celulosa).

Los sólidos particulados son, en general, medios que dispersan fuertemente la radiación. La descripción del comportamiento de la luz en medios dispersivos consiste en la resolución de ecuaciones diferenciales de primer orden que describen la disminución de la intensidad de luz dentro de la muestra debido a la dispersión y la absorción. Este tipo de ecuaciones fue introducido por Schuster¹ en 1905, en un trabajo relacionado con el escape de la radiación de la atmósfera estelar. En 1931, Kubelka y Munk² usaron esencialmente el mismo formalismo para describir el comportamiento de la luz en materiales dispersores, suprimiendo los términos correspondientes a la generación de luz en el medio. Ello dio origen a la teoría de Kubelka-Munk (Sección II.2). Más tarde, Oelkrug y Körtum³ extendieron la teoría a fin de incorporar los efectos de la reabsorción de fluorescencia, pero la idea no tuvo aplicación práctica hasta que Seely^{4,5} desarrolló un modelo para determinar rendimientos cuánticos de fluorescencia en suspensiones. En 1998, Lagorio et al.⁶ desarrollaron un modelo para la corrección de rendimientos cuánticos de emisión por efectos de reabsorción y reemisión de fluorescencia en sistemas sólidos que dispersan la radiación (Sección II.8).

El rendimiento cuántico de fluorescencia de un colorante, Φ , se define como el número de fotones que emite el colorante por fotón absorbido por el mismo. En los sistemas estudiados, otras especies, incluido el soporte sólido, pueden contribuir a la absorción y la fluorescencia puede ser reabsorbida por la muestra. Por lo tanto, el valor medible en estas circunstancias es el rendimiento cuántico de fluorescencia observado, Φ_{obs} , definido como el número de fotones emitidos que escapan de la muestra por fotón absorbido por cualquiera de las especies presentes. Hace pocos años, Miranda et al.⁷ por una parte y Vieira Ferreira et al.⁸ por la otra efectuaron desarrollos que permitieron el cálculo práctico de rendimientos cuánticos de fluorescencia observados en forma muy general y absoluta para sistemas que poseen una importante emisión (Sección II.4).

Los sistemas sólidos estudiados son ópticamente gruesos, es decir que presentan transmisión despreciable de la luz, cuando su espesor supera 1 mm. Por ello, sus propiedades de absorción y emisión de luz fueron estudiadas mediante espectroscopias de reflectancia (Sección II.2) y fluorescencia con excitación frontal (Sección II.3), respectivamente.

Se estudiaron sistemas con elevadas concentraciones locales de colorante. En estas condiciones las interacciones moleculares pueden determinar la formación de agregados moleculares. La naturaleza de estos agregados se evaluó en base a la teoría excitónica (Sección II.5) y su caracterización y cuantificación se llevó a cabo a partir de un método de análisis espectral por regresión bilineal desarrollado por San Román y González (Sección II.6).⁹

Por último, cuando las concentraciones locales de colorante son elevadas, las distancias intermoleculares están en el orden de unos pocos nanómetros y pueden haber procesos de transferencia no radiativa de energía (Sección II.7), entre ellos la transferencia de energía por resonancia, mecanismo descrito por T. Förster¹⁰ en la década de 1940 (Sección II.9).

II.2. Espectroscopia de reflectancia y teoría de Kubelka-Munk

La espectroscopia de reflectancia estudia la fracción de la luz incidente que es reflejada por un material en función de la longitud de onda. Cuando un haz de luz paralelo incide sobre la superficie de un material sólido, se observan dos tipos distintos de reflexión: regular y difusa. La reflexión regular, también conocida como reflexión especular, se da principalmente en superficies lisas (pulidas) y es gobernada por las ecuaciones de Fresnel. En el caso simple de incidencia normal la reflectancia regular viene dada por:

$$R_{\text{reg}} = \frac{I_r}{I_0} = \frac{(n-1)^2 + n^2 \kappa^2}{(n+1)^2 + n^2 \kappa^2} \quad (\text{II.1})$$

donde I_r e I_0 son las intensidades de luz reflejada e incidente, respectivamente, n es el índice de refracción y κ el índice de absorción del sólido, definido a través de la ley de

absorción de Lambert, $I = I_0 \exp[-4\pi nkd/\lambda]$, donde λ es la longitud de onda de la radiación en el vacío y d es el espesor de la capa de material.

La reflexión difusa se da principalmente en superficies mate y proviene de la penetración de una porción del flujo incidente en el interior de la muestra. Parte de esta radiación es devuelta por el sólido luego de su absorción parcial y la dispersión múltiple en los límites de las partículas individuales que componen la muestra. La radiación reflejada se distribuye angularmente, a diferencia de la reflexión especular que es direccional. La luz reflejada por un material sólido es una combinación de ambas formas. De esta manera, la reflexión especular o difusa puras corresponden a casos límite ideales.

La reflexión difusa ideal se define por la condición de que la distribución angular de la radiación reflejada es uniforme e independiente del ángulo de incidencia. Esta primera ley de la reflexión difusa se conoce como ley del coseno de Lambert y fue formulada en base a la observación de que una superficie mate aparece uniformemente iluminada desde todos los ángulos de observación.

Consideremos la superficie mate plana de un sólido, uniformemente irradiada por un haz de luz paralelo con un ángulo de incidencia α respecto de la normal. La extensión del área iluminada dependerá de la sección transversal del haz y del ángulo de incidencia, de tal manera que la intensidad de luz por unidad de área superficial iluminada (dI_0/dA) también dependerá de α . Si S_0 es la intensidad de luz incidente por unidad de área transversal del haz (watt/cm^2), entonces:

$$\frac{dI_0}{dA} = S_0 \cos\alpha \quad (\text{II.2})$$

La ley del coseno de Lambert establece que la intensidad reflejada por unidad de área superficial iluminada (dI_r/dA) es proporcional al coseno del ángulo de observación (φ) respecto de la normal a la superficie y al ángulo sólido ($d\omega$), de manera que:

$$\frac{dI_r}{dA} = B \cos\varphi \, d\omega \quad (\text{II.3})$$

donde B se conoce como densidad de radiación (brillo). Si $d\omega$ es reemplazado por el elemento de superficie de una esfera unitaria, $d\omega = \sin\varphi \, d\varphi \, d\theta$, e integrado sobre toda la hemisfera de radiación emitida (de 0 a $\pi/2$ para φ y de 0 a 2π para θ) queda:

$$\int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} B \cos\varphi \sin\varphi \, d\varphi \, d\theta = \pi B \quad (\text{II.4})$$

Como las intensidades de radiación incidente y reflejada deben ser proporcionales entre si, combinando las ecuaciones (II.2) y (II.4) se obtiene la siguiente expresión para el brillo:

$$B = \frac{R_d}{\pi} S_0 \cos\alpha \quad (\text{II.5})$$

donde R_d , la reflectancia difusa, es la fracción de la radiación incidente que es reflejada, siendo en general menor que uno debido a la absorción de luz. De la ecuación (II.5) se deduce que el brillo de la superficie es independiente del ángulo de observación.

En la práctica no existe un dispersor ideal, ya que en general se obtienen desviaciones en la distribución espectral de la luz reflejada, siendo éstas más importantes cuanto mayores sean α y φ .

La importancia relativa de ambos tipos de reflexión en una determinada muestra depende de la naturaleza del material y de las características de la superficie. En el caso de sólidos particulados (polvos compactados) en que existe absorción de luz, las principales características estudiadas han sido el tamaño de partícula y el efecto de la absorción. Examinando la ecuación (II.1) se puede observar que la reflectancia especular tiende a 1 cuando aumenta el índice de absorción del material, lo que indica que para materiales con elevada absorción la reflexión es principalmente especular; al contrario, cuando en estos materiales la absorción es débil gobierna la reflexión difusa.

Para poder clasificar a un material con absorción fuerte o débil se debe definir la penetración media de la luz en una capa de material (\bar{d}) como la distancia requerida para que la intensidad caiga en un factor e:

$$\bar{d} = 1/K \quad (\text{II.6})$$

de acuerdo a la ley de Lambert-Beer, $I = I_0 \exp[-Kd]$, donde K es el coeficiente de absorción. La absorción se considera fuerte cuando $\bar{d} = 1/K < \lambda$ y débil cuando $\bar{d} = 1/K > \lambda$, siendo λ la longitud de onda de la luz incidente.

Cuando la absorción es débil, la luz penetra profundamente en la muestra y, aun cuando K sea pequeña, la radiación es extensamente absorbida. Por el contrario, cuando la absorción es fuerte, la luz incidente penetra muy poco en el material y se refleja regularmente una fracción mayor. Esto explica la paradoja de que materiales con absorción fuerte pueden absorber poco, mientras que aquellos con absorción débil pueden absorber, en comparación, una considerable fracción de la radiación incidente.

En materiales con absorción débil, el tamaño de partícula determina la penetración media de la radiación incidente. Cuanto más pequeñas sean las partículas, mayor será la dispersión de la luz y más rápidamente la radiación será devuelta a la superficie, disminuyendo la penetración media y, por ende, la absorción de luz. La reflectancia sufrirá entonces grandes cambios con el tamaño de partícula. Sin embargo, para absorción fuerte, como la penetración de luz es muy pequeña, la reflectancia será prácticamente independiente del tamaño de partícula.

El intento por comprender el comportamiento de la luz en medios dispersivos ha resultado en el desarrollo de varias teorías que intentan describir este fenómeno. La aproximación más ampliamente adoptada consiste en la resolución simultánea de ecuaciones diferenciales de primer orden que describen la disminución de la intensidad de luz dentro de la muestra debido a la dispersión y la absorción. Una de las que ha tenido mayor aceptación y difusión se conoce como teoría de Kubelka-Munk (K-M).^{11,12}

Considérese una capa formada por partículas que absorben y dispersan la luz, uniformes y aleatoriamente distribuidas, cuyas dimensiones son mucho menores que el espesor de la capa (Fig. II.1). Se supone que la capa tiene dimensiones laterales infinitas (para eliminar efectos de borde) y es iluminada por una fuente de luz monocromática a una longitud de onda λ . Considérese una sola dimensión, x , donde $x = 0$ corresponde a la superficie del material y $x = d$ corresponde al espesor de la capa, siendo I el flujo de radiación en el sentido positivo de x y J el flujo en el sentido negativo. Como puede observarse, se consideran sólo dos direcciones de flujo de la radiación, incidente y reflejada, siendo éstas normales a la superficie del material.

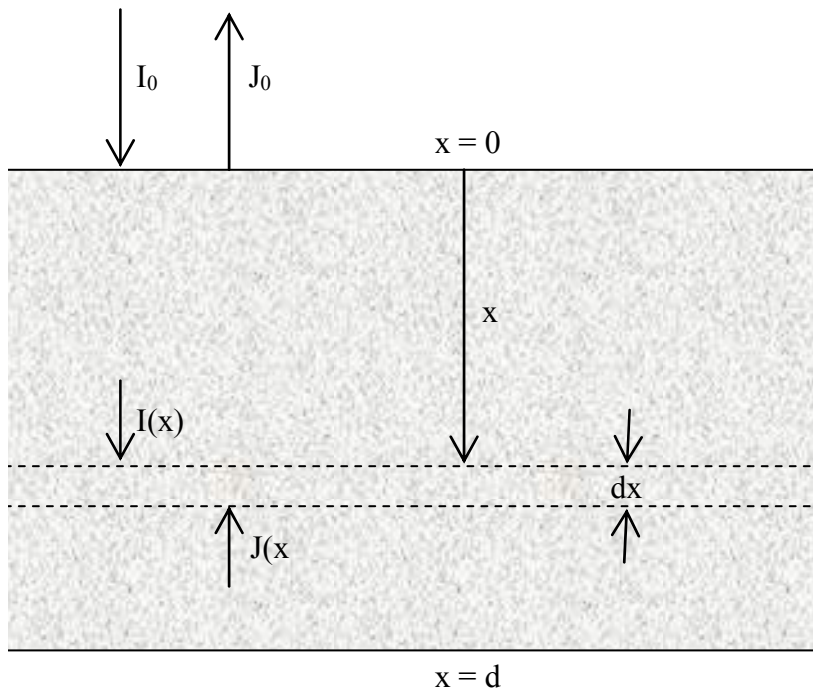


Fig. II.1. Representación esquemática de una capa de sólido particulado que absorbe y dispersa la luz.

Si se analiza un rayo particular que atraviesa una capa diferencial, dx , con un ángulo α respecto de la normal a la superficie, se puede deducir que el paso óptico no será dx , sino $dx/\cos\alpha$ (Fig. II.2).

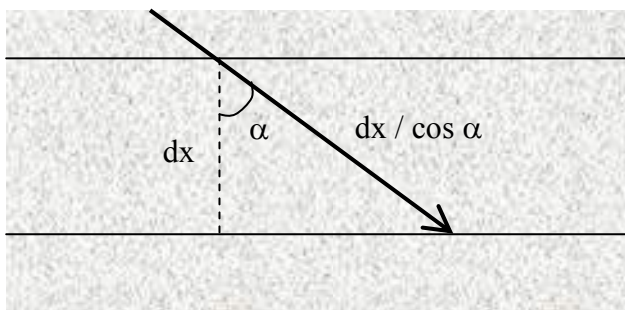


Fig. II.2. Representación del camino óptico recorrido por un rayo de luz que atraviesa un dx de material con un ángulo de incidencia α .

Debido a que la luz dentro del material consiste en rayos en todas las posibles direcciones, entonces el camino óptico medio, $d\xi$, será:

$$d\xi_1 = dx \int_0^{\pi/2} \frac{\partial I}{I \partial \alpha} \frac{d\alpha}{\cos \alpha} \equiv u dx \quad (\text{II.7})$$

$$d\xi_J = dx \int_0^{\pi/2} \frac{\partial J}{J \partial \alpha} \frac{d\alpha}{\cos \alpha} \equiv v dx \quad (\text{II.8})$$

donde $\partial I/\partial \alpha$ y $\partial J/\partial \alpha$ son las distribuciones angulares de la intensidad de luz en el sentido positivo y negativo de x , respectivamente.

Si se supone que el medio es un dispersor ideal, la radiación tendrá la misma intensidad en todas las direcciones y la distribución angular del flujo a través de un plano, por ejemplo en la dirección positiva de x , será $\partial I/\partial \alpha = I \operatorname{sen} 2\alpha$. De manera análoga, en la dirección negativa de x , $\partial J/\partial \alpha = J \operatorname{sen} 2\alpha$. Conociendo entonces las expresiones para las distribuciones angulares se puede calcular los valores de u y v como:

$$u = v = \int_0^{\pi/2} \frac{\operatorname{sen} 2\alpha}{\cos \alpha} d\alpha = 2 \int_0^{\pi/2} \operatorname{sen} \alpha d\alpha = 2 \quad (\text{II.9})$$

Esto significa que el camino óptico medio es $2dx$. Como se dijera, esto es válido para dispersores ideales.

Si se considera que ζ es la fracción de luz absorbida y σ la fracción de luz dispersada por unidad de paso óptico en la muestra, el decaimiento de I al atravesar una distancia dx vendrá dado por:

$$(\zeta + \sigma)I d\xi_1 = (2\zeta + 2\sigma)Idx \quad (\text{II.10})$$

donde $2\zeta Idx$ es la fracción absorbida y $2\sigma Idx$ es la fracción dispersada. Puede escribirse una ecuación análoga para J . Si se consideran simultáneamente ambas componentes, la luz dispersada en la dirección positiva de x aumentará la intensidad de luz en la dirección opuesta y viceversa, pudiendo ello expresarse de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} dI &= -(K + S)I dx + SJ dx \\ dJ &= +(K + S)J dx + SI dx \end{aligned} \quad (\text{II.11})$$

en términos del coeficiente de absorción, $K = 2\zeta$ y el coeficiente de dispersión, $S = 2\sigma$. Los signos son consistentes con el decrecimiento de I y el aumento de J cuando x aumenta. Bajo las condiciones de borde $I = I_0$ para $x = 0$ y $J = 0$ para $x = d$ se obtienen las siguientes expresiones para la transmitancia y la reflectancia difusa:

$$T_\lambda = \frac{I_{x=d}}{I_0} = \frac{4\beta}{(1+\beta)^2 e^{kd} - (1-\beta)^2 e^{-kd}} \quad (\text{II.12})$$

$$R_\lambda = \frac{J_{x=0}}{I_0} = \frac{(1-\beta^2)(e^{kd} - e^{-kd})}{(1+\beta)^2 e^{kd} - (1-\beta)^2 e^{-kd}} \quad (\text{II.13})$$

donde $\beta \equiv [K / (K + 2S)]^{1/2}$ y $k \equiv [K (K + 2S)]^{1/2}$. Nótese que en el límite cuando el material no dispersa la luz ($S = 0$), $T_\lambda = e^{-Kd}$, que es simplemente la ley de Lambert-Beer. Esto significa que K , el coeficiente de absorción, tiene el mismo significado que en espectroscopia de transmisión.

Si se considera que el espesor de la capa es infinito (el sólido es óptimamente grueso, lo que en la práctica para polvos finamente divididos se consigue con un espesor de 1 a 3 mm), entonces $T_\lambda = 0$, como era de esperarse, y

$$R_\lambda = \frac{1-\beta}{1+\beta} = \frac{1 - [K/(K + 2S)]^{1/2}}{1 + [K/(K + 2S)]^{1/2}} \quad (\text{II.14})$$

Reordenando la ecuación (II.14) se obtiene la expresión para la función de remisión, $F(R_\lambda)$, también conocida como función de Kubelka-Munk:

$$F(R_\lambda) = \frac{(1 - R_\lambda)^2}{2R_\lambda} = \frac{K}{S} \quad (\text{II.15})$$

Esta función de la reflectancia difusa para muestras ópticamente gruesas guarda una dependencia lineal con el coeficiente de absorción, K , del material. Si se considera un

sistema conformado por colorantes adsorbidos sobre un soporte sólido particulado, entonces $K_{\text{colorante}} = 2\epsilon c$ y:

$$F(R_{\lambda}) = \frac{K_{\text{soporte}} + 2 \sum_{i=1}^n \epsilon_i(\lambda) c_i}{S} \quad (\text{II.16})$$

donde n es el número de especies que absorben a la longitud de onda incidente, ϵ es el coeficiente de absorción neperiano por unidad de concentración y c es la concentración de la especie. K_{soporte} representa el eventual coeficiente de absorción del soporte.

De las dos constantes arbitrarias, K y S , introducidas fenomenológicamente en la teoría de K-M, K pudo ser identificada como el coeficiente de absorción determinado en medidas de transmisión, pero S no tiene su contraparte. La dependencia del coeficiente de dispersión con la longitud de onda de la luz incidente depende del tamaño de partícula del material. Si las dimensiones de las partículas son menores que λ , la dispersión asume una dependencia con λ^{-4} (dispersión de Rayleigh). En cambio, si el tamaño es mucho mayor que λ , entonces la dispersión, gobernada primariamente por las ecuaciones de Fresnel, se vuelve independiente de la longitud de onda. En estas últimas condiciones, el espectro de $F(R_{\lambda})$ es equivalente al espectro de absorción en solución obtenido a partir de medidas de transmisión, ya que ambos dependen linealmente del coeficiente de absorción del colorante.

Los espectros de reflectancia para muestras sólidas ópticamente gruesas ($T_{\lambda} = 0$) se pueden medir mediante un espectrofotómetro convencional equipado con una esfera integradora, cuya función es coleccionar la luz reflejada por la muestra. Los espectros de reflectancia absolutos son obtenidos en relación a un estándar blanco adecuado ($K = 0$), usualmente BaSO_4 , para ajustar el 100% de reflectancia. En la Fig. II.3 se representa el esquema general de la esfera integradora utilizada en las medidas de reflectancia.

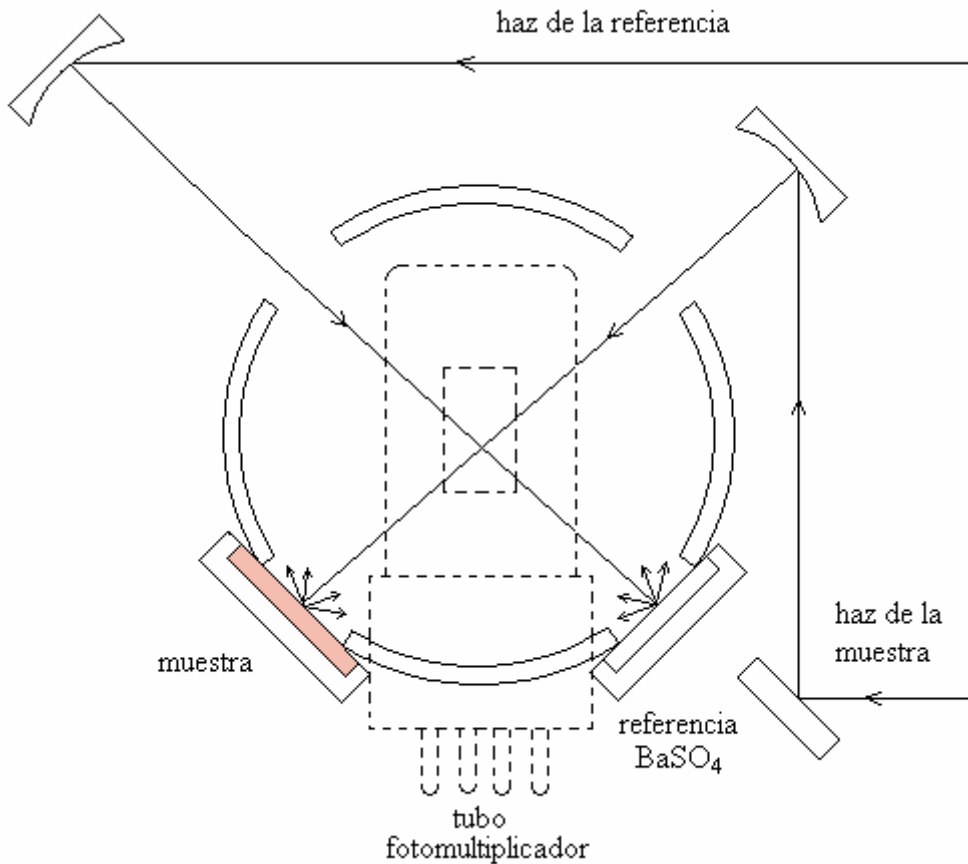


Fig. II.3. Esquema general de una esfera integradora.

El interior de la esfera está recubierto de un material no absorbente y reflectante, usualmente BaSO_4 , y presenta cinco aberturas, dos de ellas para el ingreso de los haces de luz incidente para la muestra y referencia, dos para exponer la muestra y referencia al interior de la esfera y una inferior que conecta con un tubo fotomultiplicador. Los haces de luz incidentes ingresan a la esfera por las aberturas correspondientes con un ángulo de aproximadamente 8° respecto de la normal a la superficie de la muestra y la referencia, e impactan sobre éstas. Con este ángulo se evita la incidencia normal de tal manera de poder coleccionar la reflectancia especular, que en caso contrario escaparía de la esfera por la abertura de incidencia. La luz reflejada sufre múltiples reflexiones dentro de la esfera, colectándose sobre el orificio inferior para ser detectada por el fotomultiplicador, ubicado debajo de la esfera. La línea de base ($R = 100\%$) se obtiene para el estándar en la posición de muestra y referencia. Los espectros obtenidos de ésta manera son de reflectancia total, ya que incluyen tanto la reflectancia difusa como la especular. Para poder medir la reflectancia difusa, necesaria para los cálculos de $F(R_\lambda)$,

se acoplan en las aberturas de muestra y referencia adaptadores en forma de cuña que dan a la superficie de la muestra y la referencia un ángulo adecuado para que la reflexión especular, que es direccional, escape de la esfera.

En el presente trabajo se usó un espectrofotómetro Shimadzu UV-3101 equipado con una esfera integradora, utilizándose BaSO_4 como referencia para el 100% de reflectancia. Se midieron muestras de 1 a 3 mm de espesor del sólido compactado (capa gruesa, $T_\lambda = 0$). La presión de compactación no afecta significativamente los resultados de reflectancia.¹³

II.3. Fluorescencia estacionaria y resuelta en el tiempo

Los materiales dispersores de luz, aún cuando generalmente son más difíciles de estudiar que las soluciones homogéneas, proveen una manera de minimizar los efectos de la geometría del sistema en la colección de la luz emitida.¹⁴ Los materiales que se comportan en forma semejante a dispersores ideales (por ejemplo, sólidos microparticulados compactados) pueden ser estudiados convenientemente por excitación en cara frontal sin la complicación de la detección dependiente del ángulo.

Estos sistemas presentan importantes efectos de filtro interno, particularmente cuando no se trabaja con muestras delgadas. Los sucesivos fenómenos de reabsorción de la luz emitida y reemisión que tienen lugar en el interior de la muestra son responsables de distorsiones en los espectros de emisión estacionaria y afectan los resultados de fluorescencia resuelta en el tiempo. Una manera de minimizar los efectos de filtro interno consiste en trabajar con capas finas de partículas. Si estas capas son suficientemente delgadas, los fenómenos de reabsorción y reemisión pueden hacerse despreciables, pudiéndose entonces determinar el espectro real de emisión del colorante y su decaimiento de la fluorescencia.

En este trabajo, los espectros de fluorescencia estacionaria fueron determinados para capas gruesas y finas de partículas. Los primeros están afectados por efectos de filtro interno pero son útiles para relacionar las intensidades de luz emitidas con las fracciones de luz de excitación absorbidas. De esta manera, pueden determinarse rendimientos cuánticos de fluorescencia observados (Sección II.4.). Los espectros en capa fina permiten determinar experimentalmente el espectro real del colorante en la muestra, indispensable para modelar los fenómenos de reabsorción y reemisión en las

capas gruesas (Sección II.7.). En ambos casos las muestras fueron excitadas en modo frontal. Para la determinación de los decaimientos de la fluorescencia se utilizaron capas finas de partículas.

Tanto en las capas finas como en las gruesas la reflexión de la luz de excitación es importante. Para evitar que esta luz eventualmente alcance el detector (aún cuando se use un monocromador de emisión), se utilizaron filtros ópticos adecuados que permiten el paso de las longitudes de onda de emisión pero absorben fuertemente a la longitud de onda de excitación. En todos los casos los espectros fueron corregidos por la variación de la sensibilidad del sistema de detección (monocromador + fotomultiplicador) con la longitud de onda.

Los espectros de emisión y excitación estacionaria fueron medidos, para muestras ópticamente gruesas y capas finas de partículas, en un espectrofluorómetro PTI modelo QM1, y los decaimientos de la fluorescencia en capas finas mediante un espectrómetro de tiempos de vida PTI TimeMaster, utilizando como fuente de luz pulsada una lámpara de arco de hidrógeno a presión media. Se midieron capas gruesas con un espesor de 3 mm. Las capas finas fueron preparadas dispersando una pequeña porción de muestra sobre una cinta de doble faz pegada a una ventana de cuarzo y eliminando el excedente hasta constancia en la forma del espectro de emisión.

II.4. Rendimientos cuánticos de fluorescencia observados

La obtención de rendimientos cuánticos de fluorescencia es un punto clave para la caracterización fotofísica de los sistemas estudiados. Los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados, Φ_{obs} , pueden determinarse para capas gruesas de partículas, ya que es posible calcular, en este caso, la fracción de luz absorbida por la muestra como $(1-R_t)$, donde R_t es la reflectancia total. Para capas finas esta determinación es muy difícil y arroja errores muy importantes.

Los rendimientos cuánticos observados pueden determinarse en forma absoluta o relativa a una referencia en fase sólida. Para la determinación relativa se utiliza la reflectancia total de la muestra y la referencia a la longitud de onda de excitación y las intensidades de emisión de ambos sistemas en las mismas condiciones experimentales. Preferentemente se debería excitar ambos sistemas a la misma longitud de onda. En caso contrario deben realizarse correcciones por el diferente flujo fotónico de excitación

a las distintas longitudes de onda. En base a estos datos, el rendimiento cuántico observado puede calcularse como:

$$\Phi_{\text{obs}} = \Phi_{\text{obs}}^R \frac{J(1 - R_{t,\lambda_0}^R)I_0^R}{J^R(1 - R_{t,\lambda_0})I_0} \quad (\text{II.17})$$

donde I_0 es el flujo fotónico incidente, J es la intensidad de emisión obtenida como el área integrada bajo el espectro de emisión y R_{t,λ_0} es la reflectancia total a la longitud de onda de excitación. El superíndice R indica referencia. El cociente I_0^R/I_0 es llevado a uno por el equipo.

El problema más importante en la determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia es la disponibilidad de referencias adecuadas. Para poder contar con referencias en fase sólida debe poder determinarse, en ciertas circunstancias, su rendimiento cuántico en forma absoluta. Existen en bibliografía diversos métodos para realizar estas determinaciones.^{7,15-17} El utilizado en el presente trabajo consiste en la obtención de medidas de reflectancia con y sin un filtro óptico adecuado entre la esfera integradora y el detector, que absorbe selectivamente la mayor parte de la fluorescencia. Cuando se trabaja con muestras sólidas altamente fluorescentes la reflectancia es sobreestimada por la luminiscencia que llega al fotodetector. La interposición del filtro genera diferencias en la reflectancia, ya que elimina parte de la fluorescencia, que pueden utilizarse para calcular Φ_{obs} y la reflectancia real de la muestra (corregida por fluorescencia), si se conoce su espectro de emisión y la transmitancia del filtro usado:

$$R_{\lambda_0} = \frac{I_{\lambda_0} \cdot R_{\text{obs},\lambda_0}^f - I_{\lambda_0}^f \cdot R_{\text{obs},\lambda_0}}{I_{\lambda_0} - I_{\lambda_0}^f} \quad (\text{II.18})$$

$$\Phi_{\text{obs}} = \frac{R_{\text{obs},\lambda_0} - R_{\text{obs},\lambda_0}^f}{I_{\lambda_0} \cdot [1 - R_{\text{obs},\lambda_0}^f] - I_{\lambda_0}^f \cdot [1 - R_{\text{obs},\lambda_0}]} \quad (\text{II.19})$$

donde

$$I_{\lambda_0} = \int_{\lambda} f_{\text{obs},\lambda} \cdot \frac{S_{\lambda}}{S_{\lambda_0}} \cdot \frac{\lambda_0}{\lambda} \cdot d\lambda \quad (\text{II.20})$$

$$I_{\lambda_0}^f = \int_{\lambda} f_{\text{obs},\lambda} \cdot \frac{T_{\lambda}}{T_{\lambda_0}} \cdot \frac{S_{\lambda}}{S_{\lambda_0}} \cdot \frac{\lambda_0}{\lambda} \cdot d\lambda \quad (\text{II.21})$$

S_{λ} es la sensibilidad del fotodetector a longitud de onda λ , T_{λ} es el espectro de transmitancia del filtro y $f_{\text{obs},\lambda}$ es el espectro de emisión observado de la muestra en capa gruesa, normalizado a área unitaria; λ_0 expresa longitud de onda de excitación y el superíndice f denota medidas con filtro.

Las determinaciones absolutas pueden efectuarse para muestras altamente fluorescentes. En caso de muestras con baja emisión se utiliza el método relativo, trabajando con muestras adecuadas como referencia, cuyos rendimientos cuánticos se obtienen en forma absoluta por el método citado.

II.5. Agregación molecular y teoría excitónica

Cuando se trabaja con sistemas que poseen elevada concentración de colorante, sus moléculas pueden interactuar entre sí. Como resultado de esta interacción se pueden formar agregados de colorante, con propiedades fotofísicas y espectroscópica diferentes a las del colorante libre. La cercanía entre las moléculas provoca a su vez interacciones que causan corrimientos espectrales, desdoblamientos en las bandas de absorción del colorante, hipo o hipercromía y disminución en la emisión, como producto de un aumento de la importancia de los procesos de conversión interna o cruce entre sistemas. Estos efectos, explicados por la teoría excitónica,¹⁸ pueden ser observados si el acoplamiento electrónico entre las sub-unidades que conforman el agregado es suficientemente fuerte.

La teoría excitónica molecular es una teoría de interacción de estados. Si el solapamiento electrónico entre cromóforos es pequeño, de tal manera que las moléculas preservan su individualidad en el agregado, esta teoría cumple los requisitos de una teoría de perturbaciones. De esta manera, las funciones de onda y las energías del agregado pueden expresarse en términos de las funciones de onda y las energías de los monómeros. Si se considera un dímero, su función de onda en el estado fundamental podrá expresarse como el producto de las funciones de onda de los componentes, $\Psi_G = \psi_a \psi_b$, donde a y b indican cada una de las moléculas que conforman el dímero, que se

asumen idénticas (homodímero). El operador Hamiltoniano del dímero será la suma de los Hamiltonianos de cada molécula aislada más un término perturbativo, $H = H_a + H_b + V_{ab}$. Este último corresponde a un potencial coulombico, aproximado eventualmente por el término de interacción dipolo-dipolo de la expansión multipolar. La energía del estado fundamental del dímero es:

$$E_G = \iint \psi_a \psi_b H \psi_a \psi_b d\tau_a d\tau_b = E_a + E_b + \iint \psi_a \psi_b V_{ab} \psi_a \psi_b d\tau_a d\tau_b \quad (\text{II.22})$$

donde el último término corresponde a una energía de interacción de van der Waals que estabiliza al agregado, y E_a y E_b son las energías del estado fundamental de las moléculas aisladas.

La función de onda del estado excitado del dímero puede expresarse como una combinación lineal del producto de funciones de onda con la energía de excitación localizada en cada uno de los componentes.

$$\Psi_E = 1/\sqrt{2}(\psi_a^* \psi_b \pm \psi_a \psi_b^*) \quad (\text{II.23})$$

ψ_a^* y ψ_b^* son las funciones de onda del estado excitado de cada componente aislado. La ecuación de Schrödinger para el estado excitado será:

$$H\Psi_E = E_E \Psi_E \quad (\text{II.24})$$

Como resultado se obtienen dos estados excitados con diferente energía.

$$\begin{aligned} E_E^1 &= E_a^* + E_b + \iint \psi_a^* \psi_b (V_{ab}) \psi_a^* \psi_b d\tau_a d\tau_b + \iint \psi_a^* \psi_b (V_{ab}) \psi_a \psi_b^* d\tau_a d\tau_b \\ E_E^2 &= E_a^* + E_b + \iint \psi_a^* \psi_b (V_{ab}) \psi_a^* \psi_b d\tau_a d\tau_b - \iint \psi_a^* \psi_b (V_{ab}) \psi_a \psi_b^* d\tau_a d\tau_b \end{aligned} \quad (\text{II.25})$$

La diferencia entre ambas energías radica en el último término, conocido como término de desdoblamiento de excitón (δ). En la aproximación dipolar este término toma la siguiente forma:

$$\delta = \frac{\mathbf{M}_a \cdot \mathbf{M}_b}{r^3} - \frac{3(\mathbf{M}_a \cdot \mathbf{r})(\mathbf{M}_b \cdot \mathbf{r})}{r^5} \quad (\text{II.26})$$

donde M es el momento de transición del monómero a o b, r es la distancia entre las moléculas y \mathbf{r} es el vector de posición del dipolo a respecto al dipolo b como origen.

El anteúltimo término en las ecuaciones (II.25), análogo al último de la ecuación (II.22), corresponde a la interacción de van der Waals entre el estado excitado de una de las moléculas y el fundamental de la otra.

La energía de transición para el agregado puede expresarse como la diferencia entre las ecuaciones (II.25) y (II.22):

$$\Delta E_{\text{dímero}} = \Delta E_{\text{monómero}} + \Delta D \pm \delta \quad (\text{II.27})$$

donde ΔD es la diferencia entre los términos de van der Waals y $\Delta E_{\text{monómero}}$ es la energía de excitación del cromóforo aislado. En esta expresión puede observarse claramente el desdoblamiento en las bandas de absorción característico de la formación de agregados, representado por δ .

Los agregados pueden ser descritos mediante un tratamiento cuántico detallado considerando interacciones electrónicas punto a punto. Sin embargo, es posible un análisis cualitativo a partir de considerar la interacción de resonancia del estado excitado como una interacción electrostática entre los dipolos de transición de los monómeros. A través de esta descripción se clasificarán algunos tipos de agregados.

a) *Dipolos de transición paralelos*. El diagrama de niveles de energía excitónicos se muestra en la Fig. II.4. Las moléculas se representan como figuras ovaladas con una flecha indicando la orientación de los momentos dipolares de transición correspondientes. Los diagramas vectoriales a la derecha de los estados excitónicos E^1 y E^2 permiten una evaluación cualitativa de la energía de desdoblamiento excitónico δ y los momentos de transición M , que proporcionan la probabilidad de transición entre el estado fundamental y los estados excitónicos.

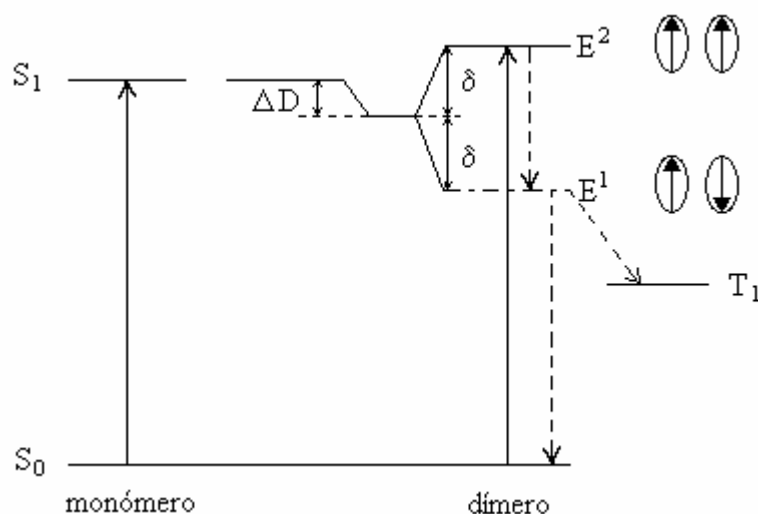


Fig. II.4. Diagrama de niveles de energía para un dímero con dipolos de transición paralelos.

La disposición en fase de los dipolos corresponde electrostáticamente a un aumento de energía por repulsión, de manera tal que E^2 cae por encima del nivel de desplazamiento de van der Waals. En la disposición fuera de fase, con energía E^1 , ocurre lo contrario. El momento de transición es la suma vectorial de los dipolos de transición individuales en el agregado. Por lo tanto, la transición hacia E^1 es prohibida, mientras que la transición hacia E^2 es permitida. Como consecuencia de esto, los dímeros con dipolos de transición paralelos, también conocidos como dímeros H, presentan una banda de absorción desplazada hacia el azul (corrimiento hipsocrómico) respecto de la absorción de los monómeros.

Cuando el dímero se excita, absorbe un fotón y pasa al estado E^2 , ya que la transición al estado E^1 es prohibida. Desde allí sufre rápidamente conversión interna hacia E^1 . Como la transición a E^1 es prohibida no pueden ocurrir eficientemente procesos radiativos desde ese estado hacia el fundamental, lo que determina que el mismo se desactive preferentemente en forma no radiativa por conversión interna hacia el fundamental o por cruce entre sistemas hacia el triplete. Esta es la razón por la cual no suele observarse fluorescencia en los dímeros H. Debido a que el desdoblamiento excitónico depende de la fuerza del oscilador de la transición, sólo los estado singlete sufrirán desdoblamiento, mientras que en general los estados triplete permanecerán aproximadamente degenerados en el agregado.

b) *Dipolos de transición colineales*. El diagrama de niveles de energía se muestra en la Fig. II.5. En este caso, a diferencia del anterior, los dipolos en fase corresponden al estado de menor energía (E^1), mientras que si están fuera de fase aumenta la repulsión electrostática dando como resultado un estado de mayor energía (E^2). Cuando los dipolos están fuera de fase, sus momentos se anulan y la transición desde el estado fundamental hacia E^2 se torna prohibida, al contrario de lo que ocurre para E^1 .

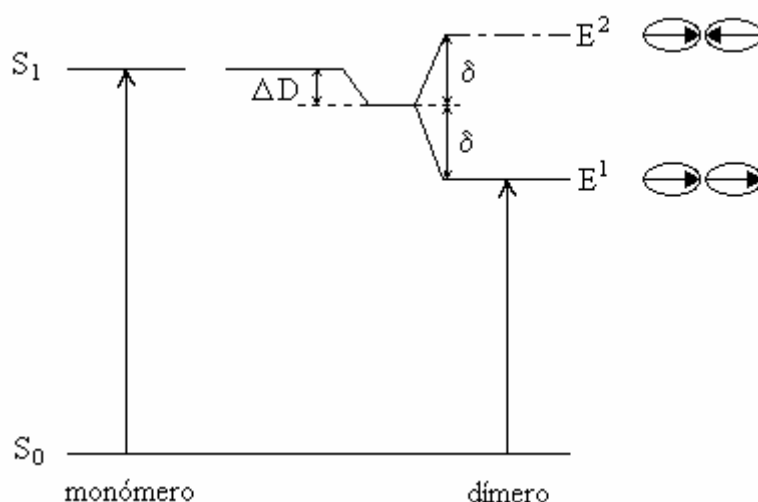


Fig. II.5. Diagrama de niveles de energía para un dímero con dipolos de transición colineales.

Los dímeros con dipolos de transición colineales, también conocidos como dímeros J, presentan una banda de absorción desplazada hacia el rojo (corrimiento batocrómico) respecto de la absorción de los monómeros. En estos dímeros puede haber emisión de fluorescencia, aunque ésta puede no detectarse, pues compite con la conversión interna y el cruce entre sistemas.

c) *Situación intermedia: dímeros angulares*. En este caso los momentos de transición son oblicuos (Fig. II.6). Dado que en ninguna de las dos disposiciones los momentos se anulan, ambos estados excitónico son permitidos.

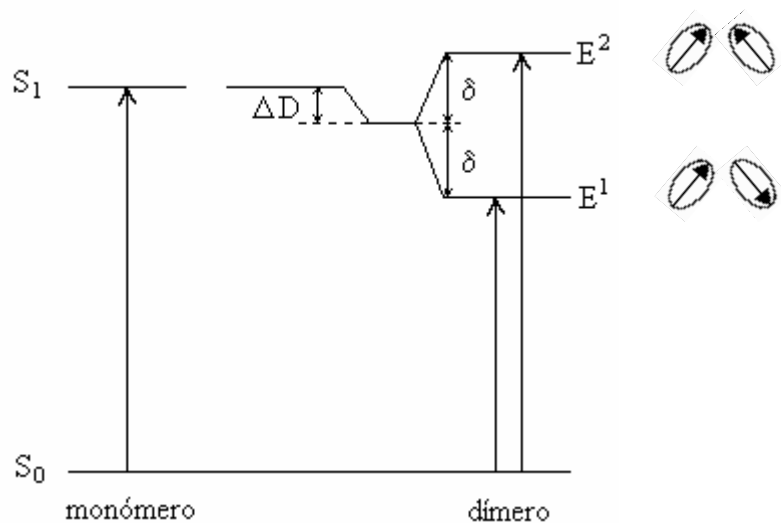


Fig. II.6. Diagrama de niveles de energía para un dímero con dipolos de transición oblicuos.

Como ambos estados son permitidos se observarán ambas bandas de absorción, desplazadas hacia el azul y el rojo respecto del monómero. La intensidad relativa de las mismas depende de la geometría del agregado.

Existen otras posibles disposiciones que no se discutirán en este trabajo. En general no se esperan modificaciones en la fuerza del oscilador (por unidad de concentración de monómero) con la agregación. Sin embargo, suelen encontrarse efectos de hipo o hipercromía que pueden predecirse mediante un tratamiento más avanzado del problema.

Los cambios apreciables en el espectro de absorción debidos a la agregación son el resultado de un acoplamiento excitónico fuerte entre las moléculas que componen el agregado. En los casos de acoplamiento fuerte la energía de excitación se halla completamente deslocalizada entre los componentes del agregado. La energía de desdoblamiento excitónico depende directamente del cuadrado del momento de transición de los monómeros que componen el agregado e inversamente del cubo de la distancia intermolecular. En el caso límite de acoplamiento débil, la energía de excitación se halla localizada en alguno de los componentes del agregado y no se esperan cambios en la forma de las bandas de absorción del agregado en comparación con el monómero. En situaciones intermedias, cuando el acoplamiento excitónico es

suficientemente débil, pueden observarse cambios menores en los espectros de absorción con la agregación, tales como ensanchamiento de las bandas de absorción debido al desdoblamiento independiente de cada sub-banda vibrónica¹⁹, así como efectos secundarios tales como hipo o hipercromía en las bandas de absorción.

II.6. Análisis experimental de la agregación de colorantes

Cuando los colorantes son adsorbidos sobre micropartículas a elevadas concentraciones locales, el grado de agregación dependerá de la concentración del colorante y del balance entre las interacciones soporte-colorante y colorante-colorante. La agregación de los colorantes produce normalmente cambios espectrales y su análisis se basa en el estudio sistemático de estos cambios con la variación en la concentración de colorante.

Para analizar la agregación de los colorantes en el sólido se utilizó un procedimiento de regresión bilineal.^{9,20} Como se mencionó en la Sección II.2, los espectros de absorción en estos sistemas se obtienen a través de la función de remisión y pueden expresarse como la suma de las funciones de remisión del monómero y de los agregados, incluyendo la eventual absorción del soporte (ecuación (II.16)).

Si la absorción del soporte es pequeña puede sustraerse de los espectros, y la función de remisión del sistema podrá expresarse como:

$$F(R_\lambda) = \sum_{i=1}^n \varepsilon'_i(\lambda) c_i \quad (\text{II.28})$$

donde $\varepsilon' = 2\varepsilon/S$ es proporcional a ε cuando S es independiente de λ , c es la concentración de las especies y n es el número de especies en el sistema.

La ecuación (II.28) puede expresarse en forma matricial como:

$$[F_{jk}] = [\varepsilon'_{ji}] [c_{ik}] + [d_{jk}] \quad (\text{II.29})$$

donde $[F_{jk}]$ contiene las funciones de remisión experimentales de la muestra k a la longitud de onda j , $[\varepsilon'_{ji}]$ contiene los coeficientes proporcionales a ε y $[c_{ik}]$ las

concentraciones de todas las especies i en cada muestra. El término agregado $[d_{jk}]$ corresponde a una matriz de error que contempla las diferencias entre las funciones de remisión experimentales y aquellas reconstruidas a partir de ε' y c . El objetivo del cálculo es minimizar la suma de los cuadrados de los elementos de la matriz de error mediante un método de regresión iterativo. Se parte de los espectros experimentales para construir la matriz $[F]$. En general, y para darle el mismo peso relativo a todos los espectros, se utilizan los datos de función de remisión expresados por unidad de concentración total, $F(R)/C_0$. De esta manera la matriz $[c]$ contendrá las fracciones de las especies respecto de la concentración total. Para iniciar el cálculo se debe definir la matriz $[\varepsilon']$. Como generalmente se desconocen los espectros de las especies, la matriz $[\varepsilon']$ puede construirse inicialmente, por ejemplo cuando se postula la existencia de dos especies, monómero y dímero, a partir de la muestra más diluida como espectro del monómero y la más concentrada como espectro del dímero. Finalizado el proceso iterativo, los espectros en la matriz $[\varepsilon']$ no necesariamente corresponderán a los espectros de las especies puras, sino probablemente a combinaciones lineales de éstos. Las matrices resultantes $[\varepsilon']$ y $[c]$ dependen de las condiciones iniciales, sin embargo su producto es único.

Este método permite definir el número de espectros independientes en que pueden descomponerse los espectros de las muestras. Si el número de especies consideradas es menor que el real, el error cometido será muy grande, y los espectros experimentales no podrán ser reconstruidos a partir de los espectros de las mismas. Por otro lado, si el número de especies propuestas es demasiado alto, esto dará lugar a resultados erráticos, y en algunos casos a cantidades despreciables de algunas de ellas.

Cuando existen sólo dos especies mayoritarias, monómero y dímero, se puede definir una constante de dimerización, $K_d = c_D / (c_M)^2$, y obtener su valor minimizando la matriz de error. En este caso, el espectro calculado inicialmente para el dímero puede contener algo de monómero y viceversa. De esta manera, los espectros puros de monómero y dímero se estiman mediante combinaciones lineales de los espectros iniciales que minimicen el error de la constante de dimerización. Se evalúan entonces diferentes constantes hasta hallar la que proporcione el menor error, obteniéndose así los espectros de las especies puras. A partir de los espectros puros se recalcula K_d para cada muestra, y se determina la media y la desviación estándar de la constante de dimerización.

La reconstrucción de los espectros experimentales a partir de los espectros de los componentes puros es una poderosa herramienta para verificar la congruencia de la hipótesis propuesta y descartar la presencia de otras especies, tales como agregados superiores, en el caso que se proponga un equilibrio monómero-dímero.

La ventaja del procedimiento radica en que se utiliza toda la información espectral, en lugar de sólo la del máximo de absorción, mejorando la exactitud de los cálculos. Este procedimiento también puede utilizarse para descomponer los espectros de absorción y emisión en las contribuciones de los distintos colorantes en muestras combinadas.

II.7. Transferencia de energía

Cuando se trabaja con colorantes incorporados a muestras sólidas, en particular cuando existen elevadas concentraciones locales, la dispersión de la luz y las interacciones moleculares son responsables de importantes procesos de transferencia de energía entre moléculas.

Los mecanismos de transferencia de energía pueden clasificarse en dos tipos: radiativos y no radiativos. La transferencia radiativa corresponde a la emisión de luz por parte de una molécula excitada (donor) y la posterior absorción de esta radiación por parte de otra molécula en estado fundamental (aceptor). Este tipo de transferencia ocurre sin necesidad de ningún tipo de interacción entre ambas moléculas, por lo que el rendimiento cuántico de fluorescencia y el tiempo de vida del estado excitado del donor no se ven afectados. La transferencia radiativa de energía, también conocida como transferencia trivial o simplemente como reabsorción de fluorescencia, es de muy largo alcance y depende, además de la existencia de solapamiento entre el espectro de emisión del donor y de absorción del aceptor, del camino medio de la luz emitida y de las características geométricas de la muestra. A pesar de que el rendimiento cuántico de emisión del donor no es afectado, la reabsorción determina que en general el rendimiento cuántico de fluorescencia observado sea menor que el del colorante aislado.

La transferencia no radiativa de energía ocurre sin mediación de emisión por parte del donor. Los mecanismos de este tipo transferencia pueden clasificarse, en general, en: a) transferencia dipolar de energía, también conocida como transferencia de energía por resonancia o de tipo Förster (FRET), asociada a la interacción coulombica

entre el donador y el aceptor, y b) transferencia de energía por intercambio de electrones o de tipo Dexter, asociada con el solapamiento intermolecular de orbitales entre el estado excitado del donador y el estado fundamental del aceptor.²¹ Mientras que la transferencia de energía de tipo Dexter es de corto alcance, ya que precisa de la interacción entre orbitales ($<10 \text{ \AA}$), la transferencia dipolar de energía es de largo alcance (hasta 80-100 \AA).

II.8. Efectos de reabsorción y reemisión

La transferencia radiativa de energía requiere el solapamiento espectral entre la emisión del donador y la absorción del aceptor. Cuando se trabaja con sólidos particulados que contienen un solo colorante con bajo corrimiento de Stokes existe transferencia radiativa de energía entre las moléculas, dando lugar al fenómeno de reabsorción, que causa distorsiones en el espectro de fluorescencia y disminución del rendimiento cuántico de fluorescencia observado. Los fotones reabsorbidos pueden eventualmente ser reemitidos, posteriormente reabsorbidos, y así sucesivamente. La dispersión de la luz en sistemas sólidos aumenta el camino óptico de los fotones emitidos y por ende, la probabilidad de reabsorción. Los eventuales agregados de colorante, generalmente no fluorescentes, y eventualmente el mismo soporte acrecientan estos efectos si son capaces de reabsorber la emisión de los monómeros. Los pasos de reabsorción y reemisión se resumen en la Fig. II.7.

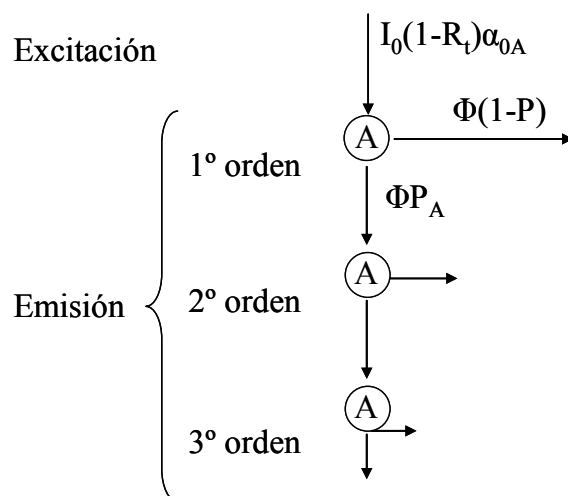


Fig II.7. Esquema de reabsorción y reemisión en un sistema de una única especie emisora.

En la figura, $I_0(1-R_t)$ es la intensidad de luz de excitación absorbida por el sistema, α_{0A} es la fracción absorbida por la especie emisora (A), Φ es el rendimiento cuántico de fluorescencia, P es la probabilidad de reabsorción de la fluorescencia, y P_A la probabilidad de reabsorción por parte de la especie emisora. Consecuentemente, $(1-P)$ es la probabilidad de que la luz emitida escape de la muestra. La probabilidad de reabsorción por parte de otras especies no emisoras, incluyendo el soporte, está implícitamente considerada en la diferencia entre P y P_A . De acuerdo con el esquema, parte de la luz de excitación es absorbida por la especie emisora [$I_0(1-R_t)\alpha_{0A}$]. Una fracción de las especies excitadas se desactivará mediante emisión fluorescente (Φ), de la cual parte escapará del sistema $(1-P)$, detectándose como fluorescencia responsable del rendimiento cuántico de fluorescencia observado, y parte será reabsorbida por el mismo *pool* de colorante (P_A), repoblando los estados excitados.

Para poder evaluar cuantitativamente estos procesos se usó un modelo físico-matemático desarrollado previamente por Lagorio et al. y modificado durante el transcurso del presente trabajo. El modelo resulta de incluir la emisión de fluorescencia en la teoría de Kubelka-Munk. Si se analiza el problema separando los flujos fotónicos en el sistema según provengan de la luz de excitación (orden 0), de la primera emisión (orden 1), de la segunda reemisión (orden 2) y así sucesivamente, es posible resolver las

ecuaciones diferenciales correspondiente a cada orden. Para el orden 0 las ecuaciones son las mismas que las desarrolladas en la teoría de K-M (ecuación (II.11)).

$$\begin{aligned}\frac{di^{(0)}}{dx} &= -(K + S)i^{(0)} + Sj^{(0)} \\ \frac{dj^{(0)}}{dx} &= +(K + S)j^{(0)} + Si^{(0)}\end{aligned}\tag{II.30}$$

Para el orden 1 debemos tener en cuenta la luz emitida, quedando las ecuaciones diferenciales de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}\frac{di^{(1)}}{dx} &= -(K + S)i^{(1)} + Sj^{(1)} + \frac{1}{2} f_{\lambda} \Phi \frac{dI_a^{(0)}}{dx} \\ \frac{dj^{(1)}}{dx} &= +(K + S)j^{(1)} + Si^{(1)} + \frac{1}{2} f_{\lambda} \Phi \frac{dI_a^{(0)}}{dx}\end{aligned}\tag{II.31}$$

donde Φ es el rendimiento cuántico de fluorescencia, f_{λ} es el espectro de emisión normalizado a área unitaria sobre λ , medido en capa fina de partículas, y $dI_a^{(0)}$ es el diferencial de flujo fotónico absorbido por la especie emisora:

$$dI_a^{(0)} = \int_{\lambda} \alpha_{\lambda} K_{\lambda} [i_{\lambda,x}^{(0)} + j_{\lambda,x}^{(0)}] d\lambda dx\tag{II.32}$$

El factor 1/2 en el término de emisión de las ecuaciones (II.31) toma en cuenta el hecho de que la mitad de la radiación es emitida en un sentido y la otra mitad en el otro.

La resolución del sistema de ecuaciones (II.31) bajo las condiciones de borde $i^{(1)}(x = 0) = 0$ y $j^{(1)}(x = \infty) = 0$ permite obtener los flujos de radiación primarios emitidos, de donde se obtiene una expresión para el espectro primario de emisión que escapa de la muestra:

$$j^{(1)}(\lambda, x = 0) = I_0(1 - R_t)\alpha_0\Phi f_{\lambda}\gamma_{\lambda,\lambda_0}\tag{II.33}$$

donde:

$$\gamma_{\lambda,\lambda_0} = \frac{1}{1 + \sqrt{\frac{F(R_\lambda)}{F(R_\lambda) + 2}}} \times \frac{1}{1 + \sqrt{\frac{F(R_\lambda)[F(R_\lambda) + 2]}{F(R_{\lambda_0})[F(R_{\lambda_0}) + 2]}} \quad (\text{II.34})$$

Analizando la ecuación (II.33), la función $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$ puede interpretarse como la fracción de luz emitida primaria que escapa a cada longitud de onda λ de una muestra sólida ópticamente gruesa excitada a λ_0 . Obtener los flujos fotónicos de órdenes mayores implica la resolución iterativa de ecuaciones similares a las ecuaciones (II.31) y (II.32). Puede obtenerse una solución aproximada si se considera que la probabilidad de reabsorción es constante para los distintos órdenes. Esto implica suponer que $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$ es independiente del orden del proceso. Su complemento a 1 corresponde a la probabilidad de reabsorción de un fotón emitido en las mismas condiciones.

A partir de esta función es posible corregir los espectros de emisión distorsionados por reabsorción, dividiendo el espectro obtenido en capa gruesa por $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$. Una manera de evaluar la bondad de la aproximación realizada consiste en comparar el espectro en capa gruesa corregido por reabsorción con el espectro en capa fina. La forma de ambos debe coincidir si la reabsorción es despreciable en las capas finas.

La probabilidad de reabsorción total puede calcularse como:

$$P = 1 - \int_{\lambda} f_{\lambda} \cdot \gamma_{\lambda,\lambda_0} d\lambda \quad (\text{II.35})$$

y la probabilidad de que la radiación emitida sea reabsorbida por la especie emisora se calcula según:

$$P_A = \int_{\lambda} f_{\lambda} \cdot (1 - \gamma_{\lambda,\lambda_0}) \cdot \alpha_A d\lambda \quad (\text{II.36})$$

donde α_A es la fracción de la radiación absorbida por la especie A a la longitud de onda λ . La fracción α_A se calcula según:

$$\alpha_A = \frac{F(R_\lambda)_A}{F(R_\lambda)_{\text{muestra}}} \quad (\text{II.37})$$

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

Si se consideran todos los pasos de reabsorción y reemisión en el sistema, según el esquema de la Fig. II.7, podemos arribar a la expresión para el rendimiento cuántico de fluorescencia observado:

$$\Phi_{\text{obs}} = \alpha_{0A} \Phi (1 - P) \sum_{n=0}^{\infty} (\Phi \cdot P_A)^n \quad (\text{II.38})$$

Luego de resolver la suma infinita se obtiene:

$$\Phi_{\text{obs}} = \frac{\alpha_{0A} \Phi (1 - P)}{1 - \Phi P_A} \quad (\text{II.39})$$

Reordenando se obtiene la expresión para el rendimiento cuántico de fluorescencia verdadero:

$$\Phi = \frac{\Phi_{\text{obs}}}{\Phi_{\text{obs}} P_A + \alpha_{0A} (1 - P)} \quad (\text{II.40})$$

La corrección tiene en cuenta los fenómenos de reabsorción y reemisión de fluorescencia, la formación de agregados no fluorescentes del colorante y la eventual absorción del soporte. De esta manera es posible evaluar cuantitativamente los efectos de filtro interno. Este modelo no considera la eventual emisión de los agregados, el soporte o especies aceptoras presentes en el sistema y la transferencia no radiativa de energía a estas especies. Sin embargo, como se expondrá en la Sección III.1, es aun aplicable cuando se presentan estos fenómenos.

II.9. Teoría de Förster

La transferencia de energía por resonancia se debe a la existencia de una perturbación que permite el acoplamiento entre la desactivación del estado excitado de la molécula donora y la excitación de una molécula aceptora originalmente en su estado fundamental.²² La interacción es de naturaleza similar a la existente en los agregados moleculares, pero en este caso el acoplamiento es muy débil.²³ Es un proceso que compite con los demás procesos de desactivación del estado excitado de la molécula donora y por ello determina la disminución del rendimiento cuántico de fluorescencia. De acuerdo con la teoría de Förster,^{24,25} que considera una aproximación dipolar para la interacción coulombica, la constante de velocidad de transferencia de energía (k_{ET}) es inversamente proporcional a la sexta potencia de la distancia intermolecular donor-aceptor (R):

$$k_{ET} = k_D \left[\frac{R_0}{R} \right]^6 = \frac{1}{\tau_D^0} \left[\frac{R_0}{R} \right]^6 \quad (\text{II.41})$$

donde k_D es la constante de velocidad de decaimiento del estado excitado del donor (en ausencia de aceptor), τ_D^0 es su tiempo de vida y R_0 se conoce como radio crítico de Förster y corresponde a la distancia para la cual $k_{ET} = k_D$, de tal manera que la transferencia de energía y el decaimiento espontáneo del estado excitado del donor son igualmente probables. La eficiencia de la transferencia de energía (E) se define según:

$$E = \frac{k_{ET}}{k_D + k_{ET}} = \frac{1}{1 + (R/R_0)^6} \quad (\text{II.42})$$

La expresión para el radio crítico R_0 desarrollada por Förster es:

$$R_0^6 = \frac{9 (\ln 10)}{128 \pi^5 N_A} \frac{\kappa^2 \Phi_D}{n^4} J \quad (\text{II.43})$$

donde N_A es la constante de Avogadro, κ^2 es un factor que tiene en cuenta la orientación relativa de los momentos de transición de donor y aceptor, importante para evaluar el

efecto del campo eléctrico generado por el dipolo de transición del donador sobre el dipolo de transición del aceptor,²⁶ n es el índice de refracción del medio en la región de solapamiento espectral, Φ_D es el rendimiento cuántico de fluorescencia del donador en ausencia de aceptor y J corresponde a la integral de solapamiento entre la emisión del donador y la absorción del aceptor, definida alternativamente como:

$$J^{\bar{\nu}} = \int \bar{I}_v^{D*} \varepsilon_A(\bar{\nu}) \frac{d\bar{\nu}}{\bar{\nu}^4}; \int \bar{I}_v^{D*} d\bar{\nu} = 1 \quad (\text{II.44})$$

$$J^\lambda = \int \bar{I}_\lambda^{D*} \varepsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda; \int \bar{I}_\lambda^{D*} d\lambda = 1 \quad (\text{II.45})$$

donde ε_A es el coeficiente de absorción decádico molar del aceptor y \bar{I}_v^{D*} y \bar{I}_λ^{D*} son los espectros de emisión del donador normalizados a área unitaria sobre número de onda, $\bar{\nu}$, o longitud de onda, λ , respectivamente. Ambas expresiones son equivalentes.

Las ecuaciones básicas de la teoría de Förster, particularmente la expresión para R_0 , se presentan de formas sustancialmente diferentes en artículos, *reviews* y libros, e incluso en las publicaciones originales de Förster. Estas expresiones para R_0 incluyen en general un factor 9000 en lugar del 9 en el numerador de la ecuación (II.43), en la mayoría de las publicaciones. La diferencia en un factor 1000 corresponde a la conversión de dm^3 , proveniente de las unidades usualmente utilizadas para ε_A ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1} = \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$), a cm^3 . Por lo tanto, dichas ecuaciones no son independientes de las unidades y presentan diferentes unidades en ambos miembros. Esto generalmente no se aclara en las publicaciones y puede llevar a conclusiones erróneas. En los trabajos originales de Förster se utilizó el factor 9000 en la Ref. 24, mientras que en la Ref. 25 se utilizó el 9 junto con N' en lugar de N_A en el denominador, definido como el número de moléculas por milimol. Naturalmente, N' no es otra cosa que la constante de Avogadro expresada en diferentes unidades. Esto es equivalente a pasar el factor 1000 al denominador. Para evitar estas prácticas confusas e innecesarias, la ecuación general de R_0 debe expresarse como en la ecuación (II.43).

La teoría de Förster está restringida al caso límite de acoplamiento débil. Para transiciones permitidas esta aproximación funciona bien cuando la distancia D-A excede los tamaños de los cromóforos. Cuando esto no ocurre, el promediar las densidades de transición y luego acoplarlas no es adecuado, ya que el término

coulómbico se ve fuertemente influenciado por la forma de la distribución de cargas molecular debido a que se origina de un acoplamiento de las densidades de transición de ambas moléculas.²⁷ Además, cuando las distancias son menores que 1 nm, las interacciones de corto alcance que resultan del solapamiento entre orbitales deben tenerse en cuenta.^{28,29} Otro factor a considerar es la dependencia de la interacción coulómbica con la constante dieléctrica del solvente alrededor de D y A. Cuando D y A están muy próximos entre sí, cambia la esfera de solvatación y la forma del entorno dieléctrico alrededor de ambas moléculas, de tal manera que el apantallamiento de la interacción por el solvente se ve reducido.³⁰ Las limitaciones en el uso práctico de la teoría de Förster fueron tratadas en una reciente publicación.³¹

II.10. Bibliografía

- ¹ A. Schuster (1905) Radiation through a foggy atmosphere. *Astrophys. J.* **21**: 1-22.
- ² P. Kubelka y F. Munk (1931) Ein Beitrag zur Optik der Farbanstriche. *Z. Tech. Phys.* **12**: 593-601.
- ³ D. Oelkrug y G. Körtum (1968) Zur Berechnung der Lumineszenzreabsorption bei Pulverförmigen Substanzen. *Z. Phys. Chem.* **58**: 181-188.
- ⁴ G. R. Seely (1987) Transport of fluorescence through highly scattering media. *Biophys. J.* **52**: 311-316.
- ⁵ G. R. Seely (1988) Estimation of fluorescence yields for 2',7'-dichlorofluorescein in titanium dioxide suspensions. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **45**: 325-340.
- ⁶ M. G. Lagorio, L. E. Dicelio, M. I. Litter and E. San Román (1998) Modeling of fluorescence quantum yields of supported dyes. Aluminum carboxyphthalocyanine on cellulose. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **94**: 419-425.
- ⁷ M. Miranda, M. G. Lagorio and E. San Román (2004) Photophysics on surfaces: determination of absolute fluorescence quantum yields from reflectance spectra. *Langmuir* **20**: 3690-3697.
- ⁸ L. F. Vieira Ferreira, T. J. F. Branco and A. M. Botelho do Rego (2004) Luminescence quantum yield determination for molecules adsorbed onto powdered particles. *Chem. Phys. Chem.* **5**: 1848-1854.
- ⁹ E. San Román and M. C. González (1989) Analysis of spectrally resolved kinetic data and time resolved spectra by bilinear regression. *J. Phys. Chem.* **93**: 3532-3536.

¹⁰ R. Clegg (2006) The history of FRET: From conception to the labor of birth, in *Reviews in Fluorescence*, C. D. Geddes, J. R. Lakowitz, Eds., Springer, New York, pp. 1-45.

¹¹ W. W. Wendlandt and H. G. Hecht (1966) *Reflectance spectroscopy*. Wiley, New York.

¹² G. Kortüm (1969) *Reflectance spectroscopy*. Springer-Verlag, New York.

¹³ E. Tomasini, E. San Román and S. E. Braslavsky (2009) Validation of fluorescence quantum yields for light-scattering powdered samples by laser-induced optoacoustic spectroscopy. *Langmuir*. Enviado.

¹⁴ L. F. Vieira Ferreira, S. M. B. Costa and E. J. Pereira (1991) Fluorescence quantum yield evaluation of strongly absorbing dye solutions as a function of the excitation wavelength. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **55**: 361-376.

¹⁵ M. S. Wrighton, D. S. Ginley and D. L. Morse (1974) A technique for the determination of absolute emission quantum yields of powdered samples. *J. Phys. Chem.* **78**: 2229-2233.

¹⁶ Y. S. Liu, P. de Mayo and W. R. Ware (1993) Photophysics of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on silica gel surfaces. 3. Fluorescence quantum yields and radiative decay rate constants derived from lifetime distributions. *J. Phys. Chem.* **97**: 5995-6001.

¹⁷ S. A. Ruetten and J. K. Thomas (1998) Fluorescence and triplet quantum yields of arenes on surfaces. *J. Phys. Chem. B* **102**: 598-606.

¹⁸ M. Kasha, H. R. Rawls and M. Ashraf El-Bayoumi (1965) The exciton model in molecular spectroscopy. *Pure Appl. Chem.* **2**: 371-391.

-
- ¹⁹ M. Kasha (1963) Energy transfer mechanisms and the molecular exciton model for molecular aggregates. *Radiat. Res.* **20**: 55-71.
- ²⁰ S. J. Hug and B. Sulzberger (1994) In situ FTIR-spectroscopic evidence for the formation of several different surface complexes of oxalate on TiO₂ in the aqueous phase. *Langmuir* **10**: 3587-3597.
- ²¹ B. Valeur (2001) *Molecular fluorescence, principles and applications*. Wiley-VCH, Weinheim.
- ²² B. V. van der Meer, G. Cooke III and S. -Y. Simon Chen (1994) *Resonance energy transfer: Theory and data*. Wiley-VCH, New York.
- ²³ Th. Förster (1965) Delocalized excitation and excitation transfer. In *Modern Quantum Chemistry, Istanbul Lectures*, ed. O. Sinanoglu, Academic Press, New York.
- ²⁴ Th. Förster (1959) Transfer mechanisms of electronic excitation. *Discuss. Faraday Soc.* **27**: 7-17.
- ²⁵ Th. Förster (1967) Mechanism of energy transfer. In *Comprehensive Biochemistry, Bioenergetics*, ed. M. Florkin and E. H. Stotz, Elsevier, Amsterdam, vol. 22.
- ²⁶ B. W. van der Meer (1999) Orientational aspects in pair energy transfer. In *Resonance energy transfer*, ed. D. L. Andrews and A. A. Demidov, Wiley, New York, ch. 4.
- ²⁷ G. D. Scholes (2003) Long-range resonance energy transfer in molecular systems. *Ann. Rev. Phys. Chem.* **54**: 57-87.
- ²⁸ D. L. Dexter (1953) A theory of sensitized luminescence in solids. *J. Chem. Phys.* **21**: 836-850.

²⁹ S. Speiser (1996) Photophysics and mechanisms of intramolecular electronic energy transfer in bichromophoric molecular systems: Solution and supersonic jet studies. *Chem. Rev.* **96**: 1953-1976.

³⁰ G. D. Scholes, C. Curutchet, B. Mennucci, R. Cammi and J. Tomasi (2007) How solvent controls electronic energy transfer and light harvesting. *J. Phys. Chem. B* **111**: 6978-6982.

³¹ S. E. Braslavsky, E. Fron, H. B. Rodríguez, E. San Román, G. D. Scholes, G. Schweitzer, B. Valeur and J. Wirtz (2008) Pitfalls and limitations in the practical use of Förster's theory of resonance energy transfer. *Photochem. Photobiol. Sci.* **7**: 1444-1448.

Capítulo III

Desarrollo teórico

III. Desarrollo teórico

III.1. Transferencia no radiativa de energía

El modelo fisicomatemático expuesto en la Sección II.8 considera la presencia de una única especie emisora y la posibilidad de transferencia radiativa de energía hacia el mismo *pool* de monómeros o hacia eventuales agregados u otras especies no emisoras. El mismo será extendido al caso en que hay más de una especie emisora, contemplando asimismo la posibilidad de transferencia no radiativa de energía a un aceptor fluorescente.

Si existen dos especies distintas, A y B, capaces de emitir y de intercambiar energía de excitación por mecanismos radiativos y no radiativos, y el sistema se excita en una zona del espectro en que ambas especies absorben, la desactivación del singlete excitado de ambas especies puede ocurrir por diferentes caminos. La energía ingresa al sistema a través de la absorción directa de la luz de excitación. Las especies excitadas pueden desactivarse emitiendo un fotón, mediante mecanismos intrínsecos de desactivación no radiativa o transfiriendo no radiativamente la energía de excitación hacia otra especie presente en el sistema. La luz emitida puede ser reabsorbida (transferencia radiativa) o escapar del sistema y detectarse como fluorescencia. La Fig. III.1 ilustra estos procesos.

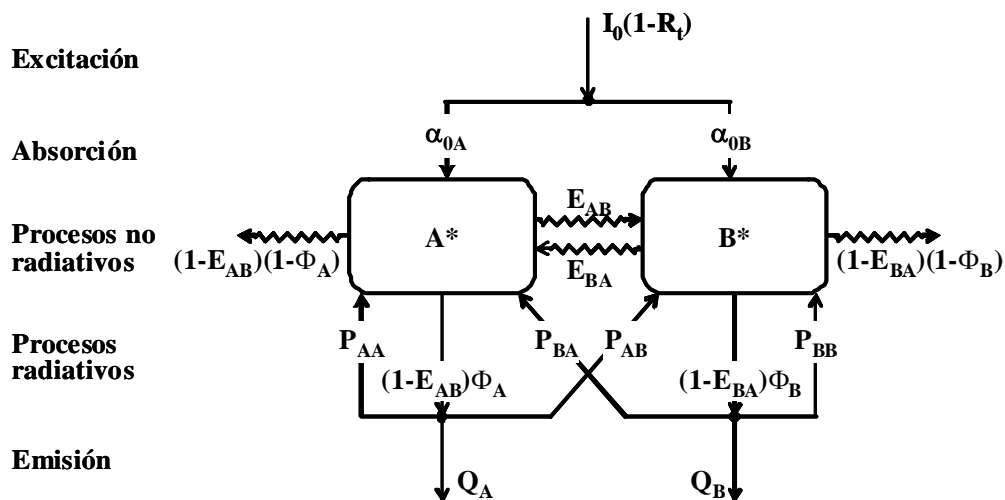


Fig. III.1. Diagrama de flujo de excitación en un sistema de dos componentes.

En las figura, $I_0(1-R_t)$ es la intensidad de luz de excitación absorbida por el sistema; α_{0i} es la fracción absorbida por la especie i (A o B); E_{ij} es la eficiencia de la transferencia no radiativa de energía de la especie i a la especie j ; $(1-E_{ij})(1-\Phi_i)$ es la probabilidad de desactivación del singlete excitado i por mecanismos no radiativos diferentes de la transferencia de energía, tales como la conversión interna y el cruce entre sistemas; $(1-E_{ij})\Phi_i$ es el rendimiento cuántico de fluorescencia de la especie i en presencia de j ; Q_i y P_{ij} son respectivamente las probabilidades de que un fotón emitido por la especie i escape del sistema como fluorescencia o sea transferido radiativamente a la especie j .

Por analogía con el caso de un componente (ver ecuaciones (II.35) y (II.36)), las últimas probabilidades se calculan según:

$$P_{ij} = \int_{\lambda} f_{\lambda}^i [1 - \gamma_{\lambda, \lambda_0}] \alpha_{\lambda}^j d\lambda \quad (\text{III.1})$$

$$Q_i = \int_{\lambda} f_{\lambda}^i \gamma_{\lambda, \lambda_0} d\lambda \quad (\text{III.2})$$

donde f_{λ}^i es el espectro de emisión de la especie i normalizado a área unitaria sobre λ , α_{λ}^j es la fracción de luz absorbida por la especie j a la longitud de onda λ y $\gamma_{\lambda, \lambda_0}$, definida en la ecuación (II.34), es la probabilidad de que la luz emitida a la longitud de onda λ escape de la muestra, excitada a λ_0 . La expresión de Q_i es análoga a la de $1 - P$ en la ecuación (II.35). La diferencia reside en este caso en que:

$$1 = P_i + Q_i; P_i = \sum_j P_{ij} \quad (\text{III.3})$$

donde P_i es la probabilidad de un fotón emitido por la especie i sea reabsorbido por cualquier especie presente en el sistema, incluido el soporte.

Desde que un fotón es absorbido hasta que la energía de excitación egresa del sistema, ya sea como calor o como fluorescencia, el diagrama puede recorrerse por infinitos caminos posibles. El rendimiento cuántico de fluorescencia observado resulta de considerar dichos caminos y sus respectivas probabilidades.

El esquema de la Fig. III.2, que es una extensión del presentado en la Fig. II.7, es otra forma de representar estos procesos. Los procesos radiativos y no radiativos de transferencia de energía se expresan en forma de flechas verticales u oblicuas y la radiación que escapa del sistema y contribuye al rendimiento cuántico de fluorescencia observado en forma de flechas horizontales.

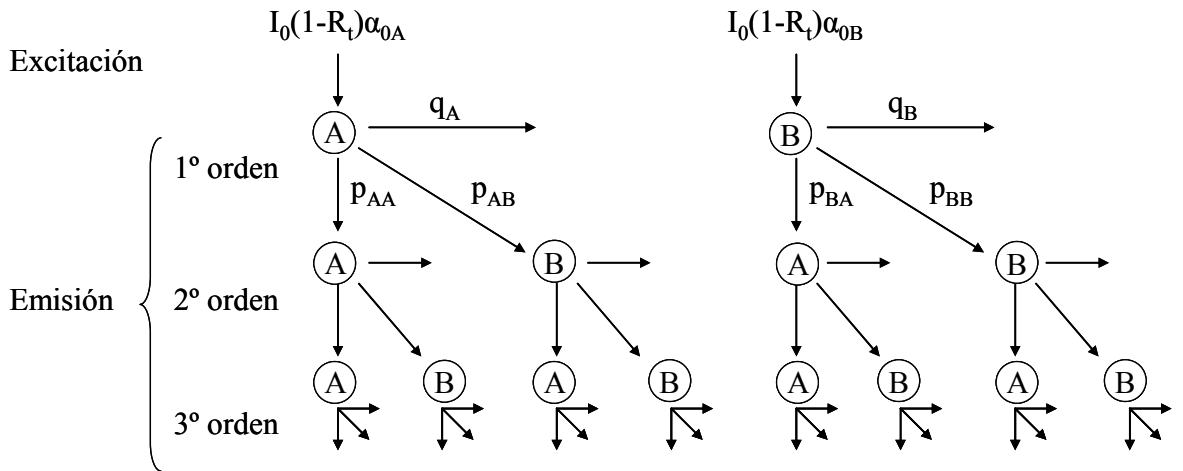


Fig. III.2. Esquema de reabsorción, reemisión y transferencia de energía en un sistema de dos especies emisoras.

En la figura, p_{ij} son las probabilidades de transferencia de energía de la especie i a la especie j (cuando $i = j$ representa la probabilidad de reabsorción por parte de la misma especie, mientras que cuando $i \neq j$ estas probabilidades incluyen tanto los mecanismos radiativos como los no radiativos) y q_i es la probabilidad de que la energía de excitación de la especie i se emita y escape del sistema como fluorescencia. En términos de las variables definidas más arriba y teniendo en cuenta las definiciones de las distintas probabilidades:

$$\begin{aligned}
 p_{AA} &= \Phi_A (1 - E_{AB}) P_{AA} & p_{BA} &= \Phi_B (1 - E_{BA}) P_{BA} + E_{BA} \\
 p_{BB} &= \Phi_B (1 - E_{BA}) P_{BB} & q_A &= \Phi_A (1 - E_{AB}) Q_A \\
 p_{AB} &= \Phi_A (1 - E_{AB}) P_{AB} + E_{AB} & q_B &= \Phi_B (1 - E_{BA}) Q_B
 \end{aligned}
 \tag{III.4}$$

La energía de excitación puede ingresar al sistema a partir de la absorción directa de A o de B. Sin embargo, la emisión que escapa del sistema y es detectada como fluorescencia puede provenir de cualquiera de las dos especies, independientemente de cual haya sido excitada inicialmente, debido a que ambas pueden intercambiar energía de excitación por mecanismos radiativos (reabsorción) y no radiativos. Esto significa, como se dijo más arriba, que desde que la energía de excitación ingresa al sistema hasta que egresa como fluorescencia, existen infinitos posibles caminos para que esto ocurra, cada uno con una probabilidad asociada.

El rendimiento cuántico de fluorescencia observado, definido en este caso como el número de fotones emitidos, provenientes de cualquiera de las especies, que escapan del sistema dividido por el número de fotones absorbidos por la muestra, resulta de considerar los infinitos caminos posibles en el diagrama de la Fig. III.2. Como se verá, Φ_{obs} puede expresarse como:

$$\Phi_{\text{obs}} = \sum_{i,j=A,B} a_{ij} \quad (\text{III.5})$$

donde los coeficientes a_{ij} representan la probabilidad de que un fotón absorbido por la especie i resulte en un fotón emitido por la especie j , calculables en forma matricial según:

$$\begin{bmatrix} a_{AA} & a_{AB} \\ a_{BA} & a_{BB} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \alpha_{0A} & 0 \\ 0 & \alpha_{0B} \end{bmatrix} \times \left\{ \sum_{n=0}^{\infty} \begin{bmatrix} p_{AA} & p_{AB} \\ p_{BA} & p_{BB} \end{bmatrix}^n \right\} \times \begin{bmatrix} q_A & 0 \\ 0 & q_B \end{bmatrix} \quad (\text{III.6})$$

Los elementos de matriz p_{ij} y q_i corresponden a los definidos en la Fig. III.2.

De acuerdo con la ecuación (III.6), el elemento de matriz a_{AA} incluye todos los términos de la serie $\alpha_{0A} \dots q_A$ y de la misma forma a_{AB} incluye los términos $\alpha_{0A} \dots q_B$, etc., donde los puntos suspensivos corresponden al producto de factores p_{ij} , de acuerdo con el número de pasos de reabsorción-reemisión y transferencia no radiativa de energía. La sumatoria infinita converge y por tanto la ecuación (III.6) puede escribirse como:

$$\begin{aligned}
 \begin{bmatrix} a_{AA} & a_{AB} \\ a_{BA} & a_{BB} \end{bmatrix} &= \begin{bmatrix} \alpha_{0A} & 0 \\ 0 & \alpha_{0B} \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} 1-p_{AA} & -p_{AB} \\ -p_{BA} & 1-p_{BB} \end{bmatrix}^{-1} \times \begin{bmatrix} q_A & 0 \\ 0 & q_B \end{bmatrix} \\
 &= \begin{bmatrix} \alpha_{0A} & 0 \\ 0 & \alpha_{0B} \end{bmatrix} \times \frac{1}{\Delta} \begin{bmatrix} 1-p_{AA} & p_{AB} \\ p_{BA} & 1-p_{BB} \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} q_A & 0 \\ 0 & q_B \end{bmatrix}
 \end{aligned} \tag{III.7}$$

donde

$$\Delta = (1-p_{AA})(1-p_{BB}) - p_{AB}p_{BA} \tag{III.8}$$

De la resolución de esta matriz, luego de la inserción de los elementos a_{ij} en la ecuación (III.5), se obtiene la siguiente expresión para el rendimiento cuántico de fluorescencia observado:

$$\Phi_{\text{obs}} = \frac{1}{\Delta} [\alpha_{0A}(1-p_{BB})q_A + \alpha_{0B}(1-p_{AA})q_B + \alpha_{0A}p_{AB}q_B + \alpha_{0B}p_{BA}q_A] \tag{III.9}$$

Los dos primeros términos incluyen la emisión de las especies A y B respectivamente, cuando son excitadas inicialmente por absorción directa de la radiación incidente, considerando todos los posibles procesos de transferencia de energía desde la absorción inicial hasta la emisión. Los dos últimos términos contemplan la emisión proveniente de la excitación indirecta de estas especies por mecanismos de transferencia radiativos y no radiativos.

Para poder calcular las probabilidades del modelo se consideran las mismas aproximaciones que en el modelo de la Sección II.8: a) los colorantes se distribuyen aleatoriamente en el soporte; b) se cumplen las hipótesis de la teoría de Kubelka-Munk; c) el coeficiente de dispersión del material es independiente de la longitud de onda; y e) las probabilidades de reabsorción son independientes del orden de la emisión. El ítem e) implica que la probabilidad $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$ es la misma para cada orden de emisión. Esta aproximación es necesaria para poder hacer al problema analíticamente soluble. De acuerdo con los resultados obtenidos sobre diferentes sistemas, dicha aproximación introduce un error despreciable.

Como primera medida, es necesario demostrar que $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$, tal como fue expresado en la ecuación (II.34), puede ser aplicado para la corrección de espectros constituidos

por la emisión de varias especies. Esta función proviene de la resolución exacta para el flujo de emisión de orden 1 que escapa de la muestra, $j^{(1)}(\lambda, x = 0)$, en sistemas de una sola especie emisora. Extendido al caso de i especies emisoras, y en ausencia de transferencia no radiativa de energía, este flujo puede escribirse como extensión de la ecuación (II.33):

$$j^{(1)}(\lambda, x = 0) = I_0(1 - R_t) \left(\sum_i \alpha_{0i} \Phi_i f_\lambda^i \right) \gamma_{\lambda, \lambda_0} \quad (\text{III.10})$$

La validez de la aproximación e) asegura que la probabilidad de que un fotón emitido a la longitud de onda λ escape del sistema excitado a λ_0 pueda calcularse a partir de $\gamma_{\lambda, \lambda_0}$. La presencia de transferencia no radiativa de energía no cambia la situación, ya que no afecta a la probabilidad de reabsorción.

Si se reordena la ecuación (III.9) de tal manera de agrupar los términos que involucran la emisión de cada especie, se obtiene la siguiente expresión:

$$\Phi_{\text{obs}} = \frac{[\alpha_{0A}(1 - p_{BB}) + \alpha_{0B}p_{BA}]}{\Delta} q_A + \frac{[\alpha_{0B}(1 - p_{AA}) + \alpha_{0A}p_{AB}]}{\Delta} q_B \quad (\text{III.11})$$

Por otra parte, de acuerdo con la definición del rendimiento cuántico de fluorescencia observado:

$$\Phi_{\text{obs}} = \frac{\int I_{A,\lambda}^{\text{CG}} d\lambda}{I_0(1 - R_t)} + \frac{\int I_{B,\lambda}^{\text{CG}} d\lambda}{I_0(1 - R_t)} \quad (\text{III.12})$$

donde $I_{A,\lambda}^{\text{CG}}$ e $I_{B,\lambda}^{\text{CG}}$ son las componentes del espectro de emisión en capa gruesa de las especies A y B respectivamente. Comparando las ecuaciones (III.11) y (III.12) se observa que los primeros y los segundos términos deben corresponderse entre sí. Combinando ambas ecuaciones pueden obtenerse las siguientes expresiones para los espectros de emisión de ambas especies en capa gruesa. Teniendo en cuenta las ecuaciones (III.4) y (III.2) y expresando el resultado en forma diferencial:

$$\begin{aligned}
 I_{A,\lambda}^{CG} d\lambda &= I_0 (1 - R_t) \frac{\alpha_{0A}(1 - p_{BB}) + \alpha_{0B}p_{BA}}{\Delta} \Phi_A (1 - E_{AB}) f_{A,\lambda} \gamma_{\lambda,\lambda_0} d\lambda \\
 I_{B,\lambda}^{CG} d\lambda &= I_0 (1 - R_t) \frac{\alpha_{0B}(1 - p_{AA}) + \alpha_{0A}p_{AB}}{\Delta} \Phi_B (1 - E_{BA}) f_{B,\lambda} \gamma_{\lambda,\lambda_0} d\lambda
 \end{aligned} \tag{III.13}$$

En el caso de capas finas de partículas, cuando la reabsorción es despreciable, se anulan los términos que involucran transferencia radiativa de energía, todos los fotones emitidos escapan del sistema ($\gamma_{\lambda,\lambda_0} = 1$), y las expresiones (III.13) se convierten en:

$$\begin{aligned}
 I_{A,\lambda}^{CF} d\lambda &= I_a \frac{\alpha_{0A} + \alpha_{0B}E_{BA}}{1 - E_{AB}E_{BA}} \Phi_A (1 - E_{AB}) f_{A,\lambda} d\lambda \\
 I_{B,\lambda}^{CF} d\lambda &= I_a \frac{\alpha_{0B} + \alpha_{0A}E_{AB}}{1 - E_{AB}E_{BA}} \Phi_B (1 - E_{BA}) f_{B,\lambda} d\lambda
 \end{aligned} \tag{III.14}$$

donde I_a es la intensidad de luz absorbida, parámetro difícil de determinar en capas finas. Por lo tanto estas ecuaciones serán usadas en forma relativa.

Todos los parámetros del modelo, excepto las eficiencias de transferencia no radiativa de energía, pueden calcularse en principio a partir de datos experimentales. Se pueden plantear varias estrategias para obtener E_{AB} y E_{BA} :

- a) A partir del rendimiento cuántico de fluorescencia observado, ya que Φ_{obs} depende según la ecuación (III.9), entre otros parámetros, de las probabilidades de transferencia no radiativa de energía.
- b) A partir del cociente entre las intensidades de emisión de ambas especies para espectros de capa gruesa, previa división por $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$. Los espectros corregidos deben poder descomponerse en los espectros de emisión de ambas especies. A partir del cociente entre las áreas bajo el espectro de A, J_A , y el espectro de B, J_B , y considerando las ecuaciones (III.13), se obtiene la expresión:

$$\left(\frac{J_B}{J_A} \right)_{CG} = \frac{\alpha_{0B}(1 - p_{AA}) + \alpha_{0A}p_{AB}}{\alpha_{0A}(1 - p_{BB}) + \alpha_{0B}p_{BA}} \cdot \frac{\Phi_B(1 - E_{BA})}{\Phi_A(1 - E_{AB})} \tag{III.15}$$

c) En forma análoga, el mismo procedimiento aplicado a capas finas, considerando las ecuaciones (III.14), da como resultado:

$$\left(\frac{J_B}{J_A} \right)_{CF} = \frac{\alpha_{0B} + \alpha_{0A} E_{AB}}{\alpha_{0A} + \alpha_{0B} E_{BA}} \cdot \frac{\Phi_B (1 - E_{BA})}{\Phi_A (1 - E_{AB})} \quad (III.16)$$

d) A partir del cociente entre el área debajo del espectro de emisión de A (o B) en ausencia de B (o A) y el área del mismo componente en la mezcla, obtenidos en capa gruesa y divididos por $\gamma_{\lambda, \lambda_0}$, de acuerdo con las ecuaciones (III.13):

$$\left(\frac{J_A}{J_A^*} \right)_{CG} = \frac{(1 - R) [\alpha_{0A} (1 - p_{BB}) + \alpha_{0B} p_{BA}] (1 - \Phi_A P_{AA}^*) (1 - E_{AB})}{\Delta \cdot (1 - R^*) \alpha_{0A}^*} \quad (III.17)$$

donde el superíndice * indica sistema puro.

Estas ecuaciones son generales, ya que involucran la absorción directa de ambas especies y todas las posibles vías de transferencia de energía. En situaciones particulares, algunos de estos procesos pueden ser ineficientes y las expresiones se simplifican, de manera tal de adquirir una forma más simple de acuerdo a las características del sistema estudiado. Por ejemplo, si se considera que la especie B no emite, entonces p_{BB} , p_{BA} y q_B se anulan y la expresión (III.9) se reduce a:

$$\Phi_{obs} = \frac{\alpha_{0A} \Phi_A (1 - E_{AB}) Q_A}{1 - \Phi_A (1 - E_{AB}) P_{AA}} \quad (III.18)$$

Esta ecuación es equivalente a la ecuación (II.39), con la diferencia que aquí se considera en forma explícita la posibilidad de transferencia no radiativa de energía de A hacia alguna otra especie B. Nótese que Q_A (ecuación (III.2)) se corresponde con $(1 - P)$ en la ecuación (II.39). En este caso se observa que la transferencia no radiativa de energía disminuye el rendimiento cuántico de fluorescencia de A. El modelo de la Sección II.8 es aplicable en estas condiciones, aun cuando no se considere explícitamente la transferencia no radiativa de energía. Los rendimientos cuánticos verdaderos obtenidos de esta manera disminuyen con el aumento en E_{AB} . Si la especie B

es un agregado de A, los rendimientos cuánticos disminuyen con el aumento en la concentración de colorante.

Cuando la transferencia no radiativa de energía ocurre eficientemente en un solo sentido (A→B), E_{AB} aparece como una única incógnita y su valor puede calcularse mediante algunas de las estrategias propuestas, utilizando las correspondientes ecuaciones de acuerdo con el problema en estudio. El método de cálculo adecuado dependerá de las características del sistema. Por ejemplo, si los rendimientos cuánticos de fluorescencia de ambas especies son muy diferentes entre sí, Φ_{obs} será muy sensible a los cambios en E_{AB} y por lo tanto, el método a) será adecuado para evaluar las eficiencias de transferencia. En contraste, si ambos rendimientos cuánticos son semejantes, el método a) será inadecuado y la transferencia podrá ser evaluada mediante los otros métodos, siempre y cuando los espectros de emisión en capa gruesa corregidos por reabsorción (divididos por $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$) y capa fina puedan descomponerse adecuadamente en las contribuciones de A y B. Eventualmente podrían aplicarse dos o más métodos al mismo sistema y calcular las eficiencias en forma independiente, o bien calcular E_{AB} y E_{BA} si la segunda no es despreciable.

A partir del modelo desarrollado es posible estudiar cuantitativamente la transferencia de energía en sistemas de dos componentes. Las especies A y B pueden ser dos colorantes distintos, como en los sistemas donador-aceptor, o dos especies del mismo colorante, por ejemplo monómero y dímero, como puede ocurrir eventualmente en sistemas de un único colorante a elevadas concentraciones. El modelo puede extenderse a sistemas de n especies, mediante la ecuación matricial:

$$\begin{bmatrix} a_{AA} & a_{AB} & a_{AC} & \dots \\ a_{BA} & a_{BB} & a_{BC} & \dots \\ a_{CA} & a_{CB} & a_{CC} & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \alpha_{0A} & 0 & 0 & \dots \\ 0 & \alpha_{0B} & 0 & \dots \\ 0 & 0 & \alpha_{0C} & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} 1-p_{AA} & -p_{AB} & -p_{AC} & \dots \\ -p_{BA} & 1-p_{BB} & -p_{BC} & \dots \\ -p_{CA} & -p_{CB} & 1-p_{CC} & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots \end{bmatrix}^{-1} \times \begin{bmatrix} q_A & 0 & 0 & \dots \\ 0 & q_B & 0 & \dots \\ 0 & 0 & q_C & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots \end{bmatrix} \quad (III.19)$$

En este caso habrá tantas incógnitas como procesos de transferencia no radiativa de energía diferentes haya involucrados entre especies.

La migración de la energía de excitación, definida como la transferencia no radiativa de energía dentro de la misma especie (homotransferencia), no se considera explícitamente en las ecuaciones precedentes, ya que no modifica la población de estados excitados. Las probabilidades de transferencia de energía son parámetros fenomenológicos, para cuyo cálculo no es necesario emplear un modelo teórico en particular. Los valores pueden, sí, interpretarse mediante algún modelo teórico de transferencia no radiativa de energía, como se verá en la próxima sección. Si se verifica homotransferencia es necesario incluir la misma en el modelo teórico.

III.2. Mecanismos de transferencia y migración de la energía de excitación

El modelo desarrollado en la sección precedente no establece el mecanismo no radiativo por el cual la energía de excitación es transferida. Para evaluar este mecanismo es necesario modelar la dependencia de las eficiencias de transferencia con la concentración del donador (D) y del aceptor (A). Para hallar esta funcionalidad se deben hacer una serie de suposiciones, basadas en las características del sistema en estudio. Por ejemplo:

- a) La transferencia de energía ocurre principalmente por el mecanismo de Förster.
- b) Los donores y aceptores se distribuyen al azar en el soporte.
- c) La difusión en el sólido es lenta y, en la escala de los tiempos de vida del estado excitado, puede suponerse que las especies no modifican su posición. La rotación también se halla restringida y la orientación de los momentos dipolares de transición se considera aleatoria.

De acuerdo a lo anterior y considerando que la migración de la energía de excitación entre donores es despreciable, lo que hace a la eficiencia de transferencia independiente de la concentración de donador, se puede llegar a una expresión general, por ejemplo la siguiente, desarrollada por Fung y Stryer:¹

$$E_{DA} = 1 - \int_0^{\infty} \exp[-x - \delta S(x)] dx \quad (III.20)$$

$$S(x) = \int_{r_c}^{\infty} \left\{ 1 - \exp\left[-(x)(R_0/r)^6\right] \right\} f(r) dr$$

donde $x = t/\tau$; τ es el tiempo de vida del estado excitado del donador en ausencia de aceptor, R_0 es el radio crítico de Förster para la transferencia de energía D-A, δ es la concentración superficial (2D) o volumétrica (3D) de aceptor, de acuerdo con la dimensionalidad del problema, y r_c es el radio de exclusión alrededor del donador, es decir, la distancia mínima a la cual puede haber un aceptor. En ese caso, el elemento de volumen es expresado como $f(r)dr = 2\pi r dr$ (2D) o $4\pi r^2 dr$ (3D). En la bibliografía se pueden encontrar otras expresiones equivalentes que se obtienen al resolver analíticamente las integrales en las ecuaciones (III.20). En particular, cuando se considera un sistema bidimensional y un radio de exclusión nulo, la resolución analítica de $S(x)$ da como resultado la expresión:^{2,3}

$$E_{DA} = 1 - \int_0^{\infty} \exp(-x - \Gamma(2/3) (\delta/\delta_0) x^{1/3}) \cdot dx \quad (III.21)$$

donde Γ es la función gamma, δ es la concentración superficial del aceptor y $\delta_0 = 1/\pi R_0^2$. En esta ecuación puede observarse, como argumento de la integral, la expresión para el decaimiento de fluorescencia del donador en las mismas condiciones.

$$\frac{I(t)}{I(0)} = \exp(-x - \Gamma(2/3) (\delta/\delta_0) x^{1/3}) \quad (III.22)$$

El modelo de transferencia considera a cada donador independiente de los otros donadores y rodeado por una distribución promedio de aceptores. En los casos en que hay involucrada migración de energía entre donadores este modelo pierde validez. Considerar la migración de energía complica mucho el problema, al menos desde el punto de vista teórico. Numerosos investigadores han abordado esta problemática desde diferentes enfoques y se han desarrollado varios modelos teóricos.⁴⁻⁷ Sin embargo, la complejidad matemática del tratamiento teórico dificulta en general su aplicación práctica. Otra opción accesible para incluir los efectos de la migración se basa en simulaciones computacionales.^{8,9}

En el presente trabajo el efecto de la migración de energía fue estudiado mediante simulación computacional usando un modelo Markoviano. Un modelo similar

fue desarrollado en la referencia 10 para evaluar despolarización de la fluorescencia debida a transferencia de energía.

Para los cálculos se seleccionó un área o volumen de simulación arbitrario, dependiendo de la dimensionalidad considerada (2D o 3D), y los donores y aceptores se distribuyeron aleatoriamente a través de un algoritmo de generación de coordenadas aleatorias, excepto el donor localizado en el centro del espacio de simulación (donor 1). El número de donores y aceptores depende de la concentración volumétrica o la densidad superficial considerada. El tamaño del espacio de simulación debe elegirse lo suficientemente grande como para minimizar los efectos de borde.

Las probabilidades de que la energía de excitación, inicialmente en un donor i , sea transferida en un solo paso a un segundo donor j o hacia algún aceptor se calculan según:

$$p_{ij} = \frac{k_{ET}^{ij}}{\sum_{j \neq i}^d k_{ET}^{ij} + \sum_{t=1}^a k_{ET}^{it} + k_D} \quad i \neq j \quad (III.23)$$

$$p_{iA} = \frac{\sum_{t=1}^a k_{ET}^{it}}{\sum_{j \neq i}^d k_{ET}^{ij} + \sum_{t=1}^a k_{ET}^{it} + k_D} \quad (III.24)$$

donde p_{ij} es la probabilidad de transferencia de energía desde el donor i al donor j , p_{iA} es la probabilidad de transferencia de energía desde el donor i a cualquiera de los aceptores, k_{ET}^{ij} es la constante de velocidad de transferencia de energía desde el donor i al donor j , k_{ET}^{it} es la constante de velocidad de transferencia de energía desde el donor i al aceptor t , k_D es la constante de velocidad de desactivación intrínseca del donor, d es el número de donores y a el número de aceptores en el espacio de simulación. Considerando el mecanismo de transferencia de Förster y de acuerdo con la ecuación (II.41), se obtiene:

$$P_{ij} = \frac{\left(\frac{R_0^{DD}}{r_{ij}}\right)^6}{\sum_{j \neq i}^d \left(\frac{R_0^{DD}}{r_{ij}}\right)^6 + \sum_{t=1}^a \left(\frac{R_0^{DA}}{r_{it}}\right)^6 + 1} \quad i \neq j \quad (\text{III.25})$$

$$P_{iA} = \frac{\sum_{t=1}^a \left(\frac{R_0^{DA}}{r_{it}}\right)^6}{\sum_{j \neq i}^d \left(\frac{R_0^{DD}}{r_{ij}}\right)^6 + \sum_{t=1}^a \left(\frac{R_0^{DA}}{r_{it}}\right)^6 + 1} \quad (\text{III.26})$$

donde R_0^{DD} y R_0^{DA} son los radios críticos para la transferencia D-D y D-A respectivamente, r_{ij} es la distancia entre el donador i y el donador j y r_{it} es la distancia entre el donador i y el aceptor t . A partir de las probabilidades calculadas con la ecuación (III.26) se construye el vector P_A :

$$P_A = \begin{pmatrix} P_{1A} \\ P_{2A} \\ P_{3A} \\ \dots \\ P_{dA} \end{pmatrix} \quad (\text{III.27})$$

En ausencia de migración de la energía de excitación entre donores, este vector contiene las eficiencias de transferencia hacia el aceptor para cada donador inicialmente excitado. En presencia de migración, su contenido se interpreta como las eficiencias de transferencia en un solo paso (D-A). Para calcular las eficiencias de transferencia en dos pasos (D-D-A) se define la matriz de migración P_D , construida a partir de las probabilidades de transferencia donador-donador calculadas con la ecuación (III.25):

$$P_D = \begin{pmatrix} 0 & P_{12} & P_{13} & \dots & P_{1d} \\ P_{21} & 0 & P_{23} & \dots & P_{2d} \\ P_{31} & P_{32} & 0 & \dots & P_{3d} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ P_{d1} & P_{d2} & P_{d3} & \dots & 0 \end{pmatrix} \quad (\text{III.28})$$

El producto entre la matriz P_D y el vector P_A da como resultado un vector que contiene las eficiencias de transferencia en dos pasos. Las eficiencias de transferencia para n pasos se calculan como $(P_D)^n \times P_A$. Si se consideran los infinitos posibles pasos de migración, ello da como resultado:

$$E_{DA} = \sum_{n=0}^{\infty} (P_D)^n \times P_A \quad (\text{III.29})$$

La sumatoria infinita en la ecuación (III.29) tiene solución (converge), arribándose a la siguiente expresión práctica:

$$E_{DA} = (I - P_D)^{-1} \times P_A \quad (\text{III.30})$$

donde I es la matriz unidad. Los elementos del vector E_{DA} son las eficiencias totales de transferencia hacia el aceptor, E_{DA}^i , para el donador i excitado inicialmente. Se considera sólo el primer elemento del vector E_{DA} debido a que corresponde a la eficiencia de transferencia cuando se excita inicialmente al donador 1, localizado en el centro del espacio de simulación. Los demás elementos del vector E_{DA} son las eficiencias totales cuando se excitan inicialmente otros donadores, cuya localización es aleatoria, y pueden presentar efectos de borde. Por cada distribución aleatoria de donadores y aceptores se obtiene una eficiencia global de transferencia correspondiente a la excitación inicial del donador 1. Luego se evalúa una nueva distribución aleatoria, y así sucesivamente. La eficiencia de transferencia media se calcula como:

$$\langle E_{DA} \rangle = \frac{1}{N} \sum_{b=1}^N E_{DA}^b \quad (\text{III.31})$$

donde N es el número de distribuciones aleatorias evaluadas. El tamaño apropiado del espacio de simulación y N fueron definidos a través del cálculo de las eficiencias de transferencia de energía. Si el número de distribuciones aleatorias ensayado es estadísticamente significativo y el tamaño del espacio de simulación es suficientemente grande para minimizar los efectos de borde, las eficiencias de transferencia obtenidas

deben ser independientes de la instancia particular de cálculo y frente a un aumento en las dimensiones del espacio de simulación. Con el fin de hallar los valores apropiados para estos parámetros se realizaron cálculos incrementando estos valores hasta obtener eficiencias aproximadamente constantes e independientes de la instancia de cálculo. En todos los casos evaluados fue necesario un cuadrado o cubo de lado mayor a $10R_0$ y $N > 1000$. Los cálculos fueron realizados utilizando el programa MatLab.

Con el objeto de evaluar la fiabilidad de la simulación computacional, las eficiencias de transferencia de energía calculadas para sistemas 3D con distribución aleatoria de donores y aceptores fueron comparadas con las predicciones de la teoría de LAF (aproximación de tres cuerpos),^{6,9} ampliamente aceptada en bibliografía, que resuelve en forma aproximada las ecuaciones maestras de transferencia de energía en presencia de migración en las condiciones mencionadas. Se obtuvieron excelentes resultados, como se muestra en la Fig. III.3, para diferentes concentraciones de donor y aceptor y radios críticos de transferencia D-D y D-A semejantes.

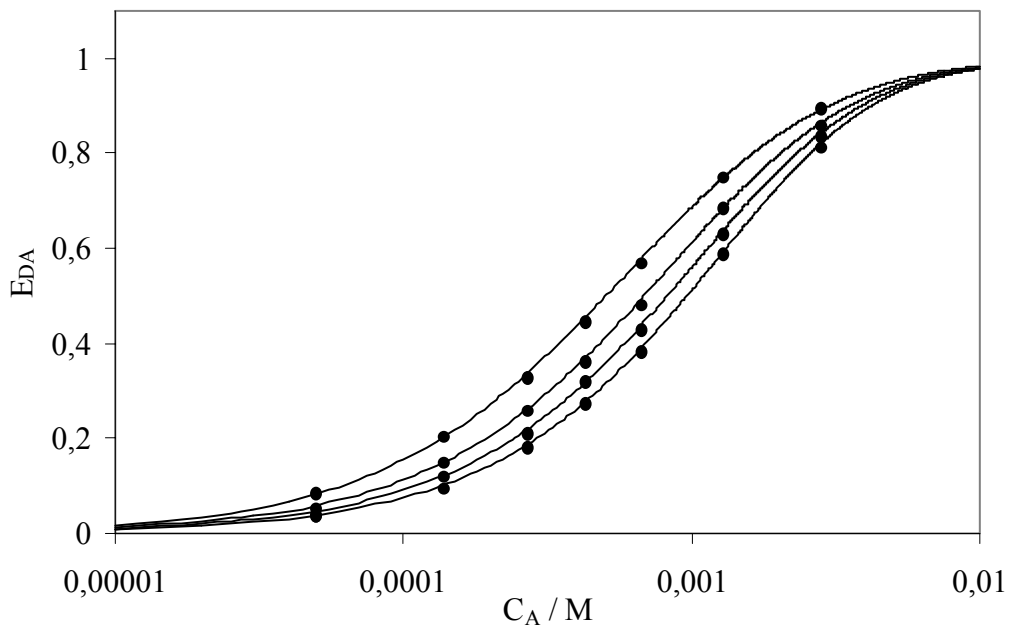


Fig. III.3. Eficiencia de la transferencia de energía en función de la concentración de aceptor para diferentes concentraciones de donor, de abajo hacia arriba: 3×10^{-5} , $1,33 \times 10^{-3}$, 3×10^{-3} y 6×10^{-3} M. Las curvas fueron calculadas aplicando la teoría de LAF y los puntos llenos fueron obtenidos por simulación computacional, para $R_0^{DD} = 55,2 \text{ \AA}$ y $R_0^{DA} = 58,5 \text{ \AA}$.

No hemos encontrado en bibliografía un tratamiento teórico similar, de simple aplicación práctica, para sistemas en dos dimensiones, por lo tanto los cálculos en 2D se realizaron mediante simulación computacional.

III.3. Bibliografía

- ¹ B. K. -K. Fung, and L. Stryer (1978) Surface density determination in membranes by fluorescence energy transfer. *Biochem.* **17**: 5241-5248.
- ² K. Itoh, Y. Chiyokawa, M. Nakao and K. Honda (1984) Fluorescence quenching processes of rhodamine B in oxide semiconductors and light harvesting action of its dimers. *J. Am. Chem. Soc.* **106**: 1620-1627.
- ³ N. Nakashima, K. Yoshihara and F. Willig (1980) Time-resolved measurements of electron and energy transfer of rhodamine B monolayer on the surface of organic crystals. *J. Chem. Phys.* **73**: 3553-3559.
- ⁴ D. L Huber (1979) Fluorescence in the presence of traps. *Phys. Rev. B* **20**: 2307-2314.
- ⁵ C. R. Gouchanour, H. C. Anderson and M. D. Fayer (1979) Electronic excited state transport in solution. *J. Chem. Phys.* **70**: 4254-4271.
- ⁶ R. F. Loring, H. C. Anderson and M. D. Fayer (1982) Electronic excited state transport and trapping in solution. *J. Chem. Phys.* **76**: 2015-2027.
- ⁷ L. Kulak and C. Bojarski (1995) Forward and reverse electronic energy transport and trapping in solution. I. Theory. *Chem. Phys.* **191**: 43-66.
- ⁸ S. Engström, M. Lindberg and L. B.-Å. Johansson (1988) Monte Carlo simulations of electronic energy transfer in three-dimensional systems: A comparison with analytical theories. *J. Chem. Phys.* **89**: 204-213.
- ⁹ L. Kulak and C. Bojarski (1995) Forward and reverse electronic energy transport and trapping in solution. II. Numerical results and Monte Carlo simulations. *Chem. Phys.* **191**: 67-86.

¹⁰ C. Carlsson, A. Larsson, M. Björkman, M. Jonsson and B. Albinsson (1997) Experimental and simulated fluorescence depolarization due to energy transfer as tools to study DNA-dye interactions. *Biopolymers* **41**: 481-494.

Capítulo IV

**Sistemas de un único colorante:
efectos de reabsorción y reemisión**

IV. Sistemas de un único colorante: efectos de reabsorción y reemisión

IV.1. Introducción

En el presente capítulo se estudiarán las propiedades fotofísicas del estado singlete de diversos colorantes (rodamina 101, rosa de bengala y azul de metileno) unidos químicamente o adsorbidos sobre micropartículas de celulosa. En particular se evaluarán los efectos de reabsorción y reemisión y la agregación molecular, haciendo uso de los métodos y modelos previamente desarrollados.

IV.2. Rodamina 101 unida químicamente sobre celulosa

La rodamina 101 (R101) es un colorante xanténico. Ésta es probablemente la clase de colorantes luminiscentes más intensamente estudiados. Las rodaminas, cuya estructura general se muestra en la Fig. IV.1 a), presentan diversas aplicaciones, entre otras, como colorantes para láseres,¹ marcadores fluorescentes en microscopía^{2,3} y como estándares de fluorescencia.^{4,5} Debido a esto, una de sus características más importantes es el rendimiento cuántico de fluorescencia.

Las propiedades fotofísicas de las rodaminas dependen de su estructura molecular (sustituyentes en los grupos amino y en el grupo carboxifenilo) y de las características del medio en el que se encuentran (naturaleza del solvente, pH, temperatura, etc.). En general presentan una baja probabilidad de cruce intersistemas ($\Phi_T < 0,01$),⁶ y por lo tanto la desactivación no radiativa del singlete excitado se debe principalmente a procesos de conversión interna. Se han propuesto diversos mecanismos de desactivación que involucran la rotación intramolecular de los fragmentos amino y su efecto en la densidad electrónica del sistema π xanténico.⁷ En el caso de R101, cuya estructura en su forma zwitteriónica se observa en la Fig. IV.1 b), la rigidez de los grupos amino determina que su rendimiento cuántico de fluorescencia sea aproximadamente igual a 1 independientemente del solvente y de la temperatura.

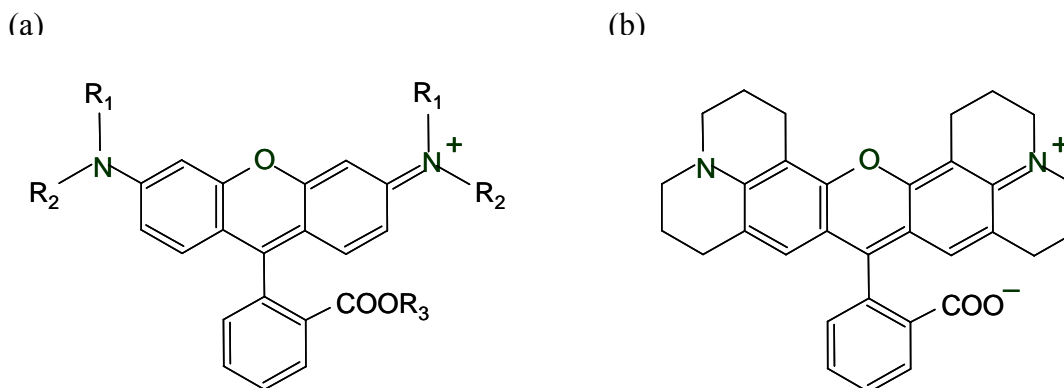


Fig. IV.1. a) Estructura general de las rodaminas y b) estructura de la rodamina 101 (zwitterión).

La fotofísica de R101 adsorbida en celulosa se estudió en el grupo de trabajo como parte de la tesis de la Dra. Analía Iriel⁸. En dicho trabajo se demostró que presenta decaimientos no radiativos, y por tanto rendimientos cuánticos de fluorescencia, dependientes del grado de penetración del colorante en la matriz del polímero. En vista de este comportamiento se decidió unir R101 químicamente a celulosa con el objeto de evaluar el efecto de la unión química sobre los rendimientos cuánticos de fluorescencia. Se aprovechó la presencia del grupo carboxilo en el colorante y de los grupos hidroxilo de la celulosa para unir al colorante por esterificación.

Existen diversos métodos para obtener ésteres, que en general involucran la transformación de un ácido carboxílico en un agente capaz de reaccionar eficientemente con alcoholes.⁹ Algunas de estas estrategias involucran, por ejemplo: a) la transformación del ácido carboxílico en su cloruro de ácido y su posterior reacción con el correspondiente alcohol, catalizada por piridina o sus derivados (4-dimetil amino piridina); b) la obtención del bromuro de ácido; c) la transformación del ácido carboxílico en un imidazólido y posterior reacción con alcoholes; d) la activación del grupo carboxilo mediante diciclohexilcarbodiimida (DCC), que forma una acilisourea que hace al carbono carbonílico susceptible al ataque nucleofílico por parte del alcohol. Entre estas estrategias, la combinación de la activación del carboxilo con DCC y la catálisis de la reacción por piridina o derivados proporciona un método útil y directo,

que procede a temperatura ambiente. Este método también permite obtener amidas y ha sido ampliamente aplicado en la síntesis de polipéptidos a partir de aminoácidos.¹⁰

IV.2.1. Reactivos y preparación de las muestras

La pureza de la rodamina 101 (sal interna, grado láser, Kodak) se comprobó por espectroscopia de absorción. La celulosa microcristalina (pH 5-7, tamaño de partícula promedio: 20 μm , Aldrich) fue secada al vacío a 40 °C durante 48 hs previamente a la preparación de las muestras. Se usó piridina (grado analítico, Merck) como solvente de reacción para la esterificación heterogénea de los grupos carboxilo de R101 con los hidroxilos de la celulosa, utilizando diciclohexilcarbodiimida (DCC, Sigma) como activador *in situ* del carboxilo.

La unión química de R101 a celulosa se llevó a cabo mediante el siguiente protocolo: en un matraz de 100 cm^3 acondicionado con una trampa de humedad de CaCl_2 (Merck) y agitación magnética, se incorporaron 50 cm^3 de piridina, una gota de HCl (Anedra), 15 mg (3×10^{-5} mol) de R101 y diferentes cantidades de DCC previamente disueltas en 2 cm^3 de dimetilformamida (Sintorgan). La solución fue agitada durante una hora y luego se incorporaron 3 g de celulosa seca, continuando con la agitación de la suspensión durante 24 hs a temperatura ambiente (25 ± 2 °C). El sólido fue separado por filtración en papel (Schleicher & Schuell, black ribbon) y lavado con etanol (grado analítico, Cicarelli). Con el objeto de eliminar la rodamina adsorbida y la diciclohexilurea, producto de la reacción, el sólido fue suspendido en 75 cm^3 de etanol, agitado durante 1 hora y posteriormente separado por filtración. Este procedimiento de lavado fue repetido hasta ausencia de evidencia espectroscópica de R101 en el filtrado. Fueron necesarios de 5 a 7 lavados. Los lavados fueron llevados a cabo al aire a temperatura ambiente. Las muestras sólidas, de color rosa pálido a fucsia, fueron secadas en un evaporador rotatorio y posteriormente al vacío a 40 °C durante 48 a 72 horas.

Con motivos de comparación se prepararon muestras con R101 adsorbida en el mismo soporte. La adsorción se llevó a cabo por evaporación del solvente en suspensiones de celulosa en soluciones de R101 en etanol. Las muestras fueron secadas al vacío a 40 °C durante 48 a 72 horas. El mismo procedimiento de secado fue llevado a cabo previamente a cada medición.

IV.2.2. Absorción y emisión

Todas las muestras de R101 unida químicamente a celulosa fueron preparadas en las condiciones descritas previamente, siendo la única variable la masa de DCC adicionada al medio de reacción. La Fig. IV.2 muestra las funciones de remisión calculadas a partir de las reflectancias difusas en el máximo de absorción, (589 ± 2) nm, en función de la masa de DCC. Dado que se trata de un sistema altamente fluorescente, se efectuaron las medidas de reflectancia total y difusa con y sin un filtro óptico Schott BG39 (1mm) ubicado frente al detector, que absorbe gran parte de la fluorescencia. De esta manera y de acuerdo al método descrito en la Sección II.4, fue posible determinar el espectro de reflectancia real, sin distorsión debida a la emisión, y calcular así la función de remisión del sistema.

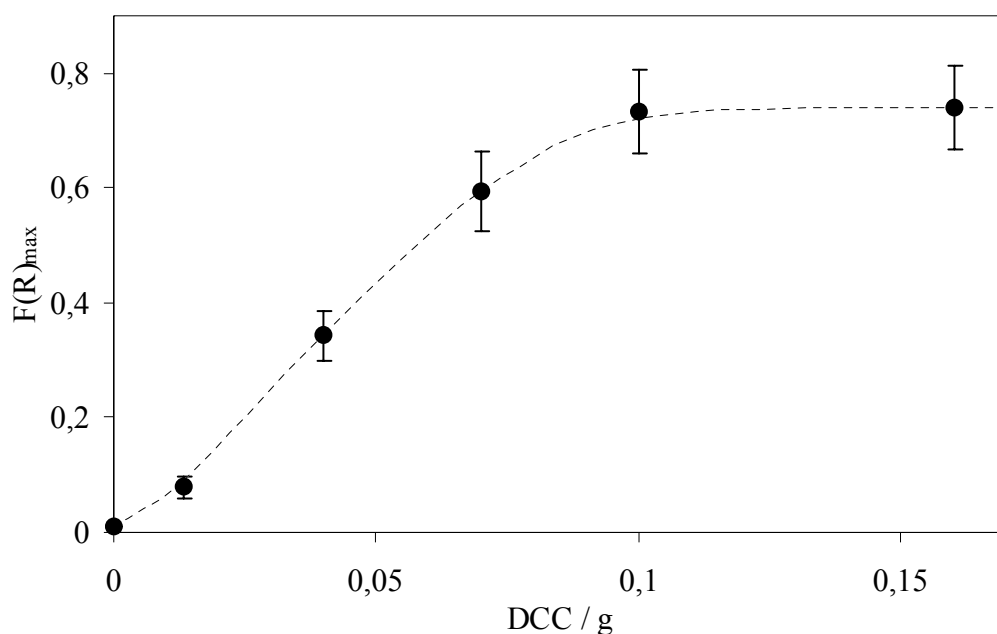


Fig. IV.2. Función de remisión de R101 unida a celulosa en el máximo de absorción en función de la masa de DCC adicionada al medio de reacción. La línea punteada muestra la tendencia observada y no posee significado teórico alguno.

Como puede observarse, la concentración de R101 unida a la celulosa alcanza un valor máximo con el aumento en la masa de DCC utilizada, aun cuando resta una gran cantidad de colorante libre en el medio de reacción. De acuerdo con el método de preparación, la cantidad de R101 utilizada corresponde a una concentración de $10 \mu\text{mol} (\text{g celulosa})^{-1}$ pero, como se demuestra más adelante, la incorporación del colorante es significativamente menor, incluso para las muestras más concentradas ($\sim 0,6 \mu\text{mol g}^{-1}$). Debido a que en todos los experimentos se utilizó la misma cantidad de celulosa, probablemente el factor limitante de la incorporación sea la disponibilidad de superficie cuando se utiliza piridina como medio de reacción. La penetración del colorante en la celulosa es función de la capacidad del solvente para hinchar el polímero,^{8,11} que es menor para la piridina que para el etanol o el agua.

En la Fig. IV.3 se muestran los espectros de función de remisión normalizados junto a los correspondientes espectros de emisión en capa delgada. A modo de comparación, también se incluyen los espectros de una muestra de R101 adsorbida en el mismo soporte, con una concentración de colorante de $0,146 \mu\text{mol g}^{-1}$. Los espectros de emisión fueron obtenidos excitando a 520 nm, utilizando un filtro Schott OG550 antes del detector para bloquear la luz de excitación. Los espectros de F(R) normalizados no dependen de la concentración de R101 y, por lo tanto, no se observan evidencias espectroscópicas de formación de agregados en el estado fundamental. Su forma es la misma que la del espectro de la muestra preparada por adsorción. Sin embargo, los espectros del colorante unido presentan un corrimiento batocrómico de $(10 \pm 2) \text{ nm}$.

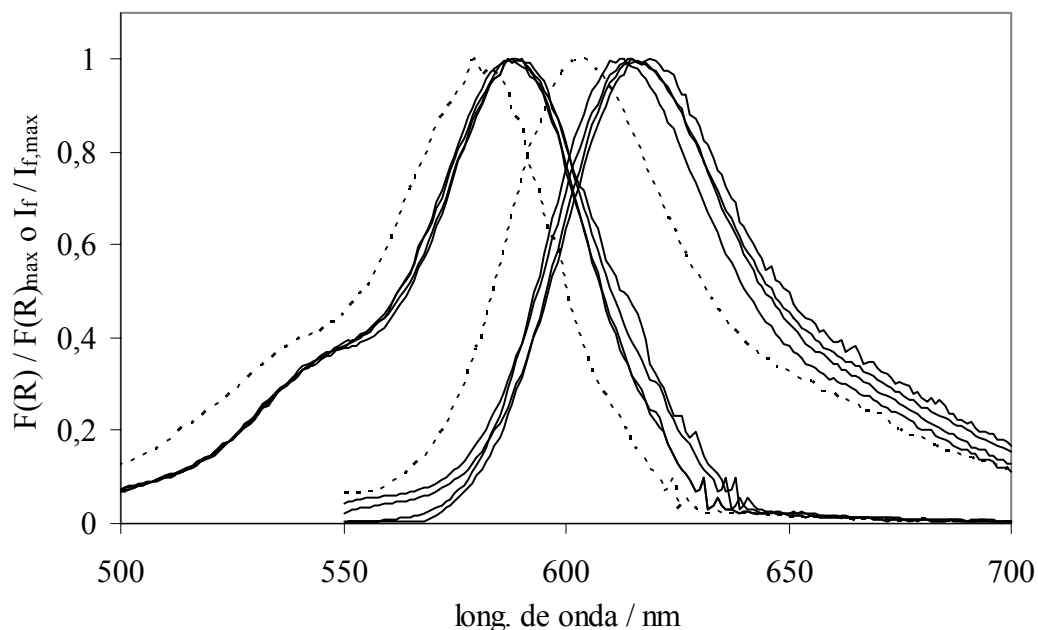


Fig. IV.3. Espectros de función de remisión en capa gruesa y emisión en capa fina ($\lambda_{\text{exc}} = 520 \text{ nm}$) normalizados para R101 unida químicamente (línea llena) y adsorbida (línea punteada) en celulosa. Las muestras unidas corresponden a los cuatro último puntos de la Fig. IV.2.

Los espectros de emisión también coinciden en su forma pero presentan un corrimiento batocrómico que aumenta con la concentración de colorante. La muestra más diluida presenta un máximo de emisión a $(612 \pm 1) \text{ nm}$, mientras que el máximo de la más concentrada está desfasado 7 nm hacia el rojo. El corrimiento de Stokes dependiente de la concentración es un hallazgo frecuente en sistemas de colorantes en soportes sólidos a altas concentraciones locales,¹² que ha sido atribuido a la interacción de las moléculas excitadas con las moléculas circundantes en estado fundamental.

El corrimiento batocrómico del colorante unido químicamente en comparación con el adsorbido puede explicarse considerando el efecto del enlace químico. Cuando R101 se esterifica, la carga negativa del grupo carboxilo de la rodamina se pierde, mientras que el colorante adsorbido aparenta mantener su forma zwitteriónica. Un efecto similar se ha observado ante la esterificación o protonación del grupo carboxilo de diferentes rodaminas en solución^{13,14} y es atribuido a las diferentes interacciones

electrostáticas entre los grupos $-\text{COO}^-$ o $-\text{COOR}$ y el sistema π xanténico. En las formas protonada o esterificada existe una menor interacción, lo que aumenta la densidad electrónica en el carbono central del anillo xanténico, reduciéndose las energías asociadas a las correspondientes transiciones. Similares corrimientos se esperan también para la emisión, como pudo constatar experimentalmente.

Los corrimientos espectrales, la mayor incorporación de colorante con el aumento en la masa de DCC y la forma uniforme en los espectros de función de remisión, que también da indicio de la pureza de las muestras, son fuertes evidencias de que el colorante se halla esterificado sobre la celulosa. Sin embargo, y para reafirmar la existencia de unión química, se llevaron a cabo experimentos de liberación del colorante en diferentes condiciones. Para ello, 1 g de la muestra preparada con 0,1 g de DCC fue suspendido en 50 cm³ de etanol puro y en soluciones alcohólicas 0,1 M de HCl o NaOH, agitando a temperatura ambiente y a 50 °C durante 1 a 5 horas. En todos los casos, la suspensión fue filtrada y el sólido lavado con etanol y secado. Se realizaron análisis espectroscópicos en el sólido seco y en el filtrado. La liberación en etanol luego de 5 horas a temperatura ambiente fue despreciable, mientras que en condiciones básicas el análisis espectroscópico del filtrado reveló la destrucción del cromóforo. En medio ácido se obtuvo liberación parcial, pero el espectro del colorante en su forma zwitteriónica fue recuperado en el filtrado luego de su neutralización. Esto demuestra que el colorante se halla esterificado cuantitativamente sobre la celulosa.

Para obtener una estimación de la concentración de R101 unida, las funciones de remisión en el máximo de absorción fueron comparadas con las obtenidas por adsorción del colorante en este trabajo y en la referencia 8. Se obtuvo una concentración estimada en $(0,40 \pm 0,12) \mu\text{mol g}^{-1}$ para las muestras más concentradas. Una segunda estimación fue llevada a cabo comparando las funciones de remisión de R101 unida y azul de metileno adsorbido en sistemas combinados (Capítulo V) con los respectivos coeficientes de absorción en etanol. Los cálculos fueron llevados a cabo a partir de los máximos de absorción para la forma zwitteriónica ($\epsilon = 1,06 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) y protonada ($\epsilon = 1,16 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) de R101 y dieron como resultado una concentración de $(0,70 \pm 0,07) \mu\text{mol g}^{-1}$. Por lo tanto, de acuerdo con las anteriores estimaciones se calcula una concentración aproximada de $0,6 \mu\text{mol g}^{-1}$ para las muestras más concentradas.

Los espectros de emisión en capa gruesa fueron medidos y corregidos por reabsorción mediante su división por la función $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$ (Sección II.8). La comparación

entre los espectros de capa gruesa y fina se muestra en la Fig. IV.4 para la muestra preparada con 0,1 g de DCC. Iguales resultados se obtuvieron para las otras muestras. La muy buena coincidencia entre los espectros en capa fina y los de capa gruesa corregidos por reabsorción demuestra que el procedimiento de corrección es adecuado y que las capas finas presentan reabsorción despreciable.

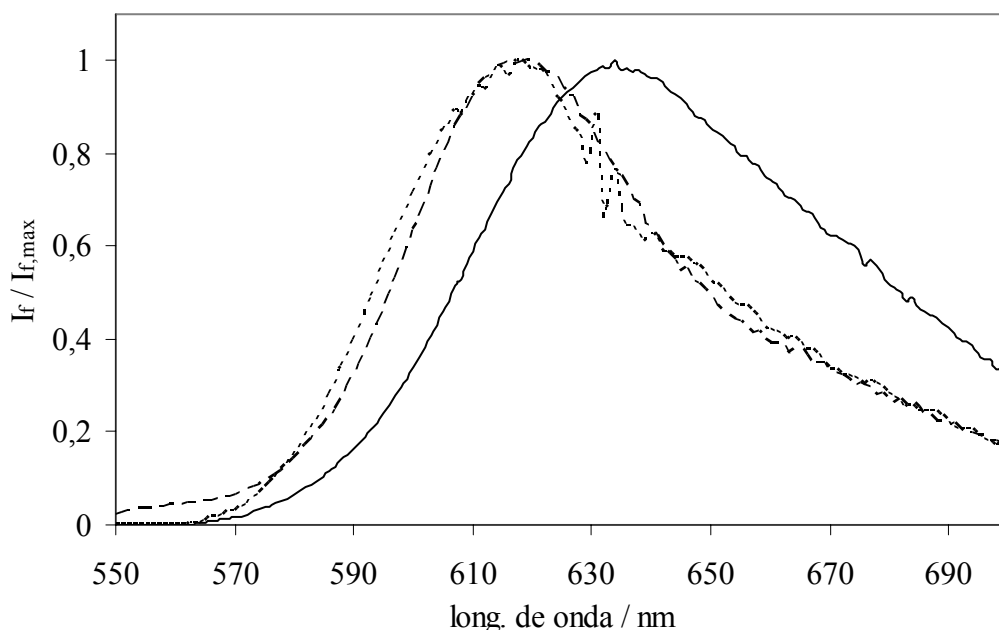


Fig. IV.4. Espectros de emisión en capa gruesa (línea llena), capa fina (línea quebrada) y capa gruesa corregida por reabsorción (línea punteada) de la muestra preparada con 0,1 g de DCC. Longitud de onda de excitación: 520 nm.

IV.2.3. Rendimientos cuánticos de fluorescencia

Los rendimiento cuánticos de fluorescencia observados, Φ_{obs} , fueron calculados en forma absoluta de acuerdo al método descrito en la Sección II.4. Éstos se muestran en la Fig. IV.5 en función de la longitud de onda de excitación, λ_0 , para la última muestra de la Fig. IV.2. En la misma figura es observa el rendimiento cuántico verdadero, Φ , calculado a partir de la ecuación (II.40). La pequeña variación de este último con λ_0 se debe a error experimental. Los rendimientos cuánticos observados son siempre inferiores al verdadero y disminuyen con la concentración de R101 debido a la

reabsorción de la fluorescencia. En contraste, el rendimiento cuántico de fluorescencia verdadero obtenido para todas las muestras, $\Phi = 0,80 \pm 0,07$, es independiente de la concentración de colorante.

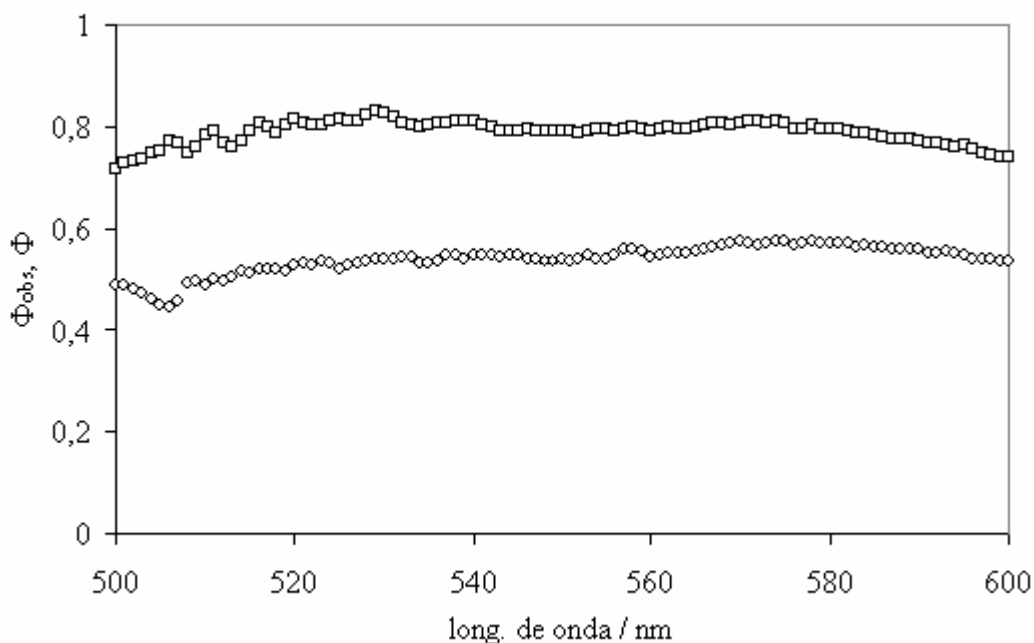


Fig. IV.5. Rendimientos cuánticos de fluorescencia observados (círculos) y verdaderos (cuadrados) a diferentes longitudes de onda de excitación para la muestra preparada con 0,16 g de DCC.

IV.2.4. Discusión

La unión química de R101 a la celulosa se puso en evidencia a través de los cambios espectrales asociados con la esterificación del grupo carboxilo. La unión no sólo afecta los espectros de absorción y emisión, sino también al rendimiento cuántico de fluorescencia. Cuando se halla protonada, la rodamina 101 presenta $\Phi = 0,80$ en etanol, al igual que la unida a celulosa. La pérdida de la carga negativa del carboxilato por esterificación o protonación disminuye su rendimiento cuántico de fluorescencia respecto de la forma zwitteriónica. No se observaron evidencias de agregación del colorante; el descenso de Φ_{obs} con la concentración puede explicarse cuantitativamente por efectos de reabsorción y reemisión de la fluorescencia.

La incorporación de R101 mostró efectos de saturación (Fig. IV.2), probablemente debido a la disponibilidad de superficie para la unión química, alcanzándose una concentración máxima de $\sim 0,6 \mu\text{mol g}^{-1}$. Esto impone un límite al intervalo de concentraciones que pueden estudiarse. Además, a mayores concentraciones para R101 adsorbida en celulosa se hallaron evidencias de agregación.

Los resultados experimentales pueden explicarse considerando exclusivamente la existencia de transferencia radiativa de energía entre las moléculas de colorante. La transferencia no radiativa puede excluirse pues el rendimiento cuántico de fluorescencia verdadero no depende de la concentración del colorante. Los procesos fotofísicos en este sistema pueden resumirse en el diagrama de la Fig. IV.6, que es un caso particular del diagrama de la Fig. III.1.

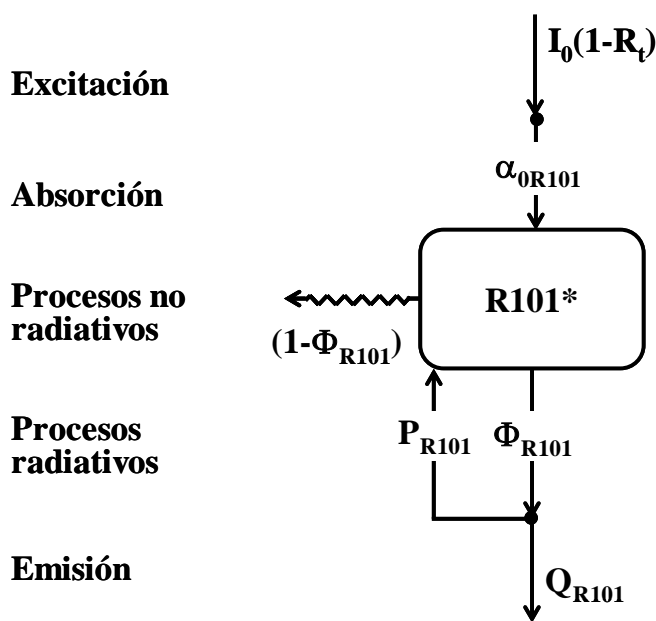


Fig. IV.6. Diagrama de flujo de excitación para rodamina 101 unida químicamente sobre celulosa.

Parte de la luz de excitación es absorbida por el colorante $[I_0(1-R_t)\alpha_{0R101}]$, generándose una población de estados singlete excitados. Estos estados excitados pueden desactivarse no radiativamente por conversión interna o eventualmente por cruce entre sistemas $(1-\Phi_{R101})$, o radiativamente a través de emisión de fluorescencia (Φ_{R101}) . La luz emitida puede escapar del sistema y detectarse como fluorescencia (Q_{R101}) , dando lugar al rendimiento cuántico de fluorescencia observado, o ser

reabsorbida por el colorante (P_{R101}), repoblando los estados excitados. Como en este caso la absorción por parte del soporte es despreciable, $P \sim P_{R101}$ y $P_{R101} + Q_{R101} \sim 1$.

IV.3. Rosa de bengala adsorbido sobre celulosa

El rosa de bengala (RB) es un colorante xanténico derivado de la fluoresceína. Su estructura se muestra en la Fig. IV.7. Es soluble en agua y presenta diferentes equilibrios de especiación dependientes del pH, debido a las propiedades ácido-base del carboxilo y del hidroxilo fenólico en el anillo xanténico.¹⁵ En medio neutro/alcalino se encuentra en su forma dianiónica. La presencia de átomos pesados como sustituyentes en su estructura favorece la desactivación del singlete excitado por cruce entre sistemas. Debido a sus elevados rendimientos cuánticos de producción de triplete y oxígeno molecular singlete¹⁶ ha sido intensamente estudiado como fotosensibilizador en terapia fotodinámica^{17,18} y para la erradicación selectiva de microorganismos.

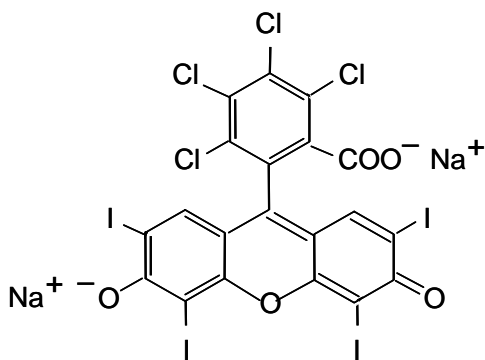


Fig. IV.7. Estructura del rosa de bengala

La incorporación del fotosensibilizador a un sustrato sólido presenta ventajas en vista a sus posibles aplicaciones. Por ello, el estudio de sus propiedades fotofísicas en sólidos es de crucial importancia para el desarrollo de estos sistemas. Luego del desarrollo de Sensitox¹⁹, un fotosensibilizador sólido hidrofóbico, y su equivalente hidrofílico²⁰ en la década de 1970, compuesto por RB inmovilizado en polímeros, poco se ha hecho para investigar las propiedades de este colorante en sólidos. En esta sección se presentan los resultados del estudio de las propiedades de absorción y luminiscencia de RB adsorbido en micropartículas de celulosa. Los modelos y

correcciones teóricas introducidas en la Sección II.8 son aplicados para evaluar el efecto de la concentración del colorante sobre dichas propiedades, con el objeto de caracterizar el estado del colorante en la superficie e investigar el efecto de las interacciones intermoleculares.

IV.3.1. Reactivos y preparación de las muestras

Las muestras fueron preparadas por adsorción de RB (sal disódica, pureza 93%, Aldrich) en micropartículas de celulosa (pH 5-7, tamaño de partícula promedio: 20 μm , Sigma). La pureza del colorante fue evaluada espectroscópicamente y no se detectaron signos de la presencia de otras especies capaces de absorber o emitir luz en el intervalo de longitudes de onda analizado. Las concentraciones en solución fueron calculadas en base al coeficiente de absorción en etanol básico, $\epsilon = 90400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, en el máximo a 559 nm.²¹ Se suspendieron masas conocidas de celulosa en soluciones de concentración conocida del colorante en etanol (grado analítico, Cicarelli) y se adicionó etanol puro hasta alcanzar un volumen final de 20 cm^3 . El solvente se evaporó en un evaporador rotatorio durante aproximadamente 30 minutos. Posteriormente, las muestras fueron secadas al vacío a 30 °C durante 24 a 48 horas. Este método de preparación presenta como ventaja que las concentraciones de colorante en las muestras son conocidas, ya que todo el colorante adicionado se incorpora a las partículas. Previamente a cada medición, las muestras fueron secadas al vacío durante al menos 24 horas. La concentración de las muestras se observa en la tabla IV.1.

IV.3.2. Absorción y análisis de agregación

Se obtuvieron los espectros de reflectancia total y difusa de las muestras. En este caso no es necesario (ni posible) corregir los espectros de reflectancia por la emisión de las muestras, debido a que éstas presentan baja fluorescencia. A partir de las reflectancias difusas se calcularon los espectros de función de remisión y se restó una pequeña absorción del soporte. Los espectros normalizados se muestran en la Fig. IV.8 y los espectros por unidad de concentración, $F(R)/C_0$, se muestran en la Fig. IV.9. Los máximos de absorción se localizan a 561 ± 1 y 525 ± 3 nm. Con el incremento en la

concentración de colorante, la relación entre las bandas de absorción al rojo y al azul disminuye y ambas bandas sufren un pequeño ensanchamiento (Fig. IV.8), mientras que la función de remisión por unidad de concentración disminuye (Fig. IV.9). Este comportamiento puede ser interpretado en términos de la agregación del colorante en el estado fundamental, aun cuando no se observan cambios en la posición de las bandas de absorción.

Tabla IV.1. Fluorescencia de RB en celulosa

Muestra	$C_0 / \mu\text{mol g}^{-1}$	$\Phi_{\text{obs}}^{\text{a}}$	P	α_{0M}	P_M	$\Phi_{\text{ap}}^{\text{b}}$
I	0,015	0,073	0,394	0,916	0,323	0,126
II	0,039	0,071	0,372	0,862	0,296	0,126
III	0,064	0,066	0,385	0,724	0,247	0,143
IV	0,158	0,062	0,382	0,704	0,246	0,138
V	0,310	0,056	0,405	0,550	0,194	0,166
VI	0,410	0,056	0,411	0,457	0,161	0,201

^a Longitud de onda de excitación: 525 nm; ^b Rendimiento cuántico aparente considerando al monómero como la única especie emisora

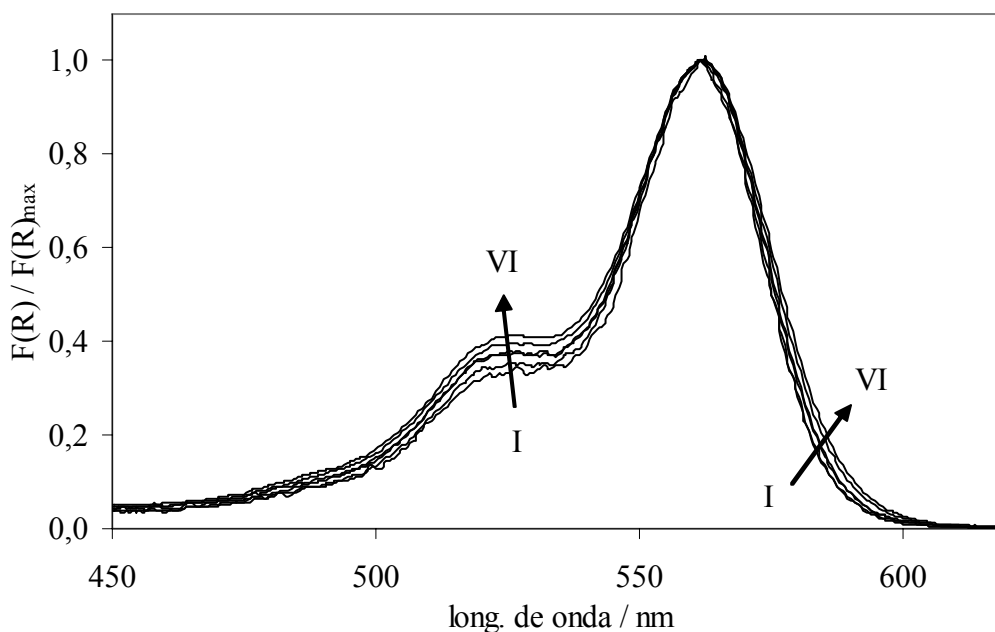


Fig. IV.8. Espectros normalizados de función de remisión de RB adsorbido en celulosa.

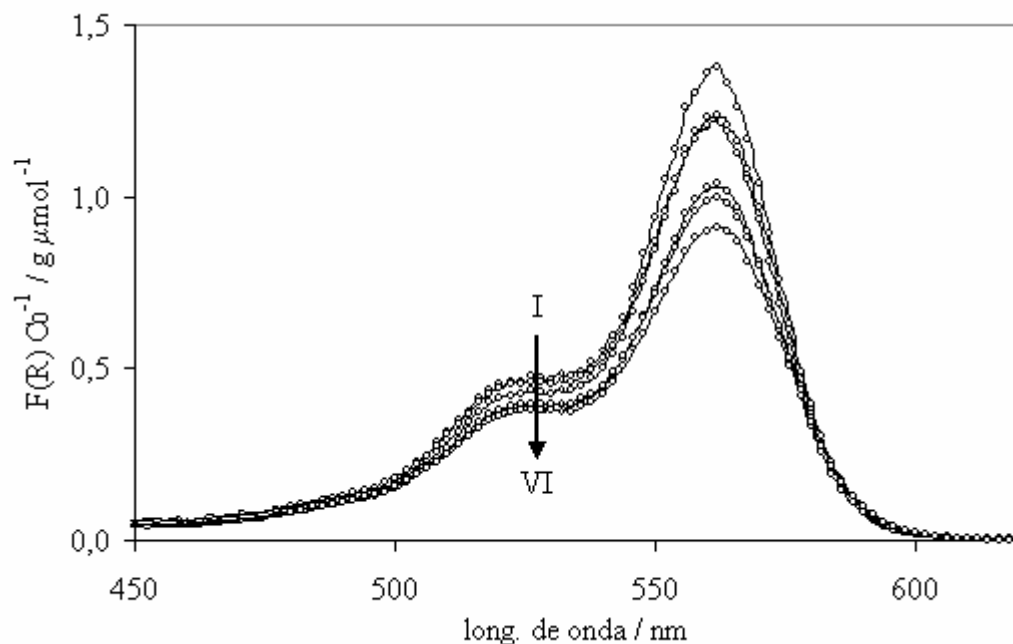


Fig. IV.9. Espectros de función de remisión por unidad de concentración de colorante experimentales (línea llena) y calculados (círculos abiertos). Los cálculos se basan en los valores de ϵ'_M y ϵ'_D de la Fig. IV.10.

Los espectros fueron analizados mediante el procedimiento de regresión descrito en la Sección II.6, considerando que los agregados son principalmente dímeros y que la presencia de agregados superiores es despreciable en todo el intervalo de concentraciones. El mejor ajuste de los datos experimentales se obtuvo con los espectros que se muestran en la Fig. IV.10 para una constante de dimerización, $K_d = (5,16 \pm 1,50) \text{ g } \mu\text{mol}^{-1}$, donde el espectro del dímero está expresado por unidad monomérica, es decir, dividido por dos. A mayores concentraciones (resultados no mostrados) se observa un aumento en un orden de magnitud de la constante de dimerización, lo que evidencia la posible formación de agregados superiores.

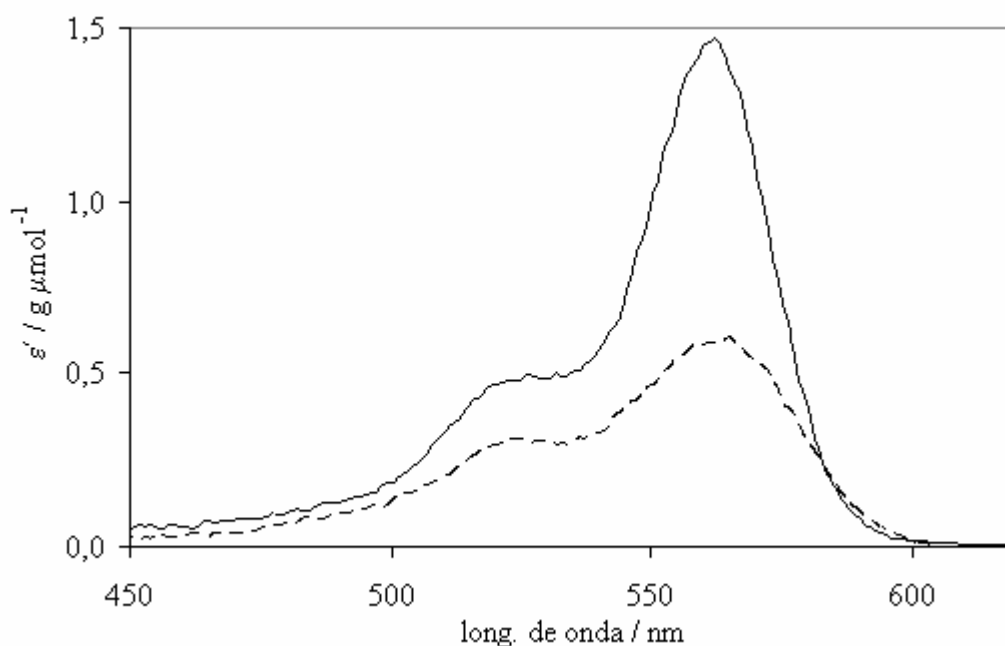


Fig. IV.10. Espectros relativos ($\epsilon' = 2\epsilon/s$) del monómero (línea llena) y del dímero/2 (línea quebrada).

El excelente acuerdo entre los espectros experimentales y los calculados a partir de ϵ' de monómero y dímero y las respectivas concentraciones (Fig. IV.9) confirma la existencia de solo dos especies en el intervalo de concentraciones estudiadas y valida el procedimiento de cálculo. La agregación se extiende desde un 13% para la muestra I hasta un 66% para la muestra VI.

La forma de los espectros del monómero y del dímero es muy similar, aunque el dímero muestra una menor relación entre máximos. Un comportamiento similar fue observado para algunas ftalocianinas de zinc en solución²² y en micelas.²³ Los resultados de los cálculos están avalados por la coincidencia entre el espectro calculado para el monómero y el espectro del monómero del colorante en etanol básico, que presenta una relación de bandas y posición de máximos comparable. Una importante disminución en la fuerza del oscilador con la agregación también se observó para RB en suspensiones coloidales de nanopartículas cargadas positivamente pero, en esa ocasión, el dímero presentaba un corrimiento batocrómico en el máximo.²⁴ La similitud entre los espectros de absorción de monómero y dímero, el pequeño ensanchamiento del espectro del dímero y el hipocromismo asociado a la agregación pueden explicarse si se considera que el acoplamiento entre los monómeros que conforman el agregado es

débil.²⁵ El desdoblamiento independiente de cada sub-banda vibrónica sería, en este caso, lo suficientemente bajo para aparecer sólo como un leve ensanchamiento del espectro del agregado.

IV.3.3. Emisión

Los espectros de emisión normalizados para muestras ópticamente gruesas, corregidos por una débil emisión de fondo de la celulosa, se muestran en la Fig. IV.11. La excitación se realizó en la banda satélite a 525 nm, donde la relación de absorción de dímero a monómero es máxima. Esta selección eventualmente pondría en evidencia la luminiscencia del dímero, como se discute más adelante. Con el aumento de la concentración de RB, el máximo de emisión se desplaza hacia el rojo, y la amplitud del hombro hacia el rojo del espectro aumenta en relación con el máximo. Este es el comportamiento esperado cuando tienen lugar fenómenos de reabsorción de la luminiscencia. Luego de la corrección de los espectros por reabsorción, dividiendo por $\gamma_{\lambda, \lambda_0}$, se obtuvo una muy buena concordancia con los espectros en capa fina, en los cuales la reabsorción es despreciable. Los resultados se muestran en la Fig. IV.12 para la muestra V.

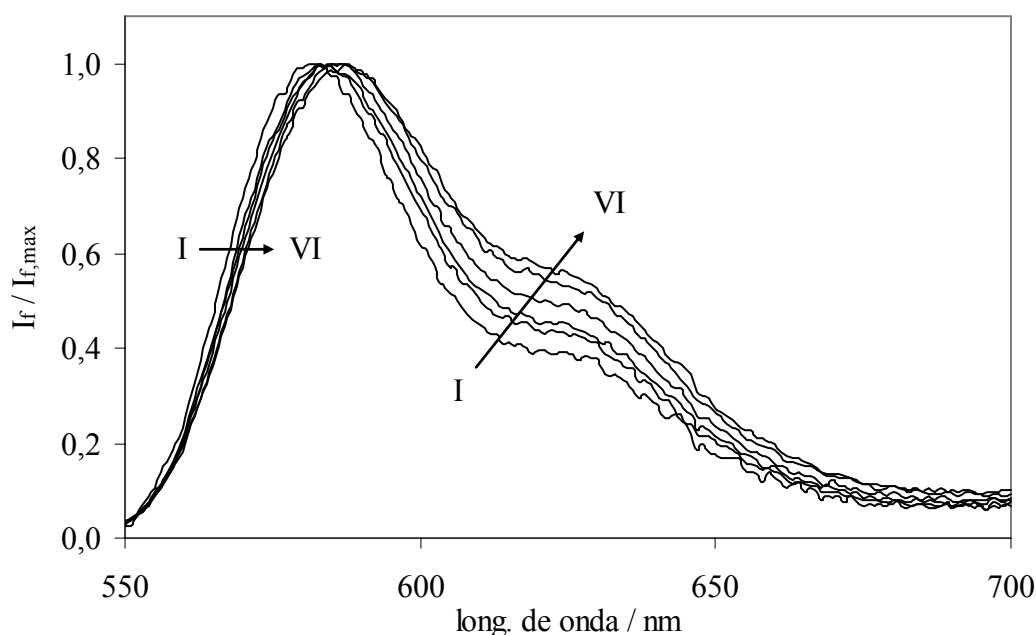


Fig. IV.11. Espectros de emisión normalizados en capa gruesa. Longitud de onda de excitación: 525 nm.

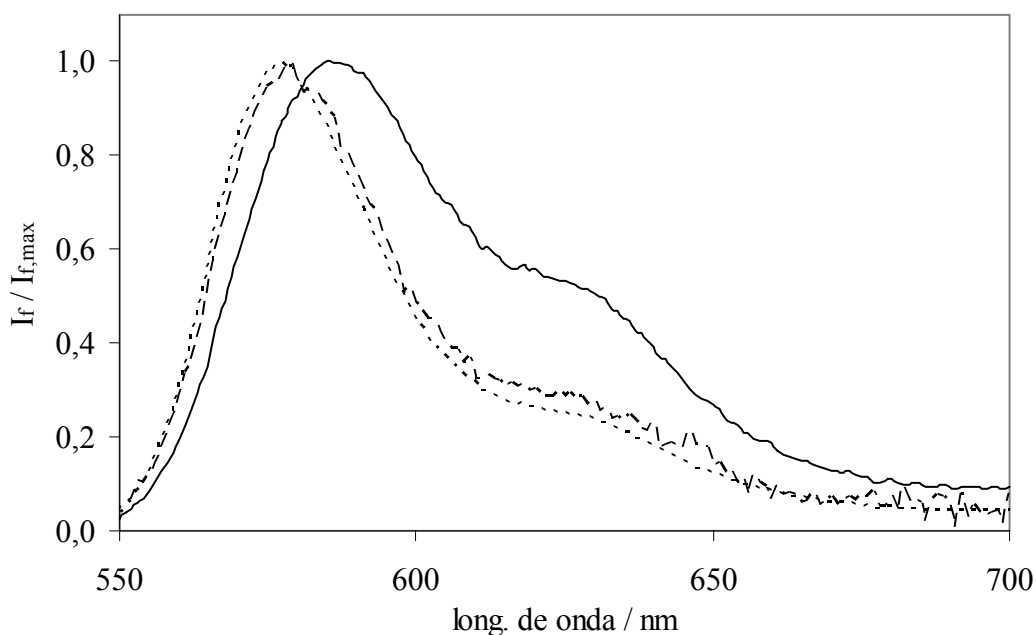


Fig. IV.12. Comparación entre los espectros de emisión normalizados para la muestra V: capa gruesa (línea llena); capa fina (línea quebrada); capa gruesa corregida por reabsorción (línea punteada). Longitud de onda de excitación: 525 nm.

Los espectros normalizados de emisión en capa gruesa corregidos por reabsorción se muestran en la Fig. IV.13. Los máximos de fluorescencia se localizan entre 575 y 580 nm. Se observa un pequeño corrimiento del máximo hacia el rojo de alrededor de 4 nm y un leve ensanchamiento con el aumento de la concentración. Más allá de estas diferencias, los espectros son similares.

Se obtuvieron espectros de emisión variando las longitudes de onda de excitación desde 490 hasta 550 nm y se corrigieron por reabsorción. No se observó efecto de la longitud de onda de excitación sobre la forma de los espectros de emisión en ningún caso. El pequeño corrimiento del máximo de emisión con la concentración se observó en todos los casos. Por lo tanto, se puede concluir que los espectros de emisión son independientes de la longitud de onda de excitación y que todas las especies emisoras, si hay presentes más de una (ver luego), poseen espectros de fluorescencia muy similares.

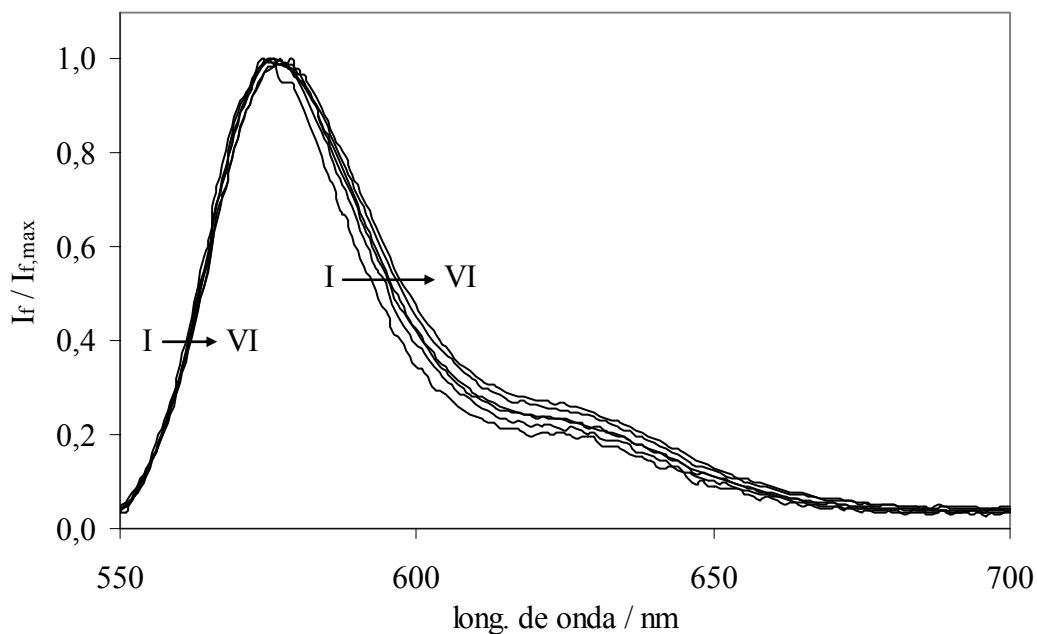


Fig. IV.13. Espectros normalizados de emisión en capa gruesa corregidos por reabsorción. Longitud de onda de excitación: 525 nm.

IV.3.4. Rendimientos cuánticos de fluorescencia

Los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados se calcularon en forma relativa a partir de la ecuación (II.17), utilizando como referencia R101 adsorbida en el mismo soporte ($0,039 \mu\text{mol g}^{-1}$). El rendimiento cuántico de fluorescencia de la referencia fue determinado en forma absoluta (Sección II.4). Los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados se muestran en la Tabla IV.1. En todos los casos son menores que el rendimiento cuántico de fluorescencia de RB en etanol básico, $\Phi = 0,11$,²⁶ aún para las concentraciones menores. Estos valores decrecen con el aumento en la concentración de colorante. Los rendimientos cuánticos de fluorescencia corregidos por reabsorción y reemisión, considerando que sólo los monómeros emiten, fueron calculados de acuerdo con el modelo descrito en la Sección II.8, y se muestran en la Tabla IV.1 junto con parámetros del modelo. Estos rendimientos cuánticos son expresados como aparentes, Φ_{ap} , por las razones que se discutirán a continuación.

Nótese que hay un crecimiento de Φ_{ap} con la carga de colorante, que no puede explicarse a menos que se considere la posibilidad de emisión de los dímeros. Este hecho está en contradicción con la hipótesis del modelo de una única especie emisora. Existe evidencia en bibliografía respecto de la emisión de dímeros de RB en suspensiones coloidales de nanopartículas positivas. Incluso en ese caso no aparecen nuevas bandas de emisión con el aumento en el grado de agregación.

En consecuencia con estos argumentos, se aplicó el modelo extendido para el caso de dos especies luminiscentes (Sección III.1). El problema se simplifica considerablemente debido a que los rendimientos cuánticos de fluorescencia son relativamente bajos, lo cual conlleva a que la probabilidad de reemisión sea muy pequeña. Por ello, en lugar de recurrir a la ecuación general (III.9), Φ_{obs} puede calcularse sin mayor error a partir de la ecuación (III.5), considerando exclusivamente el primer término ($n = 0$) de la suma matricial en la expresión (III.6). Teniendo en cuenta las ecuaciones (III.4) y despreciando la transferencia no radiativa de energía se llega a:

$$\Phi_{obs} = \alpha_{0M}q_M + \alpha_{0D}q_D = \alpha_{0M}\Phi_M Q_M + \alpha_{0D}\Phi_D Q_D \quad (IV.1)$$

donde M y D indican monómero y dímero respectivamente (A y B representan en las ecuaciones de la Sección III.1 al monómero y al dímero respectivamente). El significado de esta ecuación es inmediato. El primer (segundo) término representa la probabilidad de que un fotón sea absorbido por el monómero (dímero) \times la probabilidad de que el fotón absorbido sea emitido por el mismo \times la probabilidad de que el fotón emitido escape del sólido. El resultado refleja el hecho de que la probabilidad de que un fotón absorbido por cualquiera de las especies sea reemitido es despreciable.

Si los espectros de emisión de M y D son coincidentes, entonces la probabilidad de que la luz emitida por estas especies escape del sistema es la misma y por lo tanto $Q_M = Q_D = Q$ (ver ecuación (III.2)). Reordenando la ecuación (IV.1) se obtiene la siguiente expresión:

$$\frac{\Phi_{obs}}{\alpha_{0M}Q} = \Phi_M + \Phi_D \frac{\alpha_{0D}}{\alpha_{0M}} \quad (IV.2)$$

Los rendimientos cuánticos de fluorescencia del monómero y del dímero pueden calcularse entonces graficando $\Phi_{\text{obs}}[\alpha_{0M}Q]^{-1}$ en función de α_{0D}/α_{0M} . Los resultados se muestran en la Fig. IV.14. De la pendiente y la ordenada al origen de la regresión lineal mostrada en la figura se obtienen los siguientes valores: $\Phi_M = 0,120 \pm 0,004$ y $\Phi_D = 0,070 \pm 0,006$.

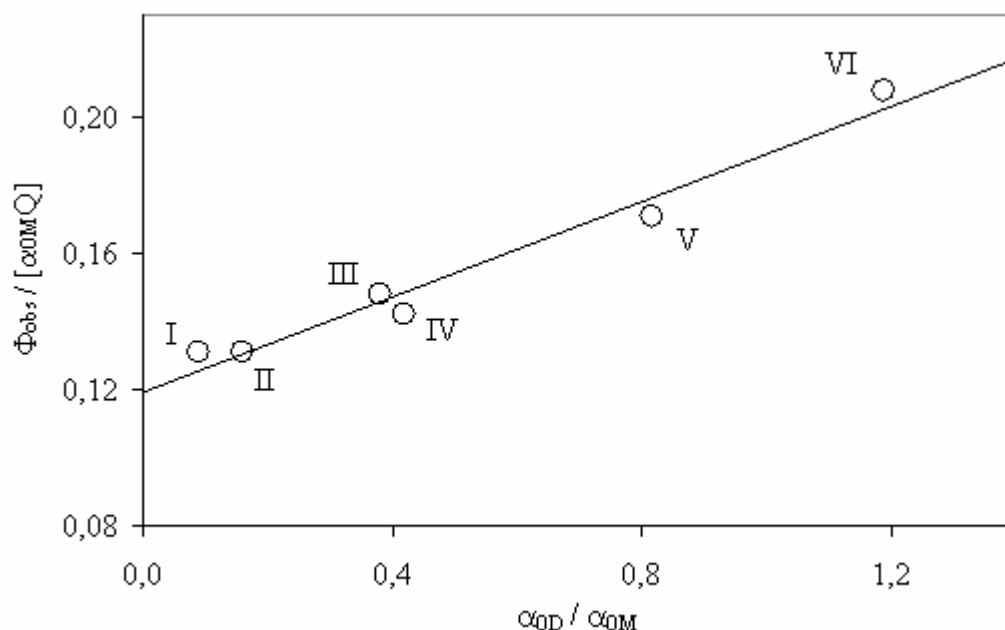


Fig. IV.14. Cálculo de los rendimientos cuánticos de fluorescencia de monómero y dímero: datos experimentales (círculos) y regresión lineal (línea continua). Longitud de onda de excitación: 525 nm.

El valor del rendimiento cuántico de fluorescencia del monómero es muy cercano al hallado para RB en etanol básico. Por lo tanto se puede concluir que los procesos de desactivación no radiativos del colorante no son afectados significativamente por su interacción con el soporte sólido. La relación entre los rendimientos cuánticos de dímero y monómero es cercana a 0,6. Aún cuando no se observan cambios relevantes en la posición de las bandas de absorción con la agregación, situación compatible con un acoplamiento débil en el dímero, la reducción en el rendimiento cuántico de fluorescencia es significativa.²⁷

IV.3.5. Espectros de excitación

Si no hubiera transferencia no radiativa de energía (Förster) entre monómero y dímero, se esperarían rendimientos cuánticos de fluorescencia independientes para ambas especies, como se ha observado para otros sistemas.^{28,29} Si hubiera transferencia, en cambio, a medida que la concentración del aceptor aumenta, se obtendría un rendimiento cuántico menor para el donador y uno mayor para el aceptor. En el caso estudiado podría haber transferencia no radiativa de energía debido a que existe solapamiento espectral, incluso en ambas direcciones. El error experimental observado en la Fig. IV.14 no permite sacar conclusiones al respecto. Un aumento en la concentración de colorante podría, en principio, aclarar este punto pero la formación de agregados superiores dificulta este análisis. Una respuesta a este interrogante se hallará en el análisis de los espectros de excitación.

Los espectros de excitación fueron determinados para todas las muestras en un intervalo de longitudes de onda de emisión entre 575 y 600 nm y divididos por $\gamma_{\lambda, \lambda_0}$ para corregirlos por reabsorción. Para cada muestra en particular, no se observaron diferencias significativas en los espectros de excitación a diferentes longitudes de onda de emisión, en concordancia con el hecho de que monómero y dímero comparten el mismo espectro de emisión. Por el contrario, se obtuvieron diferentes espectros para las distintas muestras (diferente carga de colorante), reflejando el hecho de que ambas especies emisoras poseen diferentes espectros de absorción. Los espectros corregidos se muestran en la Fig. IV.15. Se puede observar que la relación de bandas de mayor a menor longitud de onda decrece con el aumento en la concentración de colorante, como se espera para un aumento en la concentración de dímeros. Estos resultados concuerdan con los espectros de función de remisión (Fig. IV.8), debido a que tanto los espectros de absorción como los de excitación presentan máximos localizados alrededor de 525 y 561 nm.

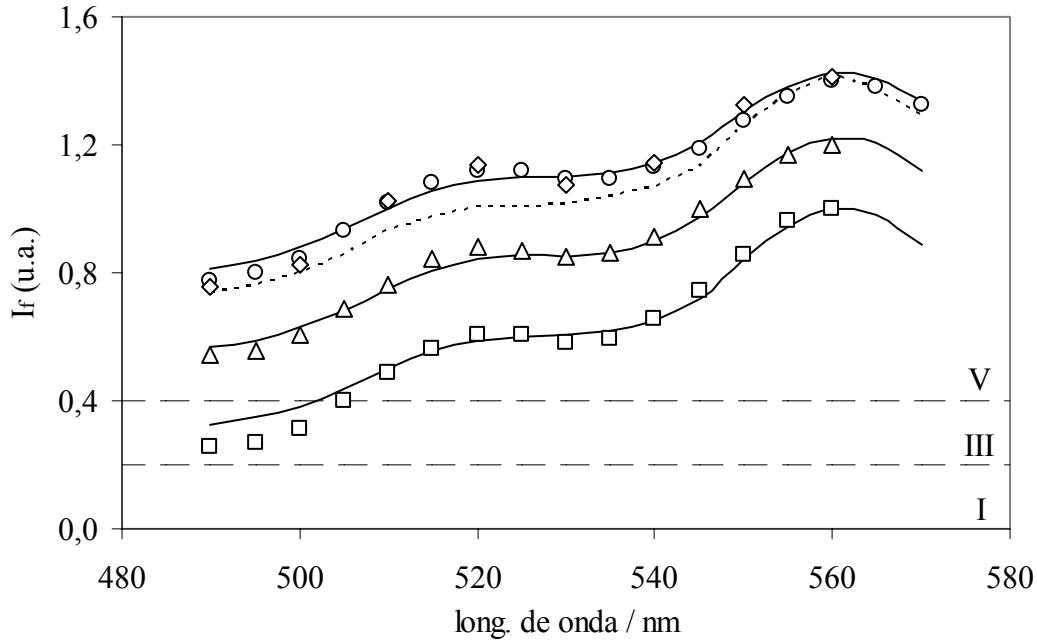


Fig. IV.15. Espectros de excitación corregidos medidos a 595 nm para la muestra I (cuadrados), III (triángulos) y V (círculos) y a 580 nm para la muestra V (diamantes), $(1-R_t)(\alpha_{0M}\Phi_M + \alpha_{0D}\Phi_D)$ (líneas llenas) y $(1-R_t)\alpha_{0M}$ (línea punteada). Por claridad, los espectros de las muestras III y V fueron desplazados hacia arriba 0,2 y 0,4 unidades respectivamente.

El rendimiento cuántico de fluorescencia observado fue definido en el Capítulo III como el número de fotones emitidos que escapan del sistema, provenientes de cualquiera de las especies, dividido por el número de fotones absorbidos por la muestra. A partir de esta definición y de la ecuación (IV.1), considerando que ambas especies poseen el mismo espectro de emisión, se obtiene la siguiente expresión:

$$\Phi_{\text{obs}} = \frac{\int I_{\lambda}^{\text{CG}} d\lambda}{I_0(1-R_t)} = (\alpha_{0M}\Phi_M + \alpha_{0D}\Phi_D) \int_{\lambda} f_{\lambda} \gamma_{\lambda, \lambda_0} d\lambda \quad (\text{IV.3})$$

donde I_{λ}^{CG} es el espectro de emisión experimental de la muestra en capa gruesa, f_{λ} es el espectro común de emisión de las especies, normalizado a área unitaria en λ , y la integral en el miembro de la derecha corresponde a la definición de Q (ecuación (III.2)).

De la ecuación (IV.3) puede deducirse una expresión para el espectro de fluorescencia de la muestra en capa gruesa:

$$I_{\lambda}^{CG} d\lambda = I_0(1-R_t)(\alpha_{0M}\Phi_M + \alpha_{0D}\Phi_D) f_{\lambda} \gamma_{\lambda,\lambda_0} d\lambda \quad (IV.4)$$

El espectro de excitación se obtiene a una longitud de onda de emisión, λ , constante y variando la longitud de onda de excitación, λ_0 . Según la ecuación (IV.4), los espectros de excitación corregidos por reabsorción (divididos por $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$) deberían ser proporcionales a $(1-R_t)(\alpha_{0M}\Phi_M + \alpha_{0D}\Phi_D)$. La Fig. IV.15 muestra los correspondientes ajustes para las muestras I, III y V. Fueron ensayadas diferentes relaciones $\Phi_D:\Phi_M$, pero el mejor ajuste (mostrado en la figura) se obtuvo con los rendimientos cuánticos calculados a partir de la regresión lineal de la Fig. IV.14. A modo de comparación, el espectro de excitación de la muestra V fue ajustado según $(1-R_t)\alpha_{0M}$, considerando que sólo el monómero emite. El ajuste es muy pobre, lo que confirma la hipótesis de que los dímeros son fluorescentes, y fue comparativamente mejor para las muestras más diluidas, para las que la fracción de dímeros es menor (resultados no mostrados).

Si tuviera lugar la transferencia de energía por resonancia entre monómeros y dímeros, los valores de Φ_M y Φ_D dependerían de las eficiencias de transferencia y por lo tanto, de la concentración de la muestra. Para una determinada muestra Φ_M y Φ_D serían constantes respecto de la longitud de onda de excitación y el ajuste del espectro de excitación sería posible; pero los valores necesarios para el ajuste de cada muestra serían diferentes, pues dependen de la concentración. Como en este caso todas las muestras pudieron ajustarse con los mismos valores de Φ_M y Φ_D , se puede concluir que en las condiciones presentes de experimentación el mecanismo de Förster es inefectivo.

IV.3.6. *Discusión*

Se demostró la presencia de dímeros fluorescentes de RB adsorbido en micropartículas de celulosa. Comparado con el monómero, el espectro de absorción del dímero muestra una menor relación entre máximos de absorción de mayor a menor longitud de onda e hipocromía. No se observa corrimiento en ambas bandas con la concentración. El rendimiento cuántico de fluorescencia del monómero es muy similar

al hallado para el mismo colorante en etanol básico. Esto significa que la interacción con la superficie no incrementa significativamente la rigidez del colorante. El rendimiento cuántico de fluorescencia del dímero es aproximadamente un 60% del valor del monómero. La reabsorción de la luminiscencia y la agregación son los principales factores responsables de los bajos rendimientos cuánticos de fluorescencia observados y de su descenso con el aumento de concentración. Sin embargo este descenso resulta menor al esperado debido a la fluorescencia de los dímeros.

De acuerdo con la referencia 24, los dímeros adsorbidos en la superficie de nanopartículas cargadas positivamente muestran un espectro débilmente desplazado hacia el rojo con respecto al monómero. Si se considera que las moléculas de RB están cargadas negativamente a pH neutro, la repulsión coulombica será reducida por la superficie positiva, induciendo la dimerización. Más aún, no se observó evidencia de la presencia de monómeros adsorbidos en la superficie en ese caso. Por otro lado, no se observó evidencia de agregación de RB adsorbida en partículas de sílice cargadas negativamente en el mismo trabajo. La adsorción en celulosa, cuyo ambiente es neutro polar, constituye una situación intermedia entre superficies cargadas positiva y negativamente. La correlación entre las propiedades espectrales del dímero y los rendimientos cuánticos de fluorescencia con la naturaleza de la superficie de adsorción muestra que la compensación de cargas en superficies positivas conlleva a un incremento en la interacción entre monómeros cargados negativamente. Esto se relaciona con cambios espectrales más profundos en la dimerización, acoplamiento excitónico fuerte y menores rendimientos cuánticos de fluorescencia. Si la carga superficial es suprimida, las interacciones de los monómeros en el dímero se debilitan con la consiguiente reducción en el acoplamiento excitónico. Los rendimientos cuánticos de fluorescencia del dímero tienden entonces a ser más próximos al del monómero. En el caso límite de haber una fuerte repulsión, como ocurre en superficies cargadas negativamente, la tendencia a formar agregados desaparece. Para sólidos inertes, las propiedades del monómero no cambian con la naturaleza y la carga de la superficie, demostrando que no cambia la geometría y rigidez de la molécula.

En el sistema estudiado existe transferencia radiativa de energía entre monómeros y dímeros pero no se observan evidencias de transferencia de energía por resonancia, aún cuando existen solapamientos espectrales en ambos sentidos. Este mecanismo de transferencia depende de la distancia entre donores y aceptores y de sus propiedades espectroscópicas y fotofísicas. Es inefectivo en este caso debido a las bajas

concentraciones de colorante y los bajos rendimientos cuánticos de fluorescencia. Los procesos fotofísicos en este sistema pueden resumirse en el diagrama de la Fig. IV.16. Los símbolos de la figura se corresponden con los del diagrama general del Capítulo III (Fig. III.1).

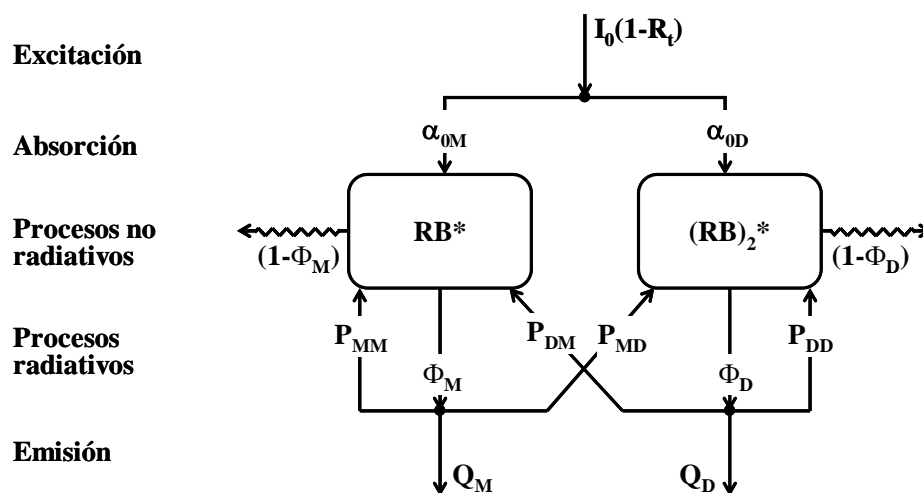


Fig. IV.16. Diagrama de flujo de excitación para rosa de bengala adsorbido en celulosa.

Parte de la luz de excitación es absorbida por el sistema [$I_0(1-R_t)$]. Una fracción de la luz absorbida excita a los monómeros (α_{0M}) y otra a los dímeros (α_{0D}) de RB. Ambas especies excitadas emiten desde el singlete con sus respectivos rendimientos cuánticos de fluorescencia (Φ_M y Φ_D). De los fotones emitidos por los monómeros una fracción es reabsorbida por el mismo *pool* de monómeros (P_{MM}), otra es reabsorbida por los dímeros (P_{MD}) y una tercera escapa del sistema y es detectada como fluorescencia. Lo mismo ocurre para los fotones emitidos por los dímeros. Debido a que los rendimientos cuánticos de fluorescencia son bajos, los procesos de reemisión pueden considerarse despreciables. La emisión que escapa del sistema es responsable de los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados. En este caso los espectros de emisión de ambas especies son muy similares. Si se consideran iguales, también lo son las probabilidades de que los fotones emitidos escapen del sistema ($Q_M = Q_D$). La absorción del soporte es despreciable en este caso, de tal manera que $Q_M + P_{MM} + P_{MD} \sim 1$ y $Q_D + P_{DD} + P_{DM} \sim 1$, de donde se deduce que $P_{MM} + P_{MD} = P_{DD} + P_{DM} \sim P$, la probabilidad total de reabsorción.

IV.4. Azul de metileno adsorbido sobre celulosa

El azul de metileno (MB; Fig. IV.17) es un fotosensibilizador con elevado rendimiento cuántico de cruce entre sistemas y de generación de oxígeno singlete ($\Phi_{\Delta} \sim 0,5$ en agua), un triplete con prolongado tiempo de vida y bajo rendimiento cuántico de fluorescencia ($\Phi_F = 0,05$ en agua).^{16,30} Debido a estas propiedades ha sido ampliamente utilizado en diversas aplicaciones fotoquímicas, incluyendo la conversión de energía solar^{31,32} y la terapia fotodinámica.³³

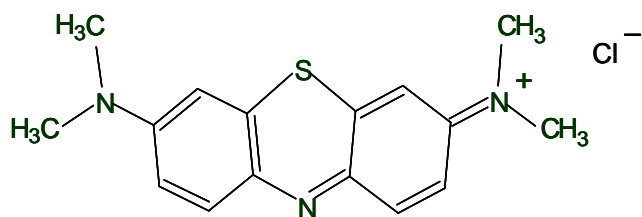


Fig. IV.17. Estructura del azul de metileno.

IV.4.1. Reactivos y preparación de las muestras

La pureza del azul de metileno (grado analítico, Industria Química Bonaerense) se comprobó por espectroscopia de absorción. La celulosa (pH 5-7, tamaño de partícula promedio: 20 μm , Sigma) fue secada al vacío a 40 °C durante 48 hs previamente a la preparación de las muestras. Se suspendieron masas conocidas de celulosa en soluciones de concentración conocida de colorante en etanol (grado analítico, Cicarelli), se agregó etanol puro hasta un volumen final de 20 cm^3 y el solvente se evaporó en un evaporador rotatorio durante un tiempo de 30 minutos aproximadamente. Posteriormente, las muestras fueron secadas al vacío a 30 °C durante 48 a 72 horas. Previamente a cada medición, las muestras fueron secadas al vacío durante al menos 24 horas.

IV.4.2. Absorción y emisión

Se prepararon muestras con diferentes concentraciones de MB adsorbido en micropartículas de celulosa (ver Tabla IV.2.) y se obtuvieron los espectros de función de remisión para muestras ópticamente gruesas. Los espectros fueron corregidos por sustracción de una pequeña absorción del soporte a bajas longitudes de onda. Los espectros de $F(R)$ por unidad de concentración se muestran en la Fig. IV.18. El máximo de absorción a (674 ± 1) nm decrece a medida que la concentración de colorante aumenta, mientras que el hombro alrededor de 620 nm evoluciona hacia una banda diferente. Estos cambios espectrales pueden ser interpretados como señales de agregación molecular.

Tabla IV.2. Agregación y fluorescencia de MB en celulosa

Muestra	$C_0 / \mu\text{mol g}^{-1}$	$x_D^{(a)}$	Φ_{obs}	α_{0M}	P	P_M	Φ
I	0,022	0,08	0,107	0,98	0,51	0,49	0,20
II	0,078	0,22	0,081	0,84	0,50	0,41	0,18
III	0,122	0,28	0,081	0,94	0,50	0,45	0,16
IV	0,202	0,37	0,085	0,92	0,49	0,44	0,17
V	0,607	0,55	0,052	0,70	0,49	0,34	0,14
VI	1,360	0,67	0,031	0,55	0,48	0,27	0,11
VII	3,390	0,77	0,018	0,41	0,46	0,20	0,08
VIII	6,740	0,83	0,016	0,43	0,45	0,20	0,07

^(a) Grado de dimerización, $x_D = 2[(MB)_2]/C_0$

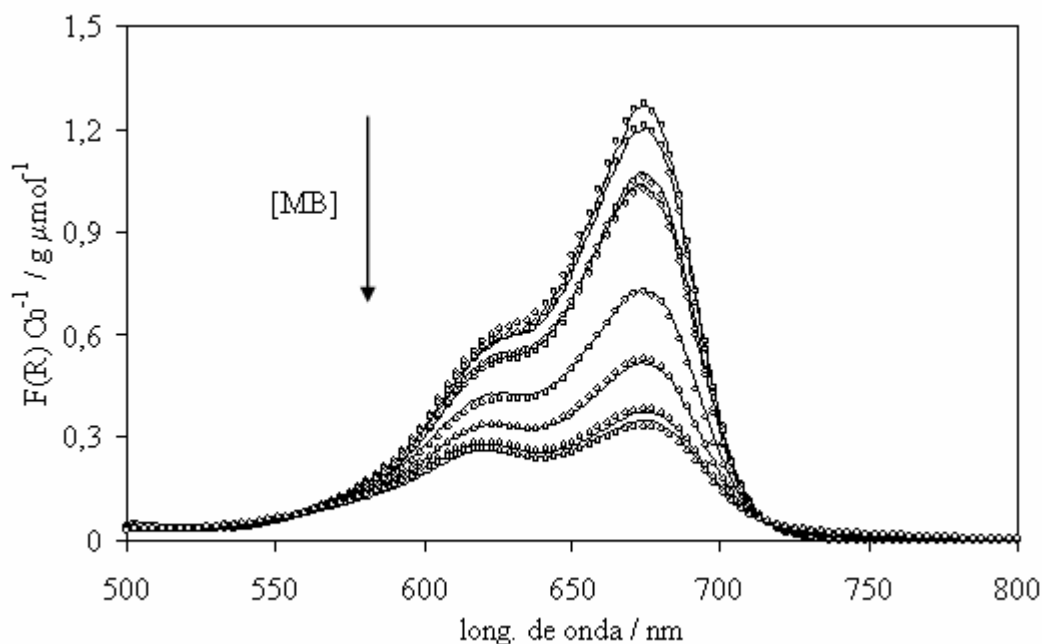


Fig. IV.18. Espectros de función de remisión por unidad de concentración de colorante para MB en celulosa: experimental (líneas sólidas) y reconstrucción (círculos).

Mediante el procedimiento de regresión bilineal expuesto en la Sección II.6 se demuestra que los espectros experimentales de función de remisión pueden ser descompuestos en dos componentes independientes. La excelente coincidencia entre los espectros experimentales y los reconstruidos se observa en la Fig. IV.18. Si se considera la existencia de un equilibrio de dimerización, el mejor ajuste se obtiene con una constante $K_d = (2,25 \pm 0,50) \text{ g } \mu\text{mol}^{-1}$.

Los espectros de monómero y dímero resultantes se muestran en la Fig. IV.19 y el grado de dimerización se informa en la Tabla IV.2 para todas las muestras. El espectro del monómero presenta un máximo de absorción a $(674 \pm 1) \text{ nm}$ y un hombro alrededor de 625 nm. El espectro del dímero muestra su máximo principal a $(614 \pm 1) \text{ nm}$ y una segunda banda centrada en $(689 \pm 1) \text{ nm}$. Estos espectros son comparables en forma a los obtenidos en solución acuosa,³⁴ con un máximo informado a 664 nm para el monómero y 605 nm para el dímero, y en etanol,³⁵ con un máximo cercano a 660 nm para el monómero. El espectro del dímero es notoriamente menos intenso que el del monómero (Fig. IV.19), como se encontró para MB adsorbido en sílice.³⁶

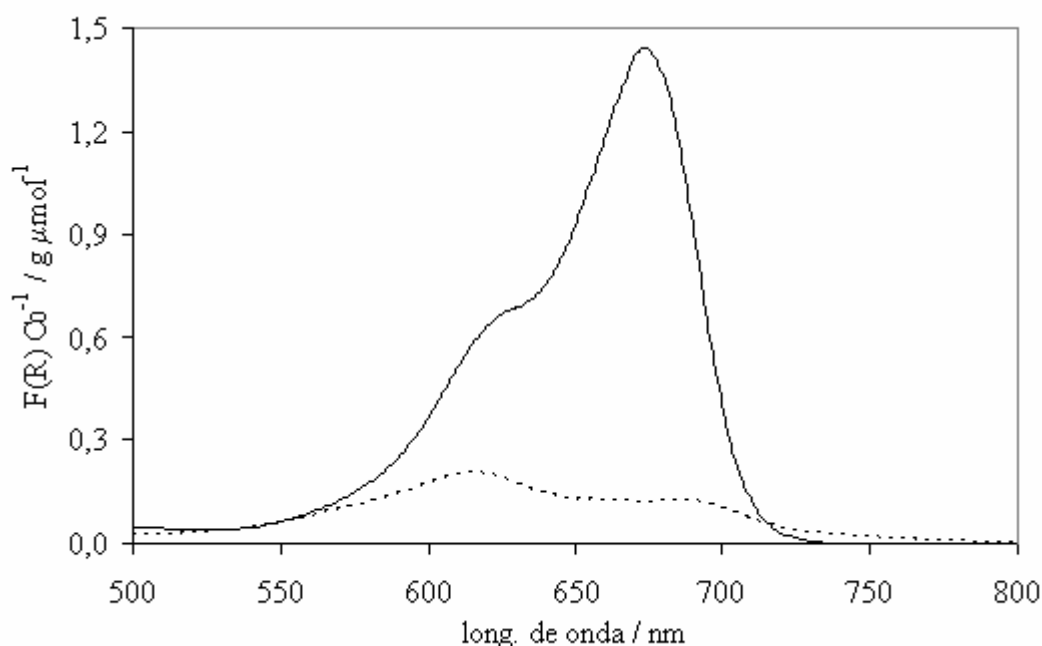


Fig. IV.19. Espectros de función de remisión por unidad de concentración para el monómero (línea llena) y el dímero (línea punteada) de MB en celulosa; el espectro del dímero está expresado por unidad monomérica, es decir, dividido dos.

De acuerdo con la teoría excitónica (ver discusión en la Sección II.5), la estructura de un dímero sándwich (cofacial o agregado H) muestra una sola banda de absorción corrida hacia el azul respecto a la del monómero, mientras que una única banda hacia el rojo es indicio de un dímero con una disposición cabeza-cola (coplanar o agregado J). En el presente caso, una banda principal corrida hacia el azul alrededor de 60 nm junto con una banda menos intensa desplazada débilmente hacia el rojo es indicio de una estructura cercana a la cofacial, con un ángulo entre los dipolos de transición de las moléculas individuales y la línea que conecta sus centros algunos grados menor que 90° . Este tipo de estructura es característico de los dímeros de MB, como se ha informado en literatura.^{30,34-36}

Los espectros de emisión fueron obtenidos excitando a 620 nm, cerca del máximo de absorción del dímero, para detectar la posible ocurrencia de emisión del agregado. Se utilizó un filtro Schott RG630 delante del detector para impedir la llegada de la luz de excitación. Los espectros en capa gruesa fueron corregidos por los efectos

de filtro interno a través de la división por $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$. La excelente concordancia entre los espectros corregidos por reabsorción y aquellos obtenidos en capa fina para todas las muestras, como se puede observar para la muestra VII en la Fig. IV.20, demuestra que en las capas finas la reabsorción es despreciable.

Los espectros de emisión en capa gruesa corregidos por reabsorción se observan en la Fig. IV.21. Con el aumento de la concentración, el máximo de emisión se desplaza alrededor de 8 nm hacia el rojo desde la muestra más diluida a la más concentrada. El máximo de emisión de la muestra I se encuentra a 689 ± 1 nm, cerca del máximo informado para los monómeros de MB en solución acuosa (685 nm). Independientemente del corrimiento espectral, la forma de los espectros es independiente de la concentración de colorante. Los espectros de excitación determinados para muestras ópticamente gruesas y corregidos por reabsorción también lo son. Esta evidencia muestra que el monómero es la única especie fluorescente. Este es un hallazgo normal para dímeros cofaciales o casi cofaciales.

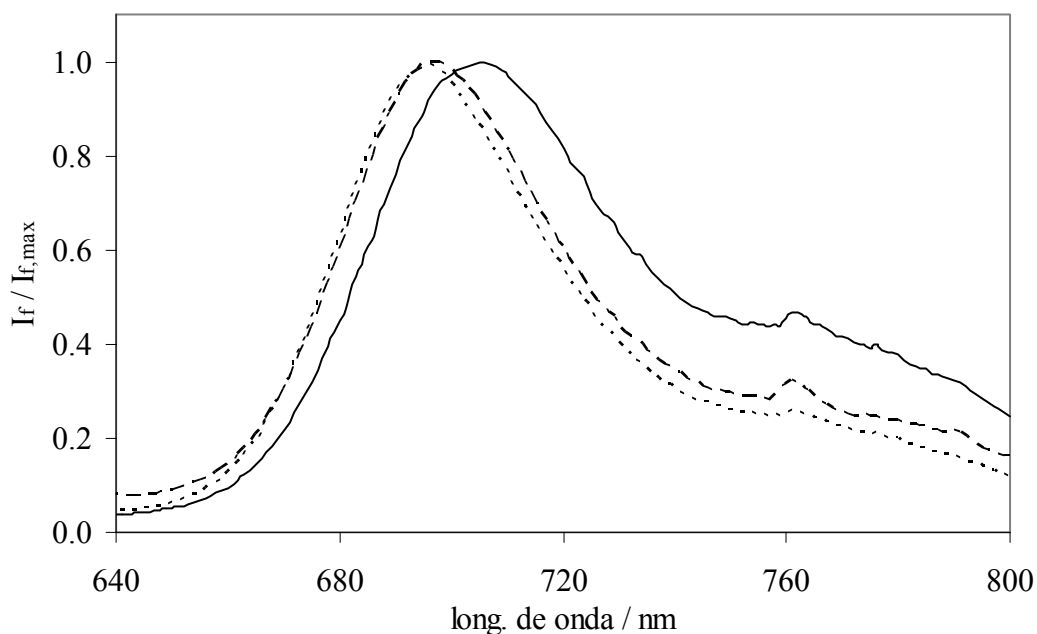


Fig. IV.20. Comparación de los espectros de emisión de la muestra MB-VII excitada a 620 nm: capa gruesa (línea llena), capa fina (línea quebrada), y capa gruesa corregida (línea punteada).

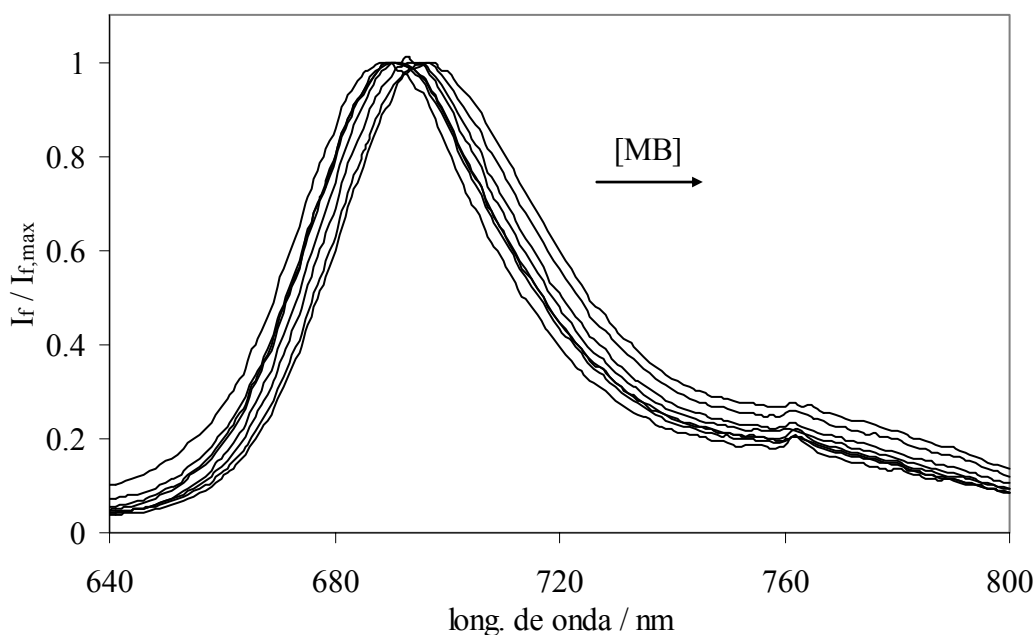


Fig. IV.21. Espectros de emisión normalizados de MB en capa gruesa corregidos por efectos de filtro interno. Longitud de onda de excitación: 620 nm.

IV.4.3. Rendimientos cuánticos de fluorescencia

Los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados, Φ_{obs} , para muestras ópticamente gruesas fueron calculados en forma relativa (Sección II.4) utilizando dos muestras de R101 adsorbida en celulosa ($0,039$ y $0,146 \mu\text{mol g}^{-1}$) como estándares de fluorescencia. Los rendimientos cuánticos observados de los estándares de fluorescencia se determinaron en forma absoluta a partir de medidas de reflectancia mediante el método descrito en la Sección II.4, utilizando un filtro Schott BG39 (1mm) interpuesto entre la esfera integradora y el detector, que absorbe gran parte de la fluorescencia. Los rendimientos cuánticos de fluorescencia verdaderos, Φ , fueron calculados de acuerdo al modelo de la Sección II.8, que considera al monómero como la única especie emisora y corrige a Φ_{obs} por los efectos de la agregación, reabsorción y reemisión de la fluorescencia. Φ_{obs} y Φ se informan junto con datos suplementarios en la Tabla IV.2.

Para las primeras muestras, que presentan un valor casi constante de Φ dentro del error experimental, la agregación y la reabsorción de la fluorescencia explican el importante decrecimiento de Φ_{obs} con la concentración. Por lo tanto, considerando las muestras I a IV, se obtiene el valor promedio $\Phi = 0,18 \pm 0,03$. Este valor es

aproximadamente tres veces mayor que el valor obtenido para MB en etanol, $\Phi = 0,057$, y en agua, $\Phi = 0,05$. La rigidización del colorante adsorbido en el soporte sólido es posiblemente la causa de esta diferencia, que determina una disminución en la constante de velocidad de desactivación no radiativa por conversión interna en el colorante.

A partir de la muestra V se observa una disminución de Φ con la concentración de colorante que no puede explicarse simplemente considerando la agregación y la reabsorción de fluorescencia y que será discutida más adelante.

IV.4.4. Discusión

El MB adsorbido en celulosa forma dímeros casi-H no fluorescentes en aparente equilibrio con la forma monomérica. La interacción del colorante con la celulosa determina su rigidización, y por lo tanto el aumento en su rendimiento cuántico de fluorescencia. Hasta una concentración de $0,2 \mu\text{mol g}^{-1}$ el comportamiento fotofísico del sistema puede interpretarse cuantitativamente como el resultado de la agregación molecular, responsable del *quenching* estático de la fluorescencia, y de los procesos de reabsorción de la luminiscencia, particularmente la reabsorción por parte de los agregados no fluorescentes. A partir de esta concentración se hace relevante otra vía de desactivación del singlete excitado, posiblemente relacionada con procesos de transferencia no radiativos de energía. Este aspecto será retomado en el Capítulo VI, luego de haber estudiado la transferencia de energía en sistemas donador-aceptor (Capítulo V).

IV.5. Conclusiones

Uno de los fenómenos que disminuye el rendimiento cuántico de fluorescencia observado (Φ_{obs}) en sistemas que dispersan fuertemente la radiación es la reabsorción de la luminiscencia. La dispersión de luz aumenta el camino óptico de la radiación emitida y, por lo tanto, la probabilidad de que un fotón emitido sea reabsorbido por el mismo *pool* de colorante en su forma monomérica o por especies agregadas del mismo. El efecto de la reabsorción y de los sucesivos procesos de reemisión y reabsorción que tienen lugar en estos sistemas puede evaluarse cuantitativamente en base al modelo

descrito en la Sección II.8. En ausencia de agregación molecular y de transferencia no radiativa de energía, como en el caso de la rodamina 101 unida químicamente a la celulosa, los rendimientos cuánticos de fluorescencia corregidos por reabsorción y reemisión (verdaderos) resultan ser independientes de la concentración de colorante. Estos rendimientos cuánticos corregidos dependen de las características intrínsecas del colorante y de su interacción con la superficie y con el entorno.

La agregación molecular es uno de los fenómenos generalmente responsables de la disminución en la fluorescencia. Los agregados, que en general no emiten, como en el caso de los dímeros de azul de metileno, o presentan un bajo rendimiento cuántico de fluorescencia, como en el caso de los dímeros de rosa de bengala, disminuyen el rendimiento cuántico de fluorescencia observado del sistema debido a que absorben en forma directa la luz de excitación y pueden reabsorber la emisión de las especies monoméricas. Cuando es posible evaluar cuantitativamente la agregación y se encuentra que los agregados no emiten, es decir que la única especie emisora es el monómero, los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados pueden corregirse también por el efecto de la agregación y calcularse los rendimientos cuánticos verdaderos del monómero. Esto se observa para el azul de metileno, caso en que las muestras más diluidas presentan rendimientos cuánticos verdaderos aproximadamente constantes e independientes de la concentración de colorante. Sin embargo, para las muestras más concentradas, los rendimientos cuánticos disminuyen con la concentración. Esto posiblemente se deba a procesos de transferencia no radiativa de energía hacia los agregados, que abren nuevas vías de desactivación del singlete excitado de la especie monomérica. Este aspecto será retomado en el Capítulo VI.

Cuando los dímeros son fluorescentes, como en el caso del rosa de bengala adsorbido en celulosa, es necesario utilizar el modelo extendido a dos especies emisoras (Sección III.1). En el caso estudiado, los procesos de transferencia no radiativa de energía son ineficientes debido a las bajas concentraciones de trabajo y los bajos rendimientos cuánticos de fluorescencia. Fue posible entonces calcular los rendimientos cuánticos de fluorescencia verdaderos de ambas especies, que resultaron ser independientes de la concentración de colorante.

En todos los casos, los rendimientos cuánticos verdaderos fueron comparados con los obtenidos en solución. Para la rodamina 101 esterificada y el rosa de bengala (monómero), sus valores resultaron ser muy similares a los obtenidos en etanol, lo que indica que la interacción de los colorantes con la superficie no incrementa

significativamente su rigidez, y por lo tanto no se verían particularmente afectados los procesos de conversión interna y de cruce entre sistemas con la adsorción en celulosa. Sin embargo, para el azul de metileno se obtuvo un rendimiento cuántico de fluorescencia tres veces mayor que en etanol, lo que indica un aumento en la rigidez del colorante debido a la adsorción en celulosa.

Por último, es importante mencionar que aún cuando los rendimientos cuánticos de fluorescencia verdaderos sean independientes de la concentración de colorante, en todos los casos se registran corrimientos batocrómicos en la emisión dependientes de la concentración. Esto se debe a la existencia de interacciones entre el colorante excitado y las moléculas vecinas en el estado fundamental.

Los resultados obtenidos en este capítulo muestran que pueden presentarse diversas situaciones en la adsorción o el anclaje de un único colorante. Sin embargo, todas estas situaciones remiten al mismo esquema general representado en la Fig. III.1.

IV.6. Bibliografía

- ¹ K. H. Drexhage (1973) *Dye Laser*. F. P. Schäfer, Ed. Springer, Berlin.
- ² N. Panchuk-Voloshina, R. P. Haugland, J. Bishop-Stewart, M. K. Bhalgat, P. J. Millard, F. Mao, W. -Y. Leung and R. P. Haugland (1999) Alexa dyes, a series of new fluorescent dyes that yield exceptionally bright, photostable conjugates. *J. Histochem. Cytochem.* **47**: 1179-1188.
- ³ O. Maier, V. Oberle and D Hoekstra (2002) Fluorescent lipid probes: some properties and applications (a review). *Chem. Phys. Lipids* **116**: 3-18.
- ⁴ T. Karstens and K. Kobs (1980) Rhodamine B and Rhodamine 101 as reference substances for fluorescence quantum yield measurements. *J. Phys. Chem.* **84**: 1871-1872.
- ⁵ D.F. Eaton (1988) Reference materials for fluorescence measurement, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **2**: 523-531.
- ⁶ V. E. Korobov, V. Shubin and A. K. Chibisov (1977) Triplet state of rhodamine dyes and its role in production of intermediates. *Chem. Phys. Lett.* **45**: 498-501.
- ⁷ F. López Arbeloa, T. López Arbeloa, P. Hernández Bartolomé, M. J. Tapia Estévez and I López Arbeloa (1992) TICT and ULM models for the radiationless deactivation of rhodamines. *Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.)* **104**: 165-171.
- ⁸ A. Iriel (2006) *Fotofísica de colorantes inmovilizados sobre superficies*. Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires.
- ⁹ F. A. Carey and R. J. Sundberg (1990) *Advanced organic chemistry. Third edition. Part B: Reactions and synthesis*. Plenum Press, New York, pp. 144-152.

¹⁰ F. Kurzer and K. Douraghi-Zadeh (1967) Advances in the chemistry of carbodiimides. *Chem. Rev.* **67**: 107-152.

¹¹ L. F. Vieira Ferreira, A. R. García, M. R. Freixo and S. Costa (1993) Photochemistry on surfaces: Solvent-matrix effect on the swelling of cellulosa. An emission and absorption study of adsorbed auramine O. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **89**: 1937-1944.

¹² M. G. Lagorio, L. E. Dicelio, M. I. Litter and E. San Román (1998) Modelling of fluorescence quantum yields of supported dyes. Aluminum carboxyphthalocyanine on cellulose. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **94**: 419-425.

¹³ T. López Arbeloa, F. López Arbeloa, P. Hernandez Bartolomé and I. López Arbeloa (1992) On the mechanism of radiationless deactivation of rhodamines. *Chem. Phys.* **160**: 123-130.

¹⁴ F. López Arbeloa, T. López Arbeloa, M. J. Tapia Estévez and I. López Arbeloa (1991) Photophysics of rhodamines. Molecular structure and solvent effects. *J. Phys. Chem.* **95**: 2203-2208.

¹⁵ S. M. Linden and D. C. Neckers (1988) Type I and type II sensitizers based on rose bengal onium salts. *Photochem. Photobiol.* **47**: 543-550.

¹⁶ F. Wilkinson, W. Philip Helman and A. B. Ross (1993) Quantum yields for the photosensitized formation of the lowest electronically excited singlet state of molecular oxygen in solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **22**: 113-262.

¹⁷ T. A. Dahl, O. Valdes-Aguilera, W. R. Midden and D. C. Neckers (1989) Partition of rose bengal anion from aqueous médium into a lipophilic environment in the cell envelope of *Salmonella typhimurium*: Implications fot cell-type targeting in photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **4**: 171-184.

¹⁸ A. C. Croce, E. Wyroba and G. Bottirolli (1992) Distribution and retention of rose bengal and disulfonated aluminum phthalocyanine: a comparative study in unicellular eukaryote. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **16**: 319-330.

¹⁹ A. P. Shaap, A. L. Thayer, E. C. Blossey and D. C. Neckers (1975) Polymer based sensitizers for photooxidations. *J. Am. Chem. Soc.* **97**: 3741-3745.

²⁰ A. P. Shaap, A. L. Thayer, K. A. Zaklika and P. C. Valenti (1979) Photooxygenation in aqueous solution with a hydrophilic polymer-immobilized photosensitizer. *J. Am. Chem. Soc.* **101**: 4016-4017.

²¹ H. Du, R. A. Fuh, J. Li, A. Corkan and J. S. Lindsey (1998) PhotochemCAD: A computer-aided design and research tool in photochemistry. *Photochem. Photobiol.* **68**: 141-142.

²² D. A. Fernández, J. Awruch and L. E. Dixelio (1996) Photophysical and aggregation studies of t-butyl substituted Zn phthalocyanines. *Photochem. Photobiol.* **63**: 784-792.

²³ M. E. Daraio, P. F. Aramendia, E. San Román and S. E. Braslavsky (1991) Carboxylated zinc phthalocyanines II. Dimerization and singlet molecular oxygen sensitization in hexadecyltrimethylammonium bromide micelles. *Photochem. Photobiol.* **54**: 367-373.

²⁴ M. E. Daraio and E. San Román (2001) Aggregation and photophysics of rose bengal in alumina-coated silica colloidal suspension. *Helv. Chim. Acta* **84**: 2601-2614.

²⁵ M. Kasha (1963) Energy transfer mechanism and the molecular exciton model for molecular aggregates. *Radiat. Res.* **20**: 55-71.

²⁶ P. G. Seybold, M. Gouterman and J. Callis (1969) Calorimetric, photometric and lifetime determinations of fluorescence yields of fluorescein dyes. *Photochem. Photobiol.* **9**: 229-242.

- ²⁷ M. Kasha, H. R. Rawls and M. Ashraf El-Bayoumi (1965) The exciton model in molecular spectroscopy. *Pure Appl. Chem.* **2**: 371-391.
- ²⁸ A. Iriel, M. G. Lagorio, L. E. Dicelio and E. San Román (2002) Photophysics of supported dyes: phthalocyanines on salinized silica. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **4**: 224-231.
- ²⁹ M. G. Lagorio, E. San Román, A. Zeug, J. Zimmermann and B. Röder (2001) Photophysics on surfaces: absorption and luminescence properties of pheophorbide-a on cellulose. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **3**: 1524-1529.
- ³⁰ E. M. Tuite and J. M. Kelly (1993) Photochemical interactions of methylene blue and analogues with DNA and other biological substrates. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **21**: 103-124.
- ³¹ D. Liu and P. V. Kamat (1996) Dye-capped semiconductor nanoclusters. One-electron reduction and oxidation of thionine and cresyl violet H-aggregates electrostatically bound to SnO₂ colloids. *Langmuir* **12**: 2190-2195.
- ³² A. T. Cooper and D. Y. Goswami (2002) Evaluation of methylene blue and rose bengal for dye sensitized solar water treatment. *J. Sol. Energy Eng.* **124**: 305-310.
- ³³ J. P. Tardivo, A. Del Giglio, C. Santos de Oliveira, D. S. Gabrielli, H. C. Junqueira, D. Batista Tada, D. Severino, R. de Fátima Turchiello and M. S. Baptista (2005) Methylene blue in photodynamic therapy: from basic mechanisms to clinical applications. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2**: 175-191.
- ³⁴ L. Antonov, G. Gergov, V. Petrov, M. Kubista and J. Nygren (1999) UV-vis spectroscopic and chemometric study on the aggregation of ionic dyes in water. *Talanta* **49**: 99-106.

³⁵ G. N. Lewis, O. Goldschimid, T. T. Magel and J. Bigeleisen (1943) Dimeric and other forms of methylene blue: absorption and fluorescence of the pure monomer. *J. Am. Chem. Soc.* **65**: 1150-1154.

³⁶ S. M. Ohline, S. Lee, S. Williams and C. Chang (2001) Quantification of methylene blue aggregation on a fused silica surface and resolution of individual absorbance spectra. *Chem. Phys. Lett.* **346**: 9-15.

Capítulo V

Sistemas donador-aceptor

V. Sistemas donor-aceptor

V.1. Introducción

En el Capítulo anterior se estudió la fotofísica de sistemas conformados por un único colorante incorporado a micropartículas de celulosa. Este colorante eventualmente puede formar agregados (dímeros) en el estado fundamental, que en general no presentan fluorescencia o su rendimiento cuántico es menor que el del monómero debido a un incremento en las vías no radiativas de decaimiento del estado singlete excitado. El comportamiento fotofísico de estos sistemas pudo explicarse cuantitativamente, salvo el caso del azul de metileno que se discutirá en el capítulo VI, considerando exclusivamente la agregación molecular y los procesos de reabsorción (transferencia radiativa de energía) y reemisión de la luminiscencia.

Cuando dos o más colorantes coexisten en el sólido a elevadas concentraciones locales, la transferencia de energía de excitación del singlete puede tener lugar también por vías no radiativas, junto con los fenómenos de reabsorción y reemisión. Los procesos de transferencia de energía singlete-singlete entre colorantes incorporados a sólidos han sido estudiados por Calzaferri *et al.*¹ para colorantes en zeolitas pero, debido a que los estudios fueron llevados a cabo en suspensiones, no fueron realizadas determinaciones de rendimientos cuánticos. Turro *et al.*² y Wilkinson *et al.*³ han estudiado la transferencia de energía triplete-triplete en sólidos particulados. En el último caso fueron determinadas las eficiencias de transferencia de energía desde la benzofenona hacia la oxazina, incorporadas en celulosa, en función de la concentración de oxazina siguiendo el *quenching* en la fosforescencia del donador y la producción de triplete en el aceptor. En general, el estudio cuantitativo de la transferencia de energía singlete-singlete en sólidos dispersores de luz ha recibido escasa atención en la literatura.

La transferencia de energía singlete-singlete y la migración de la energía de excitación (homotransferencia de energía) son fenómenos comunes en sistemas de colorantes altamente concentrados y han sido extensamente estudiados desde un punto de vista teórico en medios desordenados, no solo en sistemas de dos componentes,⁴⁻⁶

sino también en sistemas de un único componente donde los agregados pueden actuar como trampas de la energía de excitación.^{7,8}

En el presente Capítulo se aborda el estudio de los procesos de transferencia de energía en sistemas compuestos por dos colorantes incorporados a micropartículas de celulosa, en que uno de ellos actúa como donador y el segundo como aceptor de la energía de excitación, debido a los elevados solapamientos espectrales y las altas concentraciones locales. El objetivo consiste en evaluar cuantitativamente los rendimientos cuánticos de fluorescencia y las eficiencias de transferencia de energía, su dependencia con la concentración del aceptor y la interdependencia entre los mecanismos radiativo y no radiativo de transferencia de energía.

V.2. Feofórbido-a y azul de metileno coadsorbidos en celulosa

Este sistema fue estudiado en conjunto con la Dra. Analía Iriel, integrante del grupo de investigación. El feofórbido-a (Pheo) es un colorante hidrofóbico derivado de la clorofila. Su estructura se muestra en la Fig. V.1. Las propiedades fotofísicas de Pheo adsorbido en celulosa fueron caracterizadas en un trabajo previo⁹ y reevaluadas por A. I. en el presente trabajo. Pheo presenta dos máximos principales de absorción alrededor de 670 nm (principal componente de la banda Q) y 408 nm (banda B) y dos bandas de fluorescencia alrededor de 675 y 725 nm. No se observó evidencia de agregación hasta una concentración cercana a 10 $\mu\text{mol g}^{-1}$. El rendimiento cuántico de fluorescencia verdadero de una muestra con 0,205 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de Pheo, concentración utilizada para los experimentos de transferencia de energía hacia el azul de metileno (MB), fue determinado en este trabajo. Luego de la corrección del rendimiento cuántico observado por los fenómenos de reabsorción y reemisión, se obtuvo el valor $\Phi = 0,21 \pm 0,02$.

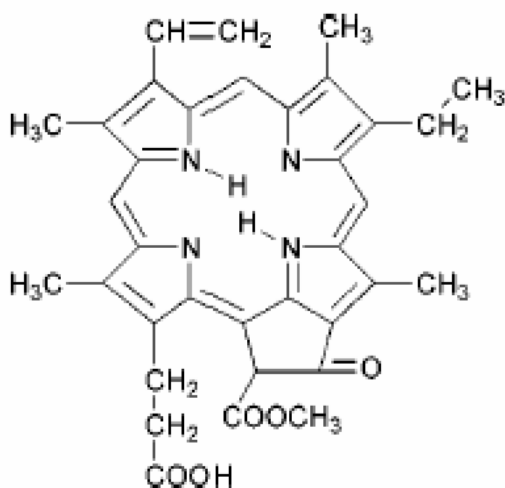


Fig. V.1. Estructura del feoférbido-a.

Se estudiaron sistemas con ambos colorantes adsorbidos, manteniendo constante la concentración de Pheo y variando la concentración de MB. Este último se comporta como aceptor de la energía de excitación, excitándose en forma indirecta a partir de la transferencia de energía desde el donador (Pheo). Las eficiencias de transferencia de energía se evaluaron en base al modelo desarrollado en la Sección III.1.

V.2.1. Reactivos y preparación de las muestras

Pheo fue preparado de acuerdo al procedimiento descrito en la Ref. 10 y fue gentilmente cedido por el Prof. B. Röder (Universität Humboldt, Berlin). La coadsorción de MB (grado analítico, Industria Química Bonaerense) y Pheo se llevó a cabo mediante la preparación de suspensiones de cantidades pesadas de micropartículas de celulosa (pH 5-7, tamaño de partícula promedio: 20 μm , Sigma) en soluciones de concentraciones conocidas de ambos colorantes en etanol (grado analítico, Cicarelli) y el solvente fue evaporado en un evaporador rotatorio durante aproximadamente 30 minutos. Las muestras sólidas fueron secadas al vacío a 30 $^{\circ}\text{C}$ durante 48 a 72 horas. Este procedimiento de secado se repitió antes de realizar las medidas de reflectancia y emisión. Se prepararon muestras que contienen una única concentración de Pheo (0,205 $\mu\text{mol g}^{-1}$) y diferentes cantidades de MB (ver Tabla V.1), incluyendo una muestra sin MB, denominada muestra P.

El área superficial de las micropartículas de celulosa fue medida utilizando dos variantes del método BET.¹¹ El valor obtenido usando el método BET estándar por

adsorción de N_2 es $(2,5 \pm 1) \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, típico de muestras microcristalinas, mientras que el obtenido por adsorción de vapor de agua es $(132 \pm 3) \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Esta diferencia se debe a que el nitrógeno es incapaz de hinchar a la celulosa, de manera tal que sólo le es accesible la superficie externa de las partículas. En cambio el agua, capaz de formar puentes de hidrógeno, puede hinchar al polímero y acceder a zonas más profundas de la partícula. En base a estos resultados, el área superficial accesible para la adsorción de los colorantes dependerá del solvente utilizado y del tiempo de contacto durante la preparación de las muestras. Como las muestras fueron preparadas desde etanol, que posee menor capacidad de hinchamiento que el agua, se espera que el área superficial accesible a los colorantes sea menor que $(132 \pm 3) \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$.

Tabla V.1. Eficiencias de transferencia de energía para el sistema Pheo-MB.

Muestra ^(a)	$C_A / \mu\text{mol g}^{-1}$	Capa fina		Capa gruesa						
		J_A/J_D	E_{DA}	J_A/J_D	P_{DD}	P_{DA}	P_{AD}	P_{AA}	E_{DA}	E'_{DA}
PMB-I	0,007	0,00	0,00	0,00	0,33	0,03	0,24	0,04	0,00	0,00
PMB-II	0,020	0,00	0,00	0,00	0,29	0,08	0,22	0,07	0,00	0,00
PMB-III	0,048	0,00	0,00	0,04	0,24	0,14	0,19	0,12	0,03	0,06
PMB-IV	0,076	0,00	0,00	0,09	0,22	0,19	0,17	0,16	0,06	0,11
PMB-V	0,200	0,06	0,05	0,22	0,16	0,32	0,12	0,26	0,15	0,20
PMB-VI	0,475	0,29	0,25	0,44	0,09	0,46	0,07	0,38	0,28	0,34
PMB-VII	0,769	0,50	0,36	0,66	0,06	0,53	0,05	0,45	0,37	0,43
PMB-VIII	1,890	–	–	–	–	–	–	–	–	–
PMB-IX	4,940	–	–	–	–	–	–	–	–	–

^(a) [Pheo] = $0,205 \mu\text{mol g}^{-1}$

V.2.2. Absorción

Se midieron los espectros de reflectancia total y difusa de las muestras. A partir de las reflectancias difusas se calcularon los espectros de función de remisión que se

muestran en la Fig. V.2. En base al método de regresión bilineal descrito en la Sección II.6, todos los espectros pudieron ser descompuestos en tres componentes, tomando una de ellas como el espectro de Pheo puro en celulosa. Se obtuvo una excelente concordancia entre los espectros experimentales y reconstruidos, como se observa en la misma figura. Sin embargo, la reconstrucción falla cuando una de estas componentes es forzada al espectro de MB monomérico en celulosa (Fig. IV.19). Hasta la muestra

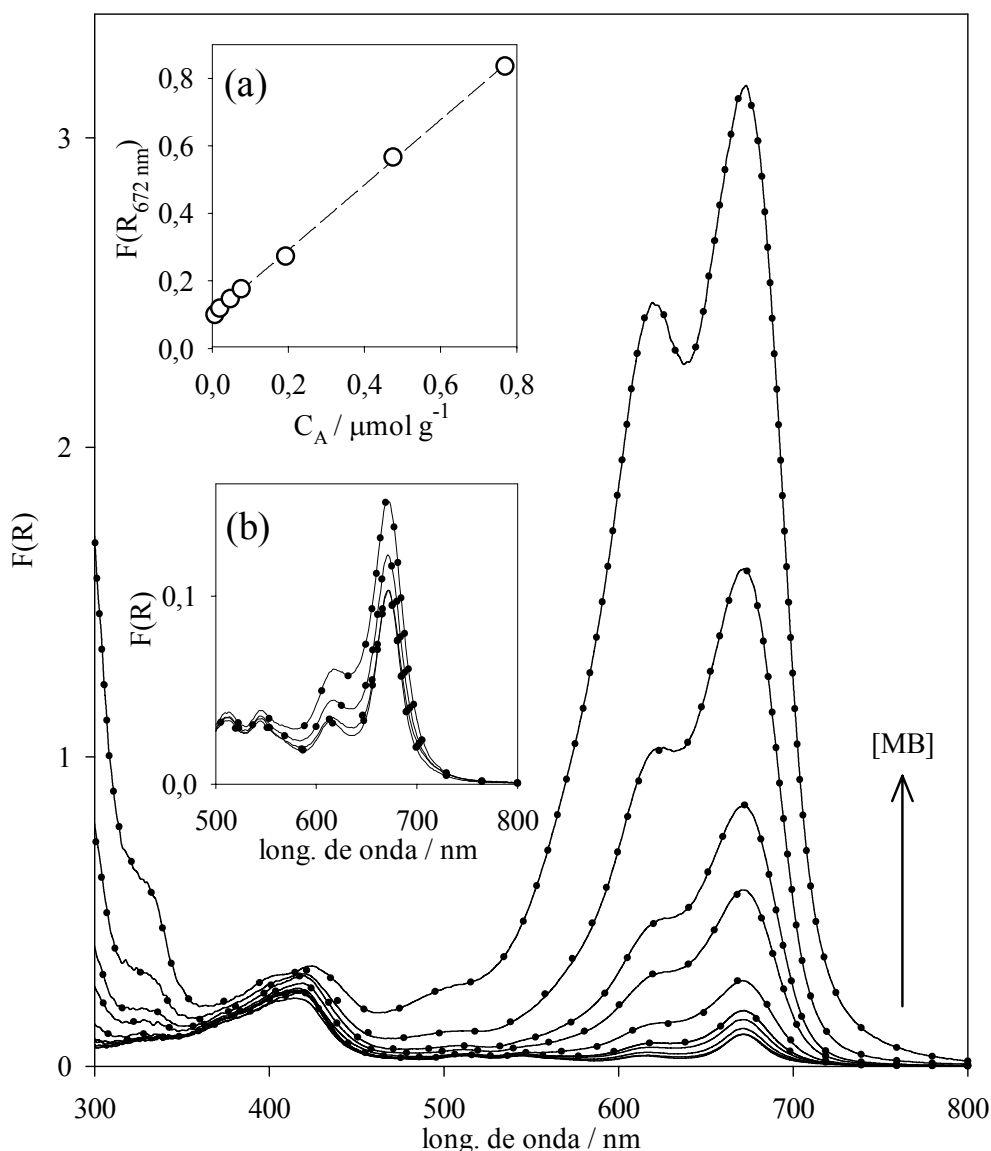


Fig. V.2. Espectros de función de remisión experimentales (líneas llenas) y reconstruidos (puntos) para Pheo y mezclas Pheo-MB; inserto (a): función de remisión a 672 nm versus concentración de MB para las muestras PMB-I a PMB-VII; inserto (b): vista detallada de las muestras P y PMB-I a PMB-III.

PMB-VII, las funciones de remisión dependen linealmente de la concentración de MB, pero la linealidad deja de verificarse para las muestras más concentradas. Esto se muestra en el inserto (a) de la Fig. V.2 para $\lambda = 672$ nm, cerca del máximo de absorción de MB en celulosa, donde la ordenada al origen corresponde a la función de remisión de Pheo puro a la misma longitud de onda.

La sustracción del espectro de Pheo de los espectros experimentales para las muestras PMB-I a PMB-VII resulta en un único espectro, cuyo incremento en amplitud es proporcional a la concentración de MB. Este espectro se muestra en la Fig. V.3 junto con el espectro de Pheo y ha sido atribuido a MB monomérico en el entorno Pheo-celulosa, que es diferente al de MB adsorbido en ausencia de Pheo (ver más adelante). El tercer espectro, necesario para ajustar las muestras PMB-VIII y PMB-IX, es seguramente el del dímero de MB en dicho entorno, pero no pudo ser unívocamente determinado debido al breve intervalo de concentraciones por encima de la muestra VII.

Las concentraciones de MB estudiadas en los sistemas mezcla son del mismo orden que las estudiadas para MB puro (Sección IV.4.). En las mezclas no se observa evidencia de agregación de MB hasta $1 \mu\text{mol g}^{-1}$, mientras que para los sistemas puros la agregación es detectable incluso a las más bajas concentraciones. Puede concluirse entonces que Pheo inhibe la agregación de MB, al menos hasta la concentración de la muestra PMB-VII. El hecho de que Pheo permanezca como monómero en celulosa aún cuando presenta carácter hidrofóbico, demuestra que su interacción con la superficie debe ser particularmente fuerte.

La presencia de Pheo reduce la polaridad del medio, incrementándose la repulsión entre las moléculas de MB cargadas positivamente y disminuyéndose su tendencia a la agregación. Al mismo tiempo, el espectro de MB difiere del obtenido en celulosa pura: la fuerza del oscilador es menor y la relación entre las amplitudes del máximo y del hombro disminuye desde 2,1 en celulosa pura hasta 1,75 en presencia de Pheo.

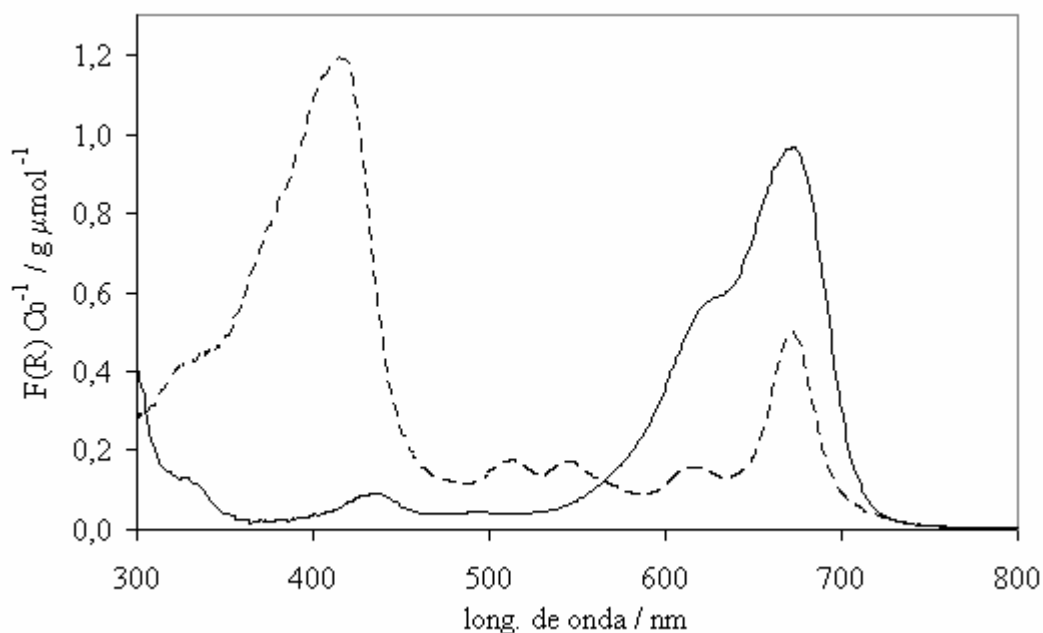


Fig. V.3. Espectro de función de remisión de MB (línea llena) y Pheo (línea quebrada) en sistemas mezcla en celulosa, ambos en estado monomérico, expresados por unidad de concentración del colorante.

V.2.3. Emisión

Los espectros de emisión en capa fina y gruesa para las muestras de MB sin evidencias de agregación se observan en la Fig. V.4. Pheo fue excitado a 414 nm, longitud de onda cercana al máximo de la banda B, donde la absorción de MB es despreciable (Fig. V.3). Los espectros fueron corregidos por una pequeña componente de fluorescencia de la celulosa. A medida que la concentración de MB aumenta, la emisión para las capas gruesas en el máximo local alrededor de 725 nm aumenta respecto del máximo principal de emisión, alrededor de 675 nm, debido al importante solapamiento entre la emisión de Pheo y la absorción de MB a 674 nm (Fig. V.3). Este efecto, aunque menos intenso, permanece para las capas finas, donde la reabsorción puede, en principio, considerarse despreciable, y podría ser interpretado como el resultado de la ocurrencia de transferencia no radiativa de energía desde Pheo a MB.

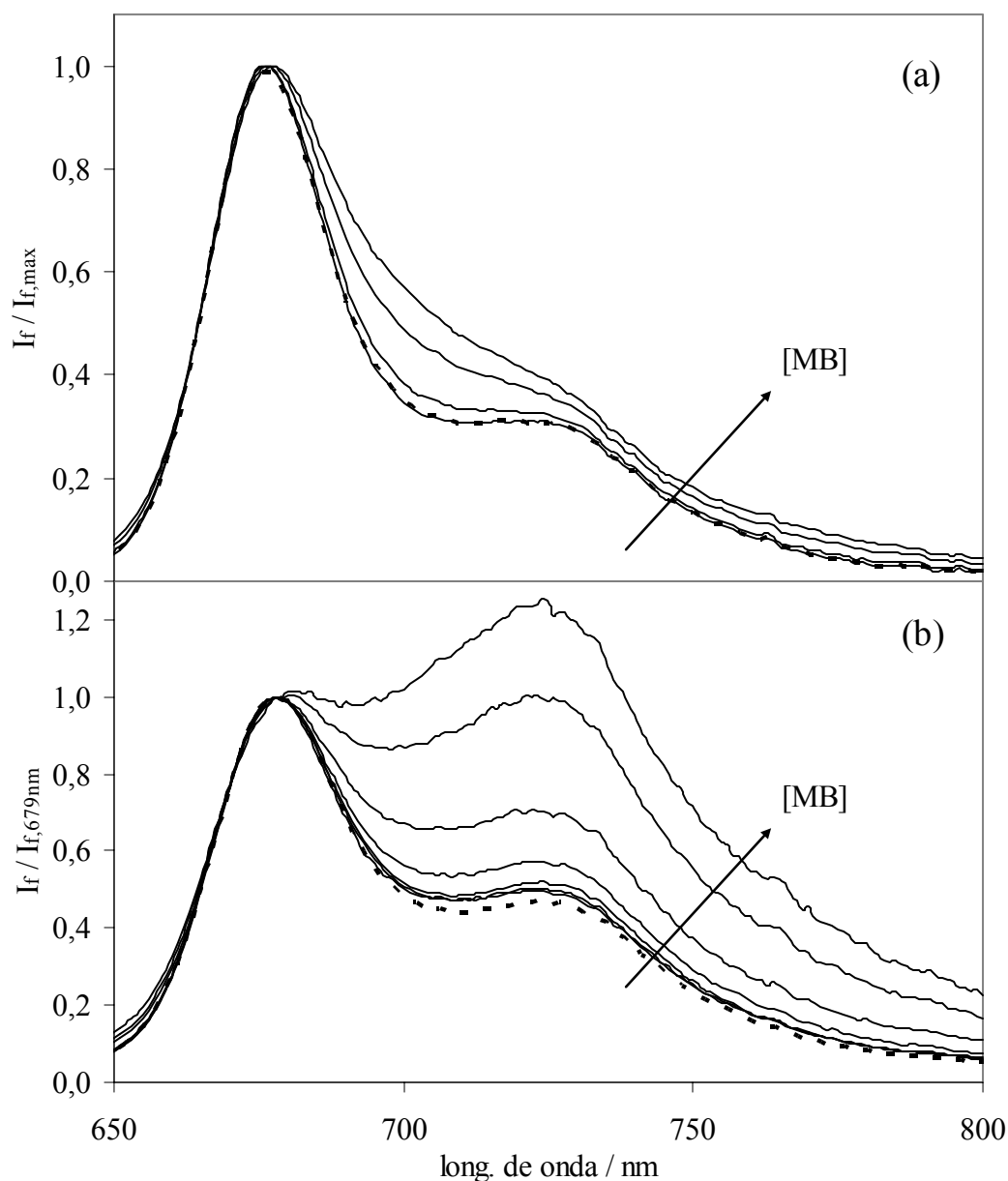


Fig. V.4. Espectros de emisión en capa fina (a) y gruesa (b) para la muestra P (línea quebrada) y PMB-IV a PMB-VII (líneas llenas). Longitud de onda de excitación: 414 nm.

La transferencia no radiativa de energía se verifica efectivamente en las capas finas, ya que los espectros de emisión pueden descomponerse en la suma de los espectros de Pheo y MB puros, aún cuando MB no sea directamente excitado. Esto se observa en la Fig. V.5 (a) para la muestra PMB-V. La reconstrucción de los espectros para las muestras PMB-VI y PMB-VII es de similar calidad. Para las muestras menos concentradas (PMB-I a PMB-IV), los espectros de fluorescencia en capa fina son

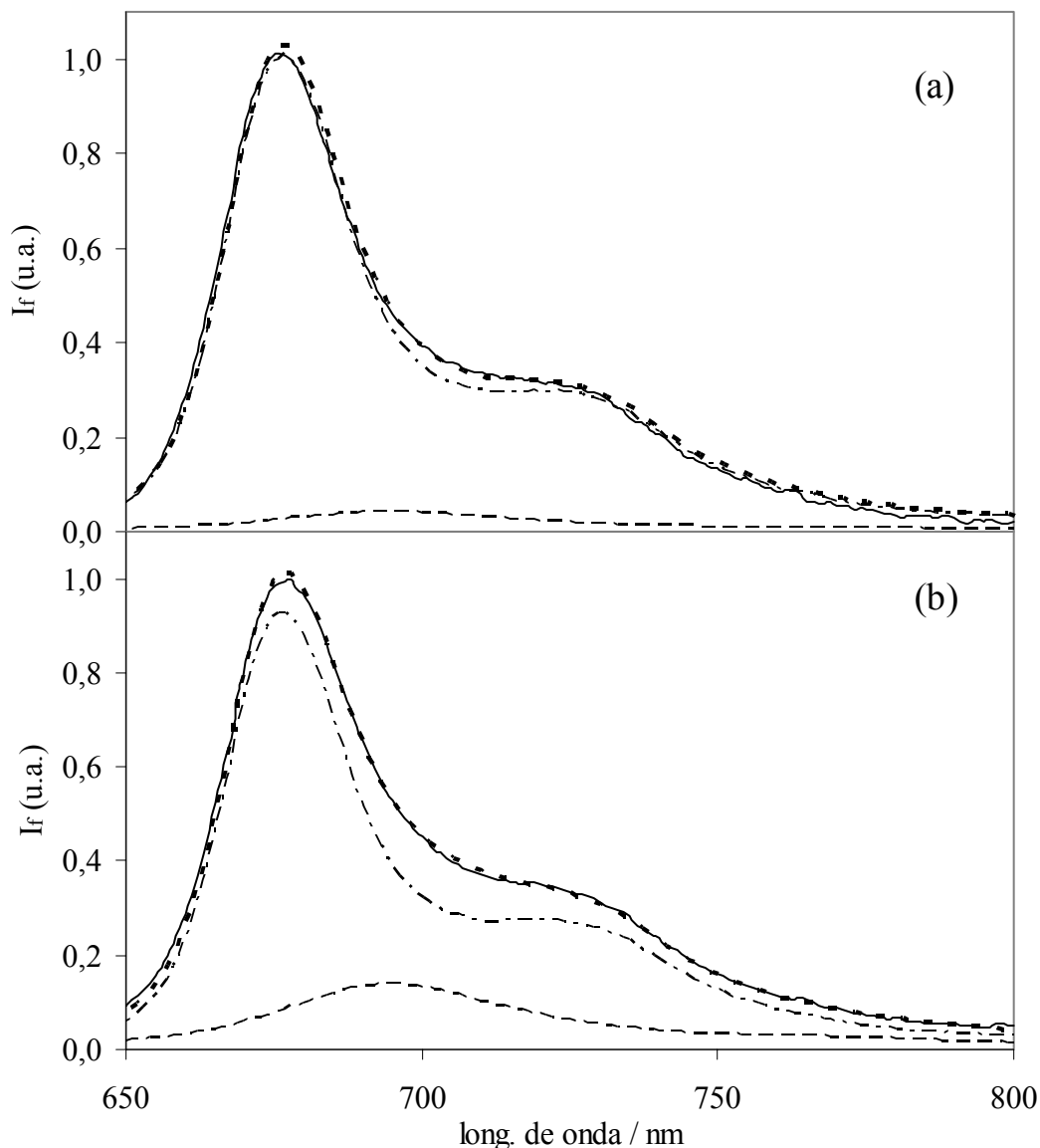


Fig. V.5. Reconstrucción de los espectros de fluorescencia en capa fina (a) y capa gruesa corregido dividiendo por $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$ (b) para la muestra PMB-V: experimental/corregido (líneas llenas), componente de Pheo puro (línea de puntos y rayas), componente de MB puro (línea quebrada) y reconstrucción (puntos). Longitud de onda de excitación: 414 nm.

coincidentes, dentro del error experimental, con el espectro de Pheo puro; por lo tanto, la transferencia no radiativa de energía puede despreciarse para estas muestras. Las muestras más concentradas, PMB-VIII y PMB-IX, no fueron tenidas en cuenta debido a que la agregación de MB es apreciable. Con el objeto de reconstruir los espectros de

fluorescencia observados, se tuvo mucho cuidado en la selección de los espectros de las componentes individuales. Debido a que el espectro de fluorescencia de MB depende de la concentración (corrimiento de Stokes dependiente de la concentración, ver Sección IV.4), como primera aproximación, para cada muestra combinada fue seleccionado el espectro de MB puro de similar concentración. Para Pheo fue utilizado el espectro de fluorescencia de la muestra P (ausencia de MB). El hecho de que los espectros de emisión en capa fina puedan ser reconstruidos a partir de los espectros puros de ambos colorantes permite, en principio, descartar la formación de excíplejos.

Los espectros en capa gruesa divididos por $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$ deberían ser una combinación lineal de los espectros de Pheo y MB (Sección III.1), como pudo demostrarse para las capas finas. Efectivamente, dichos espectros pudieron ser reconstruidos con el mismo grado de confianza que para las capas finas. En la Fig. V.5 (b) se muestra un ejemplo de reconstrucción para la muestra PMB-V. A diferencia de las capas finas, la contribución de MB al espectro de emisión es evidente para las capas gruesas aún para la muestra PMB-III, aumentando paulatinamente con el aumento de concentración. Esto se debe a que en los espectros en capa gruesa corregidos por reabsorción contribuyen a la excitación de MB tanto el mecanismo no radiativo como el radiativo de transferencia de energía.

V.2.4. Transferencia de energía

Las eficiencias de transferencia no radiativa de energía, E_{DA} , pueden calcularse considerando que a la longitud de onda de excitación sólo absorbe el donador y que la transferencia no radiativa inversa (A-D) es despreciable (ver más adelante). El cálculo se realiza a través de los cocientes entre las áreas bajo el espectro de emisión del aceptor, J_A , y el espectro del donador, J_D , para capas gruesas corregidas por reabsorción y para capas finas, respectivamente:

$$\left(\frac{J_A}{J_D} \right)_{CG} = \frac{\Phi_D P_{DA} + \frac{E_{DA}}{1 - E_{DA}} \Phi_A}{1 - \Phi_A P_{AA}} \frac{\Phi_A}{\Phi_D} \quad (V.1)$$

$$\left(\frac{J_A}{J_D}\right)_{CF} = \frac{E_{DA}}{1-E_{DA}} \frac{\Phi_A}{\Phi_D} \quad (V.2)$$

Las ecuaciones (V.1) y (V.2) se obtienen a partir de las ecuaciones generales (III.15) y (III.16), en las condiciones particulares establecidas anteriormente, es decir, absorción exclusiva por el donador a λ_0 y ausencia de transferencia no radiativa inversa (A y B representan en las ecuaciones (III.15) y (III.16) al donador, D, y al aceptor, A, respectivamente). La definición de las integrales P_{DA} y P_{AA} se dieron en la Sección III.1 (ecuación (III.1)). Las eficiencias de transferencia de energía calculadas para capa fina y capa gruesa se informan en la Tabla V.1, junto con los valores de las integrales P_{ij} , y su dependencia con la concentración de aceptor se muestra en la Fig. V.6.

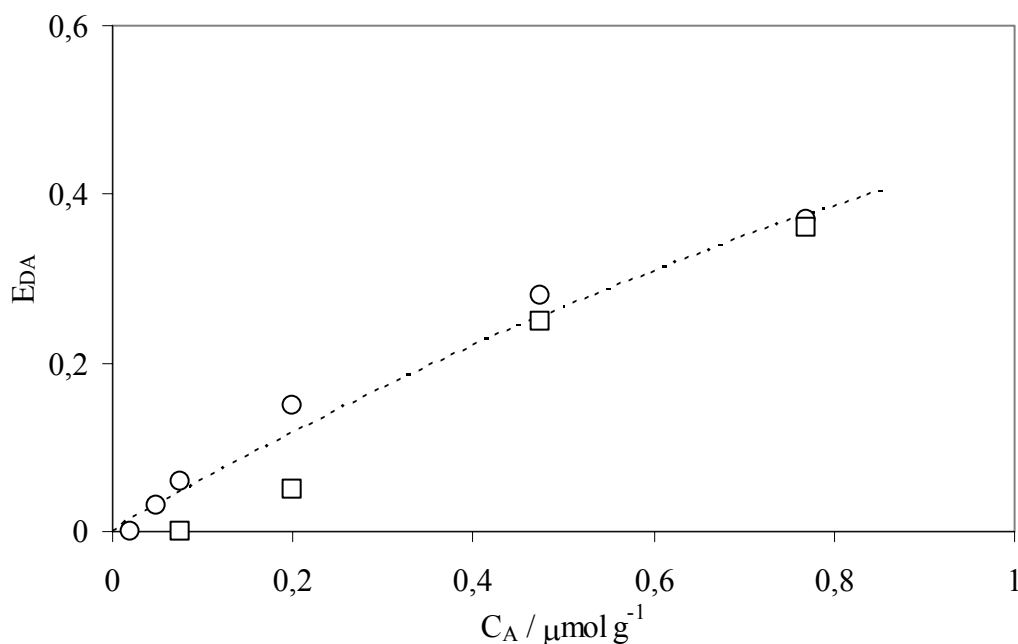


Fig. V.6. Eficiencias de transferencia no radiativa de energía entre Pheo (D) y MB (A) coadsorbidos en celulosa, calculadas a partir de experiencias en capa gruesa (círculos) y capa fina (cuadrados). La línea punteada corresponde al ajuste considerando una distribución aleatoria bidimensional de colorantes y el mecanismo de transferencia de energía de Förster (ver texto).

Los rendimientos cuánticos de fluorescencia verdaderos usados fueron los obtenidos para los monómeros puros de Pheo, $\Phi_D = 0,21$, y MB, $\Phi_A = 0,18$ (Sección IV.4). Para la muestra PMB-VII, la probabilidad de transferencia no radiativa de energía coincide para capa gruesa y fina en aproximadamente 40%. Sin embargo, a medida que la concentración de MB decrece, las eficiencias calculadas en capa fina disminuyen más rápidamente que los valores en capa gruesa. Probablemente estas diferencias sean el resultado de un importante error involucrado en la comparación de espectros muy similares a concentraciones de MB moderadas para las capas finas y la amplificación para las capas gruesas de pequeñas incertidumbres en la corrección por $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$. Otras posibles fuentes de error se discuten a continuación.

La Fig. V.7 muestra las funciones de remisión y los espectros de fluorescencia normalizados para Pheo y MB. Puede observarse que existe un apreciable solapamiento entre cada espectro de función de remisión y cada espectro de fluorescencia, por lo que la transferencia inversa de energía (A-D) no puede, en principio, descartarse. La ecuación (V.1) no involucra explícitamente a la probabilidad de transferencia radiativa

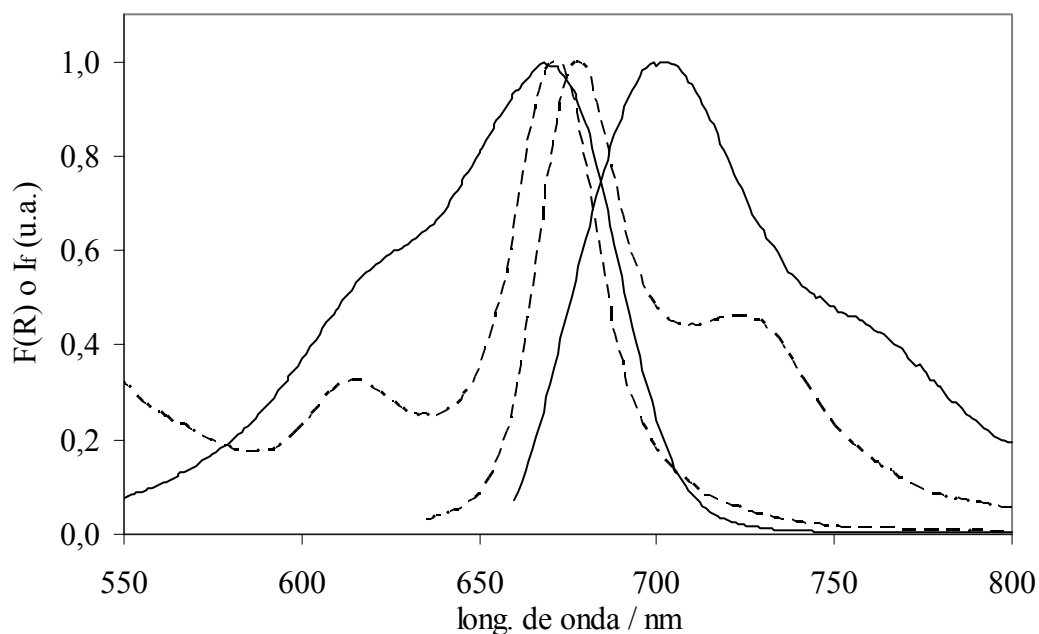


Fig. V.7. Espectros de función de remisión y fluorescencia normalizados para Pheo (línea quebrada) puro en celulosa y MB (línea llena) en el entorno Pheo-celulosa.

inversa (P_{AD}). Sin embargo, este fenómeno afecta el valor de E_{DA} calculado de manera indirecta, a través del valor de P_{AA} , ya que $P_{AA} + P_{AD} + Q_A = 1$ (absorción despreciable del soporte). Por lo tanto, como la probabilidad de transferencia radiativa A-D fue considerada en los cálculos, las diferencias entre las eficiencias de transferencia no radiativa de energía calculadas para capa gruesa y capa fina no pueden justificarse por el posible efecto de la reabsorción A-D.

Las ecuaciones del modelo desarrollado (Sección III.1) no implican ningún mecanismo particular de transferencia no radiativa de energía. Si se toma en cuenta que el área superficial disponible debería ser menor que $132 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ (ver Sección V.2.1) y considerando una distribución bidimensional aleatoria de moléculas de colorante, a una concentración de MB de $1 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ la distancia promedio entre moléculas de MB debería ser menor que 15 nm. Como comparación, la misma distancia se obtendría en tres dimensiones para una concentración de 0,5 mM. Por lo tanto, la distancia media entre Pheo y moléculas de MB debería ser una fracción de este valor y el mecanismo de transferencia de energía prevaleciente podría ser el de Förster. Más aún, el hecho de que los espectros de función de remisión sean combinaciones lineales de dos componentes independientes, de las cuales una de ellas es el espectro de Pheo puro, puede ser considerado como evidencia de la ausencia de agregados mixtos (heteroagregados) que desactiven el estado excitado.

Para evaluar la posible magnitud de la transferencia no radiativa inversa de energía, los radios de Förster, R_0 , fueron estimados para todas las posibles vías de transferencia. Debido a que los coeficientes de absorción para Pheo y MB sólo se conocen en forma relativa a partir de las funciones de remisión, las integrales de solapamiento de Förster,¹² J_{ij} , fueron calculadas para los colorantes monoméricos en etanol (ver Sección II.9). Esta es una buena aproximación debido a que la relación entre los coeficientes de absorción en solución es similar a la relación entre $F(R)$ para los colorantes adsorbidos. Los valores obtenidos para J_{ij} ($\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ nm}^4$) y R_0 (Å) son: $4,26 \times 10^{15}$ y 44,7 (D-D), $5,24 \times 10^{15}$ y 44,3 (A-A), $8,38 \times 10^{15}$ y 50,1 (D-A), y $2,51 \times 10^{15}$ y 39,1 (A-D). Para estos cálculos se utilizó un factor de orientación $\kappa^2 = 0,476$ (distribución de orientaciones aleatorias fijas en el tiempo) y el índice de refracción del glicerol ($n = 1,47$) como representativo del microentorno en la superficie de la celulosa. De estos resultados puede decirse que a similares concentraciones la probabilidad de transferencia de energía D-A es mayor que la probabilidad de transferencia en el sentido inverso. La transferencia de energía inversa sería favorable para muestras con un exceso

de Pheo, para las cuales la transferencia no radiativa directa de energía es despreciable. Como se excita inicialmente al donador y las muestras con transferencia de energía apreciable tienen una mayor concentración de aceptor, puede considerarse que la transferencia no radiativa inversa de energía es despreciable. Entonces, las diferencias entre E_{DA} calculadas para capa gruesa y capa fina no pueden justificarse de esta manera.

La posibilidad de transferencia inversa de energía no permite justificar la diferencia existente entre los valores de E_{AD} obtenidos para capas finas y capas gruesas, razón por la cual se propone que las mismas son debidas exclusivamente a error experimental.

Por otro lado, la ocurrencia de migración de la energía de excitación entre moléculas de donador, que podría ser relevante a bajas o moderadas concentraciones de MB, no puede ser responsable de las desviaciones observadas. De hecho, E_{DA} es una probabilidad general de transferencia que incluye los posibles efectos de la migración. Los cálculos de transferencia de energía a partir de la simulación computacional mediante el modelo descrito en la Sección III.2 demuestran que, en las condiciones de trabajo, la migración de la energía de excitación entre donadores no tiene efectos apreciables en las eficiencias de transferencia.

La Tabla V.1 contiene además una eficiencia de transferencia de energía formal para capa gruesa, E'_{DA} , que incluye los mecanismos radiativo y no radiativo, definida de acuerdo con:

$$\left(\frac{J_A}{J_D} \right)_{CG} = \frac{E'_{DA} \Phi_A}{1 - E'_{DA} \Phi_D} \quad (V.3)$$

Esta ecuación es similar a la ecuación (V.2) para capa fina, de manera tal que E'_{DA} incluye la eficiencia de la transferencia radiativa de energía en las capas gruesas. Sus valores son naturalmente mayores que los de E_{DA} . Debe observarse, sin embargo, que la diferencia no es tan grande para las muestras más concentradas, revelando que el mecanismo radiativo tiene una influencia menor en la transferencia neta de energía. Esto es razonable, ya que la eficiente transferencia no radiativa de energía disminuye la población del estado excitado del donador, inhibiendo la emisión de fluorescencia y su posterior reabsorción. Este hecho no se opone a los importantes efectos de filtro interno que se muestran en la Fig. V.4 (b), que se deben principalmente a la reabsorción de la

fluorescencia remanente del donador: la reemisión es mucho menos importante debido al relativamente bajo rendimiento cuántico de fluorescencia de MB.

La dependencia de E_{DA} con la concentración de aceptor fue evaluada considerando transferencia de energía por resonancia (Förster) para una distribución aleatoria de donadores y aceptores. Debido a que se desconoce exactamente la dimensionalidad del sistema, se ensayaron distribuciones bi- y tri-dimensionales. Dado que las concentraciones se conocen en μmol de colorante por gramo de celulosa y son necesarias las concentraciones por unidad superficial o volumétrica, se utilizó como parámetro de ajuste el área superficial y el volumen, respectivamente, por gramo de celulosa. Los cálculos se realizaron en base la ecuación general (III.20), considerando un radio de exclusión nulo. En la Fig. V.6 se observa el ajuste para 2D. La curva para 3D es prácticamente igual a la anterior. Estos resultados avalan que el mecanismo de Förster sea responsable de la transferencia no radiativa de energía. Sin embargo, no es posible determinar de esta manera la dimensionalidad del sistema.

Del ajuste en 2D resulta un área superficial de aproximadamente $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Este área superficial es un valor práctico, ya que fue estimada suponiendo un sistema bidimensional y la dimensionalidad fractal del sistema probablemente esté entre 2 y 3. Lagorio *et al.* determinaron una dimensionalidad fractal igual a 2,5 para celulosa microcristalina a partir del estudio de los decaimientos de la fluorescencia de Pheo. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la dimensionalidad del sistema puede variar en función de la distribución de los colorantes en el polímero y por lo tanto depende de las condiciones de preparación de las muestras.

En el sistema estudiado, la adsorción de los colorante se llevó a cabo desde etanol, cuya capacidad para hinchar la celulosa es menor que la del agua. El valor del área superficial estimada, $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, es intermedio, como era de esperarse, entre los valores determinados por adsorción de N_2 , $(2,5 \pm 1) \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, y de vapor de agua, $(132 \pm 3) \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ (ver Sección V.2.1).

V.2.5. *Discusión*

A través de la aplicación del modelo general descrito en la Sección III.1 fue posible evaluar cuantitativamente los procesos fotofísicos en el sistema mixto Pheo-MB. Pheo, excitado en forma directa y actuando como donador, es capaz de transferir su

energía de excitación a MB, que actúa como aceptor, por mecanismos radiativos y no radiativos. La transferencia no radiativa de energía ocurre principalmente por resonancia, a través del mecanismo de Förster (Sección II.9) y es la principal vía de transferencia de energía a elevadas concentraciones de aceptor, alcanzando una eficiencia máxima cercana al 40% (Tabla V.1).

La interacción entre ambos colorante es débil, de manera tal que no se evidencia formación de heteroagregados ni de excíplejos. Sin embargo, la presencia de Pheo disminuye la tendencia a la agregación de MB y altera su espectro de absorción. Esto se debe probablemente a la disminución en la micropolaridad del entorno de MB por la presencia de Pheo, que posee carácter hidrofóbico.

No fue posible determinar la dimensionalidad del sistema, pero considerando una distribución aleatoria de los colorantes en dos dimensiones pudieron ajustarse los resultados de eficiencia de transferencia no radiativa de energía en función de la concentración de MB (aceptor), a partir de considerar un área superficial de $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, intermedia entre el área accesible al N_2 y al H_2O . Como se verá más adelante, este resultado fue consistentemente obtenido para otros sistemas de colorantes adsorbidos desde etanol.

V.3. Rodamina 101 unida y azul de metileno adsorbido en celulosa

Para preparar este sistema se partió de celulosa funcionalizada con rodamina 101 (R101) y se adsorbió azul de metileno (MB). El espectro de emisión de R101 presenta un importante solapamiento con la absorción de MB, como puede observarse en la Fig. V.8. De esta manera, si se excita el sistema en una región del espectro donde adsorba preferentemente R101 (donor) es posible estudiar la transferencia de energía hacia MB (aceptor). El solapamiento entre la emisión de MB y la absorción de R101 es despreciable, de manera tal que puede descartarse de plano la transferencia inversa de energía (A-D).

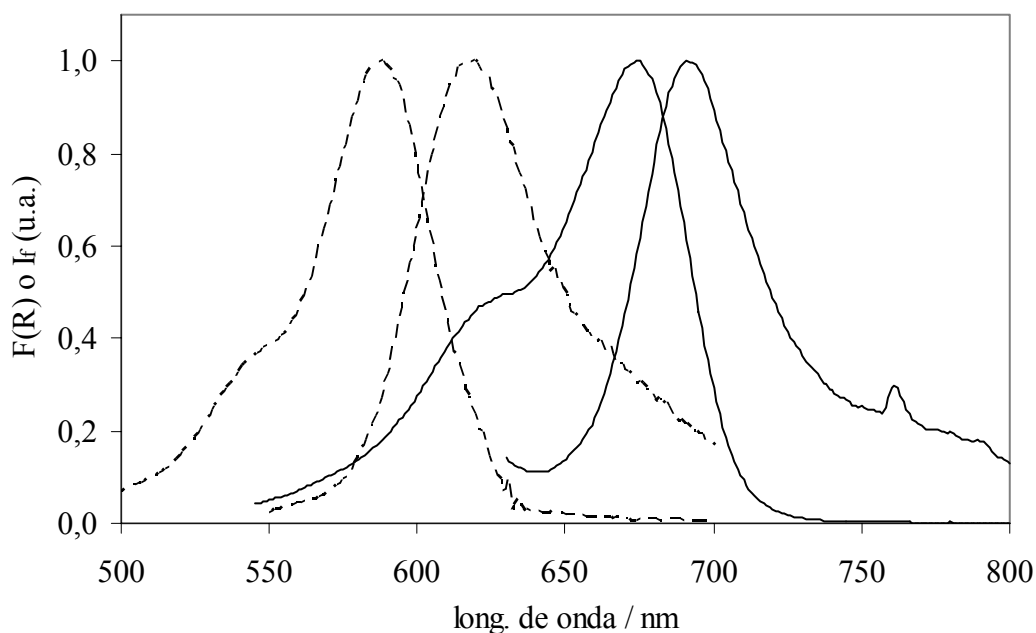


Fig. V.8. Espectros de función de remisión y fluorescencia normalizados para R101 unido químicamente a celulosa (línea quebrada) y MB (línea llena) adsorbido en el mismo soporte.

V.3.1. Reactivos y preparación de las muestras

Las muestras fueron preparadas por adsorción de MB sobre celulosa funcionalizada con R101 (ver Sección IV.2). Para la preparación de cada muestra, se suspendió 1 g de la celulosa funcionalizada ($[R101] \sim 0,6 \mu\text{mol g}^{-1}$) en 30 cm^3 de una solución de concentración conocida de MB en etanol (grado analítico, Cicarelli) y el solvente fue evaporado en un evaporador rotatorio a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 20 minutos. Las muestras fueron posteriormente secadas al vacío a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 48 a 72 horas. Todas las muestras fueron secadas de la misma manera antes de realizar las mediciones. Se prepararon muestras que contienen la misma concentración de R101 unida y diferentes concentraciones de MB adsorbido (ver Tabla V.2).

Tabla V.2. Eficiencias de transferencia de energía para el sistema R101-MB.

Muestra [†]	C _A (μmol g ⁻¹) *	E _{DA} (CF) [‡]	E _{DA} (CG) [§]	E _{DA} ^{rad} (CG) [§]
S0	0	–	–	–
SI	0,043	0,12	0,21 ± 0,02	0,02-0,04
SII	0,113	0,23	0,26 ± 0,02	0,06-0,10
SIII	0,428	0,41	0,41 ± 0,03	0,11-0,17
SIV	0,856	0,58	0,63 ± 0,06	0,10-0,14

[†] F_{R101 max} = 0.74; * concentración de MB; [‡] λ₀ = 520 nm; [§] λ₀ = 520 – 600 nm

V.3.2. Absorción

Se obtuvieron los espectros de reflectancia difusa y se calcularon los espectros verdaderos de función de remisión. A tal fin se midieron las reflectancias de diferentes maneras de acuerdo al intervalo de longitudes de onda considerado. Entre 400 y 615 nm, intervalo en que se excita R101, que es altamente fluorescente, se determinaron las reflectancias con y sin filtro (Schott BG39, 1 mm) y, en base a estos datos, se calcularon los espectros corregidos por emisión, de acuerdo con el método descrito en la Sección II.4. En el intervalo de 625 a 800 nm se determinaron las reflectancias directamente, ya que sólo se excita principalmente MB, que es relativamente poco fluorescente ($\Phi = 0,18 \pm 0,03$), y por lo tanto no es necesario hacer dichas correcciones. Los espectros de función de remisión normalizados se muestran en la Fig. V.9. Existe una pequeña incertidumbre alrededor de 615-625 nm, la zona intermedia entre la aplicación de ambos métodos. La banda de absorción principal correspondiente a R101 unida se localiza a (589 ± 2) nm y una segunda banda aparece a (672 ± 2) nm, que crece a medida que la concentración de MB aumenta. Aplicando el método de regresión bilineal descrito en la Sección II.5, se obtuvo una excelente reconstrucción de los espectros de función de remisión a partir de los correspondientes a R101 unida y MB monomérico en celulosa. La función de remisión a 672 nm, en que R101 unida no absorbe, guarda una

relación lineal con la concentración de MB (ver inserto de la Fig. V.9). Estos resultados muestran que no hay formación de heteroagregados y que los espectros de absorción de R101 unida y del monómero de MB adsorbido no cambian sustancialmente en las muestras combinadas. No se observa evidencia de agregación de MB en el intervalo de concentraciones estudiado, mientras que para MB puro se obtuvo una importante

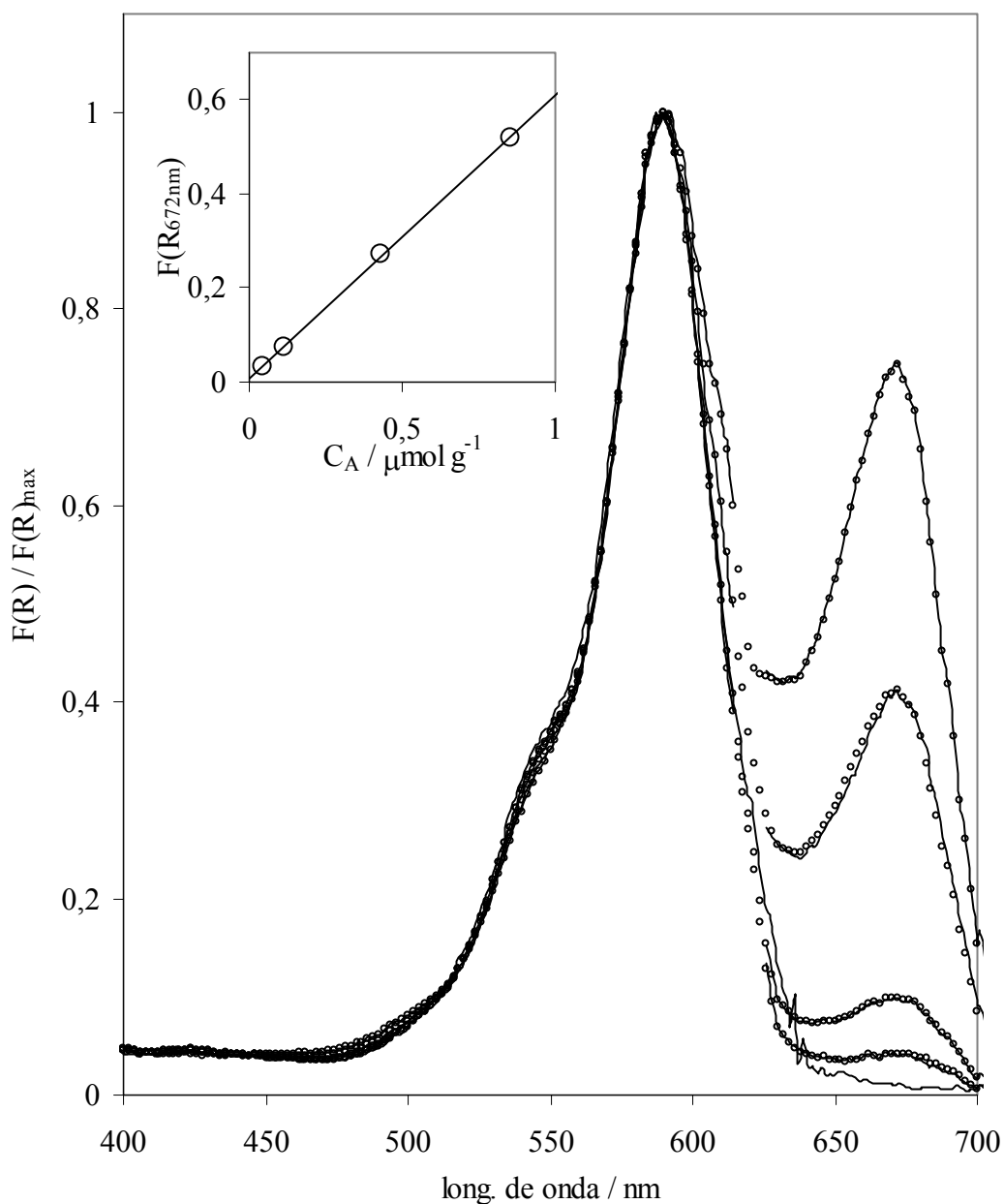


Fig. V.9. Espectros de función de remisión normalizados de SI a SIV (de abajo hacia arriba: líneas llenas, experimental; círculos, reconstrucción) y R101 puro (línea llena, experimental); inserto: función de remisión a 672 nm vs concentración de MB.

agregación en el mismo intervalo (ver Sección IV.4). Un efecto similar se observó para el sistema Pheo-MB coadsorbidos, que fue atribuido a una reducción en la micropolaridad del entorno debido a la presencia del co-adsorbato hidrofóbico no cargado (Pheo). En dicho caso se observaron también cambios en las amplitudes relativas de las bandas de absorción del monómero de MB. Aún cuando se observa un excelente acuerdo entre los espectros experimentales y reconstruidos, un cambio similar podría no detectarse debido a la importante absorción de R101 a 589 nm. Las razones de la inhibición de la agregación no están claras en el presente caso debido a que ambos colorantes son polares y catiónicos, ya que R101 pierde su carga negativa por esterificación.

V.3.3. Emisión y rendimientos cuánticos de fluorescencia

Los espectros de fluorescencia en capa fina y gruesa, que se muestran en la Fig. V.10, fueron obtenidos a una longitud de onda de excitación de 520 nm, donde la absorción de MB es despreciable. Es importante mencionar que, mientras que para las capas gruesas las áreas bajo los espectros de emisión son proporcionales a los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados, para las capas finas sólo tienen sentido las amplitudes relativas de las bandas de fluorescencia en cada espectro; por esa razón los espectros de capa fina se muestran normalizados en la Fig. V.10 (a).

En las capas finas aparece un hombro hacia el rojo de la banda de emisión de R101, centrada a (619 ± 2) nm, evolucionando hacia una banda centrada alrededor de 692 nm a medida que la concentración de MB aumenta. Estos espectros de emisión pueden descomponerse en los espectros de emisión de R101 y MB, teniendo en cuenta que la emisión de MB sufre un corrimiento batocrómico con el aumento de concentración. De estos resultados puede concluirse que (1) puede descartarse la formación de excíplejos, (2) los efectos de reabsorción son despreciables en las capas finas, y (3) existe clara evidencia de la verificación de transferencia no radiativa de energía entre R101 y MB.

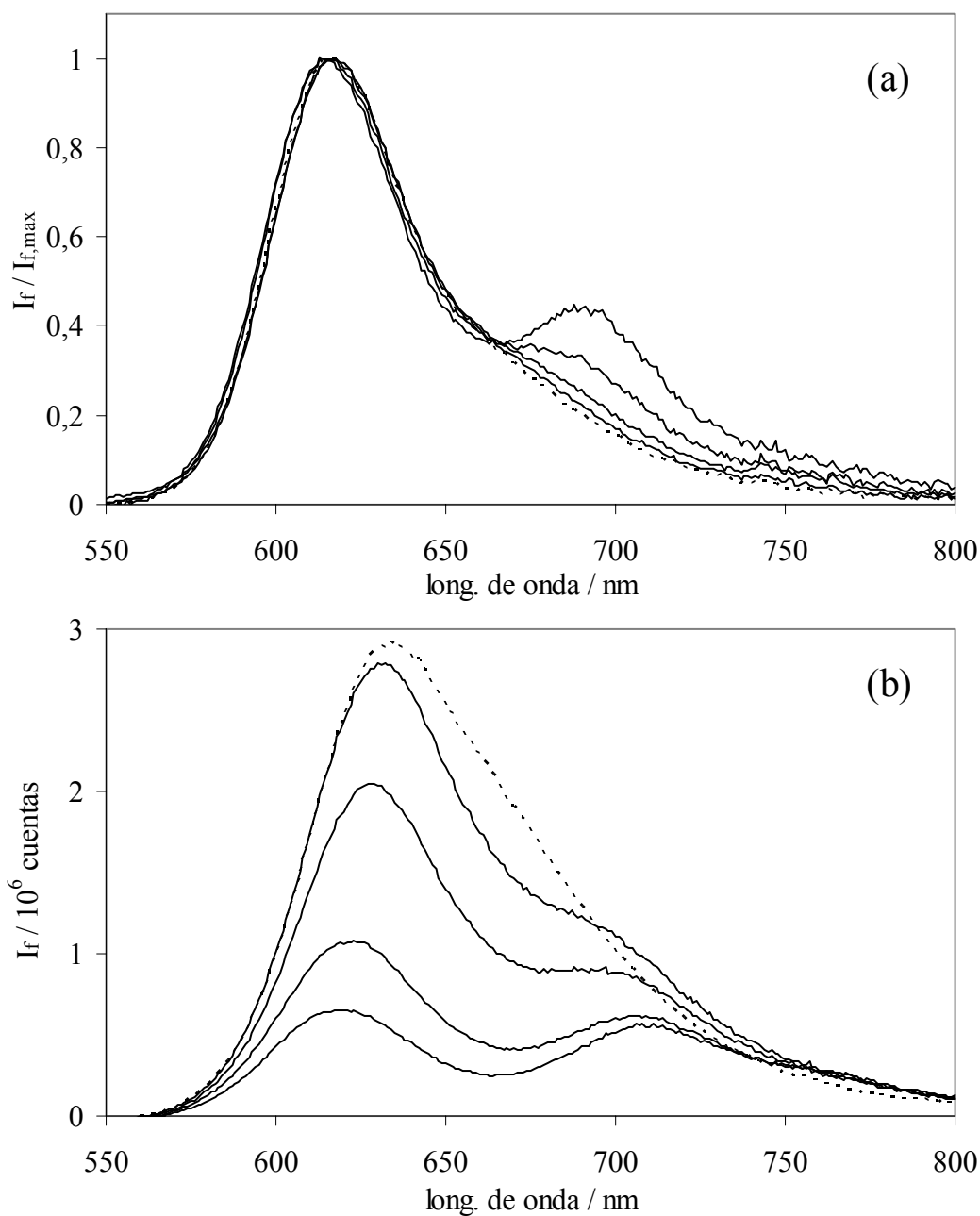


Fig. V.10. Espectros de fluorescencia de capas finas (a) y gruesas (b), muestras S0 (línea quebrada) y SI a SIV (líneas llenas, de abajo hacia arriba en (a) y de arriba hacia abajo en (b)).

Los espectros de emisión en capa gruesa fueron corregidos por reabsorción mediante la división por $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$ y comparados con los espectros en capa fina, como se observa en la Fig. V.11 para la muestra SIV. Las amplitudes relativas no coinciden para la mayor concentración de MB debido a los efectos de la transferencia radiativa de

energía. Sin embargo, la coincidencia entre los máximos para cada banda indica que el procedimiento de corrección es adecuado.

Los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados, Φ_{obs} , calculados en forma absoluta para capa gruesa entre 500 y 600 nm de acuerdo al procedimiento descrito en la Sección II.4, se muestran en la Fig. V.12. Son dependientes de la longitud de onda y decrecen a medida que la concentración de MB aumenta debido al efecto combinado de la transferencia radiativa y no radiativa de energía, considerando que el rendimiento cuántico de fluorescencia de MB es menor que el de R101. Los ajustes cuadráticos en la figura muestran simplemente la dependencia con la longitud de onda y no tienen ningún significado teórico.

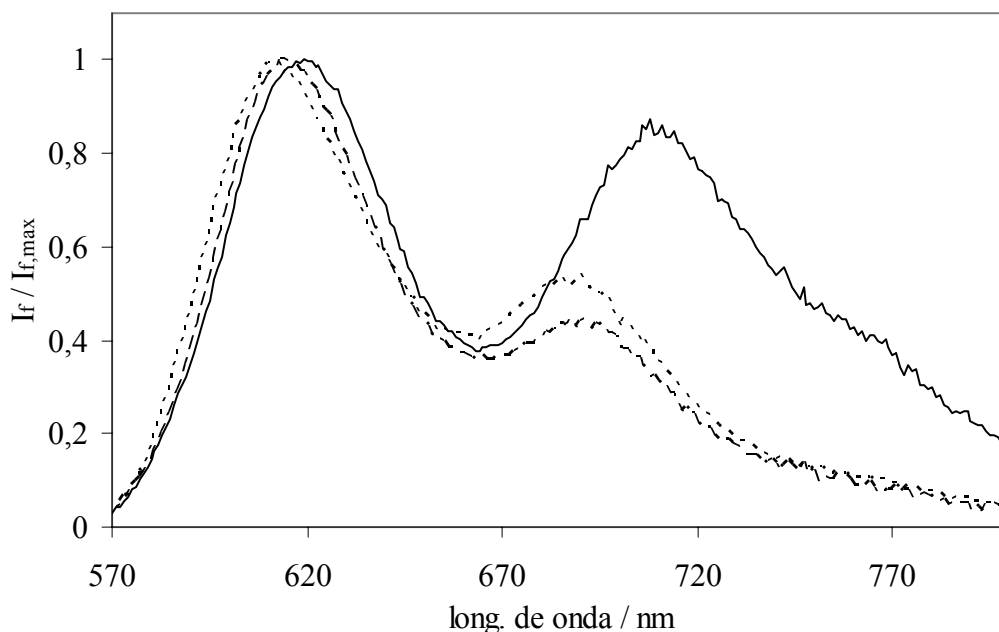


Fig. V.11. Espectros de emisión en capa gruesa (línea llena), capa fina (línea quebrada) y capa gruesa corregido (línea punteada) de la muestra SIV. Longitud de onda de excitación: 520 nm.

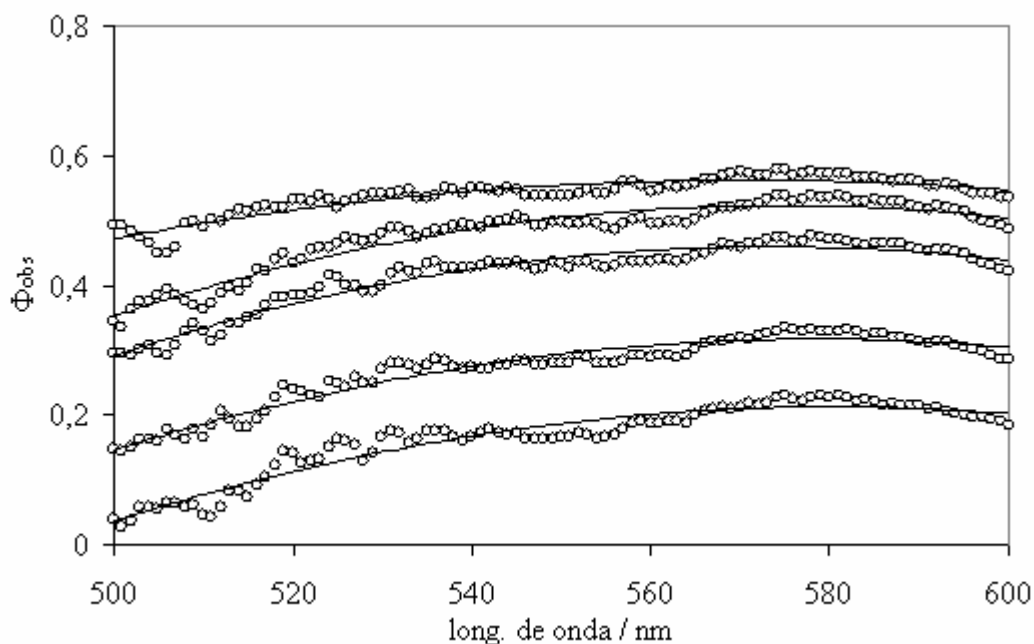


Fig. V.12. Rendimientos cuánticos de fluorescencia observados para S0 a SIV (de arriba hacia abajo); las líneas llenas son ajustes cuadráticos.

V.3.4. Transferencia de energía

Las eficiencias de transferencia no radiativa de energía fueron calculadas a partir de los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados para muestras en capa gruesa (Fig. V.12) en base a la siguiente ecuación:

$$\Phi_{\text{obs}} = \frac{\alpha_{0D}}{1 - p_{DD}} \left[q_D + p_{DA} \cdot \frac{q_A}{1 - p_{AA}} \right] \quad (\text{V.4})$$

y se representan en la Fig. V.13, para longitudes de onda de excitación entre 520 y 600 nm. La ecuación (V.4) se obtiene a partir de la ecuación general (III.9) considerando que sólo se excita directamente al donador y que no hay transferencia inversa de energía (A y B representan en la ecuación (III.9) al donador, D, y al aceptor, A, respectivamente). Para este intervalo de excitación se obtienen valores prácticamente constantes para cada muestra y sus promedios e incertidumbres se hallan en la Tabla V.2. Debe notarse, sin embargo, que los errores experimentales son significativos particularmente para las menores concentraciones de aceptor, para las cuales los rendimientos cuánticos de

fluorescencia son similares a los hallados para R101 pura. E_{DA} también fue calculado para capas finas a partir de las intensidades de emisión relativas del donador y el aceptor utilizando la ecuación (V.2). Los resultados, para excitación a 520 nm, se muestran también en la Tabla V.2.

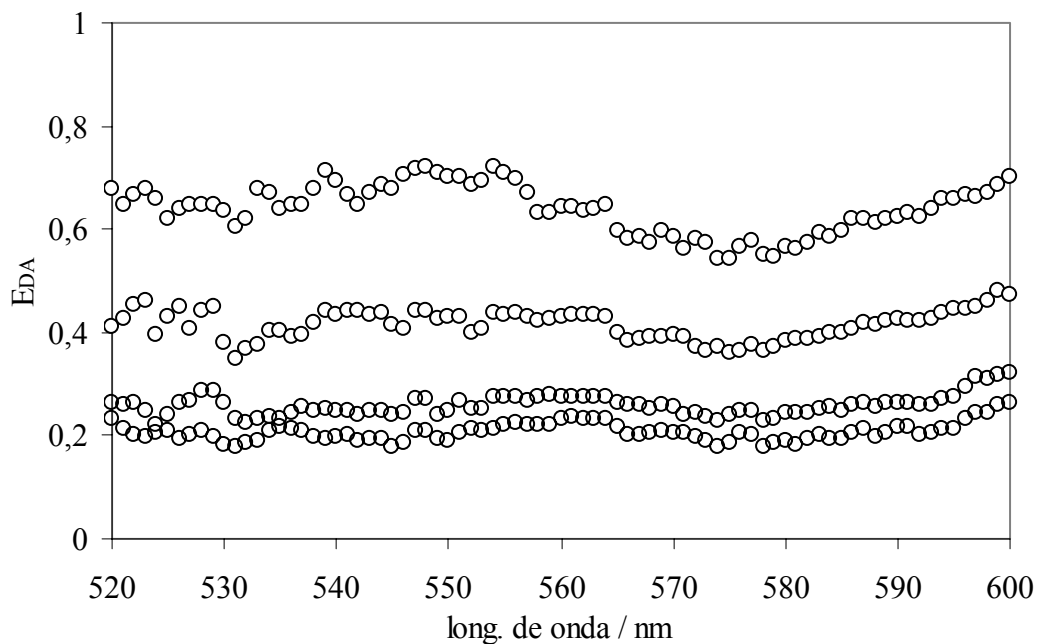


Fig. V.13. Eficiencias de transferencia no radiativa de energía de SI a SIV (de abajo hacia arriba).

Las eficiencias de transferencia no radiativa de energía calculadas en capas finas y gruesas coinciden bastante bien, excepto para la muestra más diluida. Discrepancias similares halladas en el sistema Pheo-MB fueron atribuidas a error experimental. En este caso también existen importantes errores en el análisis de las capas gruesas y las capas finas muestran pequeñas diferencias entre el espectro de emisión de R101 pura y los espectros de las muestras combinadas, como se observa en la Fig. V.10 (a) a las menores concentraciones de aceptor. En la Fig. V.14 se representa E_{DA} en función de la concentración de aceptor. Se calcularon también eficiencias de transferencia trivial, E_{DA}^{rad} , para las capas gruesas a partir de la siguiente ecuación:

$$E_{DA}^{\text{rad}} = \Phi_D \cdot (1 - E_{DA}) \cdot P_{DA} \quad (\text{V.5})$$

Esta ecuación se obtiene a partir de la expresión para la probabilidad neta de transferencia D-A, $p_{DA} = \Phi_D(1 - E_{DA})P_{DA} + E_{DA}$ (ver Sección III.1). Si el segundo término es la eficiencia de transferencia no radiativa de energía, entonces el primer término puede interpretarse como la eficiencia de transferencia trivial de energía. E_{DA}^{rad} depende de la longitud de onda de excitación y abarca un intervalo que se muestra en la Tabla V.2.

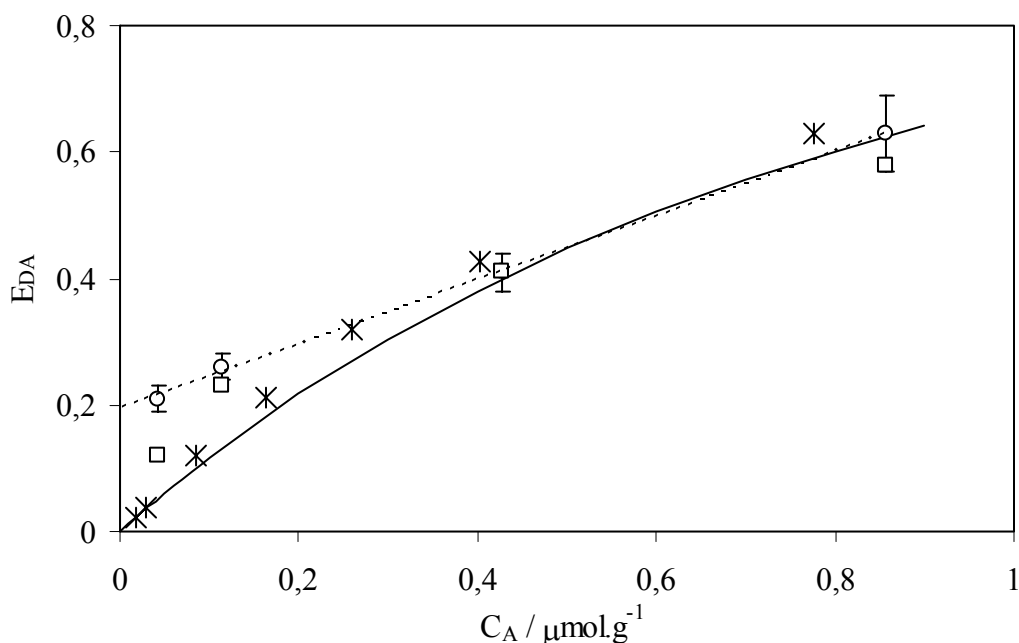


Fig. V.14. Eficiencias de transferencia no radiativa de energía en función de la concentración de aceptor para capa gruesa (círculos) y fina (cuadrados); línea llena: ajuste considerando el mecanismo de transferencia de energía de Förster y una distribución aleatoria bidimensional, para un área superficial de $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$; línea quebrada: correlación aparente; asteriscos: resultados de la simulación computacional considerando la migración de la energía de excitación entre donores (ver texto).

Debido a que en las muestras combinadas no se observa evidencia de agregación de los colorantes ni de formación de excíplejos, se excluyen, en principio, las interacciones fuertes de corto alcance entre las moléculas de R101 y MB. Más aún, los espectros de función de remisión de los colorantes individuales en las mezclas son coincidentes con los hallados para las muestras puras. Sin embargo, las interacciones de largo alcance son evidentes debido a los corrimientos de Stokes dependientes de la concentración apreciados tanto para R101 como para MB. Si se considera una distribución aleatoria de los colorantes en la superficie de la celulosa, la distancia media entre cada molécula de donador y las moléculas de aceptor se halla en el orden de los 11 nm para la muestra más concentrada, considerando un área superficial de $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. De acuerdo con esto, el mecanismo más importante de transferencia de energía es el de Förster.

El solapamiento espectral entre R101 y MB se incrementa respecto del mismo sistema en solución debido al corrimiento batocrómico de la emisión (y la absorción) del donador, producto de la unión química (ver Sección IV.2). La emisión de R101 unida químicamente presenta un máximo cercano a 620 nm que solapa bien con el máximo de absorción secundario de MB, alrededor de la misma longitud de onda, y la cola de emisión de R101 que se extiende más allá de los 700 nm se solapa con el máximo principal de absorción de MB a 674 nm. El radio de Förster, R_0 , fue estimado a partir de los datos de función de remisión. Dado que las funciones de remisión, que dependen del coeficiente de dispersión, sólo son proporcionales a los coeficientes de absorción, los espectros de R101 y MB en celulosa fueron escalados tomando en cuenta sus espectros en etanol. Para ello, las áreas bajo el espectro de función de remisión fueron igualadas a las áreas bajo los respectivos espectros de absorción en etanol. Esto es equivalente a considerar que las respectivas fuerzas del oscilador no cambian con la incorporación al soporte sólido, aún cuando los máximos espectrales y anchos son diferentes. Para R101 se usó el coeficiente de absorción de la forma protonada. Para los cálculos se usó un factor de orientación $\kappa^2 = 0,476$ y el índice de refracción del glicerol ($n = 1,47$) como representativo del microambiente de la celulosa. Para la transferencia D-A y D-D se obtuvieron $R_0 = 58,5 \text{ \AA}$ y $55,2 \text{ \AA}$, respectivamente. La transferencia de energía inversa (A-D) no fue tomada en cuenta debido a que el solapamiento espectral en ese sentido es despreciable.

La dependencia de las eficiencias de transferencia con la concentración de aceptor se ajustó de acuerdo con la teoría de Förster usando la ecuación (III.20),

considerando un radio de exclusión nulo. Dado que se desconoce la dimensionalidad del sistema y la disponibilidad de sitios depende de la penetración del colorante en la matriz del polímero, las concentraciones superficiales y/o volumétricas no pueden calcularse. Considerando el área superficial como parámetro de ajuste para un sistema bidimensional, se obtuvo, como en el sistema anterior, un valor de aproximadamente $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. El correspondiente ajuste se observa en la Fig. V.14. Un valor similar también se obtuvo para el sistema Dapoxyl – naftofluoresceína coadsorbidos en el mismo soporte.¹³ La curva obtenida para un ajuste en 3D es prácticamente igual a la anterior.

Como puede observarse en la Fig. V.14, a bajas concentraciones de aceptor se aprecia una notable desviación de la tendencia predicha por el modelo. Tomando en cuenta los valores para capa gruesa, la línea recta mostrada en la figura describe mejor el comportamiento observado en el intervalo de concentraciones estudiado, pero no posee soporte teórico. Una posible fuente de estas desviaciones puede ser la migración de la energía de excitación entre moléculas de donador. Se realizaron las simulaciones computacionales para 2D teniendo en cuenta la migración (Sección III.2), considerando un área superficial de $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, y los resultados se muestran también en la Fig. V.14. Se observa que la migración entre donadores no explica las importantes desviaciones observadas. Esto indica que probablemente los colorantes no se distribuyen aleatoriamente en el soporte, al menos a bajas concentraciones de aceptor, y esta distribución puede ser el resultado de la unión química de R101 y la incorporación a posteriori de MB.

V.3.5. *Discusión*

Al igual que para el sistema Pheo-MB, la transferencia de energía desde R101 a MB ocurre por mecanismos radiativos y no radiativos. La principal vía de transferencia de energía es no radiativa a través del mecanismo de Förster (Sección II.9), alcanzando una eficiencia máxima de alrededor del 60%. Si se consideran ambos mecanismos, la eficiencia máxima de transferencia neta, obtenida sumando ambas eficiencias de la Tabla V.2, alcanza valores cercanos al 80%, un valor considerablemente alto teniendo en cuenta la distribución desordenada de los colorantes.

No se pudo determinar la dimensionalidad del sistema, pero considerando distribución aleatoria de los colorantes y dos dimensiones fue posible ajustar los

resultados de eficiencia de transferencia no radiativa de energía en función de la concentración de MB (aceptor), al menos para las muestras más concentradas, a partir de un área superficial de $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, igual al valor obtenido para el ajuste en el sistema Pheo-MB. Para las muestras con menor concentración de acepto se obtuvieron eficiencias de transferencia de energía mayores que las esperadas para una distribución aleatoria de donores y aceptores. No fue posible explicar este hecho considerando el efecto de la migración de la energía de excitación entre donores. En conclusión, la distribución de los colorantes probablemente no sea aleatoria. La incorporación de R101 se realizó desde piridina (ver Sección IV.2.1), un solvente que posee baja capacidad de hinchamiento de la celulosa, mientras que MB fue incorporado desde etanol, un solvente prótico con buena capacidad de hinchamiento del soporte. Esta diferencia podría ser la causa de que los colorantes se distribuyan en regiones distintas de la partícula. Sin embargo, si se considera el efecto de inhibición en la agregación de MB por la presencia de R101 y las elevadas eficiencias de transferencia no radiativa de energía obtenidas, ambos colorantes parecen coexistir en la misma región del sólido. Esto es posible porque la unión química de R101 fue llevada a cabo durante mucho mayor tiempo que la adsorción de MB. Descartando el efecto del solvente, es posible que la distribución de MB se vea afectada por la presencia previa de R101 en la celulosa.

V.4. Conclusiones

El modelo desarrollado en la Sección III.1 permite el estudio de la transferencia de energía en sistemas donor-aceptor. Dependiendo de las características del sistema estudiado se pueden plantear diferentes estrategias para el cálculo de las eficiencias de transferencia no radiativa de energía, E_{DA} . Para el sistema Pheo-MB, donde ambos colorantes presentan rendimientos cuánticos de fluorescencia semejantes, las eficiencias de transferencia de energía, para capas ópticamente gruesas de partículas, se calcularon a partir de los espectros de fluorescencia, previamente corregidos por reabsorción, es decir, divididos por $\gamma_{\lambda, \lambda_0}$. Para el sistema R101-MB la mejor estrategia de cálculo se obtuvo a partir de los rendimientos cuánticos de fluorescencia experimentales, Φ_{obs} , ya que ambos colorantes presentan diferentes rendimientos cuánticos de fluorescencia y

Φ_{obs} resulta ser mucho más sensible a los cambios en E_{DA} . En ambos casos, las eficiencias de transferencia no radiativa de energía también se calcularon a partir de los espectros de fluorescencia en capa fina de partículas.

Las eficiencias de transferencia no radiativa de energía calculadas para capa gruesa y capa fina de partículas deberían ser coincidentes, ya que dependen de la distribución local de aceptores alrededor de cada donor, y también de la distribución de donores si se considera la migración de la energía de excitación. Sin embargo, para bajas concentraciones de aceptor, las eficiencias calculadas son menores para capa fina que para capa gruesa. Esto probablemente se deba a errores experimentales que afectan la descomposición de los espectros en capa fina y a incertidumbre en la corrección por reabsorción en capa gruesa.

Los procesos foto físicos involucrados en los sistemas donor-aceptor estudiados se resumen en el esquema de la Fig. V.15, que es un caso especial del diagrama de la Fig. III.1.

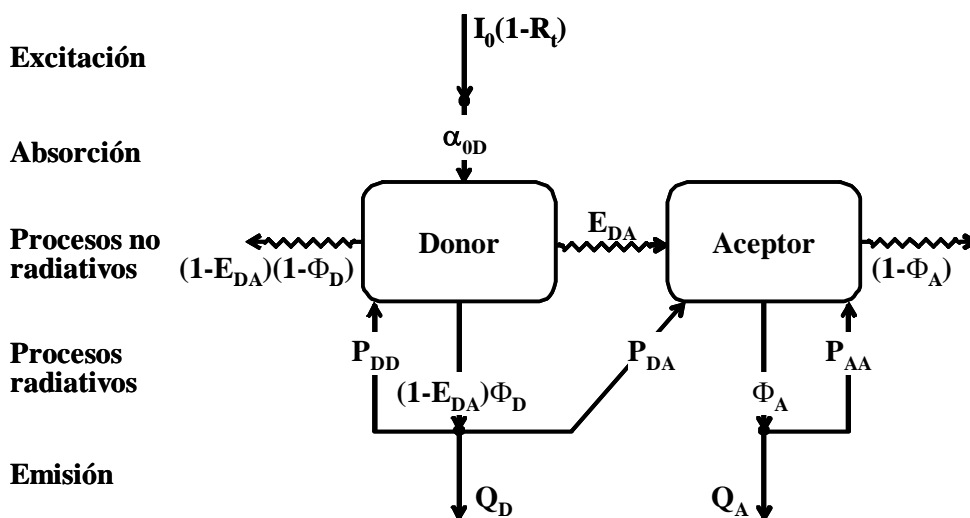


Fig. V.15. Diagrama de flujo de excitación en un sistema donor-aceptor

Una parte de la intensidad de luz de excitación es absorbida por la muestra, $I_0(1-R_t)$, y una fracción α_{0D} excita al colorante donor. El donor excitado puede desactivarse emitiendo un fotón, $(1-E_{DA})\Phi_D$, transfiriendo la energía de excitación por resonancia hacia el aceptor, E_{DA} , o mediante mecanismos de desactivación intrínsecos, $(1-E_{DA})(1-$

Φ_D). Una fracción de la luz emitida por el donor escapa del sistema y se detecta como fluorescencia, Q_D . El resto es reabsorbido por el mismo *pool* de donores, P_{DD} , por los aceptores (transferencia radiativa de energía), P_{DA} , o por el soporte. De esta manera el aceptor puede excitarse por transferencia radiativa y no radiativa de energía desde el donor. Al ser inefectiva la transferencia inversa de energía, el aceptor actúa como trampa de la energía de excitación del donor. El donor actúa como antena para la captación de luz en regiones del espectro donde no absorbe en forma directa el aceptor. Las eficiencias de transferencia de energía resultaron ser notoriamente elevadas para sistemas carentes de una organización molecular preestablecida.

La incorporación del colorante donor puede afectar la agregación del aceptor. En los casos estudiados, la presencia del donor reduce la tendencia a la agregación del aceptor. El efecto inverso, la reducción de la tendencia de agregación por el aceptor, no se observa, ya que el donor no se agrega aún en estado puro en las condiciones de trabajo.

El mecanismo de transferencia no radiativa de energía prevaleciente es el de Förster. Se ajustaron las eficiencias de transferencia de energía en función de la concentración de aceptor, considerando una distribución aleatoria bidimensional de los colorantes y utilizando el área superficial como parámetro de ajuste. Se obtuvo, para ambos sistemas, un área superficial de $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Esta área superficial tiene valor práctico y carácter predictivo, al menos para muestras preparadas de manera similar desde el mismo solvente, ya que la distribución de los colorantes depende de las condiciones de preparación de las muestras y el solvente utilizado.

V.5. Bibliografía

¹ G. Calzaferri, S. Huber, H. Mass and C. Minkowski (2003) Host-guest antenna materials. *Angew. Chem. Int. Ed.* **42**: 3732-3758.

² N. J. Turro, M. B. Zimmt, I. R. Gould and W. Mahler (1985) Triplet energy transfer as a probe of surface diffusion rates: A time-resolved diffuse reflectance transient absorption spectroscopy study. *J. Am. Chem. Soc.* **107**: 5826-5827.

³ F. Wilkinson, P. A. Leicester, L. F. Vieira Ferreira and V. M. M. R. Freire (1991) Photochemistry on surfaces: Triplet-triplet energy transfer on microcrystalline cellulose studied by diffuse reflectance transient absorption and emission spectroscopy. *Photochem. Photobiol.* **54**: 599-608.

⁴ L. Kulak and C. Bojarski (1995) Forward and reverse electronic energy transport and trapping in solution. I. Theory. *Chem. Phys.* **191**: 43-66.

⁵ L. Kulak and C. Bojarski (1995) Forward and reverse electronic energy transport and trapping in solution. II. Numerical results and Monte Carlo simulations. *Chem. Phys.* **191**: 67-86.

⁶ J. Baumann and M. D. Fayer (1986) Excitation transfer in disordered two-dimensional and anisotropic three-dimensional systems: Effects of spatial geometry on time-resolved observables. *J. Chem. Phys.* **85**: 4087-4107.

⁷ J. Knoester and J. E. van Himbergen (1987) On the theory of concentration self-quenching by statistical traps. *J. Chem. Phys.* **86**: 3571-3576.

⁸ J. Knoester and J. E. van Himbergen (1987) Monte Carlo simulations on concentration self-quenching by statistical traps. *J. Chem. Phys.* **86**: 3577-3582.

⁹ M. G. Lagorio, E. San Román, A. Zeug, J. Zimmermann and B. Röder (2001) Photophysics on surfaces: Absorption and luminescence properties of Pheophorbide-a on cellulose. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **3**: 1524-1529.

¹⁰ A. Willstätter and R. Stoll (1913) *Untersuchungen über Chlorophyll*. Springer, Berlin.

¹¹ A. Mihranyan, A. P. Llagostera, R. Karmhag, M. Strømme and R. Ek (2004) Moisture sorption by cellulose powders of varying crystallinity. *Int. J. Pharm.* **269**: 433-442.

¹² Th. Förster (1959) Transfer mechanisms of electronic excitation. *Discuss. Faraday Soc.* **264**: 7-17.

¹³ A. Iriel (2006) *Fotofísica de colorantes inmovilizados sobre superficies*. Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires.

Capítulo VI

Sistemas de un único colorante: atrapamiento de la energía de excitación

VI. Sistemas de un único colorante: atrapamiento de la energía de excitación

VI.1. Introducción

En sistemas de un único colorante incorporado a sólidos particulados suele hallarse que los rendimientos cuánticos de fluorescencia, una vez corregidos por agregación, reabsorción y reemisión, decrecen con el aumento de la concentración del colorante.¹ En solución y en liposomas, este tipo de *quenching* por concentración ha sido atribuido a la formación de agregados del colorante y al atrapamiento de la energía de excitación del monómero por parte de los mismos.^{2,3} Sin embargo, este fenómeno puede ocurrir en sólidos aún en ausencia de evidencia espectroscópica de agregación.⁴ Con el objeto de evaluar cuantitativamente el atrapamiento de la energía de excitación, se retoma en el presente Capítulo el estudio del azul de metileno (MB) en celulosa (ver Sección IV.4) y se incluye el estudio de la fotofísica de rodamina 6G (R6G) adsorbida en el mismo soporte.

VI.2. Azul de metileno adsorbido sobre celulosa

VI.2.1. Transferencia no radiativa y atrapamiento de la energía de excitación

En la Sección IV.4 se observó una disminución de los rendimientos cuánticos de fluorescencia de MB con la concentración de colorante, al menos para las muestras más concentradas, que no pudo explicarse considerando los efectos de reabsorción y reemisión. Una posible explicación de este fenómeno involucra la presencia de agregados que actuarían como aceptores en procesos de transferencia no radiativa de energía desde los monómeros. Estos agregados, no fluorescentes, se comportarían como trampas de la energía de excitación. Esta explicación parece razonable teniendo en cuenta la superposición existente entre el espectro de fluorescencia del monómero y el espectro de absorción del dímero (Fig. IV.19 y IV.21) y el alto grado de dimerización de las muestras más concentradas, considerando que para los sistemas donador-aceptor se

evidenció la existencia de eficientes procesos de transferencia no radiativa de energía (Capítulo V). En base al modelo de la Sección III.1, las eficiencias de transferencia no radiativa de energía del monómero al dímero se calcularon a partir de la ecuación III.18 (donde A y B en dicha ecuación corresponden al monómero y al dímero, respectivamente). El rendimiento cuántico de fluorescencia del monómero en ausencia de trampas, Φ_M , es el rendimiento cuántico obtenido para las muestras más diluidas (Tabla IV.2), para las cuales la transferencia no radiativa de energía es presumiblemente ineficiente. Considerando las muestras I a IV, $\Phi_M = 0,18 \pm 0,03$. Las eficiencias de transferencia no radiativa de energía calculadas para las muestras más concentradas son: 0,22 (V), 0,39 (VI), 0,55 (VII) y 0,61 (VIII).

Para interpretar cuantitativamente este fenómeno de atrapamiento de la energía de excitación, se aplicó un modelo matemático basado en la teoría de Förster,^{5,6} que considera una distribución aleatoria bidimensional de monómeros (M) y trampas (T). Considerando que las trampas no emiten, de manera que no pueda haber transferencia inversa (trampas perfectas), las ecuaciones del modelo se obtienen a partir de resolver la ecuación general (III.20) de Fung y Stryer para las condiciones propuestas (ver Sección III.2, ecuación (III.21)). De acuerdo con la definición de la eficiencia de transferencia no radiativa de energía:

$$E_{MT} = 1 - \frac{\Phi_M^T}{\Phi_M} \quad (\text{VI.1})$$

donde E_{MT} es la eficiencia de transferencia no radiativa de energía M-T y Φ_M^T es el rendimiento cuántico de fluorescencia del monómero en presencia de trampas, los rendimientos cuánticos de fluorescencia se calculan como:

$$\frac{\Phi_M^T}{\Phi_M} = \int_0^\infty \exp(-x - \Gamma(2/3) (\delta / \delta_0) x^{1/3}) dx \quad (\text{VI.2})$$

donde $x = t/\tau$ y τ es el tiempo de vida del monómero en ausencia de T; Γ es la función gamma; δ es la concentración superficial de T; y $\delta_0 = 1/\pi R_0^2$, donde R_0 es el radio crítico de Förster para la transferencia M-T. Para aplicar este modelo es necesario conocer las concentraciones superficiales de M y T, y el radio crítico de Förster.

Para obtener el radio crítico de Förster se debe calcular la integral de solapamiento (Sección II.9), que involucra la emisión de MB (Fig. IV.21) normalizada a área unitaria y la absorción del dímero (Fig. IV.19). Dado que para los agregados no se conoce el espectro de absorción absoluto, para estimar R_0 se escaló el espectro de absorción del monómero en celulosa al de MB en agua a igual área y luego se estimó el coeficiente de absorción del dímero a partir de la relación entre las funciones de remisión de ambas especies en celulosa. Considerando $\Phi_M = 0,18$, $\kappa^2 = 0,476$ y $n = 1,47$ (glicerol), se obtiene $R_0 = 38,5 \text{ \AA}$.

En los sistemas estudiados las concentraciones se conocen en μmoles de colorante por gramo de celulosa. Dado que se debe trabajar con concentraciones superficiales (considerando dos dimensiones), es necesario conocer el área superficial accesible de la celulosa. En los sistemas donador-aceptor (Capítulo V) fue posible estimar el área superficial, considerando un sistema bidimensional, en $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, de acuerdo a los ajustes de las eficiencias de transferencia de energía en función de la concentración de aceptor. Este valor, junto con el de la constante de dimerización, $K_d = 2,25 \text{ g } \mu\text{mol}^{-1}$, obtenida para MB en celulosa (ver Sección IV.4), fueron utilizados para estimar las concentraciones superficiales de M y T.

Los resultados obtenidos a partir de la ecuación (VI.2) son comparados con los experimentales en la Fig. VI.1, obteniéndose una excelente concordancia. En consecuencia, el descenso de los rendimientos cuánticos de fluorescencia con la concentración de MB puede explicarse cuantitativamente considerando a los dímeros como trampas perfectas de la energía de excitación.

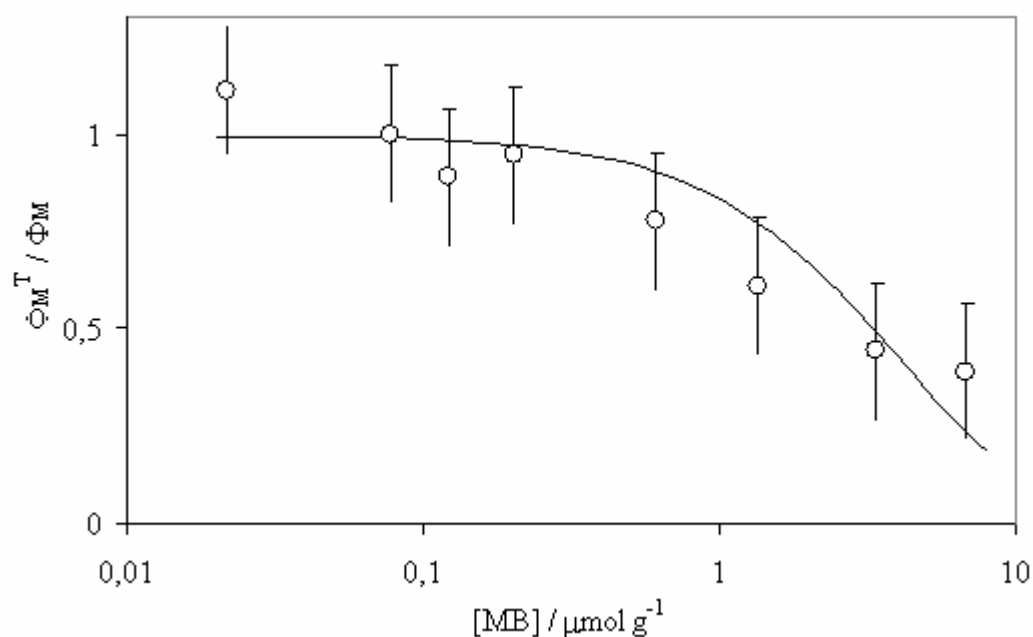


Fig. VI.1. Φ_M^T / Φ_M en función de la concentración de MB en celulosa: datos experimentales (círculos) y modelo de atrapamiento (línea llena); las barras corresponden al error en el rendimiento cuántico de fluorescencia.

VI.2.2. Discusión

La presencia de dímeros no fluorescentes de MB en celulosa reduce el rendimiento cuántico de fluorescencia observado para el monómero. A bajas concentraciones, su efecto consiste principalmente en la absorción directa de la luz de excitación y en la reabsorción de la emisión de los monómeros (transferencia radiativa de energía). Estos fenómenos son considerados por el modelo presentado en la sección II.8. A mayores concentraciones, la distancia media entre los monómeros y los agregados se hace más pequeña y empieza a ser efectiva la transferencia no radiativa de energía por resonancia, actuando los dímeros como trampas de la energía de excitación del monómero. Las eficiencias de transferencia de energía alcanzan valores de alrededor del 60% para las muestras más concentradas.

VI.3. Rodamina 6G adsorbida sobre celulosa

R6G, cuya estructura se muestra en la Fig. VI.2, es un colorante xanténico. Dado su elevado coeficiente de absorción en el visible, atribuido a una transición $\pi \rightarrow \pi^*$,⁷ su rendimiento cuántico de fluorescencia cercano a la unidad ($\Phi = 0,95$ en etanol)⁸ y su fotoestabilidad, ha sido ampliamente utilizado en diversas aplicaciones, entre otras, como marcador fluorescente en microscopía,⁹ como estándar de fluorescencia¹⁰ y en los primeros láseres de colorante desarrollados.^{11,12} En la última década ha sido intensamente estudiado como colorante para el desarrollo de láseres de estado sólido, incluyéndolo en diferentes materiales,¹³ como por ejemplo xerogeles,¹⁴ matrices sólidas poliméricas^{15,16} y materiales híbridos orgánicos-inorgánicos.¹⁷ El estudio de la fotofísica de R6G en sólidos, particularmente a elevadas concentraciones de colorante, es importante para el desarrollo de estas y otras aplicaciones.

En esta sección se aborda el estudio de la fotofísica de R6G adsorbida sobre micropartículas de celulosa, con especial énfasis en el efecto de la concentración de colorante y de las interacciones intermoleculares sobre las propiedades fotofísicas del sistema.

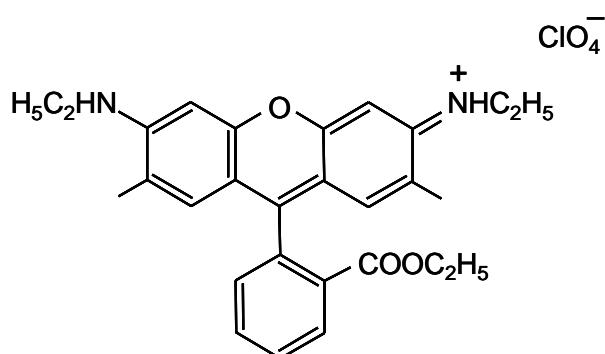


Fig. VI.2. Estructura de la rodamina 6G.

VI.3.1. Reactivos y preparación de las muestras

La pureza de R6G (perclorato, grado láser, Kodak) fue comprobada por espectroscopia de absorción. Las micropartículas de celulosa (pH 5-7, tamaño de partícula promedio: 20 μm , Aldrich) fueron lavadas, previamente a la preparación de las

muestras, mediante un procedimiento en cinco pasos, que incluye agitación magnética durante 2 horas en diferentes solventes y separación por filtración después de cada paso. La secuencia de solventes usada fue: agua (MilliQ), agua:metanol (1:1), metanol, metanol:dietiléter (1:1) y dietiléter. El etanol (pureza 99,5%), el metanol y el dietiléter fueron obtenidos de Cicarelli (grado analítico) y usados sin purificación posterior. Finalmente la celulosa fue secada al vacío a 40 °C durante 24 horas. Se llevaron a cabo experiencias con muestras sin lavar y lavadas con el objeto de comprobar la presencia de posibles impurezas, causantes de alguna absorción o emisión, que podrían afectar la fluorescencia de los colorantes. No se observaron diferencias significativas en los espectros de reflectancia y fluorescencia, al menos entre 400 y 800 nm. Si bien en los sistemas anteriores no se aplicó este procedimiento, estos resultados demuestran que no hubiera sido necesario.

Las muestras se obtuvieron a partir de la evaporación del solvente en suspensiones de la celulosa previamente lavada en soluciones de R6G en etanol. Para ello se prepararon soluciones de concentración conocida de R6G con un volumen de 20 cm³ y se suspendió 1 g de celulosa en cada una de ellas. El etanol fue evaporado en un evaporador rotatorio a 40 °C durante aproximadamente 20 minutos. Los tiempos de evaporación fueron mantenidos aproximadamente constantes con el objeto de asegurar condiciones idénticas de adsorción del colorante e hinchamiento de la celulosa. Finalmente, las muestras fueron secadas al vacío a 40 °C durante 48 horas. Las muestras fueron secadas de la misma manera, al menos 24 horas, antes de realizar las medidas de reflectancia y emisión.

VI.3.2. Absorción y emisión

Los espectros verdaderos de función de remisión fueron calculados de acuerdo con el método descrito en la Sección II.4 y se muestran normalizados en la Fig. VI.3. Para tal fin se determinaron las reflectancias con y sin filtro Schott BG18 (2 mm), que absorbe una importante fracción de la fluorescencia. Por claridad, las muestras más diluidas (I – III, ver Tabla VI.1) no se incluyen en la figura debido a que los resultados presentan un importante error experimental. El máximo de absorción se localiza a (536 ± 2) nm con un hombro alrededor de 500 nm. En comparación con el espectro del colorante en solución (Fig. VI.3), el máximo se halla desplazado hacia el rojo entre 2 y

5 nm en el sólido y el espectro es sensiblemente más ancho. El ensanchamiento espectral de las muestras sólidas puede atribuirse a la heterogeneidad de la muestra debido a la existencia de un microentorno variable en los sitios disponibles para la adsorción del colorante. Aún así, los espectros son muy similares entre sí.

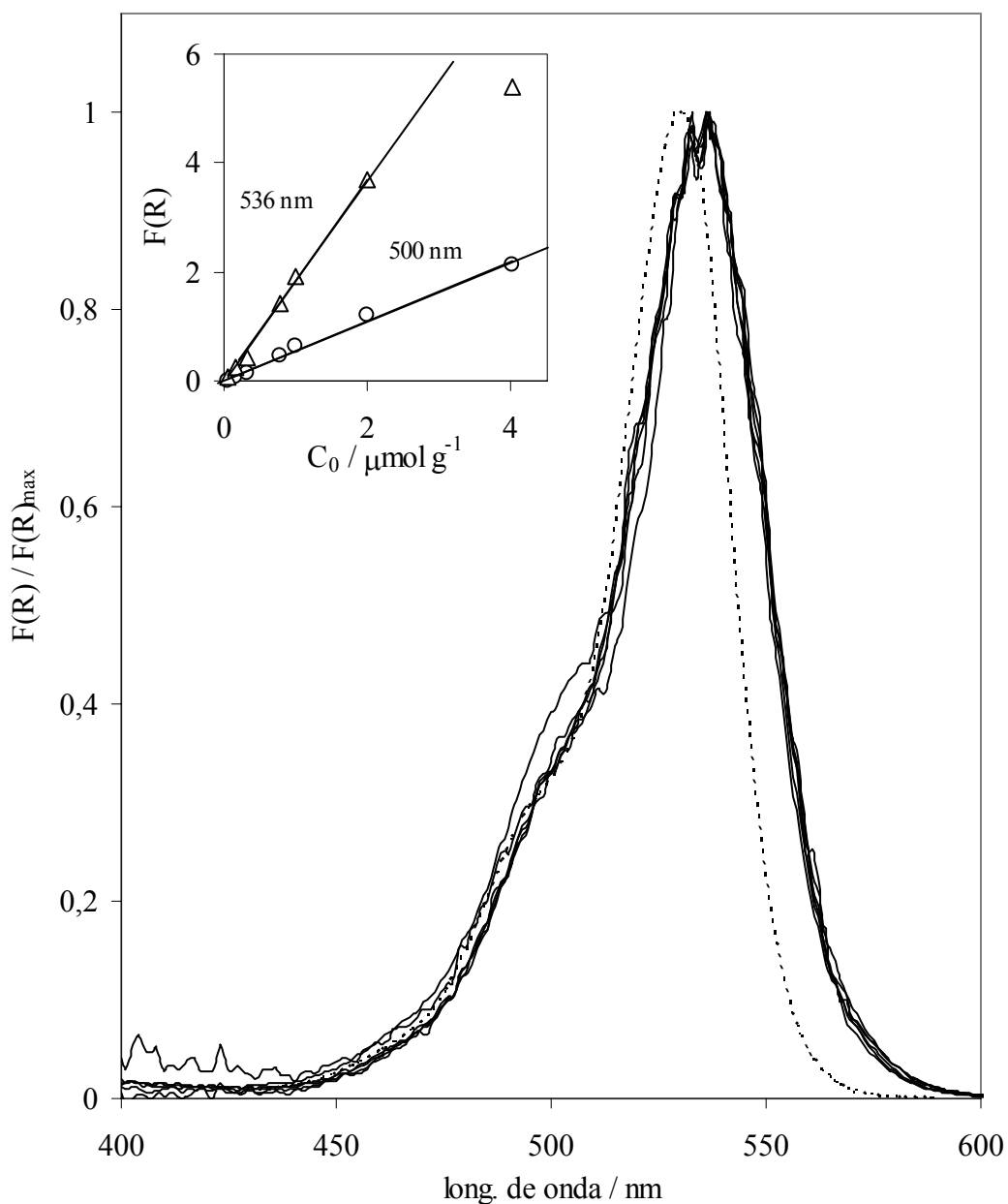


Fig. VI.3. Espectros de absorción de R6G normalizados: $F(R)$ en celulosa (líneas llenas) y absorbancia en etanol (línea punteada). Inserto: $F(R)$ en función de la concentración de R6G en celulosa.

Se graficó el máximo de F(R) en función de la concentración de colorante (ver inserto en la Fig. VI.3). A 536 nm se encontró una dependencia lineal con excepción de la muestra más concentrada, cuyo valor de F(R) en el máximo de absorción probablemente esté subestimado debido a la baja reflectancia ($R < 0,1$). Los datos graficados a 500 nm, con reflectancias más altas, muestran también un comportamiento lineal, pero ahora extendido sobre todo el intervalo de concentraciones. Por lo tanto se puede decir que no se detecta la presencia de agregados en el estado fundamental en todo el intervalo de concentraciones.

Tabla VI.1. Fluorescencia de R6G en celulosa.

Muestra	$C_0 / \mu\text{mol g}^{-1}$	Φ^a	$\tau_{\text{ap}} / \text{ns}^b$	χ^2
I	0,021	$0,89 \pm 0,05$	---	---
II	0,042	$0,92 \pm 0,02$	---	---
III	0,079	$0,98 \pm 0,02$	---	---
IV	0,159	$0,90 \pm 0,02$	$3,41 \pm 0,33$	0,984
V	0,317	$0,91 \pm 0,02$	$4,31 \pm 0,26$	1,074
VI	0,793	$0,86 \pm 0,01$	$3,22 \pm 0,08$	0,866
VII	1,000	$0,79 \pm 0,01$	$3,20 \pm 0,10$	0,986
VIII	2,000	$0,66 \pm 0,01$	$2,98 \pm 0,06$	1,136
IX	4,010	$0,53 \pm 0,01$	$2,78 \pm 0,04$	1,049
R6G en etanol	---	$0,95 \pm 0,01$	$4,11 \pm 0,02$	1,110

^a $\lambda_0 = 500 - 550 \text{ nm}$; ^b ajuste monoexponencial

Los espectros de emisión de las muestras fueron determinados excitando a 490 nm y utilizando un filtro Schott OG530 (capas gruesas) y Schott OG515 (capas finas) para evitar la llegada de luz de excitación al detector. Los espectros de emisión normalizados en capa gruesa se muestran en la Fig. VI.4. Con el aumento de la concentración, el máximo de emisión se desplaza hacia el rojo ($\lambda_{\text{max}} = 559 - 572 \text{ nm}$) y aparece un hombro a mayores longitudes de onda, atribuible a efectos de filtro interno.

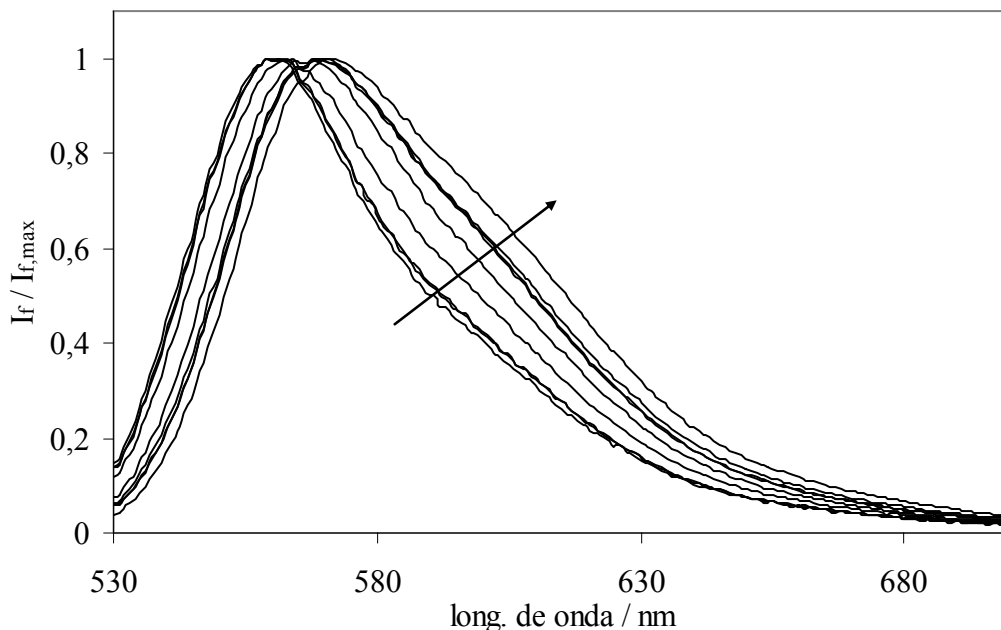


Fig. VI.4. Espectros de emisión normalizados en capa gruesa para R6G en celulosa. Longitud de onda de excitación: 490 nm.

Estos espectros fueron corregidos por reabsorción a través de la división por $\gamma_{\lambda,\lambda_0}$ y se obtuvo una muy buena concordancia con los obtenidos para capas finas de partículas, como se muestra en la Fig. VI.5 para la muestra V. Los espectros en capa fina para las mayores concentraciones (muestras VIII y IX) muestran un corrimiento hacia el rojo, dependiente de la concentración y no mayor que 6 nm, respecto de las capas gruesas corregidas (resultados no mostrados). Estos resultados indican que, para las muestras más concentradas, existe una reabsorción remanente en las capas finas que no se puede eliminar disminuyendo el espesor de la capa. Los espectros de emisión corregidos por reabsorción se muestran en la Fig. VI.6. Los máximos de fluorescencia se desplazan desde 551 a 557 nm, con el aumento de concentración de colorante. Este corrimiento de Stokes dependiente de la concentración es comúnmente observado en colorantes soportados en materiales sólidos a altas concentraciones locales y es atribuido a las interacciones entre el estado excitado y las moléculas vecinas en el estado fundamental. Fuera del corrimiento citado, los espectros son muy similares entre

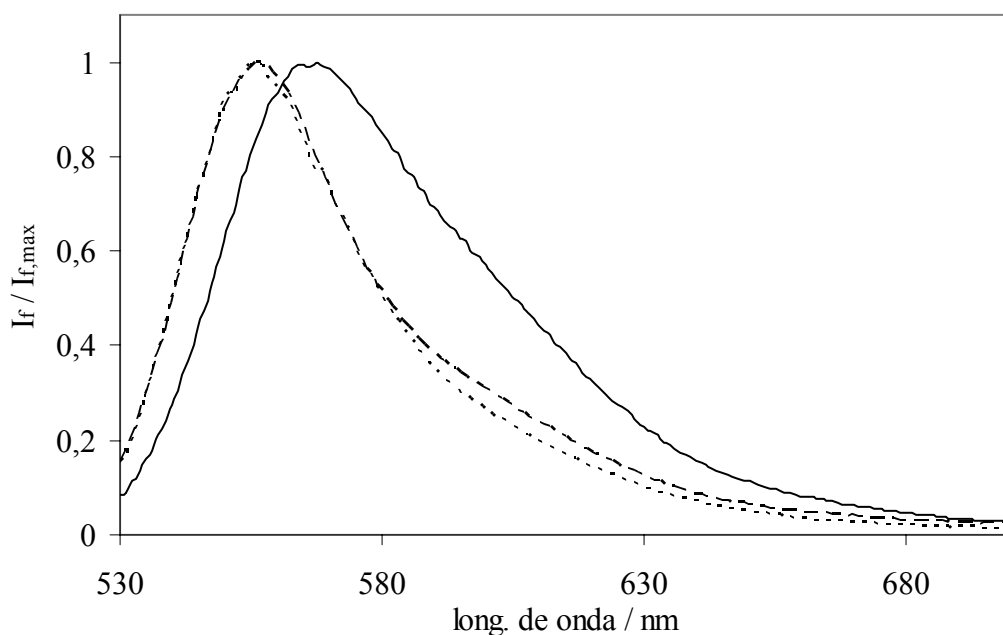


Fig. VI.5. Comparación de los espectros de emisión de la muestra V excitada a 620 nm: capa gruesa (línea llena), capa fina (línea quebrada), y capa gruesa corregida (línea punteada).

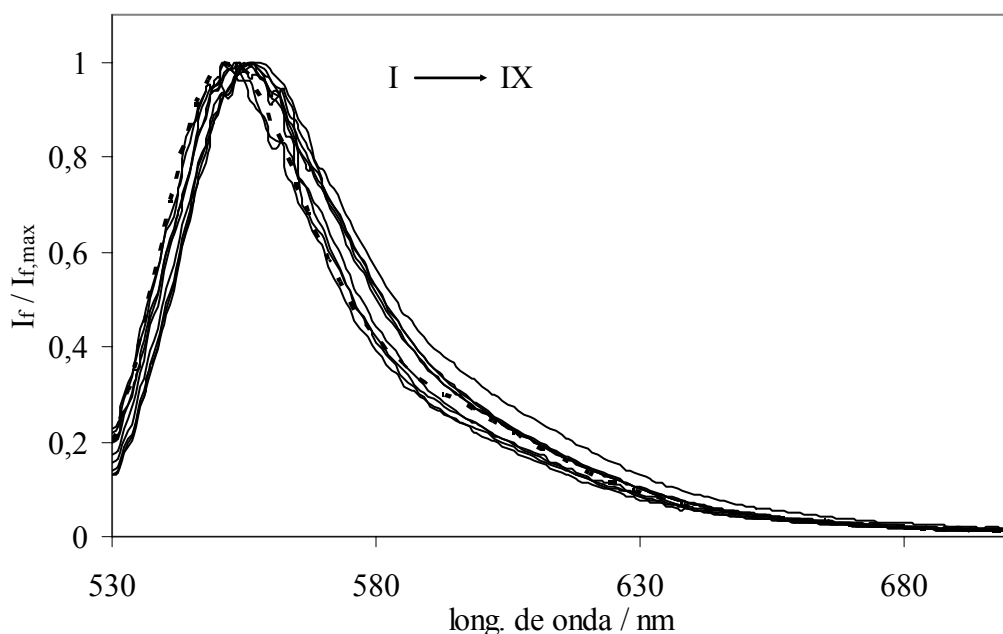


Fig. VI.6. Espectros de emisión normalizados en capa gruesa corregidos por efecto de filtro interno (líneas llenas) para R6G en celulosa. La línea punteada corresponde al espectro de emisión en etanol. Longitud de onda de excitación: 490 nm.

sí y coinciden con el espectro de emisión de R6G en etanol. Estas evidencias avalan la aplicación del procedimiento de corrección utilizado.

VI.3.3. Rendimientos cuánticos y tiempos de vida de fluorescencia

Los rendimientos cuánticos de fluorescencia observados, Φ_{obs} , determinados en forma absoluta en el intervalo de excitación entre 500 a 550 nm se muestran en la Fig. VI.7. Por claridad, los resultados para las muestras más diluidas, coincidentes con los de las muestras IV y V, fueron omitidos en la figura. Se obtuvieron valores de alrededor de 0,85 para las muestras más diluidas, que decrecen con el aumento de la concentración del colorante. Se observa también una cierta dependencia de estos valores con la longitud de onda de excitación. Estos resultados son lógicos, ya que Φ_{obs} depende de los procesos de reabsorción y reemisión y la probabilidad de reabsorción es función de la concentración de colorante y de la longitud de onda de excitación.

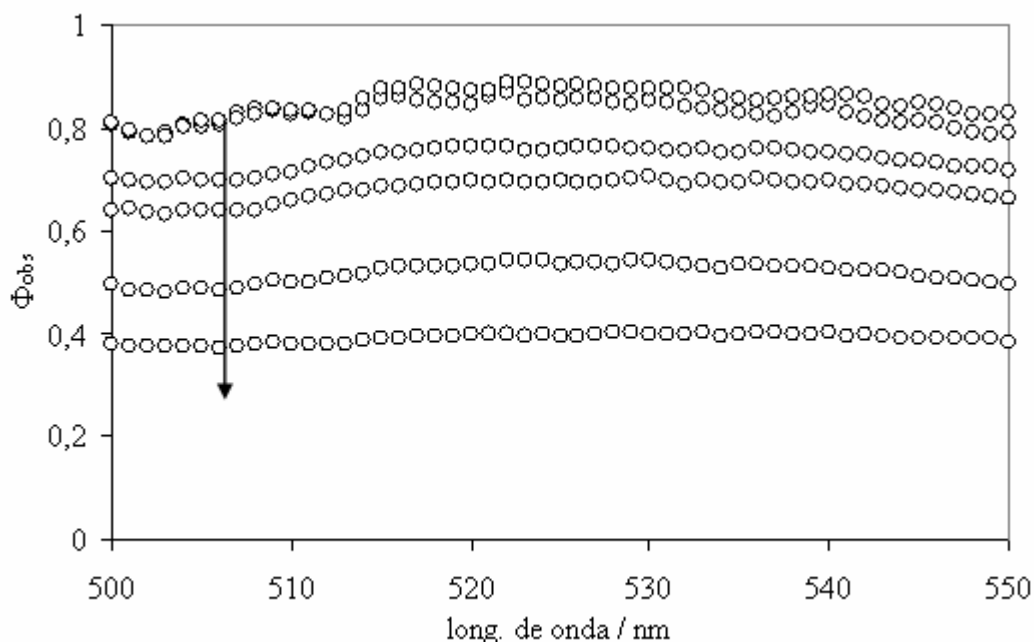


Fig. VI.7. Rendimientos cuánticos de fluorescencia observados para las muestras IV a IX.

Los rendimientos cuánticos verdaderos, Φ , corregidos por reabsorción y reemisión (ver Sección II.8), se muestran en la Fig. VI.8. Los valores son mayores que los de Φ_{obs} y la dependencia con la longitud de onda es prácticamente despreciable. A partir de la muestra V se observa un continuo decrecimiento en el valor de Φ con el aumento de la concentración del colorante, lo que implica que ocurre algún tipo de desactivación del estado excitado dependiente de la concentración. Considerando las muestras I a V, se obtiene $\Phi = 0,92 \pm 0,03$, valor similar al hallado en solución (ver Tabla VI.1).

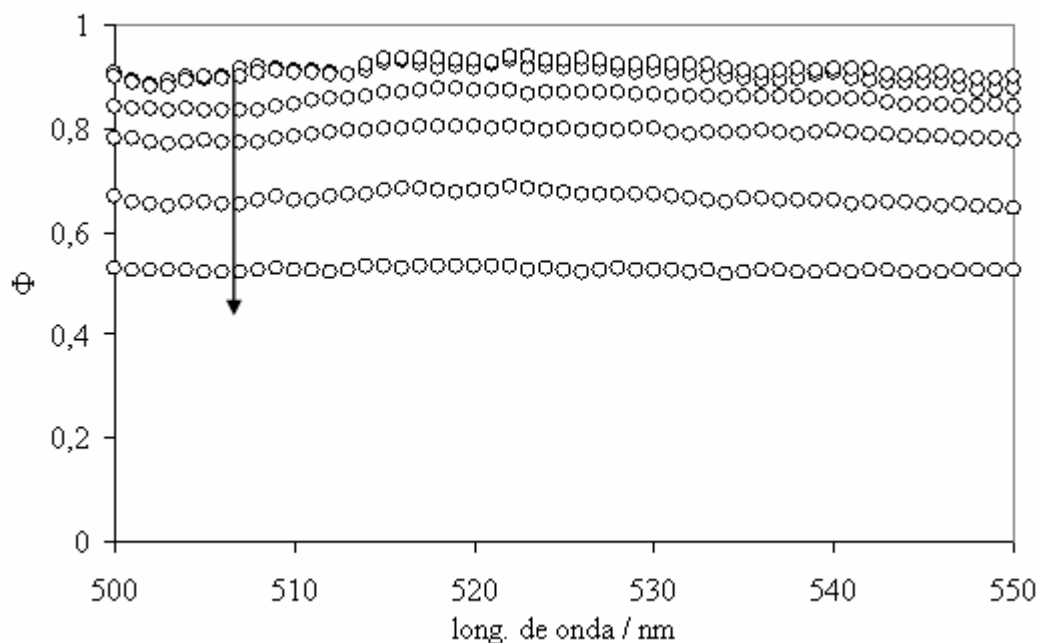


Fig. VI.8. Rendimientos cuánticos de fluorescencia verdaderos para las muestras IV a IX.

Las curvas de decaimiento de fluorescencia fueron obtenidas para capas finas de partículas mediante excitación en modo frontal. Se utilizaron filtros para la excitación, Schott BG3 (2 mm), y para la emisión, Schott OG530 (2 mm). El primer filtro restringe el intervalo de longitudes de onda de excitación, absorbiendo particularmente a la longitud de onda de detección (560 nm), y el segundo evita que la luz de excitación

reflejada por la muestra alcance el detector, aún cuando se cuenta con monocromador de emisión.

La deconvolución de los decaimientos por monoexponenciales evidencia desajustes en el entorno del pulso de excitación, como se observa en la Fig. VI.9 para la muestra IX. Los tiempos de vida aparentes se muestran en la Tabla VI.1. Las muestras I a V presentan relaciones señal/ruido muy bajas, especialmente las tres primeras, que fueron excluidas de la tabla. En líneas generales, los tiempos de vida aparentes obtenidos para las muestras más diluidas son similares al del colorante en solución, y decrecen paulatinamente con la concentración. Las muestras VIII y IX presentan reabsorción remanente en las capas finas. Aunque la reemisión afecta a los decaimientos de fluorescencia, aumentando los tiempos de vida observados,¹⁸ este efecto no compensa al decrecimiento registrado al aumentar la concentración de colorante. Este decrecimiento puede ser atribuido a la desactivación del estado singlete del monómero por transferencia no radiativa de energía a especies que actúan como trampas de la energía de excitación. En la próxima sección se discutirá la naturaleza de estas posibles trampas.

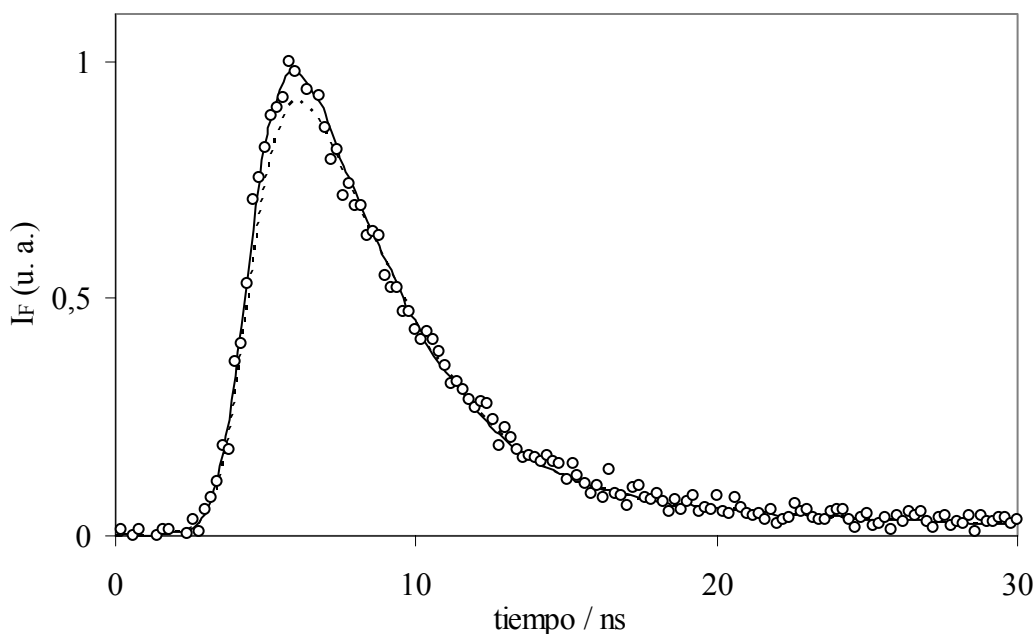


Fig. VI.9. Decaimiento de fluorescencia de R6G en celulosa para la muestra IX: resultados experimentales (círculos); ajuste monoexponencial ($\tau = 2,78$ ns, línea punteada); ajuste con el modelo (a) para $\tau = 3,2$ ns (línea llena) (ver texto).

VI.3.4. Transferencia no radiativa y atrapamiento de la energía de excitación

En el caso de MB, el descenso del rendimiento cuántico de fluorescencia verdadero con la concentración del colorante pudo explicarse por la presencia de dímeros en estado fundamental que actúan como trampas de la energía de excitación. En el caso de R6G la situación es diferente, ya que se observa un descenso de Φ con la concentración, pero al mismo tiempo no existe evidencia espectroscópica de agregación. Una posible explicación puede ser la presencia de agregados en estado fundamental en concentraciones lo suficientemente bajas para no ser detectados por los cambios en los espectros de absorción asociados con la agregación. Sin embargo, las concentraciones excesivamente bajas pueden descartarse porque en ese caso la probabilidad de transferencia de energía sería muy pequeña. Eventualmente, las trampas podrían estar presentes en concentraciones apreciables en tanto el espectro de absorción sea el mismo que el del monómero libre. Otra opción involucra la formación de trampas estadísticas, como por ejemplo excímeros no emisores (excímeros oscuros), que no son detectables por espectroscopia de absorción, ya que no interactúan en el estado fundamental, pero que sí pueden ser responsables de la pérdida de energía de excitación. En ambos casos, estas trampas o agregados pueden excitarse por absorción directa y por transferencia de energía desde los monómeros libres.

Sea cual fuere la naturaleza de las trampas, en tanto se trate de agregados o excímeros, se aplicarán ecuaciones del tipo de (III.22) y (VI.2), ya que el fenómeno a interpretar es esencialmente el mismo. Se considerará, por lo tanto, una distribución aleatoria de monómeros y trampas con una geometría bidimensional. Sin embargo, a diferencia del caso de MB, en que los dímeros pudieron caracterizarse y cuantificarse y los rendimientos cuánticos de fluorescencia verdaderos calcularse sin ambigüedad en base a resultados espectroscópicos, en este caso no puede accederse experimentalmente a dichas propiedades sin efectuar suposiciones adicionales.

De acuerdo con el modelo desarrollado en la Sección III.1 para sistemas de dos especies, considerando a las trampas como aceptores no fluorescentes, la eficiencia de transferencia no radiativa de energía puede calcularse a partir de la ecuación (III.9), que en este caso coincide con la ecuación (III.18).

$$E_{MT} = 1 - \frac{1}{\Phi_M} \frac{\Phi_{obs}}{\Phi_{obs} P_{MM} + \alpha_{0M} Q_M} \quad (VI.3)$$

Esta ecuación se obtuvo considerando que las trampas no emiten, de tal manera que los tres últimos términos de la ecuación (III.9) se anulan y $\Delta = 1 - p_{MM}$ (A y B representan en la ecuación (III.9) al monómero libre, M, y a las trampas, T, respectivamente). Excepto E_{MT} , en el caso de MB todos los parámetros son accesibles experimentalmente en base a medidas de reflectancia y fluorescencia. En el caso de R6G, el cálculo requiere considerar algún modelo que permita obtener la concentración de monómeros libres y trampas.

Antes de evaluar posibles modelos para el cálculo de la concentración de las trampas, conviene reformular la ecuación (VI.3) haciendo la suposición de que tanto los monómeros libres como las trampas tienen el mismo espectro de absorción. Esta suposición es razonable, ya que la forma de los espectros de función de remisión es independiente de la concentración de colorante (Fig. VI.3). Si ello es así, se desprende inmediatamente que α_M es independiente de la longitud de onda e igual a α_{0M} y a la fracción molar de monómero libre, considerando en este último caso que las únicas especies que absorben luz son el monómero y las trampas. En estas condiciones, la ecuación (VI.3) se puede transformar en:

$$\frac{\Phi_M^T}{\Phi_M} \cdot \alpha_M = (1 - E_{MT}) \alpha_M = \frac{1}{\Phi_M} \frac{\Phi_{obs}}{\Phi_{obs} P_{MM} / \alpha_M + Q_M} \quad (VI.4)$$

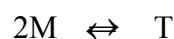
La primera igualdad surge de la definición de la eficiencia de transferencia no radiativa de energía (ecuación (VI.1)). De acuerdo con la definición de P_{MM} (ecuación (III.1)) y la constancia de α_M con la longitud de onda, el último miembro resulta independiente de α_M y, con ello, de la fracción de monómero libre. Ello hace posible su evaluación a partir de datos experimentales. En particular, Φ_M se obtiene por extrapolación a bajas concentraciones de colorante, en situación tal que el número de trampas es despreciable. En la Sección VI.3.3 se obtuvo $\Phi_M = 0,92 \pm 0,03$ para las muestras I a V (ver Tabla VI.1).

Debido a la ausencia de evidencia espectroscópica de agregación, los radios de Förster fueron considerados iguales que para la transferencia de energía entre monómeros, suponiendo que los espectros de los monómeros y de las trampas son idénticos. La integral de solapamiento de Förster se calculó escalando el espectro de

absorción de R6G en celulosa al correspondiente en etanol. Considerando $\Phi_M = 0,92$, $\kappa^2 = 0,476$ y $n = 1,47$ (glicerol), se obtuvo $R_0 = 51,0 \text{ \AA}$ para la transferencia M-M y se adoptó ese valor para la transferencia M-T. El mismo resultó del orden de los calculados para R6G en solución de etilenglicol,¹⁹ solvente en que la dimerización se observa espectroscópicamente. Los valores calculados en dicho caso fueron $R_0 = (55,0 \pm 0,2) \text{ \AA}$ para M-M y $(48,3 \pm 0,2) \text{ \AA}$ para M-D a 293 K.

Las concentraciones superficiales totales de R6G fueron calculadas considerando un área superficial de $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, valor común al resto de los sistemas ya descritos. Debido a que la naturaleza de las trampas es desconocida, se ensayaron dos modelos diferentes para la determinación de la concentración superficial de las mismas, considerando que (a) se trata de dímeros o (b) son trampas estadísticas.

Para el modelo (a) se consideró que las trampas están formadas por especies diméricas en equilibrio con el monómero libre.



$$K_d = \frac{\delta}{(\sigma - 2\delta)^2} \quad (\text{VI.5})$$

donde σ y δ son las concentraciones superficiales total y de dímeros, respectivamente. A partir de estos valores, la fracción de monómeros puede calcularse como $\alpha_M = 1 - (2\delta/\sigma)$. Debido a que solo se conoce σ , los valores de δ se calcularon a partir de establecer valores para K_d . $(\Phi_M^T / \Phi_M)\alpha_M$ se calculó en forma teórica, en base a la ecuación (VI.2), y se ajustó a los resultados experimentales, calculados con la ecuación (VI.4), usando K_d como variable de ajuste. Se obtuvo un muy buen ajuste para $K_d = (0,045 \pm 0,005) \text{ g } \mu\text{mol}^{-1}$, como se observa en la Fig. VI.10.

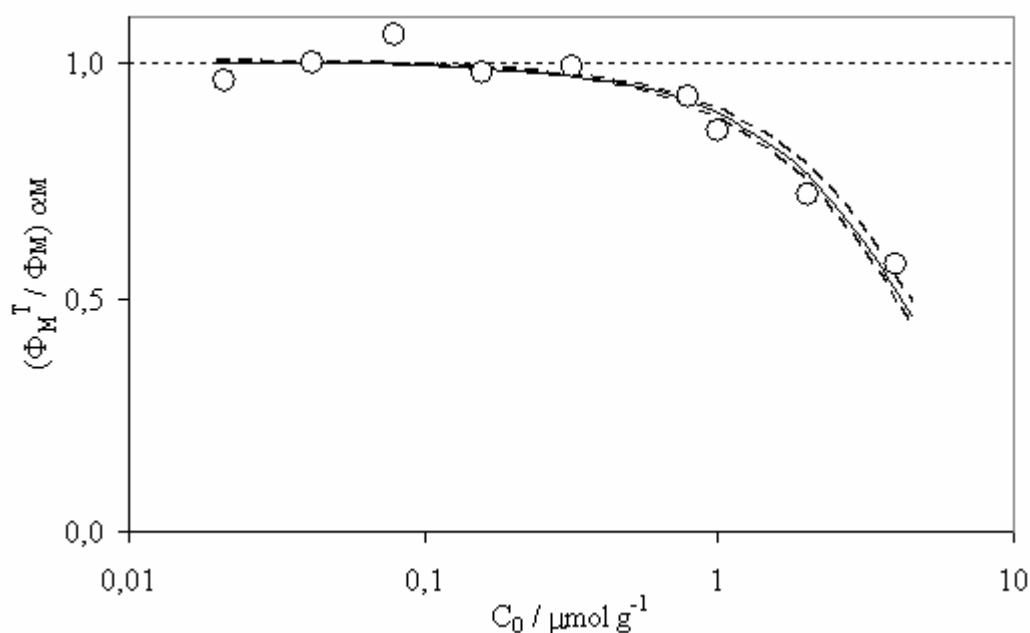


Fig. VI.10. $(\Phi_M^T / \Phi_M) \alpha_M$ para R6G en celulosa en función de la concentración analítica de colorante: resultados experimentales (círculos) y modelo de dimerización para $K_d = 0,045 \text{ g } \mu\text{mol}^{-1}$ (línea sólida) y $K_d \pm 0,005 \text{ g } \mu\text{mol}^{-1}$ (líneas quebradas).

Considerando las concentraciones superficiales de T calculadas del análisis de rendimientos cuánticos, los decaimientos teóricos de fluorescencia fueron calculados a partir de la ecuación (III.22), convolucionando el pulso de excitación. Los decaimientos teóricos se ajustaron a los decaimientos experimentales de las muestras VII a IX, usando τ e I_0 como parámetros variables. Se obtuvieron resultados similares para las tres muestras, como se observa en la Fig. VI.9 para la muestra IX. En todos los casos se obtuvo un mejor ajuste utilizando la ecuación del modelo teórico (ecuación (III.22)) que considerando decaimiento monoexponencial, siendo la diferencia más importante para la muestra más concentrada, debido a que presenta mayor concentración de trampas. Los ajustes monoexponenciales, aún cuando presentan parámetros estadísticos relativamente buenos (ver Tabla VI.1), no permiten explicar el comportamiento a tiempos cortos, mientras que el modelo de atrapamiento ajusta bien a todos los tiempos. Los mejores ajustes se obtuvieron para $\tau = 3,2 \text{ ns}$ independientemente de la concentración. Estos resultados indican que el modelo de atrapamiento por trampas diméricas es adecuado para representar los resultados experimentales.

Para el modelo (b) se consideró que las trampas se forman cuando un par de monómeros, que conservan su individualidad en el estado fundamental, se localizan muy cercanos entre sí. Se consideró una distribución de Poisson de los colorantes y, como en el modelo de Perrin,²⁰ una distancia máxima de atrapamiento. De acuerdo con este modelo:

$$\frac{2\delta}{\sigma} \cong 1 - \exp(-\pi r_Q^2 \sigma) \quad (\text{VI.6})$$

donde $(2\delta/\sigma)$ es la fracción de monómeros que forman trampas diméricas. Este valor se calculó en forma aproximada como la probabilidad de que una molécula coexista con una o más moléculas a una distancia inferior a r_Q , denominada radio de *quenching*. Según esta ecuación, los grupos de más de dos monómeros son considerados como trampas diméricas. Esta aproximación sólo produce errores en la concentración de trampas menores al 5% en todos los casos.

Los valores de $(\Phi_M^T / \Phi_M)\alpha_M$ teóricos, calculados en base a la ecuación (VI.2), se ajustaron a los resultados experimentales, calculados con la ecuación (VI.4), usando r_Q como variable de ajuste (Fig. VI.11). Se obtuvo un muy buen ajuste para $r_Q = (15 \pm 1) \text{ \AA}$, distancia en el orden de las dimensiones moleculares,²¹ lo que implica que las moléculas que conforman las trampas se hallan muy cercanas entre sí.

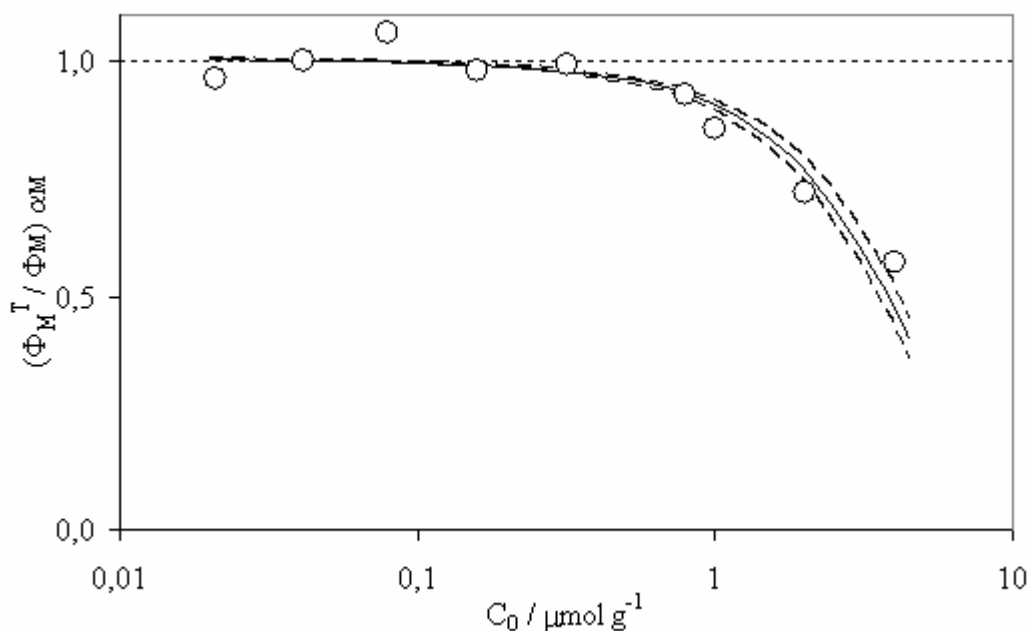


Fig. VI.11. $(\Phi_M^T / \Phi_M) \alpha_M$ para R6G en celulosa en función de la concentración analítica de colorante: resultados experimentales (círculos) y modelo de trampa estadísticas para $r_Q = 15 \text{ \AA}$ (línea llena) y $r_Q \pm 1 \text{ \AA}$ (líneas quebradas).

El complemento a 1 de Φ_M^T / Φ_M es la eficiencia de transferencia no radiativa de energía M-T (ecuación (VI.1)), responsable del mecanismo dinámico de *quenching* de la fluorescencia. El complemento a 1 de $(\Phi_M^T / \Phi_M) \alpha_M$ representa la eficiencia total de atrapamiento, ya que incluye tanto la transferencia de energía como la absorción directa de las trampas. La diferencia entre ambos representa la importancia relativa del *quenching* estático, dado por la absorción de las trampas. La comparación entre ambos modelos y la importancia relativa del *quenching* estático y dinámico se observa en la Fig. VI.12.

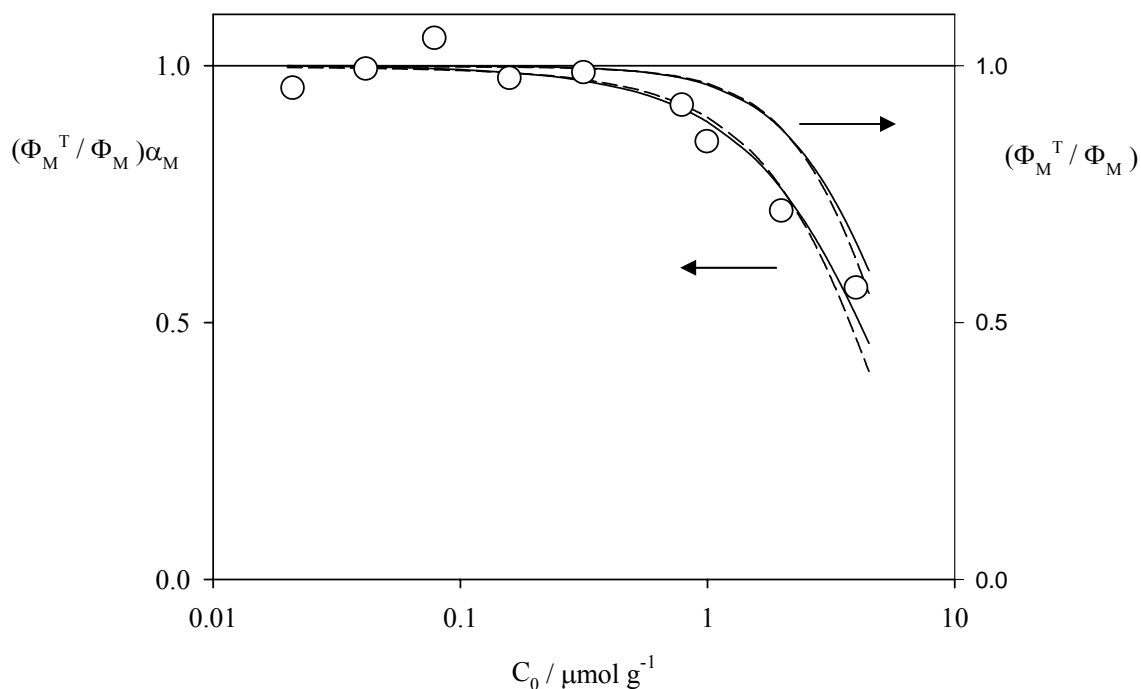


Fig. VI.12. $(\Phi_M^T / \Phi_M)\alpha_M$ para R6G en celulosa en función de la concentración analítica de colorante. Círculos, resultados experimentales; líneas sólidas, modelo de dimerización; líneas quebradas: modelo de trampas estadísticas. $(\Phi_M^T / \Phi_M)\alpha_M$ muestra el *quenching* total, mientras que Φ_M^T / Φ_M muestra el *quenching* dinámico. La diferencia entre ambos valores representa la importancia relativa del *quenching* estático.

De acuerdo con estos resultados, las trampas serían grupos de moléculas cercanas, ya sea que éstas interactúen o no en el estado fundamental, aún cuando no se observa evidencia de agregación en los espectros de absorción. El radio de *quenching* estimado es consistente con el bajo valor hallado para la constante de dimerización.

VI.3.5. Migración de la energía de excitación

El modelo teórico aplicado sólo toma en cuenta la transferencia de energía directa (transferencia en un solo paso), es decir, considera la transferencia de energía desde un monómero de R6G excitado hacia una distribución promedio de trampas, no incluyendo la posibilidad de migración de la energía de excitación entre monómeros de

R6G. Esta aproximación puede ser aplicada cuando la concentración de donador es suficientemente baja o su corrimiento de Stokes es suficientemente alto para prevenir la migración de largo alcance. La misma podría aplicarse incluso a elevadas concentraciones de donador, siempre y cuando la concentración de aceptor (trampas) sea suficientemente alta para reducir el alcance de la migración de la energía de excitación. Cuando se tienen altas concentraciones de donador y bajas de aceptor y no hay transferencia inversa de energía, la migración entre donadores aumenta la eficiencia de la transferencia, en comparación con lo esperado por atrapamiento directo. Este efecto fue tratado teóricamente para moléculas de colorante en solución a elevadas concentraciones.^{22,23} Los efectos de la migración podrían ser importantes y debería esperarse un efecto más pronunciado de atrapamiento que el predicho por transferencia directa. Esto indica que los modelos básicos aplicados probablemente sobreestiman los valores de K_d y r_Q .

El efecto de la migración de energía en el atrapamiento fue estudiado mediante simulaciones computacionales usando el modelo markoviano descrito en la Sección III.2. Las simulaciones en 2D, considerando un área superficial de $60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, fueron utilizadas para evaluar las eficiencias de transferencia no radiativa de energía M-T. A partir de estos valores se calculó $(\Phi_M^T / \Phi_M)\alpha_M$, considerando la ecuación (VI.1) y $\alpha_M = 1 - (2\delta/\sigma)$ (Sección VI.3.4). Los valores de δ se calcularon en base a los modelos (a) y (b), utilizando K_d y r_Q como parámetros variables, respectivamente. Los resultados teóricos se ajustaron a los valores experimentales obtenidos a partir de la ecuación (VI.4). Se obtuvieron muy buenos ajustes a partir de $K_d \sim 0,03 \text{ g } \mu\text{mol}^{-1}$ (Fig. VI.13) y $r_Q \sim 12 \text{ \AA}$ (resultados no mostrados). Estos valores, aunque inferiores (como era de esperarse), son similares a los predichos por los modelos básicos, $K_d = (0,045 \pm 0,005) \text{ g } \mu\text{mol}^{-1}$ y $r_Q = (15 \pm 1) \text{ \AA}$, indicando que el efecto de la migración de energía es pequeño.

Cabe mencionar, sin embargo, que los parámetros obtenidos, K_d y r_Q , surgen de considerar un sistema bidimensional. Estos cálculos podrían ser refinados si se conociera la dimensionalidad del sistema.

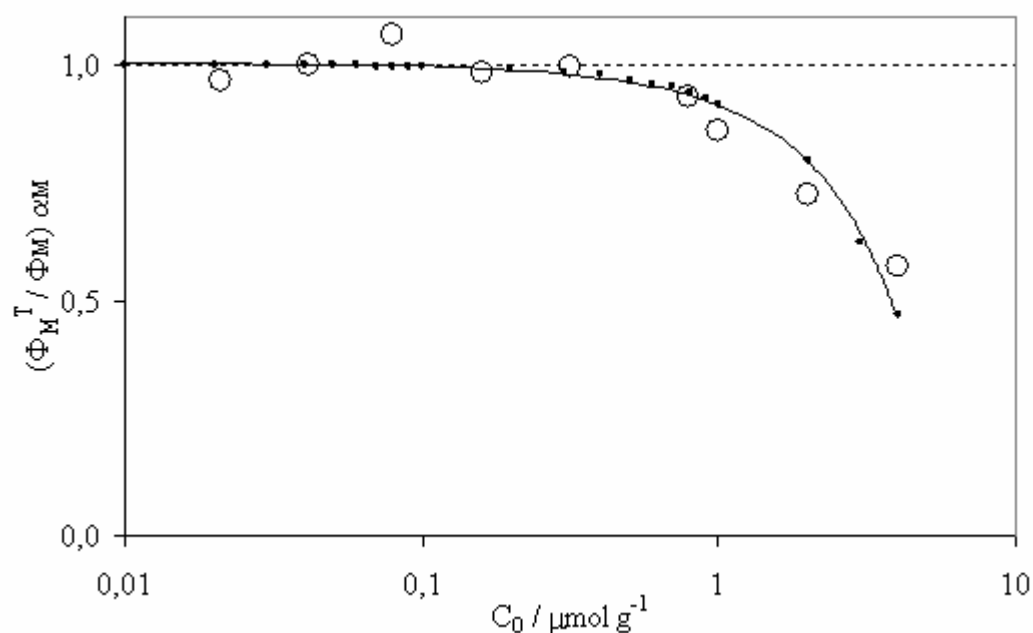


Fig. VI.13. $(\Phi_M^T / \Phi_M) \alpha_M$ para R6G en celulosa en función de la concentración analítica de colorante: resultados experimentales (círculos); resultados de la simulación computacional para $K_d = 0,03 \text{ g } \mu\text{mol}^{-1}$ (puntos) y línea de tendencia (línea llena).

VI.3.6. Identidad de las trampas

Bojarski et al. obtuvieron una constante de dimerización para R6G en soluciones de etilenglicol de $5,4 \pm 0,1 \text{ M}^{-1}$ a 293 K. Para una concentración analítica de hasta 0,02 M, la fracción de colorante en forma de dímeros es menor de 0,15. En estas circunstancias, se observan cambios mínimos en la intensidad y forma del espectro de absorción. El primer cambio detectable en el espectro aparece como una disminución de la absorción en la banda correspondiente al máximo. En celulosa, la fracción de colorante que conforma las trampas, $(1 - \alpha_M)$, considerando ambos modelos y sus respectivas simulaciones, fue estimada en 0,10 – 0,13 y 0,17 – 0,22 para las muestras VIII y IX, respectivamente. La desviación en el máximo de absorción de la muestra IX respecto de la dependencia lineal con la concentración (ver inserto en la Fig. VI.3) fue atribuida a la baja reflectancia de la muestra. Es posible que esto oculte desviaciones en el espectro asociadas con la formación de agregados. Las trampas podrían ser especies

diméricas en el estado fundamental. Sin embargo, la presencia de trampas estadísticas, indetectables por espectroscopia de absorción, no puede ser descartada.

Para R6G en solución de etilenglicol y en películas de alcohol polivinílico²⁴ se halló evidencia de fluorescencia de los dímeros. En ambos casos se estimaron bajos rendimientos cuánticos de fluorescencia (menores de 0,02). Si éste es el caso para R6G en celulosa, podría haber transferencia de energía desde los dímeros a los monómeros (trampas imperfectas). Sin embargo, si se toma en cuenta el bajo rendimiento cuántico del dímero, la emisión del dímero y el efecto de la transferencia T-M deberían ser despreciables.

Se requieren mayores concentraciones de colorante para un análisis más detallado, pero las dificultades relacionadas con las bajas reflectancias hacen a este estudio muy difícil. La dilución de las muestras con soporte sólido podría en principio ser útil, pero pudo demostrarse que a través de este método los valores de función de remisión dejan de depender linealmente con la concentración, probablemente debido a problemas en la aplicabilidad de la teoría de Kubelka-Munk.

VI.3.7. Discusión

Se pudo demostrar que aún en ausencia de evidencia espectroscópica de agregación puede haber atrapamiento de la energía de excitación cuando se trabaja con elevadas concentraciones de colorante. En estas condiciones, las moléculas del colorante se disponen muy cercanas entre sí conformando trampas de la energía de excitación. Estas trampas pueden ser agregados en el estado fundamental o eventualmente agrupaciones de moléculas capaces de formar excímeros no emisores (trampas estadísticas). En cualquiera de los casos, el atrapamiento de la energía de excitación ocurre por mecanismos estáticos, a través de la absorción directa de las trampas y de la transferencia radiativa de energía, y dinámicos, por transferencia no radiativa de energía desde el colorante monomérico. El mecanismo predominante de atrapamiento, en la muestras más concentradas, es la transferencia no radiativa de energía M-T.

Se puede concluir que el atrapamiento de la energía de excitación pone un límite máximo a las concentraciones efectivas de trabajo en sistemas que presentan baja tendencia a la agregación.

VI.4. Conclusiones

La fotofísica de sistemas con un único colorante en presencia de trampas de la energía de excitación puede representarse en el diagrama de la Fig. VI.14, que es un caso especial del diagrama de la Fig. III.1.

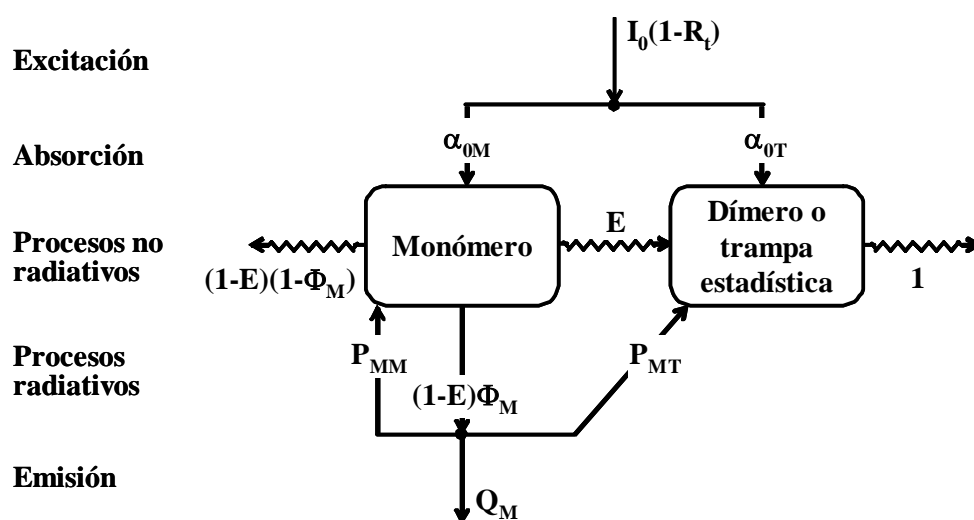


Fig. VI.14. Diagrama de flujo de excitación en sistemas de un único colorante con trampas perfectas de la energía de excitación.

Las trampas actúan como sumideros de la energía de excitación, al igual que los aceptores en los sistemas donador-aceptor estudiados (ver Fig. V.14). Pueden excitarse por absorción directa de la luz de excitación o por transferencia de energía desde los monómeros, a través de mecanismos radiativos y no radiativos (Förster).

Las trampas pueden estar constituidas por agregados del colorante en el estado fundamental o eventualmente por agrupaciones de moléculas que, frente a la excitación de una de ellas, determinan la formación de excímeros que se desactivan principalmente por mecanismos no radiativos (trampas estadísticas).

VI.5. Bibliografía

¹ A. Iriel (2006) *Fotofísica de colorantes inmovilizados sobre superficies*. Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires.

² G. S. Beddard, S. E. Carlin and G. Porter (1976) Concentration quenching of chlorophyll fluorescence in bilayer lipid vesicles and liposomes. *Chem. Phys. Lett.* **43**: 27-32.

³ D. R. Lutz, K. A. Nelson, C. R. Gochanour and M. D. Fayer (1981) Electronic excited state energy transfer, trapping by dimers and fluorescence quenching in concentrated dye solutions: picosecond transient grating experiments. *Chem. Phys.* **58**: 325-334.

⁴ M. G. Lagorio, E. San Román, A. Zeug, J. Zimmermann and B. Röder (2001) Photophysics on surfaces: absorption and luminescence properties of pheophorbide-a on cellulose. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **3**: 1524-1529.

⁵ K. Itoh, Y. Chiyokawa, M. Nakao and K. Honda (1984) Fluorescence quenching processes of rhodamine B in oxide semiconductors and light harvesting action of its dimers. *J. Am. Chem. Soc.* **106**: 1620-1627.

⁶ N. Nakashima, K. Yoshihara and F. Willig (1980) Time-resolved measurements of electron and energy transfer of rhodamine B monolayer on the surface of organic crystals. *J. Chem. Phys.* **73**: 3553-3559.

⁷ S. Miljanic, Z. Cimerman, L. Frkanec and M. Zinic (2002) Lipophilic derivative of rhodamine 19: characterization and spectroscopic properties. *Anal. Chim. Acta* **468**: 13–25.

⁸ R. F. Kubin and A. N. Fletcher (1982) Fluorescence quantum yields of some rhodamine dyes. *J. Lumin.* **27**: 455-462.

⁹ K. W. Dunn, R. M. Sandoval, K. J. Kelly, P. C. Dagher, G. A. Tanner, S. M. Atkinson, R. L. Bacallao and B. A. Molitoris (2002) Functional studies of the kidney of living animals using multicolor two-photon microscopy. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **283**: C905-C916.

¹⁰ D. Magde, R. Wrong and P. Seybold (2002) Fluorescence quantum yields and their relation to lifetimes of rhodamine 6G and fluorescein in nine solvents: improved absolute standards for quantum yields. *Photochem. Photobiol.* **75**: 327-334.

¹¹ P. P. Sorokin, J. R. Lankard, V. L. Moruzzi and E.C. Hammond (1968) Flashlamp-pumped organic dye lasers. *J. Chem. Phys.* **48**: 4726-4741.

¹² O. G. Peterson, S. A. Tuccio and B. B. Snavely (1970) cw operation of an organic dye solution laser. *Appl. Phys. Lett.* **17**: 245-247.

¹³ E. Yariv, S. Schultheiss, T. Saraidarov and R. Reisfeld (2001) Efficiency and photostability of dye-doped solid-state lasers in different hosts. *Opt. Mater.* **16**: 29-38.

¹⁴ A. Dubois, M. Canva, A. Brun, F. Chaput and J.-P. Boilot (1996) Enhanced photostability of dye molecules trapped in solid xerogel matrices. *Synth. Met.* **81**: 305-308.

¹⁵ F. López Arbeloa, T. López Arbeloa, I. López Arbeloa, A. Costela, I. García-Moreno, J. M. Figuera, F. Amat-Guerri and R. Sastre (1997) Relations between photophysical and lasing properties of rhodamines in solid polymeric matrices. *Appl. Phys. B* **64**: 651-657.

¹⁶ G. Somasundaram and A. Ramalingam (1999) Gain studies of rhodamine 6G dye doped polymer laser. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **125**: 93-98.

¹⁷ A. Costela, I. García-Moreno, C. Gómez, O. García and R. Sastre (2004) Environment effects on the lasing photostability of rhodamine 6G incorporated into organic-inorganic hybrid materials. *Appl. Phys. B* **78**: 629-634.

- ¹⁸ M. P. Hehlen (1997) Reabsorption artifacts in measured excited-state lifetimes of solids. *J. Opt. Soc. Am. B* **14**: 1312-1318.
- ¹⁹ P. Bojarski, A. Matczuk, C. Bojarski, A. Kauski, B. Kukliński, G. Zurkowska and H. Diehl (1996) Fluorescence dimers of rhodamine 6G in concentrated ethylene glycol solution. *Chem. Phys.* **210**: 485-499.
- ²⁰ W. Klöpffer, N. J. Turro, M. -F. Chow and Y. Noguchi (1978) Investigation of triplet-triplet energy transfer in films of poly-N-vinylcarbazole employing chemiluminescence techniques. *Chem. Phys. Lett.* **54**: 457-460.
- ²¹ N. Iyi, R. Sacia, T. Fujita, T. Deguchi, T. Sota, F. L. Arbeloa and K. Kitamura (2002) Orientation and aggregation of cationic laser dyes in a fluoromica: polarized spectrometry studies. *Appl. Clay Sci.* **22**: 125-136.
- ²² L. Kulak and C. Bojarski (1995) Forward and reverse electronic energy transport and trapping in solution. I. Theory. *Chem. Phys.* **191**: 43-66.
- ²³ L. Kulak and C. Bojarski (1995) Forward and reverse electronic energy transport and trapping in solution. II. Numerical results and Monte Carlo simulations. *Chem. Phys.* **191**: 67-86.
- ²⁴ P. Bojarski (1997) Concentration quenching and depolarization of rhodamine 6G in the presence of fluorescent dimers in polyvinyl alcohol films. *Chem. Phys. Lett.* **278**: 225-232.

Capítulo VII

Conclusiones generales y prospectiva

VII. Conclusiones generales y prospectiva

VII.1. Conclusiones generales

El estudio de la fotofísica en sistemas compuestos por partículas de tamaño micrométrico presenta, en general, mayores dificultades que el de los sistemas en solución. Entre los factores a tener en cuenta, cabe mencionar: 1) las interacciones entre los colorantes y la superficie; 2) los procesos de reabsorción y reemisión a elevadas concentraciones de colorante; 3) la dispersión múltiple de la luz; 4) la formación de agregados de colorante en estado fundamental; y 5) otras interacciones que conllevan a la desactivación del estado excitado. El análisis cuantitativo de estos efectos representa un reto que ha atraído la atención de fotoquímicos y espectroscopistas durante mucho tiempo, aunque todavía quedan muchas preguntas a responder y muchas cuestiones que dilucidar al respecto.

En el presente trabajo se aplicaron y desarrollaron diversos métodos y modelos que tienen en cuenta la reabsorción y la reemisión de fluorescencia, la transferencia no radiativa de energía singlete-singlete y la determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia relativos y absolutos. Los sólidos fueron estudiados mediante espectroscopia de fluorescencia y reflectancia en muestras ópticamente gruesas (transmisión despreciable) y finas (reabsorción despreciable). Las muestras en capa gruesa resultaron útiles para el estudio de las interrelaciones entre los procesos de transferencia radiativos y no radiativos de energía.

En todos los casos se usó un soporte modelo, la celulosa microcristalina, que si bien presenta algunas dificultades en cuanto a su caracterización fisicoquímica, posee propiedades que facilitan el estudio de los procesos fotofísicos objeto de este trabajo. Con excepción de un caso en que el colorante se unió químicamente a la superficie del soporte, la gran mayoría de los sistemas estudiados comprenden colorantes adsorbidos físicamente, lo que permitió un estudio sistemático del efecto de la concentración sobre las propiedades fotofísicas.

Se estudiaron sistemas de un solo colorante y pares de colorantes con importante solapamiento espectral (sistemas donador-aceptor). A pesar de que los sistemas de un único colorante son comparativamente más simples, la experiencia indica que su

caracterización fotofísica completa es imposible si no se emplean resultados obtenidos en sistemas de dos colorantes. Esto se debe a que en sistemas de un solo colorante tienen lugar procesos de transferencia y atrapamiento de la energía de excitación que reducen la población de estados excitados y que en algunos casos las trampas pueden no ser observadas directamente. En cambio, en los sistemas de dos colorantes la concentración de trampas, constituidas por el aceptor, puede controlarse a discreción.

VII.1.1. Fotofísica en ambientes restringidos

La rigidización de los colorantes por unión a una superficie sólida puede aumentar sus rendimientos cuánticos de fluorescencia, mientras que las interacciones moleculares abren nuevos canales de desactivación del estado excitado debido a la proximidad entre las moléculas de colorante, particularmente cuando se distribuyen en forma aleatoria. Los espectros de absorción y de fluorescencia son también afectados por la interacción con el sólido. En general se observan corrimientos espectrales debido a la interacción del colorante con la superficie, los cuales dependen fuertemente del microambiente. La heterogeneidad superficial es responsable de ensanchamientos espectrales. La formación de agregados del colorante es uno de los factores más importantes que afectan la fotoactividad. La agregación puede controlarse por la incorporación simultánea de un segundo colorante, como fue demostrado para los sistemas Pheo-MB y R101-MB (Capítulo V). En ambos casos la agregación de MB es reducida en comparación con el mismo colorante adsorbido separadamente en el mismo soporte. En el primer caso, un descenso en la micropolaridad del ambiente, producto de la presencia de Pheo, que posee carácter hidrofóbico, sería el responsable debido a que aumenta la repulsión entre las moléculas de MB cargadas positivamente, reduciéndose la tendencia a la agregación. En el segundo caso, las razones de la inhibición de la agregación de MB no están completamente claras, ya que el donador esterificado es polar y presenta carga neta positiva. En general, la agregación de los colorantes puede controlarse mediante cambios en la polaridad del medio.

VII.1.2. Dispersión de la luz y procesos de reabsorción y reemisión

Los fenómenos de dispersión de luz, comunes a los sistemas sólidos particulados, complican la evaluación de las propiedades fotofísicas, particularmente cuando tienen lugar procesos de reabsorción y reemisión. La reabsorción afecta a los espectros de fluorescencia y reduce sus rendimientos cuánticos. La última propiedad puede ser útil para ciertas aplicaciones, como por ejemplo para el desarrollo de fotosensibilizadores sólidos, debido a que la energía de excitación liberada por emisión es reinyectada en el sistema por reabsorción, repoblando el estado excitado. Aún cuando los sólidos estudiados no son dispersores ideales, se pudo demostrar que estos procesos pueden modelarse a través de una aproximación simple como la de la teoría de Kubelka-Munk en la suposición de que la probabilidad de reabsorción de la fluorescencia es idéntica para cada uno de los pasos de emisión (ver Capítulo II). La dispersión de luz tiene como resultado el aumento del camino óptico de la radiación. Es por ello que pueden lograrse absorciones significativas en dimensiones reducidas, lo cual posibilita el diseño de dispositivos eficientes de pequeño tamaño.

VII.1.3. Interacciones intermoleculares

Más allá de la formación de agregados moleculares en el estado fundamental, las interacciones entre moléculas en estado excitado y moléculas en estado fundamental tienen una importante influencia en las propiedades espectroscópicas y fotofísicas del sistema. El efecto de las mismas depende de su naturaleza y de la proximidad de las moléculas. A cortas distancias pueden afectar la relajación del estado excitado y contribuir a su desactivación, eventualmente con la formación de excímeros oscuros. En otro orden, la ocurrencia de corrimientos de Stokes dependientes de la concentración, que resultan en un desplazamiento del máximo de emisión a mayores longitudes de onda a medida que aumenta la concentración de colorante, es una observación común en estos sistemas. El efecto, observado en capas finas y en capas gruesas, luego de la corrección de los espectros de fluorescencia por reabsorción y sin ocurrir paulatinamente cambios en el espectro de absorción, es notorio aún a distancias intermoleculares medias superiores a los 10 nm. Este comportamiento puede atribuirse a una perturbación gradual del microambiente del estado excitado con el aumento en la

concentración de colorante, debido a la interacción de éste con las moléculas vecinas en estado fundamental.

En sistemas de dos colorantes, la transferencia no radiativa de energía, resultante de la interacción electrostática de largo alcance, conlleva a la desactivación del estado excitado del donador seguido de la excitación del aceptor. Pudo demostrarse que se pueden alcanzar elevadas eficiencias de transferencia de energía en sistemas sin un orden molecular específico. El mecanismo preponderante de transferencia a elevadas concentraciones es el de Förster, aunque los cálculos realizados no permiten establecer la dimensionalidad del sistema.

En sistemas con un solo colorante, la formación de agregados en el estado fundamental no sólo afecta la fotoactividad por la desactivación intrínseca de los agregados (desactivación estática), sino que éstos pueden además actuar como trampas de la energía de excitación por transferencia de energía desde los monómeros, acrecentando el efecto. En el caso particular de colorantes con baja tendencia a la agregación, en que cabría esperar ausencia de estos efectos, ellos pueden hacerse evidentes como producto del confinamiento de las moléculas de colorante en espacios reducidos. Esto conduce a una “agregación forzada” que puede no evidenciarse espectroscópicamente. Las trampas pueden ser agregados en el estado fundamental en equilibrio con el colorante monomérico o trampas estadísticas (por ejemplo, excímeros no emisores), que se forman por la cercanía de los colorantes a elevadas concentraciones locales, aún para distribuciones al azar, es decir, en ausencia de interacciones específicas. Esto significa que, aun cuando los colorantes posean baja tendencia a la formación de agregados, existe un límite máximo de concentración, a partir del cual la formación de trampas es relevante. En estos casos no es posible evitar este fenómeno sin establecer un orden específico de las moléculas de colorante sobre la superficie.

En resumen, las interacciones moleculares controlan la fotofísica de estos sistemas y es posible estudiar sus efectos cuantitativamente. Estas interacciones son dependientes de la distancia entre los sistemas interactuantes. Las interacciones de corto alcance son responsables de la formación de trampas (agregados o trampas estadísticas), mientras que las de largo alcance se relacionan con la transferencia de energía por resonancia. A distancias aún mayores, las interacciones entre colorantes dan como resultado corrimientos de Stokes dependientes de la concentración. Una imagen general

de los efectos de las interacciones moleculares en la fotofísica de sistemas de un solo colorante, ejemplificado con R6G, se muestra en la Fig. VII.1.

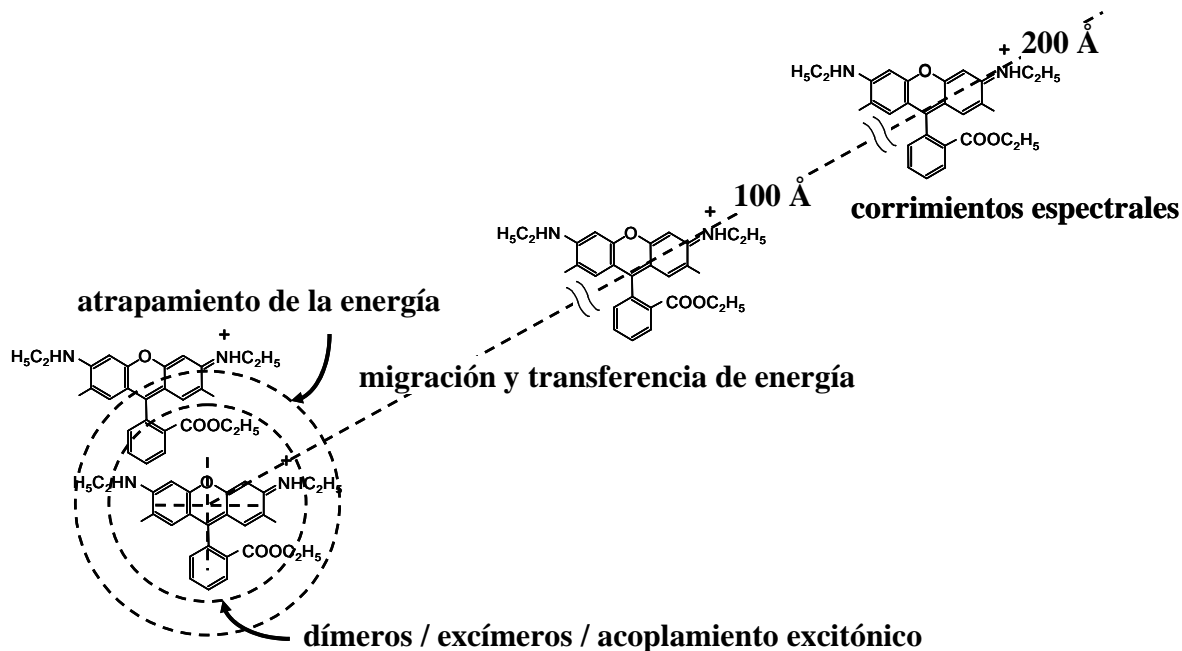


Fig. VII.1. Imagen general de los efectos de las interacciones moleculares en la fotofísica de sistemas de un solo colorante.

Es importante destacar que todos los sistemas estudiados responden al mismo esquema general de flujo de excitación. Este esquema se observa en la Fig. III.1 y se reproduce para mayor claridad en la Fig. VII.2. El esquema considera todas las vías de interacción en un sistema binario e incluye todos los procesos de transferencia de energía, radiativos y no radiativos. Para cada caso de estudio, el mismo puede adaptarse de acuerdo a las condiciones del sistema. Todos los sistemas estudiados pudieron interpretarse, tanto los de uno como los de dos componentes (monómero-trampa; donador-aceptor), a través de dicho esquema, que a su vez puede extenderse a sistemas más complejos con n componentes. Los parámetros del esquema pueden ser medidos o calculados a partir de los datos experimentales, a través de las ecuaciones del modelo desarrollado (Sección III.1), en general sin la necesidad de parámetros ajustables. Éstos se vuelven necesarios sólo cuando existen trampas de la energía de excitación no

detectables espectroscópicamente. En base a estos resultados, la teoría de Förster permite la evaluación de los procesos de transferencia de energía de excitación y atrapamiento y la obtención de los parámetros de *quenching* correspondientes.

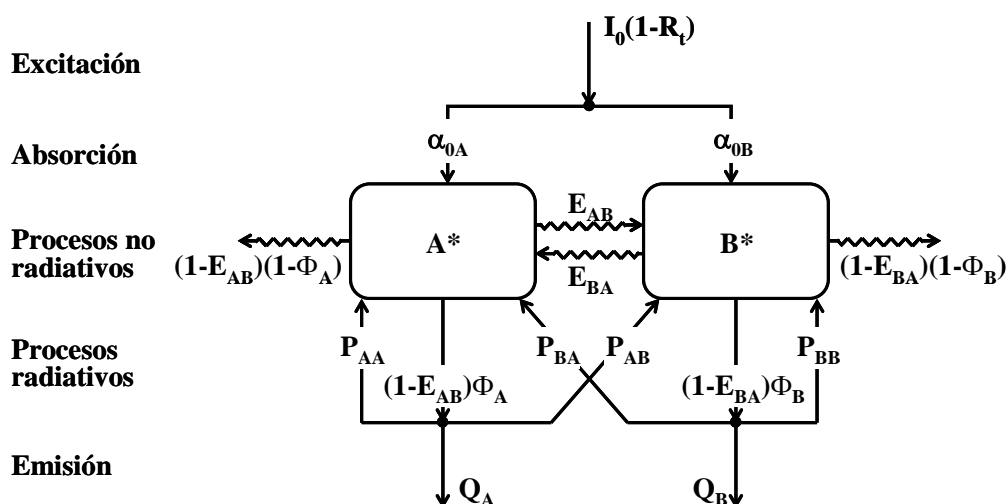


Fig. VII.2. Esquema general de flujo de excitación para colorantes sobre sólidos particulados: I_0 es el flujo de fotones incidente; R_t es la reflectancia total de la muestra; α_{0i} es la fracción de fotones absorbidos que excitan a la especie i ; Φ_i es el rendimiento cuántico de fluorescencia de la especie i en ausencia de transferencia no radiativa de energía; E_{ij} es la eficiencia de transferencia no radiativa de energía de i a j ; P_{ij} es la fracción de fotones emitidos por i que son reabsorbidos por j ; y Q_i es la fracción de radiación emitida por i que escapa fuera del sistema y es detectada como fluorescencia de la muestra.

Los mismos procesos son comunes para sistemas donor-aceptor y de un solo colorante, y el mismo mecanismo general permite explicar el atrapamiento de energía. En el primer caso, la energía de excitación atrapada por las moléculas de aceptor puede utilizarse para mejorar la eficiencia de colección de luz en una amplia región del espectro. En ausencia de aceptores, la energía de excitación puede perderse por atrapamiento con el aumento en la concentración de colorante.

Los fenómenos que afectan la eficiencia del aprovechamiento energético pueden ser atenuados mediante: a) la regulación en las condiciones del entorno, para reducir la tendencia hacia la formación de agregados y trampas de la energía de excitación; b) el

control sobre la distribución y la organización de los colorantes, para maximizar y eventualmente canalizar la transferencia de energía; y c) el diseño de sistemas antena capaces de absorber en regiones diferentes del espectro y transferir su energía de excitación hacia un colorante que produzca una especie excitada reactiva o útil.

A partir de los resultados del presente trabajo se pueden establecer algunos criterios para el diseño de materiales fotoactivos eficientes:

1. La agregación de los colorantes en el sólido depende significativamente de las condiciones del medio. La regulación de estas condiciones, en particular de la polaridad del medio, es crucial para inhibir la agregación de los colorantes y poder trabajar con elevadas concentraciones que permitan maximizar la captación de luz.
2. Aún cuando los colorantes usados tengan baja tendencia hacia la agregación, la formación de trampas de la energía de excitación a elevadas concentraciones es inevitable cuando los mismos se distribuyen al azar. En estas condiciones es necesario establecer un orden específico de las moléculas de colorante.
3. Para el diseño de sistemas antena (donor-aceptor) es de vital importancia la selección de los colorantes. Se debe buscar que exista un importante solapamiento entre la emisión del donador y la absorción del aceptor, para maximizar la eficiencia de transferencia directa (D-A), pero a su vez evitar el solapamiento entre la emisión del aceptor y la absorción del donador, de manera tal que no haya transferencia inversa (A-D).
4. Las bandas de absorción del donador y del aceptor deben cubrir el mayor intervalo del espectro electromagnético posible y poseer altos coeficientes de absorción, con el fin de aprovechar eficientemente la luz de excitación frente a irradiación policromática.
5. El colorante donador debe tener un elevado rendimiento cuántico de fluorescencia. Tanto los mecanismos radiativos como los no radiativos de transferencia de energía dependen del rendimiento cuántico de fluorescencia del donador.

6. Las concentraciones del donador y del aceptor deben ser tales que promuevan una máxima absorción de luz y eficiencia de transferencia de energía D-A, pero a su vez que sea mínimo el atrapamiento de la energía de excitación por parte de agregados o trampas estadísticas. Para hallar las condiciones óptimas de trabajo es necesario establecer una solución de compromiso entre ambos.
7. Un bajo corrimiento de Stokes en el donador favorece los procesos de migración de la energía de excitación y la reabsorción D-D. La reabsorción puede ser favorable ya que repuebla los estados excitados del donador. La migración de la energía de excitación entre donadores puede aumentar la eficiencia de transferencia de energía al aceptor, pero precisa de elevadas concentraciones de colorante, condición para la cual el atrapamiento de la energía de excitación suele ser relevante.

VII.2. Prospectiva

Los conocimientos adquiridos en el presente trabajo poseen utilidad potencial para el diseño y la caracterización de nuevos materiales fotoactivos, haciendo particular énfasis en la economía energética del sistema. El trabajo futuro estará orientado hacia el desarrollo de materiales fotoactivos, particularmente diseñados en base a sistemas antena, en los que se maximice la captación de luz bajo irradiación policromática y la utilización de la energía de excitación. En este sentido, y como primer paso, se buscará diseñar sistemas fotoactivos nanoparticulados.

Las nanopartículas (NP) se definen como partículas coloidales con un tamaño menor a 1 μm . Muestran propiedades únicas (ópticas, magnéticas, eléctricas, químicas) debido a efectos cuánticos relacionados con su tamaño, que no presenta el material a granel, además de una elevada área superficial. En general, las nanopartículas dopadas con colorantes presentan importantes ventajas sobre el colorante en solución. Pueden estar conformadas por decenas a cientos de moléculas de colorante en el interior de la matriz del material. Esto protege a las moléculas del entorno, mejora su fotoestabilidad

y provee un incremento en su absorptividad debido al gran número de moléculas de colorante por nanopartícula (alta concentración local).

Se buscará desarrollar fotosistemas nanoestructurados tipo *core-shell*, con colorantes antena (donores) en el interior y colorantes aceptores de la energía de excitación en el exterior de las NPs (Fig. VII.3). La luz absorbida por el colorante antena podrá ser transferida en forma directa hacia el colorante aceptor o migrar hacia la superficie de la NP hasta alcanzarlo. El colorante antena extenderá el espectro de absorción efectivo de la NP, mejorando la eficiencia en el aprovechamiento de la energía frente a irradiación policromática. Se pretende controlar la agregación de los colorantes a partir de su unión química y de la regulación en las condiciones del entorno. El sistema antena estaría protegido de la acción de especies reactivas por su localización en el interior de la NP. De esta manera, el control sobre la organización y distribución de los colorantes permitirá maximizar el aprovechamiento de la energía de excitación.

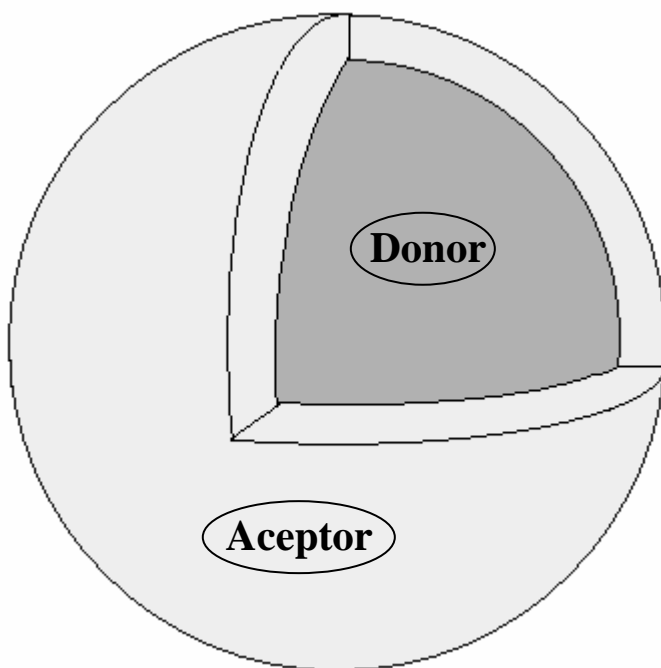


Fig. VII.3. Esquema de una nanopartícula fotoactiva idealizada tipo *core-shell*, con colorantes antena (donores) en el interior y colorante aceptores de la energía de excitación en el exterior.

Si el colorante aceptor es un fotosensibilizador, estos fotosistemas tendrán potencial aplicación en fotosensibilización y fotocátalisis, incluyendo la terapia fotodinámica. Además de las potenciales aplicaciones mencionadas, este desarrollo está orientado hacia el uso de este tipo de fotosistemas como bloques de construcción para diseñar celdas fotovoltaicas con máximo aprovechamiento espectral, que imiten a los sistemas fotosintéticos. El trabajo futuro estará orientado hacia el desarrollo de tecnología para el aprovechamiento de la luz solar como fuente alternativa de energía, un tema de interés creciente a nivel mundial.