

SOLIS, CLAUDIA  
Estudio fotofisicos

2014

73220

73220



Universidad Nacional de Río Cuarto.  
Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales.  
Departamento de Química



Tesis Doctoral en Ciencias Químicas.

“Estudios fotofísicos y fotoquímicos  
en matrices poliméricas”

02227

Lic. Claudia A. Solis  
Año: 2014

73550

73220

<b>MFN:</b>
<b>Clasif:</b>
T. 882



El presente trabajo para optar al grado de Doctora en Ciencias Químicas fue realizado en el Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Química y Naturales de la Universidad Nacional de Río Cuarto.

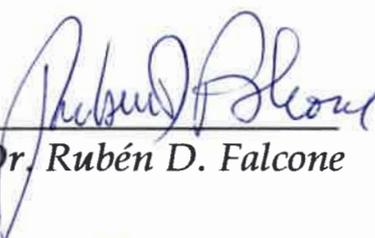
**Doctorando:** *Lic. Claudia Alejandra Solis*

**Director de Tesis:** *Dr. Carlos A. Chesta*

**Co-Director de Tesis:** *Dr. Hernán A. Montejano*

**Comisión de Tesis:**

  
\_\_\_\_\_  
*Dra. Cecilia I. Alvarez Igarzábal*

  
\_\_\_\_\_  
*Dr. Rubén D. Falcone*

  
\_\_\_\_\_  
*Dra. M. Lorena Gómez*

25 de marzo de 2014



El misterio es la cosa mas bonita que  
podemos experimentar, es la fuente de todo  
arte y ciencia verdaderos.

Albert Einstein





## Agradecimientos

Gracias a todas y a cada una de las personas que colaboraron de una forma u otra en la realización de esta Tesis. En especial:

A mi Director **Carlos** y a mi co-director **Hernán**, gracias de corazón por la paciencia y dedicación, por enseñarme y permitirme aprender con libertad y por formarme en esta etapa con tanto afecto.

A los miembros del jurado: **Cecilia**, **Darío** y **Lorena** por su guía y comprensión, fundamentales en la confección de este trabajo de tesis. y a la **Universidad Nacional de Río Cuarto** y **CONICET**, por haberme ofrecido los medios necesarios para la realización de esta tesis...

Al **grupo de Fotoquímica** por el compañerismo y los lindos momentos, a los docentes y a mis compañeros de laboratorio **Lau**, **Euge**, **Ceci P.**, **Nati**, **Ceci C.**, **Carito**, **Mariel**, **Dalila**, **Maxi**, **Gabi**, **Toto**, **Lau B.**, **Chaucha**...

A mis compañeros de oficina (**GB**), son cerca de 50 y no quiero olvidarme de nadie así que gracias a todos ustedes!

A los integrantes del **Departamento de Química** de la **FCEFQyN** y a la **UNRC**, docentes y nodocentes por ayudarme de una u otra forma.

A mi familia (los quiero mucho!!!!!!!):

A mis papas **Lidia** y **Miguel** por todo...

A mis hermanitos **Guille**, **Martín** y **María**, le agradezco a la vida por tenerlos... A mis cuñadas **Eli** y **Eli** (mis hermanitas postizas)...

A mis sobrinos **Agustín** (mi ahijado), **Guadalupe**, **Aarón** y el de **10 cm** (en la última ecografía) que adoro con el corazón.

A mi abuela **Juana** por su cariño y mis **nonos**, que ya no están pero sé que me quisieron mucho... A mis tíos del corazón **Popo**, **Nelly**, **Kiti** y **Kelo**... A mi suegra **Elsa**...

A **Yanita**, **Jesica**, **Anabela**, **Luci** y **Ceci**, compañeras de la vida que significan tanto para mí.



---

A mis compañeros del alma: **Lore., Lauri., Gabi, Jime M., Jime T., Eli, Alvaro y Dani...**

A las personas con quienes compartí tantos momentos durante el doctorado, personas hermosas que quiero mucho: **Angelica, Javi, Fede, Jime T. Lau, Jime M., Eve, Ale, Jorge, Dianis, Euge, Gaby, Sil, Dani, Andrés, Lore, Eli, Nati, Pablo, Carito...**

A **Paolo** por su apoyo incondicional y su amor...

A **Dios** (él sabe porque)....

**¡Gracias!**

**Clau**



---

## Resumen

El estudio de reacciones de transferencia de electrones y de energía en medios microheterogéneos rígidos/semi-rígidos es un área de creciente interés científico y tecnológico, debido a la importancia de estos procesos en muchos dispositivos orgánicos-electrónicos tales como celdas solares, diodos emisores de luz, transistores de efecto de campo, sensores ópticos, etc.

En la presente tesis reportamos estudios concernientes a los procesos fotoinducidos de transferencia de electrones y transferencia de energía en medios poliméricos.

A partir de la polimerización en microemulsión se obtuvieron nanopartículas de diámetro  $\sim 7-13$  nm, con las cuales se prepararon, suspensiones estables y ópticamente transparentes en solventes orgánicos.

Las nanopartículas poliméricas obtenidas presentan grupos funcionales con propiedades dadoras yceptoras de electrones, además de fotoemisivas (potenciales sondas fluorescentes). La inclusión de dichos grupos funcionales en la matriz polimérica permitió el estudio detallado de los procesos fotoinducidos que tienen lugar en estas nanoestructuras.

Las dispersiones de nanopartículas se caracterizaron empleando técnicas espectroscópicas de absorción UV-visible, emisión, excitación, anisotropía y técnicas de absorción y emisión resueltas en el tiempo.

Los resultados obtenidos para las suspensiones de nanopartículas se compararon con los correspondientes a las soluciones de los grupos dadores y aceptores de electrones, y sugieren la existencia de múltiples entornos (microheterogeneidad) percibidos por dichos grupos funcionales dentro de las nanopartículas.

A partir de la interpretación de los resultados obtenidos se comprobó la efectiva ocurrencia de reacciones de transferencia de electrones y energía, y se avanzó en la comprensión del efecto de la matriz polimérica sobre las sondas fluorescentes y los procesos fotoinducidos involucrados. Finalmente, se planteó un modelo cinético que permite interpretar los procesos de transferencia de electrones y energía en medios microheterogéneos



---

## Abstract

The study of photoinduced electron transfer and energy transfer reactions in microheterogeneous rigid/semirigid materials is an area of growing academic and technological interest. The main reason for this interest resides in the importance that these processes have in many cut-edging technologies such dye-sensitized cells, organic solar light emitting diodes, molecular electronics, optical sensors, etc.

We report herein a study on photoinduced electron transfer and energy transfer processes occurring in rigid/semirigid polymeric media.

Polymeric nanoparticles (diameter  $\sim$ 7-13 nm) were synthesized by the microemulsion method. These nanoparticles (Nps) can be dispersed in organic solvents. The dispersions are optically transparent, stable for months and for many purposes they can be treated as actual solutions.

The Nps synthesized contain electron donor and electron acceptor groups. The inclusion of such functional groups in polymer matrix allowed the detailed study of photoinduced processes occurring in these nanostructures.

The NPs were characterized based on their UV-visible absorption, emission, excitation, and excitation anisotropy spectra and time dependent absorption and emission spectroscopy techniques.

Results obtained for the Nps suspensions were compared with those of electron donors and acceptors groups in solutions, and suggest that the functional groups sense multiple environments (microheterogeneity) in the nanoparticles.

These results also show the effective occurrence of electron and energy transfer and provide evidences to understand the effect of polymer matrix on these processes. A simple kinetic model to interpret the dynamic of electron and energy transfer processes in microheterogeneous media is proposed.



## **Resumen del contenido:**

- **Introducción**
- **Objetivos**
- **Aspectos teóricos**
- **Materiales y métodos**
- **Resultados y discusión**
- **Conclusiones**
- **Referencias**

## Índice de contenido

<b>I. CAPITULO I</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1- <b>NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS (NP)</b> .....	<b>2</b>
<b>II. CAPITULO II</b> .....	<b>5</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>5</b>
2.1- <b>OBJETIVO GENERAL:</b> .....	<b>5</b>
2.2- <b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS:</b> .....	<b>5</b>
<b>III. CAPITULO III</b> .....	<b>7</b>
<b>ASPECTOS TEÓRICOS</b> .....	<b>7</b>
3.1- <b>POLÍMEROS</b> .....	<b>7</b>
3.1.1- <i>Polimerización en emulsión</i> .....	<b>10</b>
3.1.2- <i>Proceso de polimerización en emulsión</i> .....	<b>12</b>
3.1.3- <i>Polimerización en microemulsión</i> .....	<b>14</b>
3.2- <b>INFORMACIÓN MOLECULAR A PARTIR DE MEDIDAS DE FLUORESCENCIA</b> .....	<b>15</b>
3.2.1- <i>Sondas fluorescentes</i> .....	<b>15</b>
3.2.2- <i>Efecto de la polaridad del medio sobre las propiedades emisivas de una sonda</i> .....	<b>19</b>
3.2.3- <i>Procesos de desactivación de estados excitados</i> .....	<b>20</b>
3.2.4- <i>Procesos de desactivación de moléculas excitadas. Quenching de la fluorescencia</i> .....	<b>23</b>
3.2.4.1- <i>Desactivación dinámica -Tratamiento de Stern-Volmer-</i> .....	<b>23</b>
3.2.4.2- <i>Desactivación estática</i> .....	<b>26</b>
3.2.4.2.1- <i>Efectos transitorios en la desactivación de estados excitados</i> .....	<b>26</b>
3.2.4.2.2- <i>Formas de desactivación estática</i> .....	<b>27</b>
3.2.4.2.3- <i>Esfera efectiva de desactivación</i> .....	<b>27</b>
3.2.4.3- <i>Desactivación de la fluorescencia dinámica y estática de forma simultánea</i> .....	<b>29</b>
3.2.4.4- <i>Desactivación de la fluorescencia en sistemas heterogéneos</i> .....	<b>29</b>
3.2.4.5- <i>Transferencia de electrones fotoinducida</i> .....	<b>30</b>
3.2.4.6- <i>Formación de excímeros y exciplejos</i> .....	<b>33</b>
3.2.4.7- <i>Exciplejos</i> .....	<b>36</b>
3.2.4.8- <i>Procesos de TE. Distinción entre TE radiativa y no radiativa</i> .....	<b>38</b>
3.2.4.8.1- <i>TE radiativa</i> .....	<b>39</b>
3.2.4.8.2- <i>TE no radiativa</i> .....	<b>39</b>
3.2.4.8.3- <i>Mecanismo Förster</i> .....	<b>41</b>
3.2.4.8.4- <i>Mecanismo Dexter</i> .....	<b>43</b>
3.3- <b>FUNDAMENTOS DE LAS TÉCNICAS UTILIZADAS EN ESTOS ESTUDIOS</b> .....	<b>44</b>
3.3.1- <i>Medidas de Dispersión de luz</i> .....	<b>44</b>
3.3.2- <i>Espectroscopia de emisión. Medidas estacionarias</i> .....	<b>49</b>
3.3.3- <i>Espectroscopia de emisión. Medidas resueltas en el tiempo</i> .....	<b>51</b>
3.3.4- <i>Análisis de medidas de emisión resuelta en el tiempo en sistemas heterogéneos</i> .....	<b>53</b>
3.3.5- <i>Anisotropía estacionaria</i> .....	<b>56</b>
3.3.6- <i>Láser Flash Fotólisis (LFP)</i> .....	<b>58</b>
<b>IV. CAPITULO IV</b> .....	<b>63</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>63</b>
4.1- <b>REACTIVOS</b> .....	<b>63</b>
4.1.1- <i>Solventes</i> .....	<b>64</b>
4.2- <b>INSTRUMENTAL</b> .....	<b>64</b>
<b>V. CAPITULO V</b> .....	<b>67</b>

<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>67</b>
5.1.1.1- Síntesis 4-(N,N-dimetilamino) bencil metacrilamida (D) .....	69
5.1.1.2- Caracterización espectroscópica del monómero D .....	70
5.1.2- <i>Síntesis de las Np</i> .....	75
5.1.2.1- Síntesis de PAnD.....	77
5.1.2.2- Síntesis de Np conteniendo el fluoróforo D .....	82
5.1.3- <i>Determinación del tamaño de las Np</i> .....	83
5.1.4- <i>Conclusiones parciales en la sección 5.1</i> .....	85
5.2- CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE PANDO, PD25 Y PD75 .....	86
5.2.1- <i>PAnDO en DCM</i> .....	86
5.2.1.1- Resultados de espectroscopia estacionaria y anisotropía .....	86
5.2.1.2- Resultados de espectroscopia resuelta en el tiempo .....	92
5.2.1.3- Experiencias de fotólisis estacionaria. Fotoblanqueo del cromóforo.....	97
5.2.1.4- Conclusiones parciales de la sección 5.2.1-.....	100
5.2.2- <i>PD25 y PD75 en DCM y THF</i> .....	101
5.2.2.1- Resultados de espectroscopia estacionaria y anisotropía .....	101
5.2.2.2- Resultados de espectroscopia resuelta en el tiempo .....	105
5.2.3- <i>Conclusiones parciales en la sección 5.2</i> .....	109
5.3- ESTUDIOS DE DESACTIVACIÓN DE EMISIÓN DE PANDO POR DMA .....	109
5.3.1- <i>Desactivación de la emisión de 9-MA en solución</i> .....	109
5.3.2- <i>Conclusiones parciales en la sección 5.3.1</i> .....	120
5.3.3- <i>Desactivación de la emisión de PAnDO suspendida en solventes orgánicos</i> .....	121
5.3.4- <i>Conclusiones parciales en la sección 5.3.3</i> .....	133
5.4- CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE PAND25 Y PAND75 .....	133
5.4.1- <i>Procesos de Te fotoinducida intra- Np</i> .....	133
5.4.1.1- Conclusiones parciales en la sección 5.4.1 .....	149
5.4.2- <i>Procesos de TE intra-Np</i> .....	150
5.4.2.1- Conclusiones parciales en la sección 5.4.2 .....	158
<b>CAPITULO VI.....</b>	<b>159</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>159</b>
<b>VI. REFERENCIAS .....</b>	<b>161</b>

## Índice de figuras y esquemas

Figura 1. Comparación de escalas macroscópica y nanoscópica.....	3
Figura 2. Número de publicaciones citadas en la base de datos Scirus® sobre Np durante 1996-2013. ....	4
Figura 3. Objetivos específicos de la tesis. ....	6
Figura 4. Estructura de polímeros: lineal, ramificada y entrecruzada. <sup>63</sup> .....	8
Figura 5. Etapas en una polimerización en emulsión. <sup>60</sup> .....	13
Figura 6. (a) Acido 2-(9- antroiloxi) estearico;(b) pireno. ....	18
Figura 7. Aspectos considerados para una molécula prueba. $\lambda_{abs}$ , $\lambda_{em}$ , $\Delta\nu$ , $\varphi$ y $\tau$ son la longitudes de onda de absorción, longitud de onda de emisión, corrimiento de Stokes, rendimiento cuántico y tiempo de vida, respectivamente. <sup>78</sup> .....	18
Figura 8. Relajación de las moléculas de solvente alrededor de la molécula prueba, que posee un momento dipolar débil en el estado fundamental y marcado en el estado excitado. <sup>79</sup> .....	19
Figura 9. Formas de desactivación estática.....	27
Figura 10. Procesos de Te reductivo y oxidativo respecto a la especie excitada. ....	31
Figura 11. Diagrama de energía de Te fotoinducida entre un D* y un A. ....	32
Figura 12. Diagrama de superficies de energía para un excímero. <sup>78</sup> .....	34
Figura 13. Espectro de fluorescencia correspondiente a la formación de un excímero. ....	34
Figura 14. Diagrama de energía para la formación de un excímero. ....	35
Figura 15. Decaimientos de fluorescencia del monómero y excímero. a- disociación del excímero dentro del tiempo de vida del estado excitado. b- sin disociación. <sup>78</sup> .....	35
Figura 16. Transferencia de energía por resonancia. <sup>78</sup> .....	40
Figura 17. Representación de los mecanismos Coulombico (A) y de intercambio (B) para la TE. IC: interacción Coulombica y IE: intercambio electrónico. <sup>78</sup> .....	40
Figura 18. La señal observada depende de la adición de fases de la luz dispersada en el detector. En A, las dos funciones de onda de la luz producen interferencia y se cancelan mutuamente, provocando una disminución en la luz detectada. En B, la interferencia es constructiva, lo que resulta en un incremento de la luz detectada. ....	46
Figura 19. Fluctuación de las intensidades de luz dispersa para partículas grandes y pequeñas. ....	46
Figura 20. Distribuciones por número, volumen e intensidad de una mezcla bimodal de 5 y 50 nm presentes en igual cantidad. ....	49
Figura 21. Vías físicas de disipación de energía electrónica.....	49
Figura 22. Diagrama de Jablonski. Procesos: absorción (violeta), fluorescencia (rojo), fosforescencia (rosa) relajación vibracional (azul), cruzamiento entre sistemas (marrón) y conversión interna (verde). <sup>79</sup> .....	50
Figura 23. Diagrama de bloque de un fluorómetro. ....	51
Figura 24. Medida de fluorescencia resuelta en el tiempo (rojo) y el pulso del láser (verde). <sup>79</sup> .....	52
Figura 25. Esquema de un equipo de TCSPC. <sup>78</sup> .....	53
Figura 26. Esquema del método en formato L, para medir Anisotropía. <sup>79</sup> .....	58
Figura 27. Diagrama de los niveles de energía implicados en las medidas de LFP. ....	59
Figura 28. Representación de un equipo de LFP. ....	59
Figura 29. Representación esquemática de los pasos involucrados en la medida de especies transitorias. (1) Obturador cerrado. (2) Apertura del pulso analizador. (3) Generación de estados transitorios (Disparo del Láser). (4) Desactivación de los estados transitorios. (5) Cierre del pulso analizador.....	60
Figura 30. Modo espectroscópico en LFP. ....	61
Figura 31. Modo cinético en LFP. ....	61
Figura 32. Medidas de fotólisis de destello de láser para antraceno en ciclohexano. ....	62
Figura 33. Síntesis del monómero D.....	69
Figura 34. Posibles fragmentaciones (espectro de masa de la D). ....	71
Figura 35 Espectro <sup>1</sup> H NMR de D. Solvente: CCl <sub>3</sub> D. 400 MHz.....	72
Figura 36. Espectro superior <sup>13</sup> C NMR. Espectro inferior <sup>13</sup> C NMR DEPT. Compuesto D. Solvente: CCl <sub>3</sub> D. 400MHz.....	73
Figura 37. Espectros de absorción de DMA (negro) 2,4 x 10 <sup>-4</sup> M y D (rojo) 2,29 x 10 <sup>-4</sup> M. Solvente: DCM. ....	74
Figura 38. Espectro IR de D en pastilla de BrK.....	74
Figura 39. Monómeros vinílicos involucrados en la síntesis de Np.....	76

Figura 40. Esquema de la síntesis de polímeros nanoparticulados.....	76
Figura 41. Estructura del CTAB. ....	77
Figura 42. Reacción de iniciación en la polimerización radicalaria.....	77
Figura 43. Procedimiento experimental para la síntesis de PAnD25. ....	78
Figura 44. Espectros FT-IR de (a) PAnD0 y (b) CTACIO <sub>4</sub> , ambos dispersos en KBr.....	79
Figura 45. Distribución de Poisson para las moléculas de Ant por micela en la síntesis de Np. ....	81
Figura 46. Distribución de tamaños de PAnD, obtenidas a partir del análisis por número utilizando el algoritmo automático (Malvern Instruments).....	84
Figura 47. Distribución de tamaños de PAnD, obtenidas a partir del análisis por volumen utilizando el algoritmo automático (Malvern Instruments).....	85
Figura 48. Espectros de absorción (negro) y emisión corregido (rojo) del 9-MA en DCM; concentración: $6 \times 10^{-5}$ M. Longitud de onda de excitación: 350 nm. ....	87
Figura 49. Espectros de absorción (negro), excitación (azul) y emisión (rojo) corregidos, correspondientes a PAnD0 en DCM (0,8 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 350 nm. Longitud de onda de emisión: 415 nm. ....	88
Figura 50. Medidas de una suspensión de PAnD0 en DCM (0,15mgr/ml).Izquierda: Espectros de excitación corregidos. Longitudes de onda de emisión: 390 (negro), 415 (rojo), 440 (azul) y 470 nm (verde). Espectro de emisión correspondiente (grafico inserto). Derecha: Espectros de excitación normalizados. Longitudes de onda de emisión: 390 (negro), 415 (rojo), 440 (azul) y 470 nm (verde). ....	89
Figura 51. Izquierda: Espectros de emisión corregidos de una suspensión de PAnD0 en DCM (0,15 mgr/ml). Espectro de absorción correspondiente (grafico inserto). Derecha: Espectros de emisión normalizados. Longitudes de onda de excitación: 335 (negro), 350 (rojo), 370 (azul) y 390 nm (verde). ....	89
Figura 52. Espectros de excitación (línea) y anisotropía estacionaria (círculos) correspondientes a antraceno en solución de DCM (negro) y PAnD0 en suspensión de DCM (azul). Longitud de onda de emisión: 415 nm. ....	90
Figura 53. Direcciones de las transiciones dipolares para 9-antraceni- cromóforo.....	91
Figura 54. Perfiles de decaimientos de emisión (medidas de TCSPC) (líneas negras) y los ajustes correspondientes obtenidos para 9-MA (rojo) y PAnD0 (azul) en DCM (298 K). Las muestras no fueron desoxigenadas. Longitud de onda de excitación: 378 nm. Se colectó la fluorescencia en el máximo de emisión de la muestra: ~ 415 nm. Valor de $\chi^2$ obtenido fue de: 1,060 (9-MA) y 1,081 (PAnD0). En los gráficos inferiores se muestran los residuales correspondientes al ajuste. Las absorbancias de las muestras se ajustaron a 0,4 a 378 nm. ....	93
Figura 55. Distribuciones de tiempos de vida calculadas para PAnD0 en DCM (298 K). Longitud de onda de excitación: 378 nm. Longitud de onda de emisión: 415 nm. $\chi^2$ : 1,080. La concentración de la dispersión fue de 2,5mgr/ml.....	94
Figura 56. Fotodimerización del Ant. ....	97
Figura 57. Fotólisis del 9-MA en metanol con 5 lámparas de 350 nm. Espectros de absorción correspondientes a 0; 1,2; 2,3; 5,3; 9,6 y 16,6 minutos. La muestra fue desoxigenada por burbujeo con nitrógeno. ....	98
Figura 58. Izquierda: Fotólisis de PAnD0 en acetonitrilo. Espectros de absorción correspondientes a 0; 1; 4,1; 14; 117,7 y 172,3 minutos. Derecha: Fotólisis de PAnD25 en mezcla de acetonitrilo y acetato de etilo (50%). Espectros de absorción correspondientes a 0; 1; 3,7; 9; 14,4 y 24 minutos. Las muestras fueron desoxigenadas por burbujeo con nitrógeno. ....	98
Figura 59. Relación de absorbancias Abs(t)/Abs(t=0) a 368 nm en función del tiempo para 9-MA en metanol (azul), la mezcla prepolimérica (síntesis de la PAnD0 sin agregado del iniciador-verde-) y PAnD0 en acetonitrilo (rojo). Figura inserta corresponde a un mayor rango temporal de las medidas. Fotólisis con 5 lámparas de 350 nm. Las muestras se burbujearon previamente con nitrógeno.....	100
Figura 60. Espectros de absorción (línea continua) y emisión corregido (línea discontinua) para DMA en c-hexano (negro) y PD25 en DCM (rojo). Longitud de onda de excitación: 300 nm. ....	102
Figura 61. Espectros de absorción (negro), excitación (azul) y emisión (rojo) corregidos, correspondientes a PD25 en THF (0,1 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 306 nm. Longitud de onda de emisión: 347 nm.....	103
Figura 62. Espectros de absorción (negro), excitación (azul) y emisión (rojo) corregidos, correspondientes a PD75 en THF (0,04 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 306 nm. Longitud de onda de emisión: 350 nm.....	104

- Figura 63. Espectros de excitación (línea continua) y anisotropía estacionaria (círculos) correspondientes a DMA en THF (negro) y PD75 en suspensión de THF (rojo). Longitud de onda de emisión: 350 nm. .... 104
- Figura 64. Perfiles de decaimientos de emisión (medidas de TCSPC) (líneas negras) y los ajustes correspondientes (líneas de color) obtenidos para DMA (rojo), PD25 (azul), y PD75 (verde) en THF (298 K). Las muestras no fueron desoxigenadas. Longitud de onda de excitación: 297 nm. Se colectó la fluorescencia en el máximo de emisión de la muestra: ~ 350 nm. Valor de  $\chi^2$  obtenido fueron de: 1,081 (DMA), 0,997 (PD25) y 1,005 (PD75). En los gráficos inferiores se muestran los residuales correspondientes a los ajustes. Las muestras fueron preparadas con una absorbancia de ~0,4 a 297 nm. .... 106
- Figura 65. Distribuciones de tiempos de vida calculados para PD25 y PD75 en THF (298 K). Longitud de onda de excitación: 297 nm. Longitud de onda de emisión: 350 nm. El valor de  $\chi^2$  fue: 1,080 (PD25) y 1,125 (PD75). La concentración de las Nps fue de 0,6 mgr/ml. .... 108
- Figura 66. El grafico de Lippert-Mataga para el exciplexo 9-MA/DMA intermolecular (círculos negros) y la correspondiente energía de emisión del exciplexo intrapartícula formado en PAnD75 en DCM (línea roja). Solventes: n-hexano (1), c-hexano (2), éter butílico (3), éter etílico (4), acetato de etilo (5), THF (6) y DCM (7). .... 112
- Figura 67. *Quenching* de la emisión de 9-MA por DMA: 0 M (negro), 0,010 M (rojo), 0,019 M (verde), 0,043 M (azul), 0,098 M (rosa) y 0,222 M (naranja). Solvente: DCM. Longitud de onda de excitación = 350 nm. .... 113
- Figura 68. *Quenching* de la emisión del 9-MA por DMA. Gráficos de Stern-Volmer para los estudios en estado estacionario (círculos negros) y resuelto en el tiempo (cuadrados celestes). Solvente: DCM. Longitud de onda de excitación = 350 nm. .... 114
- Figura 69. *Quenching* de la emisión del 9-MA por DMA en acetonitrilo. Gráfico de Stern-Volmer para los estudios en estado estacionario (círculos negros). Figura inserta: Espectros de emisión correspondientes. [DMA]: 0 M (negro), 0,012 M (rojo), 0,024 M (verde), 0,035 M (azul), 0,084 M (celeste), 0,14 M (rosa) y 0,22 M (naranja). Solvente: acetonitrilo. Longitud de onda de excitación = 375 nm. .... 115
- Figura 70. Espectro de emisión del 9-MA en ausencia (negro) y en presencia de DMA 0,1M (rojo). Ambos espectros fueron normalizados a 415 nm. El espectro de emisión para el exciplexo intramolecular (rosa), fue obtenido de sustraer el espectro negro del rojo. Solvente: éter etílico. Longitud de onda de excitación: 370 nm. .... 116
- Figura 71. Diagrama de niveles de energía y constantes cinéticas involucradas en la desactivación de  $^1\text{Ant}^*$  por la DMA en acetonitrilo.<sup>131, 141</sup> .... 117
- Figura 72. Espectros de absorción de especies transitorias obtenidos a 5  $\mu\text{seg}$  luego de el pulso de excitación del láser (355 nm) para antraceno en acetonitrilo (negro), Ant + DMA 0,4 M en acetonitrilo (azul), Ant + DMA 0,40 M en DCM (verde) y PAnD0 (2,5 mgr/ml)+ DMA 0,40 M en acetonitrilo (rojo). Las muestras se estudiaron en una atmósfera de argón. .... 118
- Figura 73. Espectro de especies transitorias para antraceno en solución a 5  $\mu\text{seg}$  (negro), 20  $\mu\text{seg}$  (rojo), 100  $\mu\text{seg}$  (azul) y 250  $\mu\text{seg}$  (verde) después del pulso del láser. Inserto: ampliación de los espectros entre 550 y 800 nm. Los espectros se tomaron en atmósfera de argón. Solvente: acetonitrilo. Excitación del láser a 355 nm. .... 119
- Figura 74. Espectro de especies transitorias para antraceno en solución (negro) y antraceno + DMA 0,4M (rojo) a 1 $\mu\text{seg}$  después del pulso del láser. Los espectros se tomaron en atmósfera de argón. Solvente: acetonitrilo. Excitación del láser a 355 nm. .... 120
- Figura 75. *Quenching* de la emisión de la PAnD0 por DMA. [DMA]: 0 M (negro); 0,015 M (rojo); 0,053 M (azul); 0,090 M (celeste); 0,159 M (rosa) y 0,22 (naranja). Solvente: acetonitrilo. Longitud de onda de excitación = 370 nm. Concentración de la dispersión 1,0 mgr/ml. .... 122
- Figura 76. *Quenching* de fluorescencia PAnD0 por DMA. Izquierda: grafico de Stern-Volmer. Derecha: grafico de Stern-Volmer modificado. Solvente acetonitrilo. Longitud de onda de excitación = 370 nm. Concentración de la dispersión 1,0 mgr/ml. .... 122
- Figura 77. *Quenching* de la emisión de la PAnD0 por DMA: 0 M (negro); 0,043 M (rojo); 0,093 M (azul); 0,141 M (celeste) y 0,222 M (rosa). Solvente: DCM. Longitud de onda de excitación = 370 nm. Concentración de la dispersión 1,0 mgr/ml. .... 123
- Figura 78. Gráficos de Stern-Volmer a partir de medidas de emisión estacionarias ( $I_0/I$ , círculos negros) y resueltas en el tiempo ( $\tau M_0/\tau M$ , círculos rojos). *Quenching* de PAnD0 por DMA en DCM (298K). La línea negra es el mejor ajuste de la Ecuación 42 a partir de los datos experimentales. .... 123

- Figura 79. *Quenching* de fluorescencia PAnD0 por TPA. Izquierda: grafico de Stern-Volmer. Derecha: grafico de Stern-Volmer modificado. Solvente acetonitrilo. Longitud de onda de excitación = 370 nm. Concentración de la dispersión de 1,0 mgr/ml. .... 124
- Figura 80. Análisis de distribución de tiempos de vida por EI de la dispersión de PAnD0 en DCM (298K), a distintas concentraciones de DMA. El  $\chi^2$  es de: 1,059; 1,140 y 0,983, para 0,000; 0,043 y 0,222 M de *quencher*, respectivamente. Longitud de onda de excitación: 378 nm. Longitud de onda de emisión: 415 nm. La concentración de PAnD0 fue de 1,0 mgr/ml. .... 127
- Figura 81. Espectro de especies transitorias para PAnD0 a 1  $\mu$ seg (negro), 200  $\mu$ seg (rojo) y 440  $\mu$ seg (azul) después del pulso del láser. Los espectros correspondientes a las medidas se obtuvieron en atmósfera de argón. Solvente: DCM; excitación del láser a 355 nm. .... 132
- Figura 82. Espectro de especies transitorias para PAnD0 + DMA a 1  $\mu$ seg (negro), 100  $\mu$ seg (roja), 200  $\mu$ seg (verde), 300  $\mu$ seg (azul) y 440  $\mu$ seg (celeste) después del pulso del láser. Espectros de especies transitorias (normalizados) correspondiente a PAnD0 (negro) y en presencia de DMA (0,4 M) (grafico inserto). Los espectros se tomaron en atmósfera de argón. Solvente: DCM; excitación del láser a 355 nm. .... 132
- Figura 83. Espectros de absorción (negro), excitación (azul) y emisión (rojo) corregidos, correspondientes a PAnD25 en DCM (0,6 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 350 nm. Longitud de onda de emisión: 415 nm. Espectro de absorción correspondiente a la muestra en figura inserta... 134
- Figura 84. Espectros de absorción (negro), excitación (azul) y emisión (rojo) corregidos, correspondientes a PAnD75 en DCM (0,5 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 370 nm. Longitud de onda de emisión: 470 nm. Espectro de absorción correspondiente a la muestra en figura inserta... 135
- Figura 85. Espectros de absorción obtenidos para PAnD25 (0.6 mg/ml) (negro) y PAnD75 (1.36 mg/ml) (rojo) en DCM a 298K. Espectros de emisión corregidos, normalizados a 375 nm, de PAnD25 (verde) y PAnD75 (azul) al excitar a 368 nm..... 135
- Figura 86. Espectros de excitación (línea continua) y anisotropía estacionaria (círculos) correspondientes a PAnD25 en suspensión de DCM. Longitud de onda de emisión: 415 nm..... 136
- Figura 87. Espectros de excitación (línea continua) y anisotropía estacionaria (círculos) correspondientes a PAnD75 en suspensión de DCM. Longitud de onda de emisión: 415 nm..... 137
- Figura 88. Espectros de emisión para PAnD0 (negro), PAnD25 (rojo) y PAnD75 (azul) en DCM. Todos los espectros fueron normalizados a 490 nm. Las líneas entrecortadas muestran la emisión del exciplexo intra-Np obtenido por sustracción de los espectros. .... 137
- Figura 89. Espectros de emisión corregidos para 9-MA (negro), PAnD0 (rojo), PAnD25 (verde) y PAnD75 (azul) en DCM. Para valores de absorción a 370 nm  $\sim$ 0,1 para todas las muestras. 138
- Figura 90. Perfiles de decaimientos de emisión (medidas de TCSPC) (líneas negras) y los ajustes correspondientes (líneas de color) obtenidos para PAnD0 (rojo), PAnD25 (azul), y PAnD75 (verde) en DCM (298 K). Las muestras sin desoxigenar se excitaron con un LED de 378 nm. Se colecto la fluorescencia en el máximo de emisión de la muestra:  $\sim$  415 nm. Valor de  $\chi^2$  obtenido fue de: 1,081 (PAnD0), 1,011 (PAnD25) and 1,116 (PAnD75). En los gráficos inferiores se muestran los residuales correspondientes al ajuste. La concentración de las dispersiones de Nps fue de 2.5 mgr/ml. .... 139
- Figura 91. Distribuciones de tiempos de vida calculadas para las distintas Nps en DCM (298 K). Longitud de onda de excitación: 378 nm. Longitud de onda de emisión: 415 nm. El  $\chi^2$  obtenido fue de: 1,080 (PAnD0), 1,125 (PAnD25) and 1,122 (PAnD75). La concentración de las dispersiones fue de 2,5mgr/ml. .... 140
- Figura 92. Grafico de Perrin (Ecuación 43) para el *quenching* "total" por Te intra- Nps del fluoróforo antraceno en función de la concentración del derivado de DMA (Q). .... 143
- Figura 93. Espectro de emisión resuelto en el tiempo (TRES) obtenido de una dispersión de PAnD75 en DCM (2.5 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 378 nm. Los espectros de emisión corresponden a 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 10; 20; 30; 40 y 50 ns luego del pulso de excitación. .... 144
- Figura 94. Distribuciones de tiempos de vida calculadas para PAnD75 en DCM a 298 K. Longitud de onda de excitación: 378 nm. Longitud de onda de emisión: 520 nm. El  $\chi^2$  obtenido fue de 1,080. La concentración de la dispersión de Np fue de 2,5 mgr/ml. .... 145
- Figura 95. Espectros de especies transitorias normalizados correspondientes a PAnD0 (negro), PAnD0 + DMA (0,4M) (rojo), PAnD25 (azul) y PAnD75 (verde), obtenidos a 1  $\mu$ seg después del pulso de excitación del láser y sus perfiles de decaimientos correspondientes a 480 nm (gráfico inserto). Los espectros fueron obtenidos en atmósfera de argón. Solvente: DCM; excitación del láser a 355 nm. .... 146

- Figura 96. Espectro de especies transitorias para PAnD0 + DMA (0,33M) en DCM, en atmósfera de argón (rojo) y en atmósfera de aire (negro) a 15  $\mu$ seg luego del pulso del láser. Longitud de onda de excitación: 355 nm. .... 148
- Figura 97. Izquierda: Espectro de especies transitorias para PAnD25 en DCM, en atmósfera de argón (rojo) y en atmósfera de aire (negro) a 3  $\mu$ seg luego del pulso del láser. Derecha: Decaimientos correspondientes a 430 nm y 500 nm. Longitud de onda de excitación: 355 nm. .... 148
- Figura 98. Espectro de absorción (negro) de una dispersión de PAnD25 de concentración 0,15 mg/ml en THF. Los espectros de emisión fueron obtenidos a partir de la excitación de la muestra a 368 nm (azul) y a 306 nm (rojo). El espectro de excitación se obtuvo colectando la luz a 440 nm (verde). Las flechas indican las longitudes de onda de excitación y emisión correspondientes. .... 150
- Figura 99. Espectro de absorción (negro) de una dispersión de PAnD75 de concentración 0,02 mg/ml en THF. Los espectros de emisión obtenidos a partir de la excitación de la muestra a 368 nm (azul) y a 306 nm (rojo) y de excitación colectando la luz a 438 nm (verde). Las flechas indican las longitudes de onda de excitación y emisión correspondientes. .... 151
- Figura 100. Espectro de absorción (negro) de una dispersión de PAnD75 de concentración 0,02 mg/ml en DCM. Los espectros de emisión obtenidos a partir de la excitación de la muestra a 370 nm (azul) y a 306 nm (rojo) y de excitación colectando la luz a 440 nm. Las flechas indican las longitudes de onda de excitación y emisión correspondientes. .... 153
- Figura 101. Espectros de excitación de PAnD25 (negro) y PAnD75 (rojo) en THF. Concentración de PAnD25: 0,15 mg/ml y de PAnD75: 0,02 mg/ml. Longitud de onda de emisión 500 nm. .... 153
- Figura 102. Perfiles de decaimientos de emisión (medidas de TCSPC) (líneas negras) y los ajustes correspondientes (líneas de color) obtenidos para PD25 (rojo), PD75 (azul), PAnD25 (verde) y PAnD75 (naranja) en THF (298 K). Las muestras sin desoxigenar fueron excitadas con un LED a 297 nm. Se colectó la fluorescencia en el máximo de emisión de la muestra:  $\sim$  350 nm. Valor de  $\chi^2$  obtenido fue de: 0,997 (PD25); 1,005 (PD75); 1,003 (PAnD25) y 1,024 (PAnD75). En los gráficos inferiores se muestran los residuales correspondientes al ajuste. Las muestras fueron preparadas en celdas de 1 cm de paso óptico y absorbancia de  $\sim$ 0,4 (a 297 nm). .... 155
- Figura 103. Espectros de absorción para 9-MA en c-hexano (negro) y de emisión para DMA (azul), excitando a 306 nm. Solapamiento de los espectros, para el cálculo de  $R_0$  para TE. .... 156
- Figura 104. Distribuciones de tiempos de vida calculados para PD75 y PAnD75 en THF (298 K). Longitud de onda de excitación: 297 nm. Longitud de onda de emisión: 350 nm. El valor de  $\chi^2$  fue: 1,080 (PD75) y 1,125 (PAnD75). La concentración de las Nps fue de 0,6 mgr/ml. .... 157



## Índice de tablas

Tabla 1. Diferencias entre sistemas de polimerización. <sup>58</sup> .....	10
Tabla 2. Información que aporta el uso de las sondas fluorescentes en distintos campos de investigación. <sup>78</sup> .....	16
Tabla 3. Escalas temporales aproximadas de los distintos procesos fotofísicos. <sup>80</sup> .....	21
Tabla 4. Principales procesos responsables de la desactivación de fluorescencia. <sup>78, 81</sup> .....	22
Tabla 5. Relación molar de los monómeros involucrados en la síntesis de cada Np. negativo. ....	68
Tabla 6. Interpretación de las bandas de absorción del espectro IR de la amida. ....	75
Tabla 7. Reactivos utilizados en la síntesis de PAnD0, PAnD25 y PAnD75. ....	80
Tabla 8. $\chi_D$ : fracción molar de D respecto a los moles totales de monómeros y rendimiento de cada síntesis.....	80
Tabla 9. Reactivos involucrados en la síntesis de PD25 y PD75 y fracción molar ( $\chi$ ) de los monómeros involucrados. ....	82
Tabla 10. Diámetro hidrodinámico aparente promedio ( $\phi_h$ ) determinado por DLS para las Np, $\delta$ corresponde al ancho de distribución y IP el rango de valores de índice de polidispersidad obtenidos. Determinaciones llevadas a cabo para dispersiones en DCM.....	83
Tabla 11. Diámetro hidrodinámico aparente promedio ( $\phi_h$ ) determinado por DLS para las Np; $\delta$ corresponde al ancho de distribución y IP el rango de valores de índice de polidispersidad obtenidos. Determinaciones llevadas a cabo para dispersiones en DCM.....	83
Tabla 12. Rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\phi_f$ ) obtenido experimentalmente para distintos sistemas que contienen el fluoróforo Ant.....	92
Tabla 13. Tiempos de vida ( $\tau_i$ ) y factores preexponenciales ( $a_i$ ) obtenidos de los ajustes de los perfiles de decaimiento de fluorescencia de Ant en las distintas Np. Longitud de onda de excitación: 378 nm. ....	94
Tabla 14. Parámetros obtenidos en el análisis de distribución de tiempos de vida para el fluoróforo Ant en las distintas PAnD y 9-MA. Longitud de onda de excitación 378 nm. T: 298 K.....	95
Tabla 15. Rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\phi_f$ ) obtenido experimentalmente para distintos sistemas que contienen el fluoróforo DMA. ....	105
Tabla 17. Parámetros obtenidos en el análisis de distribución de tiempos de vida para el fluoróforo DMA en las distintas Np y en solución. Longitud de onda de excitación 397 nm. T: 298 K.....	107
Tabla 16. Tiempos de vida ( $\tau_i$ ) y factores preexponenciales ( $a_i$ ) obtenidos de los ajustes de los perfiles de decaimiento de fluorescencia del grupo DMA en las distintas NPs y en solución. Longitud de onda de excitación: 297 nm.....	108
Tabla 18. Propiedades espectroscópicas y electroquímicas de Ant y DMA. ....	110
Tabla 19. Desactivación del estado singlete excitado del 9-MA por DMA en distintos medios. Caracterización fotoquímica del exciplexo.....	111
Tabla 20. Parámetros obtenidos de las experiencias de <i>quenching</i> del estado singlete excitado de PAnD0 (aplicando la Ecuación de Stern-Volmer modificada). ....	125
Tabla 21. Análisis de distribución de tiempos de vidas por el método EI. <i>Quenching</i> de fluorescencia de PAnD0 por DMA.....	128
Tabla 22. Rendimientos cuánticos ( $\phi_f$ ) y tiempos de vida media ( $\tau_M$ ) de fluorescencia para Ant en las distintas Np-Ant suspendidas en DCM y el porcentaje de inhibición calculado en cada caso. ....	141
Tabla 23. Parámetros obtenidos en el análisis de distribución de tiempos de vida para el exciplexo Ant/D intrapartícula en PAnD75. Longitud de onda de excitación 378nm. T: 298 K. ....	144
Tabla 24. Rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\phi_f$ ) y tiempos de vida medios ( $\tau_M$ ) obtenidos experimentalmente para distintos sistemas que contienen el fluoróforo D en THF. Y los valores correspondientes a TE de rendimiento ( $\Phi_{TE}$ ) y distancia promedio (R).....	157



## Glosario

**A:** molécula o grupo aceptor en la Te o aceptor en la TE.

**Ant:** grupo antracénil sustituido en la posición 9.

**Ant-MMA:** metilmetacrilato de (9-antracénil) metilo o 9-antracénilmethylmetacrilato.

**cmc:** concentración micelar crítica.

**CT:** complejo de transferencia de carga.

**CTAB:** bromuro de hexadeciltrimetilamonio.

**D:** molécula o grupo dador en la Te o dador en la TE. También se refiere al derivado acrilato de N,N-dimetilanilina (4(N,N-dimetilamino)benzilmetacrilamida) incorporado en las nanopartículas de polímero.

**DCM:** diclorometano.

**DEPT:** distortionless Enhancement by Polarisation Transfer.

**DLS:** Dynamic Light Scattering (Dispersión dinámica de luz).

**DMA:** N,N-dimetilanilina.

**SCE:** electrodo de calomel saturado.

**EGDMA:** etilenglicol dimetacrilato o dimetacrilato de etileno.

**EI:** software de análisis de distribución tiempo de vida provisto por Edimburg Instruments.

**FC:** estado de Franck-Condon. Clásicamente, el principio de Franck-Condon es la aproximación según la cual la transición electrónica más probable es aquella que tiene lugar sin cambios en la posición de los núcleos de la entidad molecular y de sus alrededores (transición vertical).

**FT-IR:** espectroscopia de absorción en el infrarrojo con transformación de Fourier.

$k_{ic}$ : constante de desactivación de una molécula en el estado excitado por conversión interna.

$k_{isc}$ : constante de desactivación de una molécula en el estado excitado por cruzamiento entre sistemas.

$k_{nr}$ : constante de una molécula en el estado excitado por procesos no radiativa.

$k_r$ : constante de desactivación de una molécula en el estado excitado por radiación.

$k_M$ : constante global de desactivación intrínseca de una molécula en el estado excitado.

Involucra las demás constantes:  $k_{ic}$ ,  $k_{isc}$  y  $k_r$ .

**$k_q$** : constante de desactivación de una molécula en el estado excitado por interacción con otra molécula Q.

**$K_{SV}$** : constante de Stern-Volmer ( $= \tau_0 k_q$ ).

**$k_{Te}$** : constante correspondiente al proceso de Te.

**LFP**: Láser flash fotólisis.

**M**: molécula de fluoróforo.

**9-MA**: 9-metilantraceno.

**MEM**: Método de Máxima Entropía.

**MF**: monómeros funcionalizados.

**MMA**: metilmetacrilato o metacrilato de metilo.

**$N_{ag}$** : número de agregación.

**NLLS**: método de análisis por cuadrados mínimos no lineales (nonlinear least squares).

**$N_p$** : nanopartículas poliméricas.

**PAnD0**:  $N_p$  compuesta por un polímero entrecruzado de MMA, EGDMA y dopado con un bajo nivel de Ant.

**PAnD25**:  $N_p$  compuesta por un polímero entrecruzado de MMA, EGDMA, D y dopado con un bajo nivel de Ant. El 25% de la fracción molar de metilmetacrilato respecto a PAnD0 se reemplazó por D.

**PAnD75**:  $N_p$  compuesta por un polímero entrecruzado de MMA, EGDMA, D y dopado con un bajo nivel de Ant. El 75% de la fracción molar de metilmetacrilato respecto a PAnD0 se reemplazó por D.

**PD25**:  $N_p$  compuesta por un polímero entrecruzado de MMA, EGDMA y D. Ant. El 25% de la fracción molar de metilmetacrilato respecto a PAnD0 se reemplazó por D.

**PD75**:  $N_p$  compuesta por un polímero entrecruzado de MMA, EGDMA y D. Ant. El 75% de la fracción molar de metilmetacrilato respecto a PAnD0 se reemplazó por D.

**Py**: pireno.

**Q**: agente desactivante de una molécula en el estado excitada en su primer estado singlete.

**$r$** : medidas de anisotropía de fluorescencia en estado estacionario.

**RET**: transferencia de energía por resonancia.

**RMN**: espectroscopia de resonancia magnética nuclear.

**RW**: peso relativo.

**S<sub>0</sub>**: estado fundamental singlete. El estado singlete corresponde al estado que tiene número cuántico de espín electrónico total igual a 0. Considerando la multiplicidad, es decir, el número de orientaciones posibles,  $2S+1$ , del momento angular de espín correspondiente a un determinado número cuántico de espín total (S), para la misma función de onda electrónica espacial. Un estado de multiplicidad *singlete* tiene  $S = 0$  y  $2S+1 = 1$ .

**S<sub>1</sub>**: primer estado excitado singlete.

**S<sub>n</sub>**: corresponde al estado excitado singlete n.

**T<sub>1</sub>**: primer estado excitado triplete. Estado que tiene un número cuántico de espín electrónico total igual a 1.

**TAC**: convertidor amplitud-tiempo.

**TCSPC**: conteo de fotones individuales con correlación temporal.

**Te**: transferencia de electrones.

**TE**: transferencia de energía.

**TeF**: transferencia de electrones fotoinducida.

**THF**: tetrahidrofurano.

**TPA**: tripropilamina.

**TRES**: espectro de emisión resuelto en el tiempo.

**VA-044**: iniciador dihidrocloruro de 2,2'-Azobis(2-(4,5dihidroimidazol) propilo).

**$\varphi_f$** : rendimiento cuántico de fluorescencia.

**$\Phi_{TE}$** : eficiencia de TE.

**$\mu_e$** : momento dipolar de un fluoróforo en el estado excitado.

**$\mu_f$** : momento dipolar de un fluoróforo en el estado fundamental.

**$\tau_M$** : tiempo de vida medio de fluorescencia.

**$\tau_0$** : tiempo de vida de fluorescencia intrínseco.



# I. CAPITULO I

## Introducción

---

Las matrices poliméricas son materiales estructuralmente complejos tal como lo demuestran diversos estudios de difracción de rayos X,<sup>1</sup> de análisis térmico<sup>2</sup> y de reología.<sup>3</sup> Conclusiones similares también se infirieron al investigar el comportamiento de sondas luminiscentes incorporadas a dichas matrices.<sup>4, 5</sup> Los polímeros sólidos generalmente muestran un alto grado de heterogeneidad debido a que en su estructura pueden coexistir dominios microcristalinos, zonas amorfas, volúmenes libres y canales intersticiales en donde moléculas huéspedes pueden alojarse y eventualmente reaccionar.

Debido a la importancia de estos procesos en muchos dispositivos orgánicos-electrónicos tales como celdas solares,<sup>6-10</sup> diodos emisores de luz,<sup>11-13</sup> transistores de efecto de campo,<sup>14-18</sup> sensores ópticos,<sup>19, 20</sup> etc., el estudio de reacciones de transferencia de electrones (Te) y de energía (TE) en medios microheterogéneos rígidos o semi-rígidos es un área de creciente interés científico y tecnológico. Además, la investigación de reacciones que involucran pares radicales de bajo peso molecular (neutros o iónicos) en matrices poliméricas es de gran importancia para comprender los mecanismos de degradación de estos materiales, como así también, para entender el fenómeno de transporte de cargas en polímeros fotoconductores<sup>21</sup> y en dispositivos optoelectrónicos.<sup>7, 8, 22-24</sup> En principio, la factibilidad de generación y posterior combinación de pares radicales en polímeros no solo depende de la naturaleza de las especies reactivas producidas (carga, movilidad, etc.) sino también del efecto ejercido por la matriz polimérica sobre la termodinámica y cinética de estas reacciones. Así, dichas reacciones pueden ser utilizadas como sondas cinéticas, las cuales combinadas con estudios del comportamiento de sondas fluorescentes clásicas pueden proporcionar información de interés sobre la estructura de la matriz.

A pesar de que los procesos de Te y TE a nivel molecular ya han sido estudiados y comprendidos en solución, esta afirmación no se aplica para medios rígidos, donde la difusión se ve inhibida y las barreras energéticas significativamente alteradas.<sup>25</sup> Otra

característica a tener en cuenta es que en contraste con los sistemas homogéneos, los medios sólidos generalmente dan lugar a cinéticas de reacción complejas; incluso en los casos más simples se observan distribuciones de constantes de reacción.<sup>26</sup> Por lo tanto, es de gran relevancia tecnológica alcanzar un mejor entendimiento sobre como los procesos de separación/combinación de carga y de transferencia de energía toman lugar en estos medios. Cabe mencionar que la mayoría de los estudios publicados han sido llevados a cabo en medios orgánicos congelados<sup>27-30</sup> y films poliméricos.<sup>5, 31-33</sup>

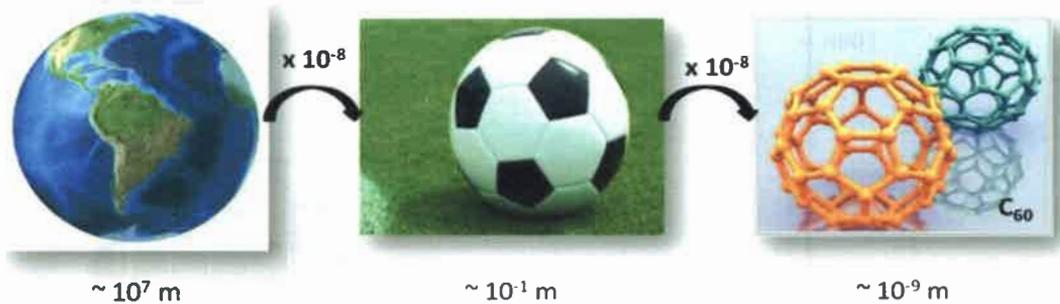
Por otra parte, si bien se conoce que llevando a cabo reacciones de polimerización en sistemas microheterogéneos, tales como miniemulsiones,<sup>20, 34, 35</sup> micelas directas<sup>22-25, 36-40</sup> y micelas inversas,<sup>41</sup> es posible obtener polímeros nanoparticulados de muy diversas características<sup>42-44</sup> y aplicaciones;<sup>45-47</sup> prácticamente no existen estudios fotofísicos y fotoquímicos tendientes a caracterizar la estructura de este tipo de partículas usando sondas luminiscentes o cinéticas.

### 1.1- Nanopartículas poliméricas (Np)

El término materiales nanoparticulados se refiere a aquellos materiales compuestos por partículas discretas, que en el caso de ser esféricas, tienen un diámetro por debajo de los 100 nm y para los nanotubos o nanohilos la dimensión mayor se considera de hasta 200 nm.<sup>48</sup> Adicionalmente, los polímeros (también conocidos como “plásticos”) son grandes moléculas construidas a partir de unidades estructurales más pequeñas (monómeros), las cuales se unen covalentemente unas a otras en cualquier patrón concebible. Por lo tanto, podemos definir como nanopartícula polimérica (Np) a una gran molécula constituida por monómeros y cuyas dimensiones no superan los 100 nm.

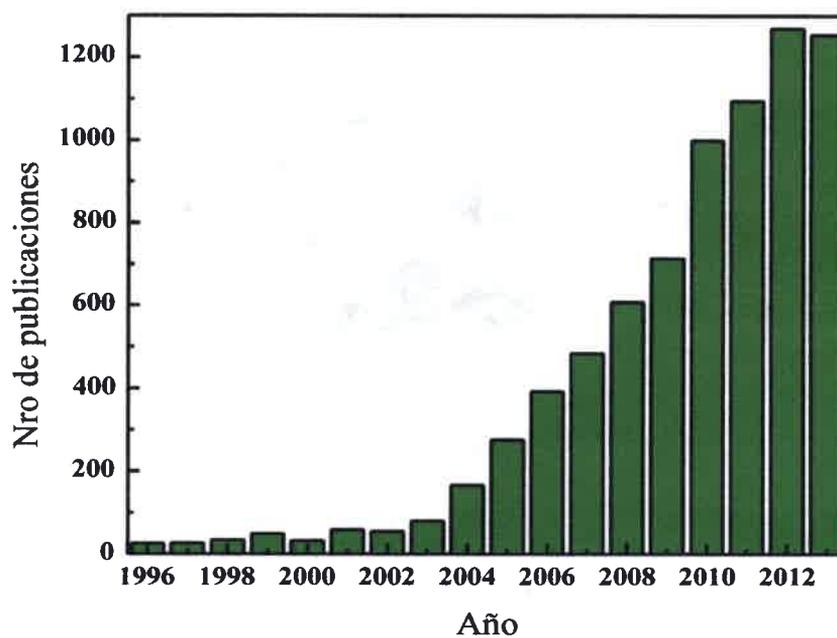
Para poder comprender sobre las dimensiones que se están tratando, se puede realizar una comparación de escalas (Figura 1), si se parte del tamaño del planeta tierra y aplicando un factor de  $10^{-8}$  a sus dimensiones se obtiene una esfera del tamaño de una pelota de fútbol y si nuevamente se realiza la misma reducción resulta el fullereno, una nanoestructura compuesta por 60 átomos de carbono ( $C_{60}$ ). Mediante esta comparación

se puede establecer la relación existente entre los objetos que manipulamos cotidianamente que se encuentran en la escala macroscópica y la noción “nanoscópica”.



**Figura 1.** Comparación de escalas macroscópica y nanoscópica.

En cuanto a las Np, han representado un campo de creciente interés en las últimas décadas, como se puede observar a partir del número de publicaciones registradas sobre la temática (Figura 2). Dicha tendencia se explica en las propiedades únicas observadas para estas partículas, las cuales difieren de las correspondientes a los átomos y moléculas que la componen y a las del material “como un todo”. Esto da lugar a que estos materiales nanoparticulados pueden ser utilizados en múltiples áreas: desde la electrónica a la fotónica, desde materiales conductores a sensores, desde la medicina a la biotecnología, desde control de contaminación a la tecnología ambiental<sup>49-57</sup>, etc. Un punto importante para destacar es el método de síntesis de las Np. Dependiendo de las técnicas de preparación elegida puede controlarse el tamaño de las partículas y por lo tanto, sus propiedades y su aplicación.<sup>56, 58, 59</sup>



**Figura 2.** Número de publicaciones citadas en la base de datos Scirus® sobre Np durante 1996-2013.

---

## II. CAPITULO II

### OBJETIVOS

---

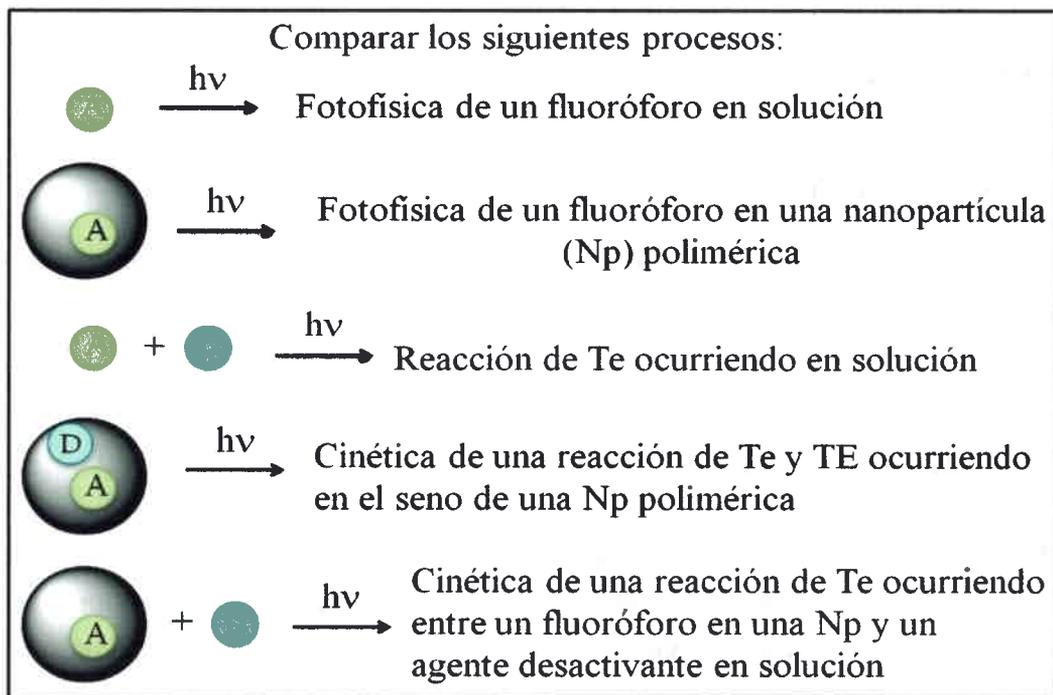
#### 2.1- Objetivo General:

Estudiar la fotofísica y fotoquímica de diversos sustratos confinados en matrices poliméricas.

#### 2.2- Objetivos Específicos:

- a) Llevar a cabo la síntesis de nanopartículas poliméricas incorporando distintos monómeros funcionalizados (MF), cuya estructura contiene un donador o un aceptor de electrones. Como MF se utilizarán derivados metacrilatos de antraceno y N,N-dimetilanilina.
- b) Realizar estudios comparativos tendientes a caracterizar de la fotofísica y fotoquímica de dichas moléculas incorporadas en la matriz polimérica y en solución homogénea.
- c) Estudiar procesos de transferencia de energía (TE) y transferencia de electrones (Te) que pudieran tener lugar en la matriz polimérica entre sustratos que se encuentran unidos covalentemente a la misma, utilizando técnicas de fluorescencia estacionaria, emisión resuelta en el tiempo y fotólisis pulsada por láser.
- d) Realizar estudios comparativos de la cinética de la Te fotoinducida entre sondas fluorescentes incorporadas en la matriz polimérica con sustratos que no se encuentran incorporados a la misma, y de los mismos procesos ocurriendo en solución.

Los objetivos planteados se resumen en el Figura 3.



**Figura 3.** Objetivos específicos de la tesis.

## III. CAPITULO III

### Aspectos teóricos

---

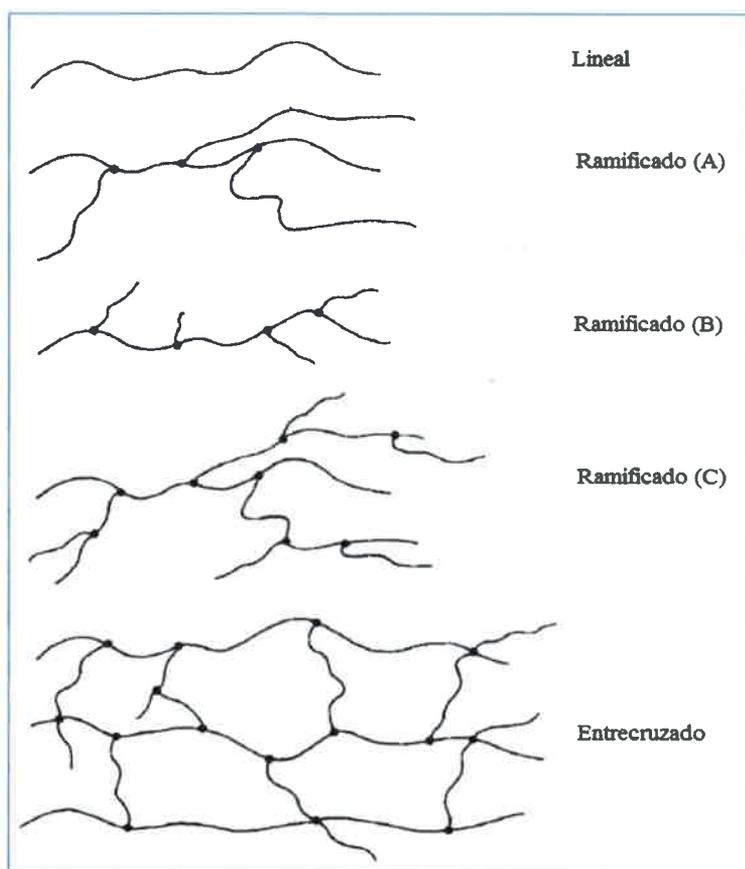
#### 3.1- Polímeros

Los polímeros son macromoléculas formadas por la unión de un gran número de pequeñas moléculas, llamadas monómeros. El proceso por el cual las moléculas de monómero se combinan entre sí para formar la molécula polimérica recibe el nombre de polimerización. Puede haber cientos, miles, decenas de miles o más moléculas de monómeros unidas entre sí en una molécula de polímero.<sup>60-62</sup>

A pesar de su gran tamaño, las estructuras químicas de las macromoléculas no son muy complicadas ya están formadas por una estructura química sencilla que se repite muchas veces. El elevado tamaño molecular se alcanza por unión repetida de moléculas pequeñas (monómeros). La unión de las moléculas de monómero para dar el polímero se realiza en secuencia, una molécula detrás de otra, y la estructura molecular que resulta es una cadena de eslabones consecutivos, unidos entre sí mediante enlaces covalentes. Cada unidad repetida, o unidad monomérica, es un eslabón de dicha cadena macromolecular. Por debajo de  $10^4$  de peso molecular, los polímeros están formados por sólo unas pocas unidades repetitivas de monómero y se llaman oligómeros. El número de eslabones que componen esta cadena o número de moléculas de monómero que se han unido en secuencia, es su grado de polimerización.

Para que una molécula se denomine monómero debe poseer sitios de enlace a través de los cuales se puede unir a otros monómeros para formar la cadena polimérica. Estos sitios pueden ser un grupo funcional específico como el vinílico. Monómeros monovinílicos dan lugar a polímeros lineales, pero si los monómeros son polivinílicos (dos o más sitios de enlace) dan lugar a polímeros ramificados. Estos pueden incluso dar lugar a grandes redes tridimensionales que tienen ramificaciones y entrecruzamientos. Cuando sólo una especie de monómero se utiliza para construir la macromolécula el producto se denomina homopolímero o polímero. Si las cadenas están formadas por dos tipos de unidades monoméricas, el material se denomina copolímero.

Los polímeros se pueden clasificar, según la estructura, en lineales, ramificados o entrecruzados, los cuales se presentan en la Figura 4.



**Figura 4.** Estructura de polímeros: lineal, ramificada y entrecruzada.<sup>63</sup>

Según la morfología de la cadena, los polímeros pueden ser lineales (Figura 4), los cuales no presentan otras ramificaciones que no sean aquellas correspondientes a los grupos laterales ya presentes en el monómero. Los polímeros ramificados, son aquellos con más de dos finales de cadena por molécula. En su estructura presentan puntos de ramificación de los monómeros unidos que se proyectan desde puntos centrales a lo largo de la cadena principal del polímero. Como se ve en la Figura 4, existen diferentes tipos de polímeros ramificados. El polímero puede tener la estructura de peine con las ramas largas (Figura 4-A) o cortas (Figura 4-B). Cuando las ramificaciones se extienden y proyectan en otras, el polímero presenta una estructura dendrímica, en otras palabras, se ramifican las ramas (Figura 4-C). La presencia de ramificaciones en un

polímero por lo general tiene un gran efecto sobre muchas de sus propiedades. El cambio de propiedad más significativo causado por las ramificaciones es la disminución de la estructura cristalina.<sup>60-62</sup>

Cuando los polímeros producidos presentan cadenas poliméricas unidas entre sí en puntos distintos de sus terminales, el polímero se denomina entrecruzado. El entrecruzamiento puede ocurrir durante el proceso de polimerización por el uso de los monómeros apropiados (con dos o más grupos funcionales polimerizables), o también puede ser producido luego de la polimerización vía diversas reacciones específicas. El grado de entrecruzamiento, se puede variar a partir del número de entrecruzadores empleados. Cuando el número de entrecruzamientos es lo suficientemente alto, se produce un polímero tridimensional o una red espacial polimérica en la cual la mayoría de las cadenas poliméricas en la muestra han sido unidas entre sí para formar una molécula de alto peso molecular (Figura 4).<sup>61, 64</sup>

Las nanopartículas se definen comúnmente como partículas coloidales sólidas en el rango de 10 a 1000 nm. El término nanopartícula polimérica (Np) es un término colectivo utilizados para cualquier tipo de nanoesfera o nanocapsulas de polímero. Las nanoesferas son partículas sólidas, mientras que las nanocapsulas son sistemas vesiculares, cuyo centro es líquido y está rodeado por un revestimiento sólido. La producción de Np es un campo de sumo interés ya que su utilización abarca desde investigaciones básicas hasta el desarrollo de nuevos materiales funcionales

Entre las distintas técnicas de preparación de Np se pueden mencionar nanoprecipitación, evaporación de solvente y diálisis, que involucran polímeros preformados, no el proceso de polimerización. La obtención de Np con propiedades deseadas en una aplicación en particular, puede ser durante la polimerización de los monómeros.

Los procesos de producción de Np a partir de la polimerización de monómeros se discutirán a continuación, centrándonos en la polimerización en emulsión y microemulsión. La polimerización en emulsión es uno de los métodos más comunes en la producción de polímeros. El uso de agua como medio dispersante es aceptable para el medioambiente y favorece la buena disipación del calor durante la reacción. La polimerización en microemulsión representa una mejora nueva y efectiva para la

síntesis de Np. Ambas clases de síntesis presentan similitudes debido a que producen Np coloidales de alto peso molecular, sin embargo son cinéticamente diferentes. Tanto el tamaño como el número promedio de cadenas poliméricas por partícula son considerablemente menores en la polimerización en microemulsión. Las diferencias entre estas polimerizaciones se sintetizan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Diferencias entre sistemas de polimerización.<sup>58</sup>

Característica	Emulsión	Microemulsión
<b>Estabilidad termodinámica</b>	No-estable	Estable
<b>Periodo de estabilidad</b>	Segundos-meses	Infinita estabilidad
<b>Tamaño de las gotas</b>	1-10 $\mu\text{m}$	~ 10 nm
<b>Polidispersidad</b>	baja	Muy baja
<b>Tamaño de partícula</b>	50-300 nm	30-100 nm

### 3.1.1- Polimerización en emulsión

El proceso de polimerización se puede clasificar en homogéneo o heterogéneo según el número de fases presentes en el sistema. Hay tres clases de polimerización heterogénea: precipitación, suspensión y emulsión.<sup>60</sup>

La polimerización en emulsión se refiere a un único proceso empleado para algunas polimerizaciones radicalarias en cadena, la cual involucra la polimerización de monómeros en la forma de emulsiones (es decir, dispersiones coloidales). Esta clase de polimerización presenta ciertas ventajas: el estado físico del sistema (coloidal) facilita el control del proceso, y resuelve los problemas de viscosidad y temperatura, los cuales son muy importantes en la polimerización masiva en fase homogénea (bulk). Existe en bibliografía una amplia discusión referida a este tipo de polimerizaciones (en emulsión).<sup>58-60</sup>

Los componentes principales que se pueden identificar en un sistema de polimerización en emulsión son: monómero/s, medio dispersante (líquido, generalmente agua), agente emulsionante e iniciador (usualmente soluble en agua). La proporción agua/monómero se encuentran en el rango 70/30 – 60/40 (referido al peso). El agente

emulsionante, también llamado surfactante o detergente, es una molécula anfifílica es decir que su estructura posee una zona no polar (hidrofóbica) y una zona polar (hidrofílica). Cuando la concentración de surfactante excede su concentración micelar crítica (*cmc*), el exceso de moléculas del mismo se agregan para formar agregados coloidales, llamadas micelas. Las micelas pueden definirse como agregados formados por la asociación espontánea (minimiza la energía libre del sistema) de las moléculas anfifílicas, con el fin de reducir la superficie de contacto de las regiones hidrofóbicas con el solvente acuoso. Al superar la *cmc* se observan cambios marcados en la conductividad eléctrica, la actividad iónica, viscosidad y otras propiedades de la solución.<sup>65-68</sup>

Dado que en la mayor parte de las polimerizaciones en emulsión la concentración de surfactante (0,1-3 % p/p) excede la *cmc* por uno o más órdenes de magnitud, la mayor parte del agente emulsionante se encuentran formando las micelas. Las micelas típicas tienen dimensiones en el rango de 2-10 nm, con cada micela conteniendo entre 50 y 150 moléculas de surfactantes. La mayoría de los autores representan a la micela con forma esférica, aunque este no siempre es el caso. Micelas esféricas o en forma tubular son observadas dependiendo del surfactante y su concentración.<sup>69-71</sup> Las moléculas de surfactante están dispuestas en la micela con su “cola” hidrocarbonada hacia el interior y su “cabeza” polar o iónica hacia afuera, en contacto con la fase acuosa.

En cuanto a los monómeros, la mayoría de estos presentan baja solubilidad en agua (por ejemplo metacrilato de metilo y estireno presentan valores del 0,16 y 0,07 gr/L, respectivamente, a 25°C);<sup>60</sup> por lo que se podría decir que una muy pequeña fracción de este compuesto está disuelto en la fase acuosa. Parte de monómero se incorpora en el interior hidrocarbonado de las micelas. La cantidad de monómero en las micelas en comparación con lo que hay en solución es mucho mayor para monómeros no polares. Sin embargo, la mayor porción de monómero (>95%) está dispersado por acción de la agitación.<sup>60</sup>

La polimerización tiene lugar casi exclusivamente en las micelas ya que las gotas de monómeros (área superficial total muy pequeña) no compiten eficazmente en la captura de los radicales producidos en el medio acuoso. La polimerización puede ocurrir también en solución, pero no contribuye significativamente debido a la baja

concentración de monómeros que puede llegar a encontrarse en la fase acuosa y el producto es un polímero de bajo peso molecular insoluble (oligómero). Las micelas actúan como un lugar de reunión para el monómero no polar y el radical del iniciador soluble en agua, además se ven favorecidas como el sitio de reacción por su alta concentración de monómero comparada con el monómero en solución. Durante la polimerización, las micelas crecen por la adición de monómeros de la solución acuosa cuya concentración es reabastecida por la disolución de las gotas de monómero.<sup>58, 60</sup>

Se han planteado dos posibles mecanismos de nucleación de la partícula (es decir la formación de partículas de polímero). Por un lado la nucleación en la micela, cuando los radicales ingresan desde la fase acuosa. Los radicales pueden ser primarios o, más probablemente, ser radicales oligoméricos formados por polimerización en solución.<sup>72, 73</sup> El segundo caso está referido a una nucleación homogénea que involucra radicales oligoméricos polimerizados en solución que se vuelven insolubles y precipitan.<sup>60</sup> Estas especies son estabilizadas por la absorción de surfactante (de la solución, gotas de monómero, y micelas), y una subsecuente absorción de monómero las vuelve equivalentes a las partículas de polímero formadas por nucleación en micela. La nucleación micelar es el proceso predominante cuando la concentración de surfactante se encuentra por encima de la *cmc*.

### 3.1.2- Proceso de polimerización en emulsión

En la Figura 5 se muestran las distintas etapas que ocurren durante una polimerización en emulsión. En términos generales, tres etapas pueden distinguirse, basadas en el número de partículas, la concentración de partículas y la existencia de una fase monomérica separada (gotas de monómero). Existe una fase de monómero separada en las primeras dos etapas pero no en la tercera (Figura 5).

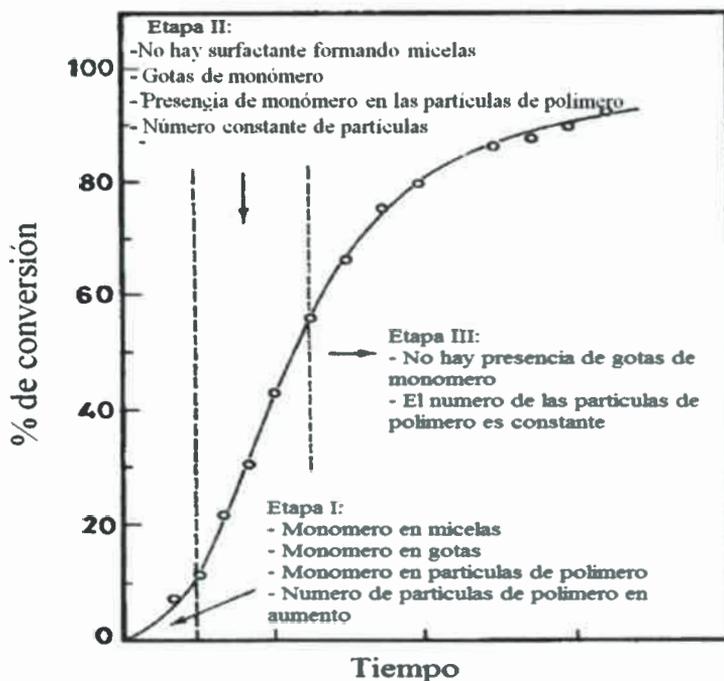


Figura 5. Etapas en una polimerización en emulsión.<sup>60</sup>

A continuación se describen cada una de las etapas que conforman la polimerización en emulsión.<sup>58, 60</sup>

**Etapa I:** la polimerización es iniciada solo en un pequeño número de micelas. A medida que la polimerización avanza, las micelas activas consumen el monómero presente en ellas. Este consumo es reabastecido primero desde la fase acuosa y posteriormente desde las gotas de monómero. Las micelas activas crecen en tamaño por la formación de polímero y el monómero contenido dentro, resultando en una nueva fase: partículas de monómero-polímero. Para conservar su estabilidad, estas partículas poliméricas hinchadas de monómero absorben el surfactante de la solución.

Cuando alrededor del 13-20% de la polimerización ya ocurrió, la concentración de surfactante decrece hasta por debajo de la *cmc*. Consecuentemente, las micelas inactivas (aquellas sin polímero en crecimiento) se vuelven inestables y desaparecen. Como evidencia, la tensión superficial inicialmente baja de la emulsión acuosa aumenta en forma repentina debido a la disminución de la concentración de surfactante, y si se detiene la agitación en esta etapa las gotas de monómero pueden colapsar porque no

están estabilizadas. Esto marca el final de la etapa I, la cual se caracteriza por un incremento continuo en la velocidad global de polimerización por la nucleación (Figura 5).

**Etapa II:** Para el final de la etapa I, las micelas inactivas han desaparecido debido a la difusión del surfactante hacia las partículas de polímero para su estabilización en el medio. La polimerización procede en forma homogénea en las partículas poliméricas debido a que la concentración de monómero permanece constante ya que va difundiendo desde las gotas que actúan como reservorios. Como resultado en esta etapa se observa una disminución del tamaño de las gotas de monómero hasta desaparecer mientras crecen las partículas poliméricas. No hay nucleación de nuevas partículas de polímero en esta etapa, por lo que el número de partículas permanece constante. Esta etapa se caracteriza por una velocidad de polimerización constante.

**Etapa III:** En un grado avanzado de la polimerización (50-80% de conversión), el suministro de monómero en exceso se agota (las gotas desaparecen). Las partículas de polímero contienen todo el monómero sin reaccionar. Como la concentración de monómero en las partículas de polímero decrece, la velocidad de polimerización decrece en forma constante y se desvía de la linealidad.

Finalmente se obtienen partículas de polímero de forma esférica usualmente con un diámetro entre 50-300 nm, comprendido entre el tamaño de las micelas y el de las gotas de monómero.

### 3.1.3- Polimerización en microemulsión

La polimerización en microemulsión representa un nuevo y efectivo avance en la preparación de Np. Si bien las polimerizaciones en emulsión y microemulsión parecen ser similares debido a que ambos métodos pueden producir partículas poliméricas coloidales de alto peso molecular, estas son muy distintas cuando se compara sus cinéticas. La polimerización en emulsión presenta tres etapas de reacción, mientras que son detectadas solo dos en el proceso en microemulsión. Tanto el tamaño como el número promedio de cadenas por partícula son considerablemente menores en esta clase de polimerización.<sup>74</sup>



Un iniciador, que por lo general es soluble en agua, se añade a la fase acuosa de una microemulsión termodinámicamente estable que contiene micelas hinchadas (conteniendo monómero). La polimerización se inicia a partir de este estado termodinámicamente estable, formado espontáneamente y se basa en sistemas con altas cantidades de surfactante, que poseen una tensión interfacial aceite / agua cercana a cero.

Inicialmente, las cadenas de polímero se forman solo en algunas micelas, posteriormente la influencia osmótica de las cadenas desestabiliza la microemulsión y conduce a un aumento en el tamaño de partícula, la formación de micelas vacías, y la nucleación secundaria. El producto final corresponde a partículas de polímero muy pequeñas (5-50 nm), coexistiendo con una gran cantidad de micelas vacías.<sup>75-77</sup>

En la polimerización en emulsión la nucleación ocurre casi exclusivamente en la etapa temprana del proceso (intervalo I- Figura 5). En contraste, en la polimerización en microemulsión y debido a la alta concentración de surfactante presente, la nucleación ocurre durante casi todo el proceso, suprimiendo el intervalo II (Figura 5).

### **3.2- Información molecular a partir de medidas de fluorescencia**

A partir de estudios de fluorescencia estacionaria y resuelta en el tiempo se infirió sobre el efecto del entorno polimérico sobre una sonda fluorescente incorporada. Con este fin se realizaron estudios comparativos respecto al fluoróforo en solución (un medio fluido). Además, se llevaron a cabo investigaciones tendientes a la desactivación del estado excitado del fluoróforo en ambos medios, analizando el esquema cinético en cada caso.

#### **3.2.1- Sondas fluorescentes**

Los fluoróforos son comúnmente utilizados como moléculas pruebas o sondas en la investigación fisicoquímica, bioquímica o biológica de distintos sistemas. En la Tabla 2 se resume la información que aporta el uso de las sondas fluorescentes en distintos campos de investigación.<sup>78, 79</sup>

**Tabla 2.** Información que aporta el uso de las sondas fluorescentes en distintos campos de investigación.<sup>78</sup>

<b>Campo</b>	<b>Información</b>
<b>Polímeros</b>	Dinámica de las cadenas poliméricas, microviscosidad, volumen libre, orientación de las cadenas en muestras delgadas, miscibilidad, separación de fases, difusión de especies a través de la red polimérica, monitoreo de polimerización y degradación.
<b>Superficies sólidas</b>	Estudio de propiedades superficiales (rigidez, polaridad y modificaciones) en diversos materiales como silica coloidal, zeolita, silica gel y alúmina.
<b>Agregados de surfactantes</b>	Concentración micelar crítica ( <i>cmc</i> ), número de agregación ( $N_{ag}$ ), propiedades de la interface y polaridad, dinámica del sistema microheterogéneo, transición de fase, coeficientes de partición, efecto de aditivos y pH interno.
<b>Membranas biológicas</b>	Fluidez, parámetros de orden, interacción lípido-proteína, difusión traslacional, accesibilidad de sitios, cambios estructurales, potenciales de membrana, complejos y uniones, cambios fotoinducidos, efectos de aditivos y localización de proteínas.
<b>Proteínas</b>	Sitios de unión, desnaturalización, sitios de accesibilidad, dinámica y transición conformacional.
<b>Células vivas</b>	Visualización de los distintos componentes (como membrana, lípidos, proteínas, ADN, ARN, antígenos superficiales), propiedades de la membrana (dinámica, permeabilidad, potencial), pH intracelular, concentraciones de calcio citoplasmático, sodio, cloruro y protón, actividad enzimática, interacciones célula-célula y célula-virus, fusión de membranas, endocitosis, ciclo y viabilidad celular, actividad citotóxica.

Las sondas fluorescentes se pueden dividir en tres tipos, dependiendo de cómo está presente en el sistema de estudio:

- a. Pruebas intrínsecas. Las cuales son ideales ya que el sistema investigado ya presenta un fluoróforo en su estructura. Solo existen algunos ejemplos de este tipo de sondas (ej.: triptófano en proteínas).
- b. Pruebas extrínsecas covalentemente unidas. Se une covalentemente un fluoróforo a la estructura del sistema en estudio.
- c. Pruebas extrínsecas asociadas. El sensor se agrega a la muestra investigada e interacciona intermolecularmente con el entorno (dipolo-dipolo, puente hidrogeno, dispersivas entre otras), por lo que su distribución en la muestra puede ser más o menos heterogénea. Este tipo de sondas proporciona información “promedio” del medio que ocupan.

La ventaja de la prueba extrínseca covalentemente unida (b) sobre las extrínsecas asociadas (c), es que su localización en el sistema está definida. En particular, los ácidos antroiloxi esteárico (Figura 6-a) contienen la molécula de antraceno unida covalentemente en varias posiciones de la cadena hidrofóbica, permitiendo monitorear distintas regiones de los sistemas micelares y bicapas.<sup>78</sup>

Cuando la síntesis de moléculas o macromoléculas con pruebas unidas covalentemente es muy complicada o imposible; se puede utilizar pruebas asociadas (no unidas covalentemente). Los lugares de solubilización de los sensores extrínsecos están gobernados por su estructura química y las interacciones que pueden establecer en dicho entorno. El pireno (Py- Figura 6-b) es conocido como una molécula prueba de regiones hidrofóbicas, cuya sensibilidad a la polaridad del entorno es de mucha utilidad. En la Figura 6, se muestran ejemplos de una sonda unida covalentemente (ácido 2-(9-antroiloxi) esteárico) y de una sonda extrínseca asociada (Py).

Los principales aspectos a tener en cuenta sobre una sonda fluorescente se muestran en la Figura 7. En este esquema la utilización de una molécula prueba requiere ciertas consideraciones para la correcta interpretación los resultados experimentales. Si la sonda es sensible a más de un parámetro sumado a cuál es su

ubicación en el sistema y si lo está perturbando, por lo que el sistema se comportaría diferente en su ausencia, son factores de suma importancia en la realización de un modelo interpretativo.

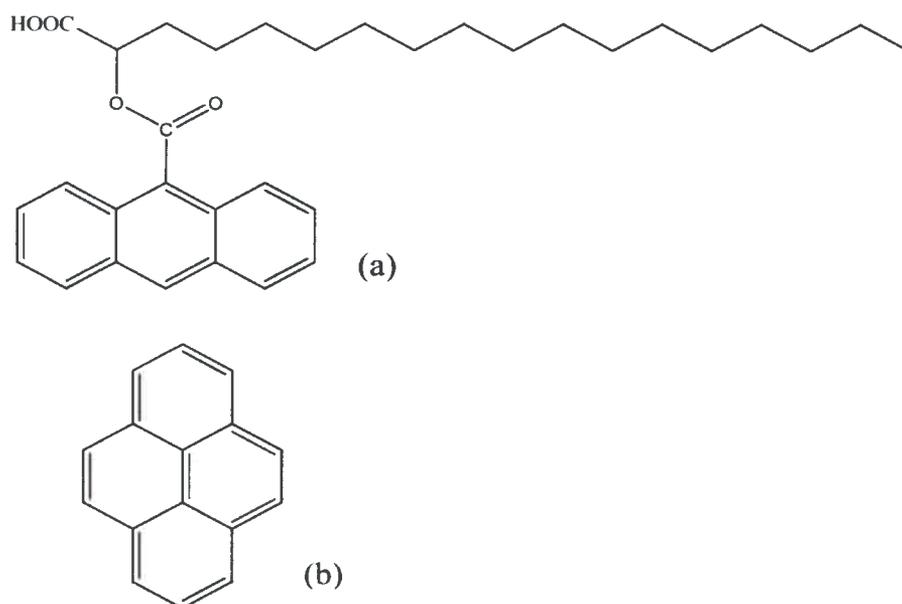


Figura 6. (a) Acido 2-(9- antroiloxi) estearico;(b) pireno.

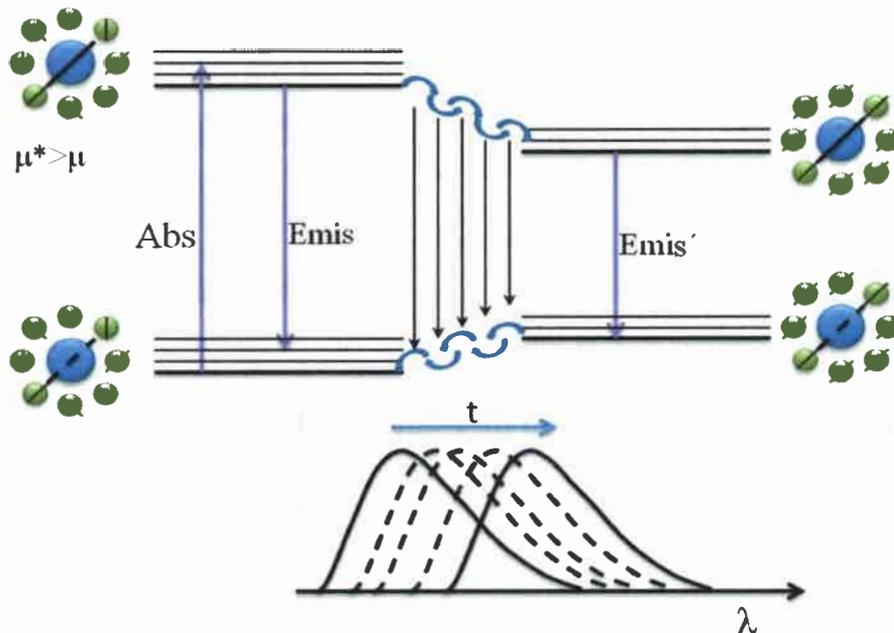


Figura 7. Aspectos considerados para una molécula prueba.  $\lambda_{abs}$ ,  $\lambda_{em}$ ,  $\Delta\bar{\nu}$ ,  $\phi$  y  $\tau$  son la longitudes de onda de absorción, longitud de onda de emisión, corrimiento de Stokes, rendimiento cuántico y tiempo de vida, respectivamente.<sup>78</sup>

### 3.2.2- Efecto de la polaridad del medio sobre las propiedades emisivas de una sonda

En la mayoría de los casos, el momento dipolar de un fluoróforo en el estado excitado ( $\mu_e$ ) difiere del correspondiente al estado fundamental ( $\mu_f$ ). Esto se debe a que la absorción de un fotón por la molécula ocurre muy rápidamente ( $\sim 10^{-15}$  seg) respecto al desplazamiento nuclear (principio de Franck-Condon) y la redistribución resultante de los electrones causa casi un cambio instantáneo en el momento dipolar.<sup>79</sup>

Muchas de las moléculas pruebas sensibles a la polaridad, en el estado excitado presentan transferencia de carga (CT) intramolecular tal que  $\mu_e > \mu_f$ . Luego de la excitación, la primer capa de solvatación (caja de solvente) sufre una relajación, es decir se reorganiza, dando lugar a un estado de mínima energía libre (Figura 8). Por lo tanto el estado emisor del fluoróforo frecuentemente es distinto al estado de Franck-Condon (FC) debido a un efecto de la polaridad conocido como relajación del solvente. Mientras mayor sea la polaridad del solvente, menor es la energía del estado relajado, y mayor es el corrimiento al rojo del espectro de emisión.



**Figura 8.** Relajación de las moléculas de solvente alrededor de la molécula prueba, que posee un momento dipolar débil en el estado fundamental y marcado en el estado excitado.<sup>79</sup>

Es importante notar que la constante de relajación del solvente depende de su viscosidad. Si el tiempo requerido para la reorganización de las moléculas de solvente alrededor del soluto es corto respecto al tiempo de vida del estado excitado, la fluorescencia será esencialmente desde moléculas en equilibrio con su capa de solvatación (Figura 8). Luego de la emisión de un fotón por el fluoróforo excitado que ocurre de forma casi instantánea, el soluto vuelve al momento dipolar del estado fundamental y un nuevo proceso de relajación da lugar a una configuración inicial más estable del sistema soluto-solvente en el estado fundamental. Si el medio es muy viscoso para permitir que las moléculas de solvente se reorganicen, la emisión proviene de un estado cercano al de FC (como es el caso de un solvente no polar) y no se observa corrimiento en el espectro de fluorescencia observado.

Por otra parte, si el tiempo de reorganización del solvente es del orden del tiempo de vida del estado excitado, el espectro de fluorescencia observado bajo iluminación continua se desplazará pero la posición del máximo no puede relacionarse directamente a la polaridad del solvente. La excitación sobre el contorno al rojo del espectro de absorción causa un corrimiento al rojo del espectro de fluorescencia con respecto al que se observa sobre la excitación del máximo del espectro de absorción (Efecto REES). Este corrimiento es observable cuando la relajación por solvente compite con el decaimiento de la fluorescencia.

La fluorescencia es una herramienta importante en el monitoreo de la respuesta temporal de moléculas de solvente (o moléculas polares de un microentorno) frente a la excitación de una molécula prueba, cuyo momento dipolar cambia al absorber un fotón.

### 3.2.3- Procesos de desactivación de estados excitados

Las vías intrínsecas de desactivación de una molécula (M) excitada a su primer estado singlete ( $^1M^*$ ) son: radiación, conversión interna y cruzamiento entre sistemas, las constantes correspondientes a cada caso son  $k_r$ ,  $k_{ic}$  y  $k_{isc}$ , respectivamente. La suma de las constantes de estos procesos ( $k_M$ ) es igual a la inversa del tiempo de vida del estado excitado ( $\tau_0$ ).

$$k_M = k_r + k_{ic} + k_{isc} = k_r + k_{nr} = 1/\tau_0$$

### Ecuación 1

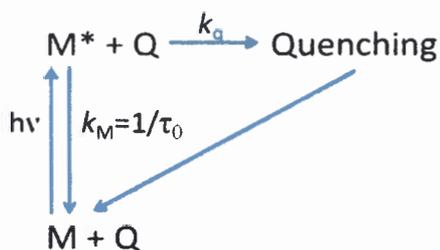
Los valores de las constantes de desactivación radiativas (involucran la emisión de un fotón) y no-radiativas ( $k_{nr}$ ), dependen tanto de la naturaleza del fluoróforo como de las propiedades del medio (temperatura, polaridad, viscosidad, etc.). En la Tabla 3 se muestran las escalas temporales de los distintos procesos de desactivación.

Otro proceso de desactivación de  $M^*$  posible involucra la interacción con otra molécula Q (desactivante o *quencher*-termino en inglés-). En el Esquema 1 se resume este proceso, donde  $k_q$  es la constante observada. En la Tabla 4 se resumen los principales procesos fotofísicos intermoleculares de desactivación.<sup>78</sup>

**Tabla 3.** Escalas temporales aproximadas de los distintos procesos fotofísicos.<sup>80</sup>

Proceso	Transición	Escala de tiempo (seg)
<b>Absorción de luz (excitación)</b>	$S_0 \rightarrow S_n$	$10^{-15}$ (instantáneo)
<b>Conversión interna</b>	$S_n \rightarrow S_1$	$10^{-14} - 10^{-11}$
<b>Relajación vibracional</b>	$S_n^* \rightarrow S_n$	$10^{-12} - 10^{-10}$
<b>Cruzamiento entre sistemas</b>	$S_1 \rightarrow T_1$	$10^{-11} - 10^{-6}$
<b>Fluorescencia</b>	$S_1 \rightarrow S_0$	$10^{-9} - 10^{-6}$
<b>Fosforescencia</b>	$T_1 \rightarrow S_0$	$10^{-3} - 100$
<b>Decaimiento no radiativo</b>	$S_1 \rightarrow S_0$	$10^{-7} - 10^{-5}$
	$T_1 \rightarrow S_0$	$10^{-3} - 100$

$S_0$ : estado fundamental singlete.  $S_1$ : primer estado excitado singlete.  $S_n$ : corresponde al estado excitado singlete n.  $T_1$ : primer estado excitado triplete.



Esquema 1

Tabla 4. Principales procesos responsables de la desactivación de fluorescencia.<sup>78, 81</sup>

Procesos fotofísicos	$M^* + Q \rightarrow \text{productos}$	Donador	Aceptor
Colisión con un átomo pesado (I, Br <sub>2</sub> /CCl <sub>4</sub> ) o especies paramagnéticas (O <sub>2</sub> , NO)	$M^* + Q \rightarrow M + Q + \text{calor}$		
Te	${}^1D^* + A \rightarrow D^{\cdot-} + A^{\cdot-}$	${}^1D^*$	A
	${}^1A^* + D \rightarrow A^{\cdot-} + D^{\cdot+}$	D	${}^1A^*$
TE	${}^1D^* + {}^1A \rightarrow {}^1D + {}^1A^*$	${}^1D^*$	${}^1A$
	${}^3D^* + {}^1A \rightarrow {}^1D + {}^3A^*$	${}^3D^*$	${}^1A$
	${}^3D^* + {}^3A \rightarrow {}^1D + {}^1A^*$	${}^3D^*$	${}^3A$
	${}^1M^* + {}^1M \rightarrow {}^1M + {}^1M^*$	${}^1M^*$	${}^1M$
Formación de excímero	${}^1M^* + {}^1M \rightarrow {}^1(MM)^*$		
Formación de exciplexo	${}^1D^* + A \rightarrow {}^1(DA)^*$	${}^1D^*$	A
	${}^1A^* + D \rightarrow {}^1(AD)^*$	D	${}^1A^*$
Transferencia de protones	$AH^* + B \rightarrow A^{\cdot-} + BH^{\cdot+}$	AH*	B
	$B^* + AH \rightarrow BH^{\cdot+} + A^{\cdot-}$	AH	B*

A: molécula o grupo aceptor en la Te o TE. D: molécula o grupo dador en la Te o TE.

Como se indica en la Tabla 4 la mayoría de estos procesos involucran transferencias rápidas desde un donador a un aceptor: Te, TE o transferencia de protones. Las características propias de la fluorescencia de  $M^*$  (tiempo de decaimiento y /o rendimiento cuántico de emisión) son afectadas por la presencia de Q. Esto resulta de la competencia entre la desactivación intrínseca y estos procesos intermoleculares.

El análisis de este fenómeno provee mucha información sobre el entorno del fluoróforo, la cual puede ser cuantitativa (si un modelo cinético de los procesos competitivos puede ser desarrollado) o solo cualitativa.

### 3.2.4- Procesos de desactivación de moléculas excitadas. *Quenching* de la fluorescencia

La desactivación de fluorescencia a partir de un proceso de Te, es de sumo interés. En principio, la factibilidad de generación y posterior combinación de pares radicales en polímeros no solo depende de la naturaleza de las especies reactivas producidas (carga, movilidad, etc.) sino también del efecto ejercido por la matriz polimérica sobre la termodinámica y cinética de estas reacciones. Así, estas reacciones rápidas de radicales pueden utilizarse como sondas cinéticas, las cuales combinadas con estudios del comportamiento de sondas fluorescentes clásicas pueden proporcionar información de interés sobre la estructura de la matriz.

#### 3.2.4.1- Desactivación dinámica -Tratamiento de Stern-Volmer-

Como primera aproximación, la constante experimental  $k_q$  puede asumirse como independiente del tiempo. De acuerdo al Esquema 1 simplificado, la evolución temporal de la concentración de  $M^*$  seguida del pulso de excitación obedece la siguiente ecuación diferencial:<sup>78, 79</sup>

$$\begin{aligned} \frac{d[M^*]}{dt} &= (k_M + k_q[Q])[M^*] \\ &= \left( \frac{1}{\tau_0} + k_q[Q] \right) [M^*] \end{aligned}$$

**Ecuación 2**

Integrando la Ecuación 2, considerando las condiciones iniciales:  $[M^*]=[M^*]_0$  a  $t=0$ , se obtiene:

$$[M^*] = [M^*]_0 e^{-\left(\frac{1}{\tau_0} + k_q[Q]\right)t}$$

### Ecuación 3

La intensidad de fluorescencia es proporcional a  $[M^*]$  y está dada por

$$\begin{aligned} i(t) &= k_r[M^*] = [M^*]_0 e^{-\left(\frac{1}{\tau_0} + k_q[Q]\right)t} \\ &= i(0) e^{-\left(\frac{1}{\tau_0} + k_q[Q]\right)t} \end{aligned}$$

### Ecuación 4

donde  $k_r$  es la constante radiativa  $M^*$ . El decaimiento de fluorescencia es entonces monoexponencial con un tiempo de vida:

$$\tau = \frac{1}{\frac{1}{\tau_0} + k_q[Q]} = \frac{\tau_0}{1 + \tau_0 k_q[Q]}$$

### Ecuación 5

Reordenando la última ecuación (Ecuación 5), se obtiene:

$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + \tau_0 k_q[Q]$$

### Ecuación 6

Experimentos resueltos en el tiempo, en ausencia y en presencia de *quencher* permiten constatar si el decaimiento de fluorescencia es monoexponencial y proveen directamente el valor de  $k_q$ . El rendimiento cuántico de fluorescencia en presencia del desactivante es:

$$\varphi_f = \frac{k_r}{k_r + k_{nr} + k_q[Q]} = \frac{k_r}{\frac{1}{\tau_0} + k_q[Q]}$$

### Ecuación 7

Mientras que en ausencia del mismo es:

$$\varphi_{f(0)} = k_r \tau_0$$

#### Ecuación 8

A partir de las ecuaciones 7 y 8, se deduce la relación de Stern-Volmer:<sup>78, 82, 83</sup>

$$\frac{\varphi_{f(0)}}{\varphi_f} = \frac{I_0}{I} = 1 + \tau_0 k_q [Q] = 1 + K_{SV} [Q]$$

#### Ecuación 9

donde  $I_0$  e  $I$  son las medidas estacionarias de las intensidades de fluorescencia a una dada longitud de onda en presencia y en ausencia de *quencher*, respectivamente.  $K_{SV}$  ( $= \tau_0 k_q$ ) es la constante de Stern-Volmer. Por lo general, se grafica la relación  $I_0/I$  en función de la variación de la  $[Q]$ , y como tal, es conocido como gráfico de Stern-Volmer. Si dicho gráfico es lineal, de su pendiente se puede determinar  $K_{SV}$  y conociendo  $\tau_0$  (tiempo de vida del fluoróforo en ausencia del desactivante) se puede calcular  $k_q$ .

Se pueden identificar dos casos:

- Si el proceso bimolecular no se haya limitado por difusión de los reactantes:  $k_q = pk_1$  donde  $p < 1$ , es la eficiencia de reacción y  $k_1$  la constante difusional.
- Si el proceso bimolecular está limitado por difusión:  $k_q$  es igual a la constante difusional  $k_1$ , la cual según el modelo de Smoluchowski se puede escribir como:<sup>78</sup>

$$k_1 = 4\pi NR_c D$$

#### Ecuación 10

donde  $R_c$  es la suma de los radios (en cm) de las dos moléculas reactantes ( $R_M + R_Q$ ),  $D$  es el coeficiente de difusión mutuo ( $\text{cm}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), y  $N$  es igual a  $N_a/1000$ , donde  $N_a$  representa al número de Avogadro. El coeficiente de difusión mutuo se considera como la suma de los coeficientes de traslación difusional de las dos especies involucradas,

$C_{dif-M}$  y  $C_{dif-Q}$ , que se pueden calcular a partir de la relación de Stokes-Einstein (Ecuación 11).<sup>78, 79, 84</sup>

$$d(H) = \frac{kT}{6\pi\eta C_{dif}}$$

#### Ecuación 11

donde  $d(H)$  es el diámetro hidrodinámico;  $k$  la constante de Boltzman;  $T$  la temperatura absoluta;  $C_{dif}$  el coeficiente de difusión traslacional y  $\eta$  la viscosidad.

### 3.2.4.2- Desactivación estática

#### 3.2.4.2.1-Efectos transitorios en la desactivación de estados excitados

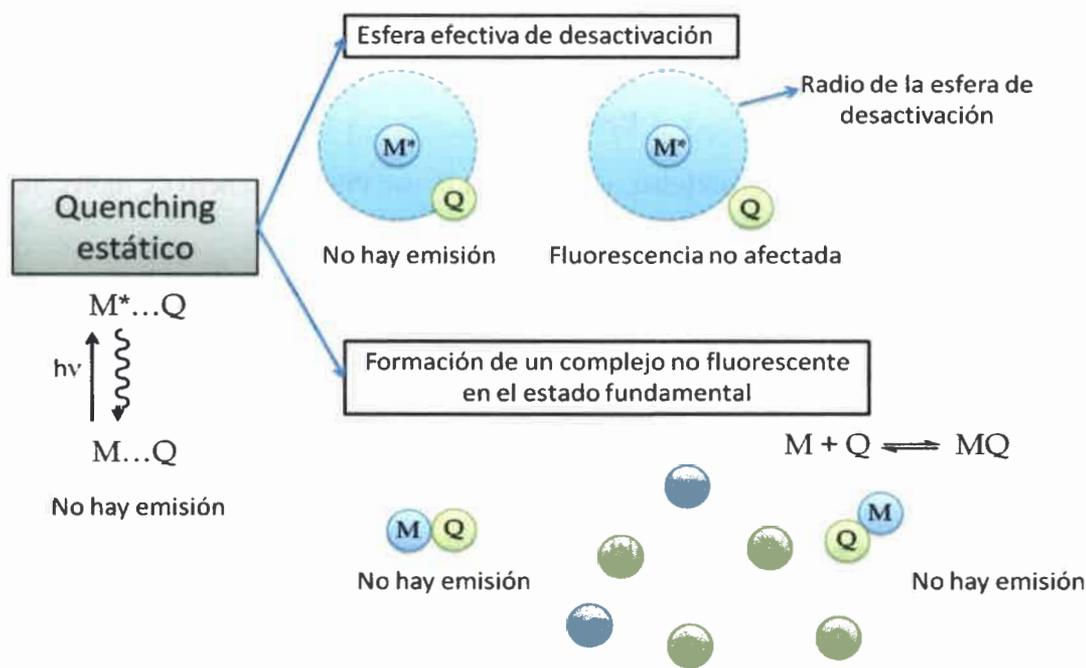
Si el proceso de *quenching* es controlado por difusión, la constante observada de  $k_q$  depende del tiempo.<sup>79</sup> Esto puede explicarse de la siguiente manera. A relativamente altas concentraciones de Q, la desactivación de los fluoróforos excitados ( $M^*$ ) que están en contacto o muy próximos al *quencher* ocurre a tiempos muy cortos (en el orden de los pocos ps), mientras que aquellos  $M^*$  que se encuentran más distantes de Q, deben esperar la difusión del *quencher* y por ende, la reacción tiene lugar a tiempos relativamente más largos (típicamente en la escala de los ns). Así, el perfil de decaimiento de la emisión de  $M^*$  muestra siempre dos componentes: a) un componente corto (que depende de  $1/\sqrt{t}$ ) y b) un componente largo monoexponencial (en el caso más sencillo). La capacidad de observar el decaimiento corto depende de la resolución temporal del TCSPC (equipo de conteo de fotones individuales con correlación temporal) utilizado. En la práctica, estos efectos transitorios se manifiesta en los siguientes hechos experimentales:

- a) Los gráficos de Stern-Volmer obtenidos a partir de medidas de la fluorescencia en estado estacionario se curvan positivamente a altas concentraciones de Q.
- b) Si la resolución del TCSPC no es suficientemente alta para detectar el componente corto (dado por Q próximos a  $M^*$ , que no necesitan difundir), solo se observa un decaimiento monoexponencial. En tal caso, el gráfico de Stern-Volmer construido a partir de los valores de  $\tau_0/\tau$  es lineal y no coincide con el obtenido en a).

### 3.2.4.2.2-Formas de desactivación estática

El concepto de *quenching* estático es muy anterior al desarrollo de los métodos de espectroscopia ultra-rápidos, por lo que solo es aplicado si la resolución del TCSPC utilizado en el estudio es incapaz de detectar las dos componentes del decaimiento de la emisión del fluoróforo.

El término desactivación estática puede referirse a la existencia de una esfera efectiva de desactivación o a la formación de un complejo en el estado fundamental el cual no fluoresce (Figura 9). Como los sistemas estudiados en esta tesis no son capaces de formar complejos en el estado fundamental, se desarrolla a continuación solo el concepto de esfera efectiva de *quenching*.



**Figura 9.** Formas de desactivación estática.

### 3.2.4.2.3-Esfera efectiva de desactivación

Perrin propuso un modelo<sup>78, 79, 85, 86</sup> en el cual la desactivación de un fluoróforo ocurre si una molécula de  $Q$  se encuentra dentro de una esfera (llamada esfera de

*quenching* efectivo, esfera activa o esfera de *quenching*) de volumen  $V_q$  que rodea a  $M^*$ . Si el *quencher* se encuentra fuera de la esfera activa, no hay ningún efecto sobre  $M^*$ . Por lo tanto, la intensidad de fluorescencia de la solución decrece por la adición de Q, pero el decaimiento de fluorescencia después del pulso de excitación no se ve afectado.

Este modelo es únicamente válido para sistemas donde M y Q se hayan imposibilitados de desplazarse, ya sea por una alta viscosidad del medio o por estar incluidos en materiales rígidos. Se asume que la probabilidad de que un número dado de *quenchers* estén dentro del volumen de la esfera de acción obedece a la distribución de Poisson (Ecuación 12).

$$P(\bar{n}, x) = \frac{\bar{n}^x e^{-\bar{n}}}{x!}$$

#### Ecuación 12

donde P es la función de probabilidad, x representa la variable de número de moléculas con la condición (moléculas dentro de la esfera de acción).

Dentro de estas aproximaciones, el modelo de Perrin<sup>78, 79, 85, 86</sup> predice que:

$$\frac{I_0}{I} = e^{V_q N_a [Q]}$$

#### Ecuación 13

donde  $V_q$  se expresa en L, [Q] en mol/L y  $N_a$  es el número de Avogadro. Notar que en este caso, los tiempos de vida son independientes de la concentración de Q.

En contraste con la ecuación de Stern-Volmer, la relación  $I_0/I$  (Ecuación 13) no es lineal y muestra una desviación positiva a altas concentraciones de Q. A bajas concentraciones,  $e^{V_q N_a [Q]} \sim 1 + V_q N_a [Q]$ , por lo que la dependencia con la concentración es casi lineal (como es el caso del modelo de Stern-Volmer).

A partir de un gráfico lineal de  $\ln \frac{I_0}{I}$  versus [Q] se obtiene  $V_q$  de la pendiente. Los valores determinados para  $V_q N_a$  frecuentemente se encuentran en el rango de 1-3 L/mol. Esto corresponde a un radio de esfera de *quenching* cercano a 10 Å.<sup>78</sup> El modelo de

Perrin ha sido ampliamente utilizado en la interpretación de TE no radiativa en medios rígidos.<sup>87-89</sup>

### 3.2.4.3- Desactivación de la fluorescencia dinámica y estática de forma simultánea

La desactivación dinámica y estática puede ocurrir simultáneamente, resultando en una desviación de la linealidad en el gráfico de  $I_0/I$  en función de  $[Q]$ . Si se utiliza el modelo de esfera de desactivación efectiva como *quenching* estático. La relación  $I_0/I$  dada a partir del *quenching* dinámico, debe multiplicarse por la fracción de moléculas fluorescentes libres (capaces de ser desactivadas en un proceso dinámico).

$$\frac{I_0}{I} = \left(\frac{I_0}{I}\right)_{\text{dinámico}} \times \left(\frac{I_0}{I}\right)_{\text{estático}}$$

#### Ecuación 14

A partir de las ecuaciones 9 y 11 (páginas 25 y 28, respectivamente) se obtiene la siguiente relación:

$$\frac{I_0}{I} = (1 + K_{SV}[Q])e^{N_a V_q [Q]} = \frac{\tau_0}{\tau} e^{N_a V_q [Q]}$$

#### Ecuación 15

Si bien el modelo de Perrin es una aproximación, explica cualitativamente y cuantitativamente los efectos transitorios en la desactivación de estados excitados, por lo que su utilización no ha perdido vigencia aún.

### 3.2.4.4- Desactivación de la fluorescencia en sistemas heterogéneos

Cuando un sistema contiene un fluoróforo en distintos entornos (por ejemplo, un fluoróforo incorporado en materiales microheterogéneos, tales como matrices sol-gel, polímeros, etc.) o más de un fluoróforo (como diferentes residuos de triptófanos en una proteína), las relaciones anteriores (Secciones 3.2.4.1-3) deben ser modificadas. Si la desactivación dinámica es predominante, la relación de Stern-Volmer debe reescribirse como:<sup>78</sup>

$$\frac{I}{I_0} = \sum_{i=1}^n \frac{f_i}{1 + K_{SV,i}[Q]}$$

**Ecuación 16**

donde  $K_{SV,i}$  es la constante de Stern-Volmer de la  $i$ ésima especie emisora y  $f_i$  es la fracción con que contribuye esa especie a la emisión total. Si los fluoróforos son realmente diferentes, las  $K_{SV,i}$  deberían también serlo, por lo que ecuación 14 predice que un gráfico  $I_0/I$  deberá mostrar siempre una pendiente negativa.

Cuando la relación planteada en el modelo de Stern Volmer ( $I_0/I$  vs  $[Q]$ ) es lineal, generalmente es indicativo de una sola clase de fluoróforo. Si dos poblaciones de fluoróforos están presentes, y una de ellas no es accesible al *quencher*, entonces existirá una desviación negativa del gráfico de Stern-Volmer. En este último caso se recurre para el tratamiento de los datos experimentales usando una modificación de la ecuación de Stern-Volmer:<sup>79</sup>

$$\frac{I_0}{\Delta I} = \frac{I_0}{I_0 - I} = \frac{1}{f_{acc}} + \frac{1}{f_{acc}K_{acc}[Q]}$$

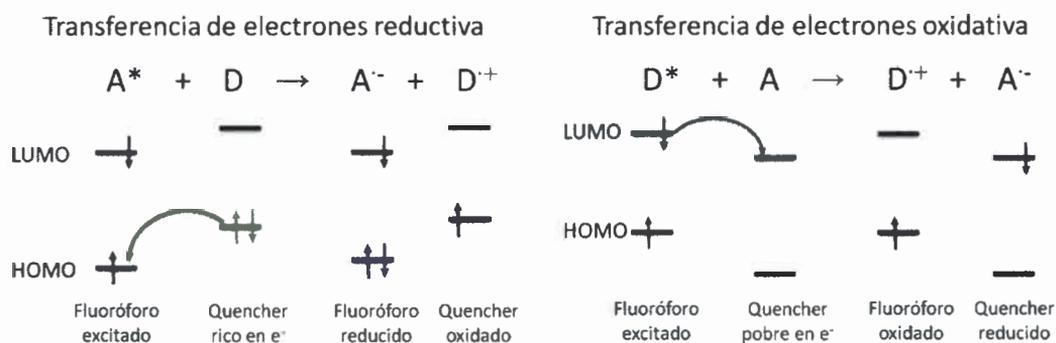
**Ecuación 17**

donde  $I$  e  $I_0$  son las intensidades de fluorescencia en presencia y en ausencia de *quencher*, respectivamente,  $f_{acc}$  es la fracción de fluoróforo accesibles al *quencher*,  $K_{acc}$  es la constante de Stern-Volmer para dicha fracción.

**3.2.4.5- Transferencia de electrones fotoinducida**

La transferencia de electrones fotoinducida (TeF) es uno de los principales mecanismos de desactivación de la fluorescencia. Esta clase de reacciones está involucrada en muchos de los procesos en fotoquímica orgánica y juega un rol principal en la fotosíntesis y en sistemas artificiales de conversión de energía solar.<sup>6-10, 26</sup>

Los procesos de Te pueden ser oxidativos o reductivos para la especie electrónicamente excitada como se ilustra en el Figura 10. Como es sabido, los potenciales de oxidación y reducción de las moléculas se incrementan en el estado excitado.<sup>78, 80, 81</sup>



**Figura 10.** Procesos de Te reductivo y oxidativo respecto a la especie excitada.

Si la reacción no se haya limitada por difusión, la constante de Te,  $k_{Te}$  siempre puede ser determinada.<sup>77, 86, 87</sup>

En el Figura 11 se muestra el diagrama de energía para un proceso de Te entre un donador de electrones en el estado excitado y un aceptor. Luego de la excitación del donador de electrones este le transfiere un electrón al aceptor con una constante de velocidad específica  $k_{Te}$  formando un complejo de CT  $[A^-D^+]^*$ . Este complejo puede ser un exciplejo (fluorescente) o un par de iones radicales de contacto (que puede emitir o no), desactivarse para volver al estado fundamental o sufrir una separación de cargas para formar un par de iones radicales libres:  $A^- + D^+$ . La ocurrencia de alguno (o todos) de estos procesos depende de la naturaleza del par A/D y de las propiedades del medio.<sup>90, 91</sup> En solventes poco polares o de mediana polaridad, los procesos de transferencia de cargas ocurren a distancias de contacto entre el D/A, y lleva generalmente a la formación de exciplejos o la formación de pares iónicos de contacto. La diferencia entre estas dos especies es explican en más detalle en la Sección 3.2.4.7. En medios no polares, la separación total de los iones en contacto (para dar iones radicales libres) se encuentra impedida por la baja capacidad del solvente para estabilizar a estas especies cargadas. En solventes polares (como acetonitrilo, agua, etc.) la distancia a la que ocurre la Te es mayor y puede tener lugar aun con una (o más) moléculas del solvente (S) separando al par D/A. El *quenching* lleva a la formación de pares iónicos separados por solvente  $[A^- - Solvente - D^+]$ , no fluorescentes y que rápidamente evolucionan para dar iones radicales libres. Este mecanismos de Te a

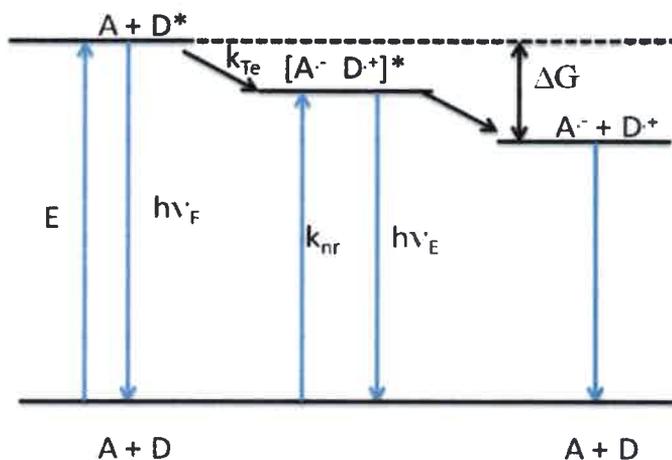
“larga distancia” es la principal causa de que la formación de exciplejos no sea observada en medios polares.

El cambio de energía libre para la Te fotoinducida está dado por la ecuación de Rehm-Weller:<sup>79, 81</sup>

$$\Delta G^{*0} = E_{D^+/D}^0 - E_{A^+/A^-}^0 - \Delta E_{00}(A) - \frac{e^2}{\epsilon d}$$

### Ecuación 18

donde  $E(A/A^-)$  y  $E(D^+/D)$  son los potenciales de reducción para la especie A y D, respectivamente;  $\Delta E_{00}$  es la energía de la transición 0-0 del fluoróforo de  $S_0$  a  $S_1$  (de A o de D). El último término es la energía de estabilización coulombica del par iónico,  $\epsilon$  es la constante dieléctrica del solvente y  $d$  es la distancia entre las cargas. En solventes polares donde  $\epsilon$  es grande (ej: 37 para acetonitrilo) el término debido a las fuerzas electrostática (Coulombica) es  $\sim -1,3$  kcal/mol (0,06 eV) para un  $d \sim 7\text{\AA}$ , si se consideran iones monovalentes de cargas opuestas.



**Figura 11.** Diagrama de energía de Te fotoinducida entre un  $D^*$  y un A.

Los estudios de Te generalmente se llevan a cabo en solventes polares, como acetonitrilo, el cual es un solvente común en la determinación de potenciales redox. Para la separación completa de una carga en acetonitrilo  $e^2/\epsilon r$  es igual a 1,3 kcal/mol = 0,06 eV (para  $d \sim 7\text{\AA}$ , si se consideran iones monovalentes de cargas opuestas). Este

término por lo general posee una contribución pequeña al cambio de energía libre total del proceso.

En solventes poco polares, el cálculo de  $\Delta G^{*0}$  se hace más difícil debido a la imposibilidad de obtener potenciales redox confiables en estos solventes. En el caso de sistemas que muestren la formación de excíplejos existen, sin embargo, métodos alternativos para calcular valores aproximados de  $\Delta G^{*0}$ . Estos métodos, desarrollados en estudios previos propios, fueron utilizados en el desarrollo de esta tesis.<sup>90</sup>

### 3.2.4.6- Formación de excímeros y excíplejos

Los excímeros son especies transitorias formadas por una molécula en su estado excitado y otra molécula (idéntica) en el estado fundamental:



#### Esquema 2

Donde E corresponde al excímero, el cual también se puede representar como  ${}^1(MM)^*$  que indica que la energía de excitación está deslocalizada sobre las dos moléculas. Muchos hidrocarburos poliaromáticos, como antraceno, pireno, etc., pueden formar excímeros.<sup>36, 92-94</sup>

En la Figura 12 se muestran las curvas de energía vs. la coordenada de reacción ( $r_{MM}$ ) para la formación del complejo. La curva de abajo representa la energía repulsiva entre las dos moléculas en el estado fundamental. La curva de arriba, correspondiente a la formación del dímero posee un mínimo. Este mínimo se encuentra cuando dos anillos aromáticos están enfrentados (cara a cara) a una distancia de  $\sim 3-4$  Å. Esta geometría es siempre requerida para la formación de los excímeros y conocida como la conformación “sándwich”. Para el pireno la distancia de separación entre los anillos es de 3,37 Å y el valor experimental de la energía de estabilización  $\Delta H$  es de 170 kJ/mol. En contraste con la banda del monómero, la banda de emisión del excímero no tiene estructura ya que el estado fundamental del dímero es disociativo y puede considerarse como un continuo. La banda de fluorescencia correspondiente a dicho complejo se encuentra siempre a longitudes de onda mayores que la del monómero y no presenta bandas vibracionales (Figura 13).

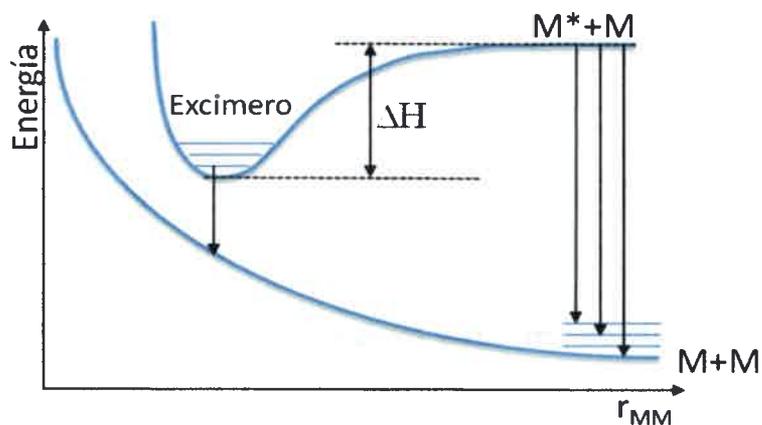


Figura 12. Diagrama de superficies de energía para un excímero.<sup>78</sup>

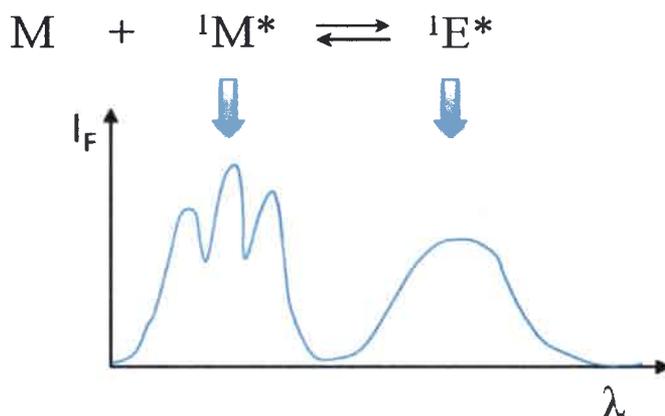
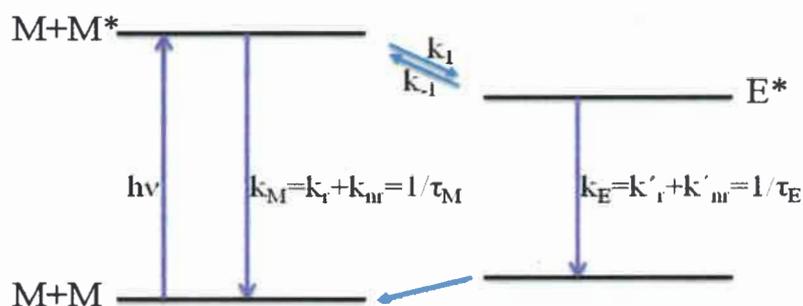


Figura 13. Espectro de fluorescencia correspondiente a la formación de un excímero.

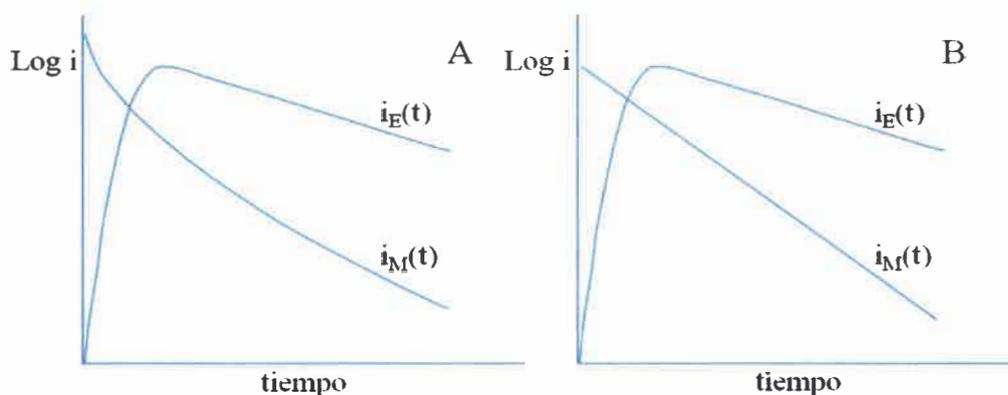
En la Figura 14 se muestra el proceso de formación del excímero (E), donde  $k_M$  y  $k_E$  son las constantes de desactivación del monómero y excímero en el estado excitado respectivamente, y  $k_1$  y  $k_{-1}$  son las constantes asociadas a la formación y disociación del excímero, respectivamente.



**Figura 14.** Diagrama de energía para la formación de un excímero.

En la Figura 15 se muestra los decaimientos de fluorescencia del monómero ( $i_M(t)$ ) y el excímero ( $i_E(t)$ ), considerando dos casos diferentes.<sup>78</sup>

- La disociación del excímero (para restituir  $M^*$ ) ocurre durante el tiempo de vida del estado excitado. La formación del excímero es reversible ( $k_{-1} \cong k_E$ ) por lo que el decaimiento de la emisión de  $M^*$  es biexponencial.
- La disociación del excímero (para restituir  $M^*$ ) no ocurre durante el tiempo de vida en el estado excitado ( $k_{-1} \ll k_E$ ), la formación del excímero es irreversible y el decaimiento de fluorescencia de  $M^*$  es monoexponencial.



**Figura 15.** Decaimientos de fluorescencia del monómero y excímero. a- disociación del excímero dentro del tiempo de vida del estado excitado. b- sin disociación.<sup>78</sup>

Cuando dos monómeros están unidos por una cadena flexible y corta, pueden formarse excímeros intramoleculares. Este proceso no involucra traslación de los reactantes, sino una aproximación entre las dos moléculas mediante rotaciones internas durante el tiempo de vida del estado excitado. La formación del excímero intramolecular es independiente a la concentración del monómero.

En algunos casos, un monómero en el estado fundamental puede encontrarse cercano a otro monómero (por ejemplo, en polímeros con fluoróforos colgando o en superficies con fluoróforos adsorbidos o covalentemente unidos) tal que el desplazamiento y rotación requeridos para alcanzar la conformación del excímero ocurre de forma muy rápida. Estos excímeros son llamados “excímeros preformados”. Sin embargo, si los desplazamientos / rotaciones de los reactantes es lenta comparada con los procesos de desactivación del estado excitado del monómero, la formación del excímero no se observa.

### 3.2.4.7- Exciplejos

Los exciplejos son complejos excitados electrónicamente, de estequiometría definida, “no enlazantes” en el *estado fundamental*. Se forman por el encuentro entre una molécula en el estado excitado (donadora o aceptora de electrones) con una molécula distinta no excitada (aceptora o donadora de electrones).<sup>78, 95, 96</sup>



#### Esquema 3



#### Esquema 4

Los exciplejos difieren de los pares de iones radicales de contacto en el grado de acoplamiento entre  $D^*$  y  $A$  o entre  $D$  y  $A^*$ . Si el acoplamiento es grande, la función de onda que describe al complejo de CT posee una importante contribución del estado localmente excitado:  $D^*A$  o  $A^*D$ . Este acoplamiento depende de la simetría orbital de los estados fundamentales y excitados de  $D$  y  $A$ , y de la geometría de máxima estabilización del complejo. Cuando el acoplamiento es grande (diabático) se está en presencia de un exciplejo. En contraste, si el acoplamiento es chico (adiabático),

denominamos al complejo de TC como par de iones radicales en contacto. Por definición, un exciplejo siempre muestra propiedades fluorescentes. Los iones de contacto puede emitir o no, dependiendo de la naturaleza de A y D.

Un caso muy conocido de formación de exciplejos es el complejo en el estado excitado de antraceno y N,N-dimetilanilina, resultando de la transferencia de un electrón desde la amina a la molécula excitada de antraceno.<sup>97-99</sup> En solventes no polares como hexano, la desactivación del aceptor está acompañada por la aparición de una banda ancha sin estructura a longitudes de onda mayores que las del fluoróforo. Cuando la polaridad del medio aumenta, la banda del exciplejo se corre al rojo. En general, la dependencia del máximo de emisión del exciplejo con la polaridad del medio es interpretada usando el modelo de Lippert-Mataga:<sup>99</sup>

$$h\nu_e^{max} = h\nu_e^{max}(0) - \frac{2\mu_c^2}{\rho^3} \left( \frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} - \frac{1}{2} \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \right)$$

#### Ecuación 19

donde  $\epsilon$  es la constante dieléctrica,  $n$  el índice de refracción  $\rho$  el radio de la esfera equivalente al volumen del complejo y  $\mu_c$  el momento dipolar del exciplejo.

Al igual que los excímeros, muchos exciplejos formados por compuestos aromáticos adoptan una geometría de “sándwich”. Sin embargo, las restricciones geométricas requeridas para la formación de estos complejos son menores que para los excímeros. Se ha demostrado que los exciplejos pueden formarse adoptando geometrías (distancias y ángulos entre D/A) no óptimas. En tales casos, el exciplejo se forma con un exceso de energía conformacional y emite a mayores energías de las observadas para el mismo complejo con una geometría “relajada”.<sup>99</sup>

El esquema cinético para la formación de exciplejos es similar a la de la formación de excímeros (Sección 3.2.4.6). Estudios de los decaimientos de la emisión del estado excitado (D\* o A\*) y del exciplejo, proporcionan información valiosa sobre todas las constantes cinéticas involucradas.

### 3.2.4.8- Procesos de TE. Distinción entre TE radiativa y no radiativa

Desde el punto de vista de la fotoquímica mecanística la TE se refiere al proceso fotofísico por el que una entidad molecular en el estado excitado (donador) se desactiva (vuelve al estado fundamental) mediante la transferencia de energía a una segunda entidad molecular (aceptor) que a su vez pasa a un estado de mayor energía.<sup>78</sup>

La TE radiativa ocurre cuando una molécula A absorbe un fotón que fue emitido por una molécula D. Este fenómeno es observado cuando la distancia promedio entre A y D es mayor que la longitud de onda de excitación. Esta transferencia no requiere interacción entre las partes, pero depende de su solapamiento espectral y concentración.

La TE no radiativa ocurre sin emisión de fotones a distancias menores que la longitud de onda. Es un proceso resultante de las interacciones de corto o largo alcance entre las moléculas. La transferencia no radiativa por interacciones dipolo-dipolo es posible para separaciones por encima de los 80-100Å. Consecuentemente, esta clase de transferencia es una herramienta para determinar distancias entre cromóforos y se debe destacar que la TE de excitación juega un papel fundamental en sistemas fotosintéticos.<sup>80</sup>

La TE no radiativa puede ocurrir tanto por interacción de intercambio electrónico que involucra un solapamiento de los orbitales moleculares en el espacio o por una interacción dipolo-dipolo que ocurre a través de un campo eléctrico oscilante en el espacio. Considerando  $E_{D^*}$  y  $E_{A^*}$ , las energías en el estado excitado del donador y aceptor, respectivamente, el proceso de transferencia bimolecular  $D^* + A \rightarrow D + A^*$  dependerá de que la energética global de la reacción se vea favorecida (término exotérmico  $E_{D^*} > E_{A^*}$ ).<sup>78, 100, 101</sup>

Se debe mencionar que la TE singlete-singlete ( $^1D^* + ^1A \rightarrow ^1D + ^1A^*$ ) está involucrada en cualquier interacción mientras que la TE triplete-triplete solo ( $^3D^* + ^1A \rightarrow ^1D + ^3A^*$ ) se ve involucrada por solapamiento orbital. En la transición no radiativa desde el estado singlete más bajo hasta el múltiple estado triplete (cruce entre sistemas) el cambio de tipo de orbital aumenta la velocidad del proceso (reglas de El Sayed).<sup>83</sup>

### 3.2.4.8.1-TE radiativa

Esta clase de transferencia es un proceso de dos etapas: un fotón emitido por D es absorbido por un aceptor que puede ser químicamente distinto (A) o igual (D).



#### Esquema 5

Este proceso también se conoce como trivial, debido a la simplicidad del fenómeno.<sup>80</sup>

### 3.2.4.8.2- TE no radiativa

La TE requiere alguna interacción entre una molécula dadora y una aceptora. El término TE por resonancia (RET, singlas en ingles), tiene lugar si los espectros de emisión del dador y de absorción del aceptor se superponen. Entonces algunas transiciones vibronicas en D tienen prácticamente la misma energía que las correspondiente en A, por lo que estas transiciones se acoplan, es decir están en resonancia (ver Figura 16).<sup>100</sup>

La TE puede ocurrir a partir de diferentes interacciones. Las interacciones pueden ser Coulombicas y/o debido al solapamiento de los orbitales moleculares. Las interacciones Coulombicas consisten en interacciones dipolo-dipolo de largo alcance (mecanismo Foster o RET). Las interacciones debido al solapamiento de orbitales, el cual incluye intercambio de electrones (mecanismo Dexter), son de corto alcance.

El término Coulombico corresponde a la TE en la cual inicialmente, un electrón en el LUMO del D vuelve al estado fundamental (HOMO), simultáneamente un electrón en el HOMO de A es promovido al estado excitado (LUMO) (Figura 17-A). El termino de intercambio (el cual tiene un origen mecano-cuántico) corresponde a procesos de TE asociados a un intercambio de dos electrones entre D y A (Figura 17-B).<sup>78, 80</sup>

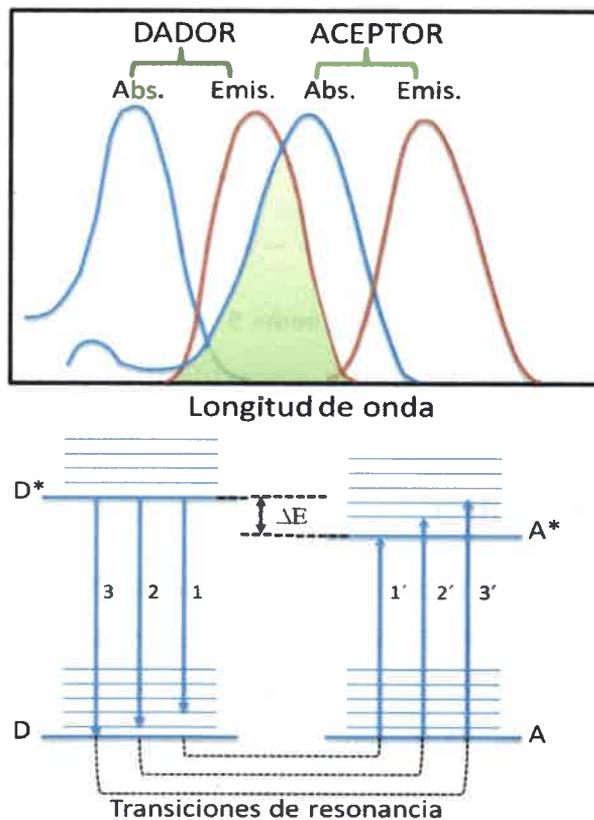


Figura 16. Transferencia de energía por resonancia.<sup>78</sup>

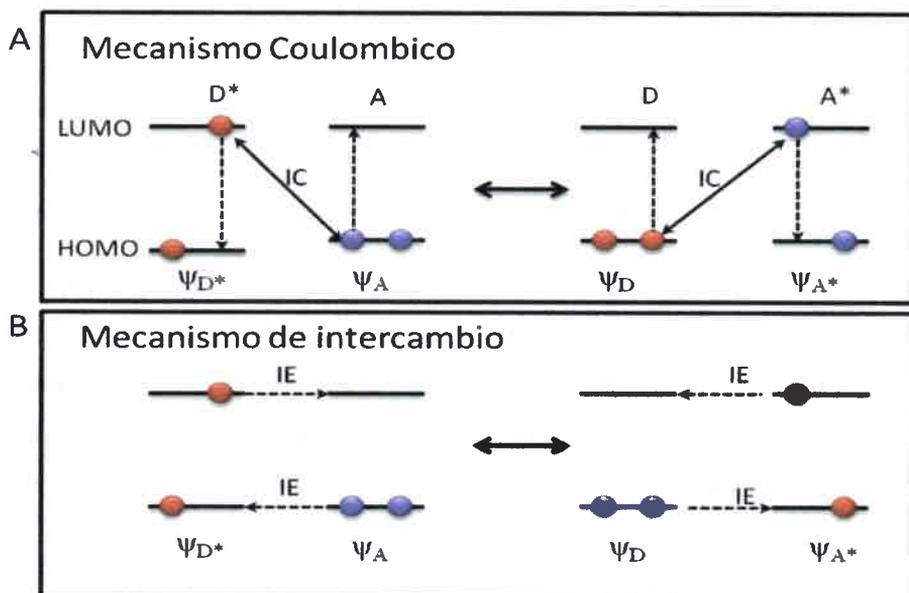


Figura 17. Representación de los mecanismos Coulombico (A) y de intercambio (B) para la TE. IC: interacción Coulombica y IE: intercambio electrónico.<sup>78</sup>

### 3.2.4.8.3-Mecanismo Förster

A partir de consideraciones tanto clásicas como de bases mecano-cuánticas, Förster derivó la siguiente expresión para la cinética de transferencia dipolo-dipolo en rango extendido (acoplamiento muy débil):<sup>78</sup>

$$k_{TE}^{dd} = k_D \left[ \frac{R_0}{r} \right]^6 = \frac{1}{\tau_D^0} \left[ \frac{R_0}{r} \right]^6$$

#### Ecuación 20

donde  $k_D$  es la constante de emisión del donador y  $\tau_D^0$  es su tiempo de vida en ausencia de transferencia,  $r$  es la distancia entre D y A, y  $R_0$  es la distancia crítica o radio de Förster, es decir la distancia a la cual la transferencia y el decaimiento espontáneo de  $D^*$  son igualmente probables ( $k_{TE} = k_D$ ). Se debe notar que la TE depende tanto de la distancia como de su inversa elevada a la sexta potencia ( $k_{TE}^{dd} \propto 1/r^6$ ). El valor de  $R_0$  puede determinarse a partir de espectroscopia, utilizando la Ecuación 21:<sup>78</sup>

$$R_0 = 0,2108 \left[ \kappa^2 \Phi_D^0 n^{-4} \int_0^\infty I_D(\lambda) \epsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda \right]^{1/6}$$

#### Ecuación 21

donde  $\kappa^2$  es el factor de orientación (el cual se definirá más adelante),  $\Phi_D^0$  es el rendimiento cuántico de fluorescencia del donador en ausencia de transferencia,  $n$  es el índice de refracción promedio del medio en el rango de longitudes de onda donde el solapamiento espectral es significativo,  $I_D(\lambda)$  es el espectro de fluorescencia de D normalizado, tal que  $\int_0^\infty I_D(\lambda) d\lambda = 1$  y  $\epsilon_A(\lambda)$  es el coeficiente de absorción molar de A. El valor de  $R_0$  se encuentra generalmente en el rango de 15-60 Å.

El factor de orientación  $\kappa^2$ , considera el ángulo entre los momentos de transición del aceptor y donador y el vector de separación.  $\kappa^2$  puede tomar valores de 0 (momentos de transición perpendiculares) a 4 (momentos de transición colineales). Cuando el momento de transición es paralelo,  $\kappa^2 = 1$ . Cuando las moléculas son libres de rotación con una constante mucho más rápida que la constante de desactivación del donador (dinámica isotrópica promedio) el valor de  $\kappa^2$  promedio es de 2/3. En un medio rígido,

el cuadrado del valor promedio de  $\kappa$  es 0,476 para un arreglo de aceptores que están distribuidos aleatoriamente alrededor del donador con respecto a la distancia y orientación (este caso es con frecuencia llamado promedio estático isotrópico).<sup>78</sup>

La eficiencia de transferencia está definida como:

$$\Phi_{TE} = \frac{k_{TE}^{dd}}{k_D + k_{TE}^{dd}} = \frac{k_{TE}^{dd}}{1/\tau_D^0 + k_{TE}^{dd}}$$

#### Ecuación 22

Usando la Ecuación 22, se puede relacionar la eficiencia de transferencia con  $r/R_0$  dando:

$$\Phi_{TE} = \frac{1}{1 + (r/R_0)^6}$$

#### Ecuación 23

Notar que  $\Phi_{TE}$  es del 50% cuando la distancia entre D y A es igual al radio crítico de Förster. La Ecuación 23, muestra que la separación entre un donador y un aceptor puede ser determinada a partir de la medida de eficiencia de transferencia, bajo la condición que  $r$  no sea muy distinta de  $R_0$ .

La eficiencia de transferencia también puede expresarse según:

$$\Phi_{TE} = 1 - \frac{\tau_D}{\tau_D^0}$$

#### Ecuación 24

donde  $\tau_D^0$  y  $\tau_D$  son los tiempos de vida del donador en ausencia y presencia del aceptor, respectivamente.

El mecanismo de transferencia de energía por resonancia (RET) es ampliamente utilizado para determinar distancias en biomoléculas y asociaciones y agregados supramoleculares.<sup>102-104</sup> Se debe enfatizar que la constante de transferencia no solo depende de la distancia de separación sino también de la orientación de los fluoróforos. Por lo que, puede ser más apropiado en algunos casos reescribir la constante de transferencia como:

$$k_{TE} = \frac{2 \kappa^2}{3 \tau_D^0} \left[ \frac{R_0}{r} \right]^6$$

**Ecuación 25**

donde  $\overline{R_0}$  es el radio de Förster para  $\kappa^2 = 2/3$

La RET (Förster) puede ser usada como una regla espectroscópica en el rango de 10-100 Å. La distancia entre las moléculas de donador y aceptor debe ser constante durante el tiempo de vida del donador, y mayor que 10 Å para evitar los efectos de interacciones a corto rango. La validez de esta regla ha sido confirmada por el estudio en sistemas en los cuales la separación donador-aceptor esta bien definida por separadores rígidos (estructuras químicas, como bicíclon separan ambas partes).<sup>78, 100, 101</sup>

#### 3.2.4.8.4-Mecanismo Dexter

La TE por el mecanismo Dexter está dada por intercambio de electrones. A diferencia con el mecanismo dipolo-dipolo se observa que la transferencia decae exponencialmente en función de la distancia entre las especies involucradas ( $k_{TE}^{ie} \propto e^{-2r}$ ). La constante de transferencia puede ser escrita según:<sup>78</sup>

$$k_{TE}^{ie} = \frac{2\pi}{h} K J' e^{-2r/L}$$

**Ecuación 26**

Donde  $J'$  es una integral de solapamiento

$$J' = \int_0^{\infty} I_D(\lambda) \varepsilon_A(\lambda) d\lambda$$

**Ecuación 27**

Con la condición de normalización ( $\int_0^{\infty} I_D(\lambda) d\lambda = \int_0^{\infty} \varepsilon_A(\lambda) d\lambda = 1$ ). Donde  $L$  es el radio promedio de Bohr.<sup>78</sup> Debido a que  $K$  (Ecuación 26) es una constante que no se relaciona a ningún dato espectroscópico, es difícil caracterizarla cuando opera un mecanismo de intercambio.<sup>80, 101</sup>

### 3.3- Fundamentos de las técnicas utilizadas en estos estudios

Durante el desarrollo de la tesis se emplearon las siguientes técnicas:

- Medidas de dispersión de luz: determinación del tamaño de partículas de los sistemas poliméricos sintetizados.
- Estudios de fluorescencia estacionaria y resuelta en el tiempo: con el fin de investigar como la matriz polimérica y la presencia de distintos fluoróforos en la misma afectan su comportamiento fotoemisivo y dan lugar a distintos procesos de desactivación del estado excitado.
- Anisotropía: el estudio de depolarización de luz permite investigar la rigidez del entorno en el cual se encuentran confinados los fluoróforos.
- Laser Flash Fotolisis: esta técnica permite determinar la presencia de distintas especies transitorias, para confirmar posibles procesos que tienen lugar en los sistemas estudiados.

#### 3.3.1- Medidas de Dispersión de luz

La dispersión dinámica de luz (*Dynamic Light Scattering*, DLS) es una técnica para medir el tamaño de partículas, generalmente en la región del sub-micrón ( $<10^{-6}$  m). Dicha determinación se realiza a partir del movimiento Browniano de las partículas, este parámetro es el que se determina para luego poder inferir el tamaño de las partículas.

El movimiento Browniano es el movimiento aleatorio de las partículas al fluir en el solvente en el que se encuentran suspendidas. La velocidad del movimiento Browniano está definido por una propiedad conocida como el coeficiente de difusión traslacional ( $D$ ). El tamaño de la partícula es calculada a partir de la ecuación de Stokes-Einstein (Ecuación 11, página 26).<sup>79, 105</sup>

El diámetro medido aplicando la técnica de DLS es un valor del diámetro de una esfera que posee el mismo coeficiente de difusión traslacional que la partícula. Para partículas no esféricas, los resultados no son inherentemente correctos, debido a que el modelo que se aplica considera que la forma de la partícula es esférica. Cabe señalar que el valor de  $D$  no solo depende del tamaño intrínseco de la partícula, sino también de la estructura superficial y el tipo y concentración de iones en el medio.<sup>106</sup>

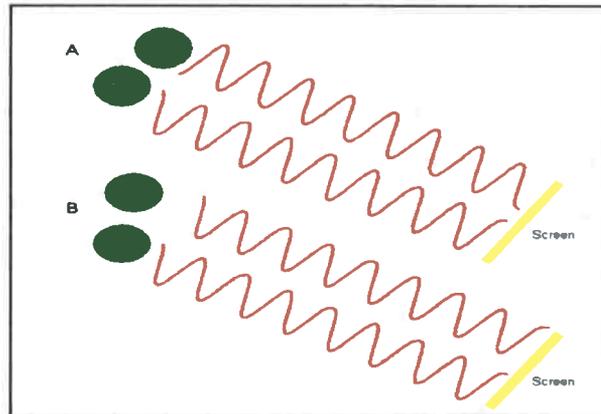
La técnica de medidas de DLS se basa en dos teorías:

- **Teoría de Rayleigh**: Si las partículas son pequeñas comparadas con la longitud de onda del láser usado (típicamente menor que  $d = \lambda / 10$  o alrededor de 60 nm para un láser de He-Ne), entonces la dispersión de una partícula iluminada por un láser polarizado verticalmente será esencialmente isotrópica.

La aproximación de Rayleigh nos dice que  $I \propto d^6$  y que  $I \propto 1/\lambda^4$ , donde  $I$  = intensidad de la luz dispersada,  $d$  = diámetro de la partícula y  $\lambda$  = longitud de onda del láser. El término  $d^6$  nos dice que una partícula de 50 nm dispersará  $10^6$  o un millón de veces más que una partícula de 5 nm (esto afecta a las mediciones de DLS). La relación inversa de  $\lambda^4$  implica que una mayor intensidad de luz dispersa es obtenida a partir de una menor longitud de onda del láser usado.<sup>107</sup>

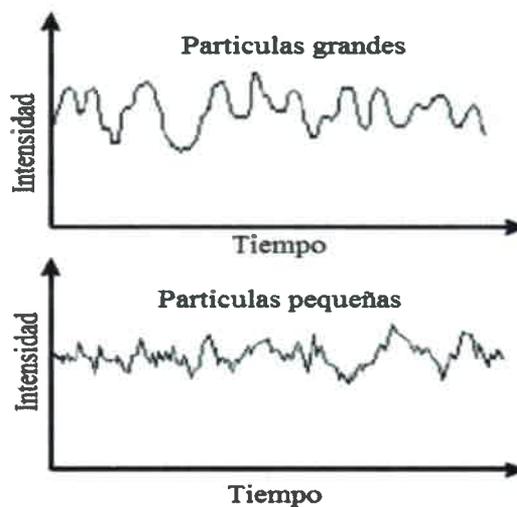
- **Teoría de Mie**: Cuando el tamaño de las partículas es semejante a la longitud de onda de la luz que incide en la muestra, entonces es observada una función compleja con valores máximos y mínimos con respecto al ángulo en el cual se monitorea la dispersión. Esta teoría es la única teoría que explica la máxima y mínima en el ajuste de la intensidad con el ángulo y dará la respuesta correcta sobre todas las longitudes de onda, tamaños y ángulos.<sup>62</sup>

En DLS, se mide la velocidad a la cual las partículas difunden debido al movimiento Browniano en el medio dispersante. Esta determinación está dada por la medida de cuanto fluctúa la intensidad de la luz dispersada, detectada por un arreglo óptico adecuado. Como se muestra en la Figura 18 la luz dispersa por las partículas suspendidas en el medio, que es detectada, surge como producto de adiciones de funciones de onda de fase constructiva (B) y destructiva (A). Como el sistema está en continuo movimiento las adiciones de las funciones cambian constantemente, lo que provoca las fluctuaciones ya mencionadas.



**Figura 18.** La señal observada depende de la adición de fases de la luz dispersada en el detector. En A, las dos funciones de onda de la luz producen interferencia y se cancelan mutuamente, provocando una disminución en la luz detectada. En B, la interferencia es constructiva, lo que resulta en un incremento de la luz detectada.

Cabe destacar que las fluctuaciones dependen del tamaño de la partícula. Las partículas pequeñas, al moverse más rápido, causan más fluctuación que las partículas de mayor tamaño. En la Figura 19, se muestra esquemáticamente la fluctuación típica de la luz dispersa a partir de partículas grandes y pequeñas.



**Figura 19.** Fluctuación de las intensidades de luz dispersa para partículas grandes y pequeñas.

El grado de fluctuación de la luz dispersa puede ser determinada mediante el uso de un autocorrelacionador digital. Este dispositivo es básicamente un comparador de señales. Mide el grado de similitud entre dos señales o una señal y esta misma luego de un intervalo de tiempo ( $\delta t$ ). Una correlación perfecta es indicada por la unidad (1,00) y

si no hay correlación por cero (0,00), si las señales a  $t+2\delta t$ ,  $t+3\delta t$ ,  $t+4\delta t$  etc. son comparadas con la señal en  $t$ , la correlación de una señal que llega desde una fuente aleatoria decrecerá con el tiempo hasta un tiempo,  $t=\infty$ , donde no habrá correlación. El movimiento Browniano de las partículas en una suspensión causan que la luz dispersa fluctúe en función del tiempo. El correlacionador PCS (*Photon correlation spectroscopy*) usado construirá la función correlación  $G(\tau)$  de la intensidad dispersada:<sup>59</sup>

$$G(\tau) = \langle I(t); I(t + \tau) \rangle$$

**Ecuación 28**

donde  $\tau$  es la diferencia de tiempo.

El tamaño es obtenido de la función correlación a partir de varios algoritmos. Hay dos aproximaciones que pueden ser tomadas: (1) ajuste de la función correlación con una función monoexponencial para obtener la medida del tamaño (diámetro promedio-z) y un ancho de distribución estimado (índice de polidispersidad) o (2) ajuste de la función correlación con una función multiexponencial para obtener la distribución de los tamaños de partículas, como mínimos cuadrados no-negativos (NNLS), CONTIN o Automatico (Malvern Instruments).

A partir de la información obtenida del manual correspondiente al equipo de DLS, podemos realizar una breve descripción de los distintos métodos de análisis:

- Mono modal: Es utilizado cuando no se requiere detalles de la distribución obtenida, o la muestra presenta dificultades al ser medidas. El grafico de ajuste no implica ninguna distribución sino que es una representación logarítmica del tamaño promedio  $Z$  y la polidispersidad (ancho de la distribución), dichos valores calculados a partir de un ajuste polinomial del logaritmo de la función correlacion normalizada.
- Contin: Es la opción más adecuada para distribuciones “perfiladas o suavizadas”, por ejemplo en emulsiones, o cuando no es necesaria una alta resolución. Calcula 24 posibles distribuciones, mostrando el mejor ajuste. Este no es un algoritmo de alta resolución, debido a que opera por un principio llamado de “parsimonia”, que seleccionara el resultado más simple que sería un resultado monomodal si el criterio

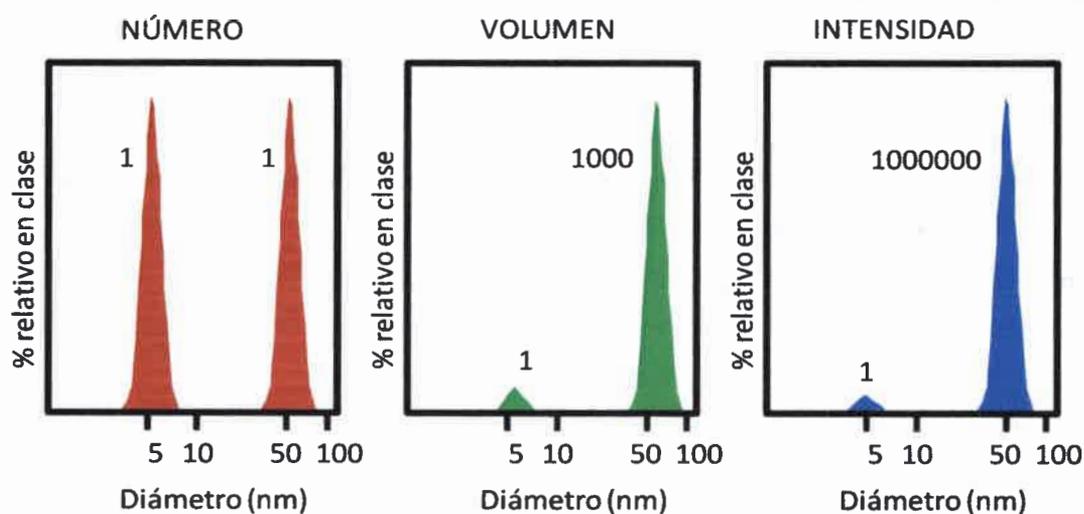
de ajuste tan bueno como para un posible resultado bimodal. La mínima diferencia entre picos que puede resolver generalmente es aproximadamente de 2,5:1.

- NNLS (cuadrados mínimos no negativos): está basado en un algoritmo de ajuste estándar el cual tiene generalmente la mejor resolución disponible. Sin embargo, para maximizar el ajuste es necesario ingresar un rango apropiado de tamaños desde otra fuente.
- Automático ((Malvern Instruments)): Combina las mejores características de las demás opciones (monomodal, NNLS y contin). Presenta un nuevo modo de tratamiento de datos que da una distribución de tamaños para muestras donde no se conoce información previa (análisis por “defecto”). El resultado final es calculado utilizando cualquiera de los dos análisis: monomodal o contin. Todos los parámetros son preestablecidos y no se pueden modificar.

La distribución de tamaño obtenida es un ajuste de la intensidad relativa de la luz dispersa por las partículas de varios tamaños y es conocido como la distribución de tamaño por intensidad. Se pueden diferenciar tres distribuciones de poblaciones: por intensidad, por volumen y por número. En términos generales veremos qué:

$$d(\text{intensidad}) > d(\text{volumen}) > d(\text{numero})$$

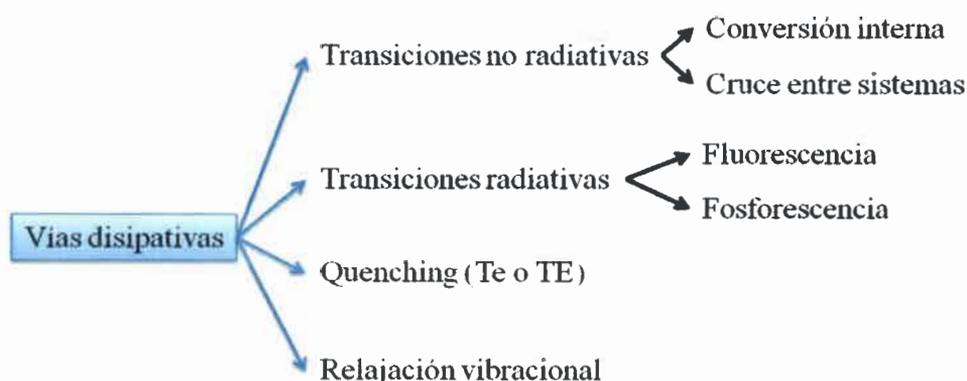
Una forma muy simple para describir la diferencia entre las distribuciones de intensidad, volumen y número, es considerar dos poblaciones de partículas esféricas de diámetro 5 nm y 50 nm presentes en igual cantidad. Si estas dos poblaciones de partículas son ajustadas con una distribución por número, el ajuste consiste en dos picos (posicionados en 5 y 50 nm) de una relación 1:1. Si esta distribución por número es convertida a volumen, entonces los dos picos deberán cambiar a una relación de 1:1000 (porque el volumen de una esfera es igual a  $4/3\pi (d/2)^3$ ). Si este es convertido a una distribución por intensidad, una relación 1:1000000 entre los dos picos se obtendrá porque la intensidad de dispersión es proporcional a  $d^6$  (de la aproximación de Rayleighs. Esta diferenciación se muestra en la Figura 20. Recordar que en DLS la distribución obtenida de una medida es por intensidad.



**Figura 20.** Distribuciones por número, volumen e intensidad de una mezcla bimodal de 5 y 50 nm presentes en igual cantidad.

### 3.3.2- Espectroscopia de emisión. Medidas estacionarias

Normalmente, el tiempo de vida media de una especie excitada (luego de la absorción de un fotón) es breve, debido a que existen diversas formas en las cuales un átomo o una molécula excitada libera su exceso de energía (desde distintos estados excitados) y se relaja a su estado fundamental. Los procesos responsables de la disipación del exceso de energía pueden ser diferenciados y clasificados según la Figura 21.<sup>78, 79</sup>



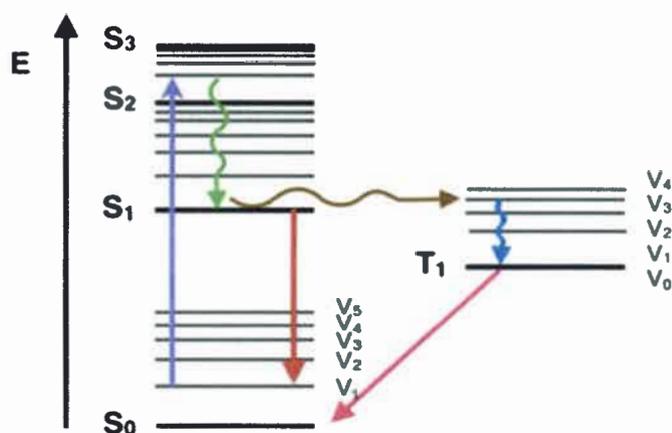
**Figura 21.** Vías físicas de disipación de energía electrónica.

Como se observa en la Figura 21, las transiciones radiativas, se pueden dividir en:

- Fluorescencia: causado por una transición entre estados de igual multiplicidad. Es un proceso rápido ( $k_f \sim 10^6 - 10^9 \text{ s}^{-1}$ ).
- Fosforescencia: es el resultado de una transición entre estados de distinta multiplicidad. Estos procesos por ser prohibidos por spin, tienen una constante menor ( $k_p \sim 10^{-2} - 10^4 \text{ s}^{-1}$ ) que en la fluorescencia.

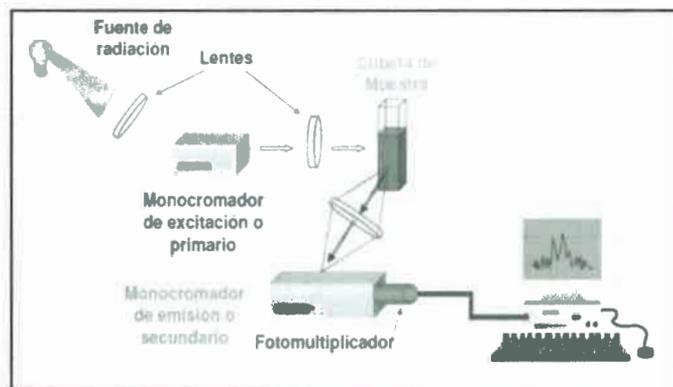
Estas transiciones y otros procesos moleculares que pueden ocurrir entre el estado fundamental y los estados excitados se ilustran en el diagrama de Jablonski (Figura 22).<sup>79</sup>

La espectroscopia de fluorescencia es una clase de espectroscopia electromagnética que analiza la fluorescencia de una muestra mediante su espectro de emisión. Se define espectro de emisión al gráfico de la intensidad de fluorescencia en función de la longitud de onda (nanómetros) o número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ). Estos espectros varían ampliamente, dependiendo de la estructura química del fluoróforo y el solvente en el cual está disuelto. Las medidas estacionarias, son aquellas que se realizan con una fuente de iluminación (excitación) continua. La muestra es iluminada con un haz de luz continuo, y la intensidad o espectro de emisión es registrado.



**Figura 22.** Diagrama de Jablonski. Procesos: absorción (violeta), fluorescencia (rojo), fosforescencia (rosa) relajación vibracional (azul), cruzamiento entre sistemas (marrón) y conversión interna (verde).<sup>79</sup>

Los instrumentos utilizados para medir la fluorescencia se denominan fluorómetros (Figura 23).



**Figura 23.** Diagrama de bloque de un fluorómetro.

### 3.3.3- Espectroscopia de emisión. Medidas resueltas en el tiempo

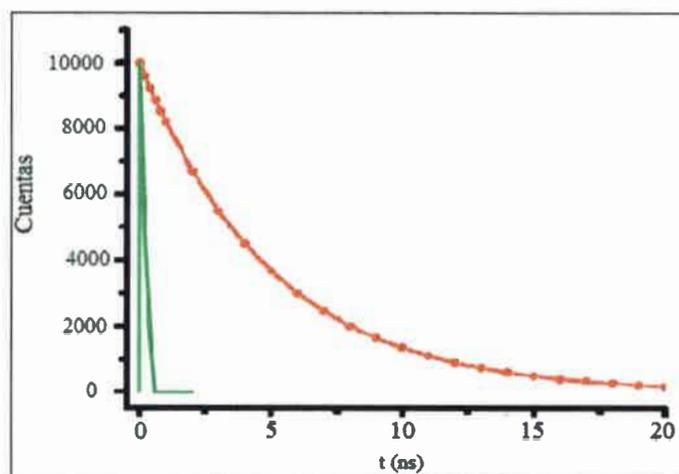
A partir del estudio de emisión resuelta en el tiempo es posible determinar tiempos de vida de fluorescencia y caracterizar procesos dinámicos que afectan a moléculas en el estado excitadas (fluoróforos).

La fluorescencia de una muestra es medida en función del tiempo, después de sucesivos pulsos de excitación, armando así el perfil de decaimiento, como se observa en la Figura 24,<sup>79</sup> donde la línea verde representa el pulso de láser y la línea de color rojo corresponde al decaimiento de la emisión en el tiempo del fluoróforo excitado. Con la ayuda de un pulso de láser, es posible estudiar los procesos que ocurren en escala de tiempo tan cortos como  $10^{-12}$  segundos.

Es importante destacar que el tiempo de vida de un dado fluoróforo ( $\tau$ ) es el tiempo promedio en que las moléculas del mismo se quedan en el estado excitado antes de emitir un fotón, donde cada molécula individualmente emite en forma aleatoria luego de la excitación.

La determinación de tiempos de vida (o parámetros de decaimiento), puede ser llevada a cabo mediante el uso de instrumentos que están basados en el conteo de fotones individuales con correlación temporal (time correlated single photon counting,

TCSPC). Esta técnica se basa en el hecho de que la probabilidad de detectar un solo fotón a un tiempo “t” (después del pulso de excitación) es proporcional a la intensidad de fluorescencia para ese entonces. Luego de medir el tiempo y registrar los fotones únicos posteriores a un gran número de pulsos de excitación, la curva de decaimiento de la intensidad de fluorescencia es reconstruida como un histograma. La Figura 25 muestra una representación esquemática de un equipo convencional de TCSPC.<sup>78</sup>



**Figura 24.** Medida de fluorescencia resuelta en el tiempo (rojo) y el pulso del láser (verde).<sup>79</sup>

El funcionamiento del equipo implica que un pulso eléctrico asociado con el pulso de excitación es generado y dirigido para encender el convertidor amplitud-tiempo (TAC), mientras la muestra es excitada y emite fluorescencia. La óptica es “ajustada” para que el fotomultiplicador detecte no más de un fotón después de cada pulso de excitación. Cuando es detectado el fotón, producto de la emisión de la muestra, un pulso eléctrico detiene el TAC. En ese momento el TAC genera una señal cuya amplitud es directamente proporcional al tiempo entre los pulsos de encendido y apagado. El análisis de altura de la señal se realiza con un convertidor analógico-digital y un analizador multicanal. Después de repetir esta secuencia de encendido y apagado un gran número de veces se obtiene un histograma que representa el decaimiento de fluorescencia. Cuanto mayor es el número de eventos, mejor es la exactitud de la curva de decaimiento. La exactitud requerida depende de la complejidad del pulso de respuesta del sistema.

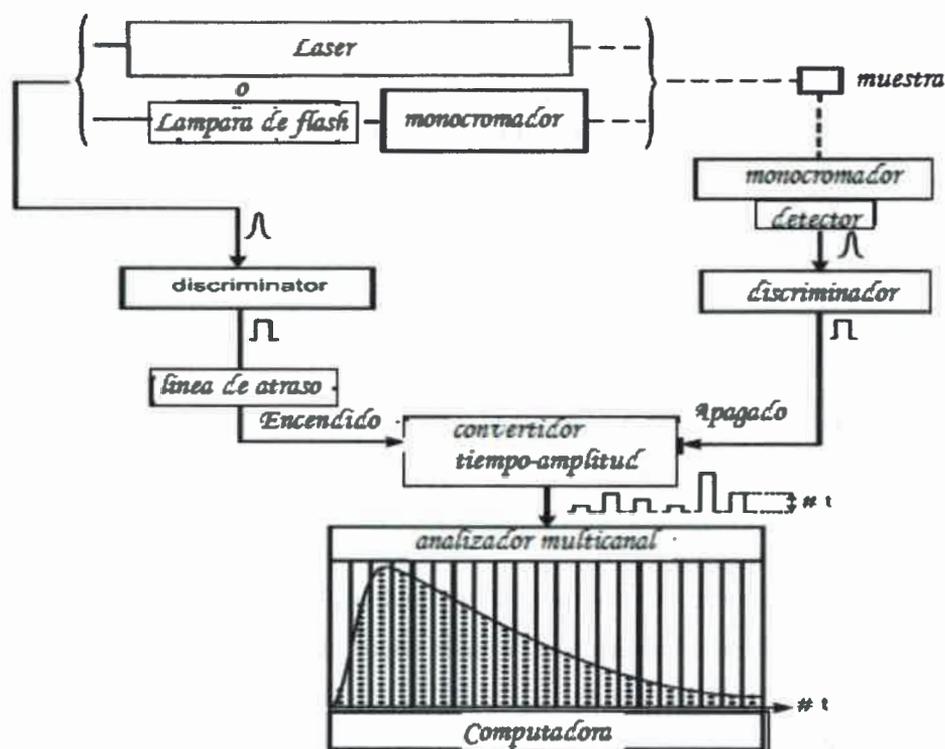


Figura 25. Esquema de un equipo de TCSPC.<sup>78</sup>

Cuando la función respuesta obtenida debe ser corregida (deconvolución) con el fin de no considerar el aporte de la señal de excitación, el perfil temporal de los pulsos de excitación son registradas bajo las mismas condiciones reemplazando la muestra con una solución dispersante de luz, por ejemplo silica coloidal o una solución de un latex.<sup>78</sup>

### 3.3.4- Análisis de medidas de emisión resuelta en el tiempo en sistemas heterogéneos

Los perfiles temporales de decaimiento de fluorescencia generalmente son analizados mediante un modelo de ajuste de decaimiento multiexponencial (Ecuación 29).

$$I(t) = \sum_{i=1}^n \alpha_i e^{-t/\tau_i}$$

Ecuación 29

donde  $\alpha_i$  y  $\tau_i$  son la amplitud y tiempo de vida correspondientes a la componente  $i$ ésima del decaimiento. El tiempo de vida medio para este modelo, se puede calcular de acuerdo a la Ecuación 30.<sup>78, 79</sup>

$$\tau_M = \frac{\sum_i \alpha_i \tau_i}{\sum_i \alpha_i}$$

**Ecuación 30**

Este modelo, generalmente se ajusta adecuadamente al sistema estudiado, sin embargo, para sistemas complejos o heterogéneos, se dificulta la adecuada interpretación física de los resultados.

En el caso de sistemas complejos, el análisis de los resultados a partir de distribución de tiempos de vida puede ser el más adecuado. En este modelo, los valores de  $\alpha_i$  (Ecuación 29) son reemplazados por una función de distribución  $\alpha(t)$ , ya que los tiempos de vida no representan valores individuales bien definidos (modelo multiexponencial). La componente para cada valor individual de  $\tau$ , está dada por:

$$I(\tau, t) = \alpha(\tau)e^{-t/\tau}$$

**Ecuación 31**

Sin embargo, uno no puede observar estos componentes individuales para cada tiempo de vida ( $\tau$ ), sino que se obtiene solo el decaimiento total. Por tal motivo, se deben sumar los decaimientos individuales pesados por sus amplitudes (Ecuación 32).

$$I(t) = \int_{\tau=0}^{\infty} \alpha(\tau)e^{-t/\tau} d\tau$$

**Ecuación 32**

donde  $\int \alpha(\tau) d\tau = 1$ .

Existen distintos métodos de análisis para el sistema planteado, entre ellos podemos hacer referencia al método NLLS (nonlinear least squares)<sup>108-110</sup> donde el estudio de la distribución de tiempos de vida es desarrollado en términos de funciones de distribuciones de tiempos de vida con una forma preestablecida. Otro método de análisis es el Método de Máxima Entropía (MEM)<sup>111-114</sup> el cual, a diferencia del

anterior, permite determinar las distribuciones de tiempos de vida sin ninguna suposición previa acerca de la forma de los componentes. Este método es matemáticamente complejo<sup>79</sup> y el criterio de ajuste es algo subjetivo. El MEM es actualmente muy utilizado para entender decaimientos complejos de intensidad de fluorescencia. Más específicamente hablando, este método está basado en la maximización de una función llamada la “función de entropía de Skilling-Jaynes”:<sup>79</sup>

$$S = \int_0^{\infty} \alpha(\tau) - m(\tau) - \alpha(\tau) \log \frac{\alpha(\tau)}{m(\tau)} d\tau$$

### Ecuación 33

En esta expresión  $\alpha(\tau)$  representa la distribución obtenida y  $m(\tau)$  es una función que se asume al comienzo del análisis. Además, en este método, los ajustes de los perfiles de decaimiento de fluorescencia son desarrollados mientras que el  $\chi_R^2$  es calculado para asegurar que la distribución determinada es consistente con los datos. El análisis se detiene cuando  $\chi_R^2$  no decrece más de 2% para 20 iteraciones. Finalmente, se obtiene un espectro “pulido” de  $\alpha(\tau)$  que tiene suficientes detalles para describir la forma de la distribución y además no se introducen componentes de  $\alpha(\tau)$  a menos que sean necesarios en el ajuste de los datos.<sup>79, 115</sup>

En esta tesis, los decaimientos de emisión fueron analizados usando el software de análisis de distribución de tiempos de vida provistos por Edinburgh Instruments (conocido como método EI). Los detalles del algoritmo empleado por el método EI, para encontrar la distribución de tiempos de vida que mejor se adecue a los decaimientos experimentales, se han discutido en varios trabajos.<sup>115-119</sup>

En el método de EI la función de decaimiento  $I(t)$ , parte de la Ecuación 32 (donde  $\alpha(\tau)$  es una distribución continua de tiempos de vida). En principio el método encuentra la mejor  $\alpha(\tau)$  que se ajusta al perfil de decaimiento experimental. La escala temporal es dividida en un número finito ( $n$ ) de tiempos de vida que se encuentran igualmente espaciados en una escala logarítmica. Dentro de esta aproximación,  $I(t)$  puede ser reescrita como una función de decaimiento multiexponencial (Ecuación 29).

Las distribuciones de tiempos de vida obtenidas por el método EI son histogramas que representan las amplitudes normalizadas ( $\alpha_i/\alpha_i^{max}$ ) del componente  $i^{\text{th}}$

del decaimiento como una función de  $\text{Log}(\tau_j)$ . Para distribuciones unimodales del método de ajuste El la distribución de tiempos de vida tiene forma Gausiana con un valor medio de tiempo de vida ( $\tau_M$ ) y su desviación estándar correspondiente ( $\sigma$ ). En el caso de distribuciones multimodales, el método proporciona los valores de  $\tau_{Mj}$ ,  $\sigma_j$  y el (porcentaje) el peso relativo ( $RW_j$ ) de cada subdistribución definida como:

$$RW_j = \frac{\sum_j \alpha_j \tau_j}{\sum_j \sum_i \alpha_{ji} \tau_{ji}}$$

#### Ecuación 34

A partir de esta información, el tiempo de vida medio de la distribución entera ( $\tau_M$ ) se puede estimar de acuerdo a la ecuación:

$$\tau_M = \frac{100}{\sum_j (RW_j / \tau_{Mj})}$$

#### Ecuación 35

Como es de esperarse, el  $\tau_M$  calculado a partir del ajuste multiexponencial simple (Ecuación 30, página 54) o de las distribuciones de tiempos de vida (Ecuación 35), son valores semejantes dentro de los errores introducidos durante el tratamiento matemático de los datos experimentales.

### 3.3.5- Anisotropía estacionaria

Si se excita con luz polarizada una muestra que presenta fluorescencia, la luz emitida por la misma, también estará polarizada. Esta polarización es el producto de la fotoselección de los fluoróforos de acuerdo a su orientación relativa a la dirección de la excitación polarizada.<sup>79</sup>

La fluorescencia polarizada puede ser disminuida (depolarizada) por un número de fenómenos, cuya importancia relativa reside en la muestra en estudio. Las causas pueden ser:<sup>79</sup>

- Absorción (selección de dipolos excitables).

- Difusión rotacional de los fluoróforos (si durante el tiempo de vida del estado excitado, la molécula cambia su orientación). Depende de la viscosidad del solvente, tamaño y forma de las especies que difunden.
- Ángulo entre el dipolo de absorción y el dipolo de emisión (depende del fluoróforo, es intrínseco del mismo).
- Rotación Browniana de la molécula (agitación aleatoria de las moléculas). Se puede evitar trabajando en soluciones de alta viscosidad.
- Reabsorción de la luz emitida. Depende de la concentración de fluoróforo y del solapamiento entre el espectro de absorción y el de emisión, (corrimiento de Stokes).
- TE (depende de la concentración del fluoróforo).

Las medidas de polarización o anisotropía revelan información sobre el desplazamiento angular del fluoróforo, el cual ocurre entre la absorción y posterior emisión de un fotón. Este desplazamiento angular depende de la magnitud y grado de difusión rotacional durante el tiempo de vida en el estado excitado. Estos movimientos difusivos a su vez dependen de la viscosidad del solvente y del tamaño y forma de las especies difusivas. Así, la anisotropía puede involucrar más de una causa y es de suma importancia conocer el sistema en estudio para no sacar conclusiones erróneas a partir de las medidas realizadas.

La relación que permite calcular la anisotropía ( $r$ ) se ilustra en la Ecuación 36. La muestra es excitada con luz polarizada verticalmente. El vector eléctrico de la excitación es alineado paralelo al eje z. Entonces se mide la intensidad de la emisión a través de un polarizador. Cuando el polarizador de emisión es orientado paralelo ( $\parallel$ ) a la dirección del polarizador de excitación la intensidad observada es  $I_{\parallel}$ . Del mismo modo, cuando el polarizador es perpendicular ( $\perp$ ) a la excitación, la intensidad es  $I_{\perp}$ .<sup>79</sup>

$$r = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + 2I_{\perp}}$$

**Ecuación 36**

Si la luz es completamente polarizada, entonces:  $I_{\parallel} = 0$  y  $r = 1$ . Este valor se encuentra generalmente para la luz de dispersión. La luz natural o totalmente depolarizada da valores de  $I_{\parallel} = I_{\perp}$  y  $r = 0$ .

El equipamiento empleado para medir anisotropía, puede presentar diferentes arreglos, dependiendo del número de canales de emisión que se usen para poder medir las componentes paralela y perpendicular de la luz, puede ser de formato L (Figura 26), donde existe un único canal de emisión, o formato T, en el cual el componente paralelo y perpendicular de la luz emitida se observan en canales separados.

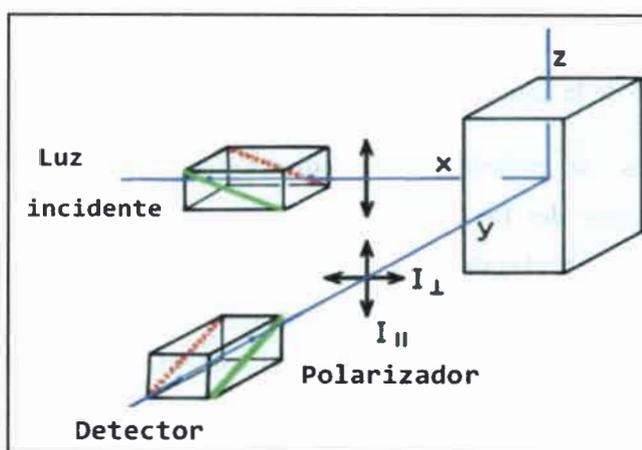


Figura 26. Esquema del método en formato L, para medir Anisotropía.<sup>79</sup>

La anisotropía puede variar de  $-0,2 \leq r_0 \leq 0,4$ , los cuales corresponden a los valores mínimo y máximo, para un fluoróforo presente en una solución diluida y vitrificada. Estos valores de polarización dependen de la diferencia de dirección entre los dipolos del estado fundamental y excitado; además de la fotoselección. Se considera que el desplazamiento angular del momento de la transición electrónica tiene los valores límites de 0 y 90°.

### 3.3.6- Láser Flash Fotólisis (LFP)

La técnica de Flash Fotólisis fue originalmente desarrollada como un método para estudiar especies reactivas tales como tripletes y radicales de tiempos de vida

relativamente cortos ( $\tau \geq 10^{-6}$  seg). La importancia de esta técnica reside en la detección directa de estas especies de interés. Sin embargo presenta un inconveniente, la identificación de las especies involucra una nueva absorción electrónica.<sup>101, 120</sup>

La muestra es irradiada con un pulso láser (luz de alta intensidad  $\sim 10^{20}$  fotones) para poblar el estado triplete vía cruzamiento entre sistemas desde el primer estado excitado singlete. Las moléculas en el estado triplete son detectadas por una segunda fuente de luz mediante absorción (promoción a niveles tripletes de energía superior), antes de volver al estado fundamental (Figura 27). Si la segunda fuente de luz forma parte de un espectrofotómetro, puede ser registrado el espectro de absorción ( $S_0 \rightarrow S_x$ ;  $T_1 \rightarrow T_x$ ). Si la segunda fuente de luz es continua, el cambio de la densidad óptica debido a las especies transitorias puede ser monitoreado en función del tiempo en una longitud de onda en particular seleccionada con un monocromador. Este tipo de sistema se ilustra en la Figura 28.

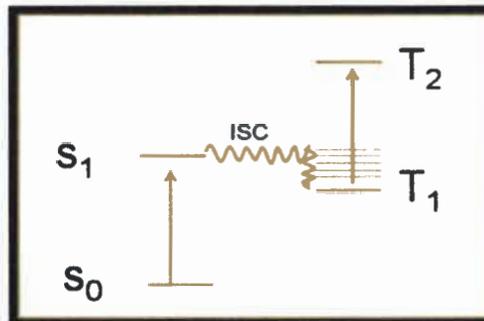


Figura 27. Diagrama de los niveles de energía implicados en las medidas de LFP.

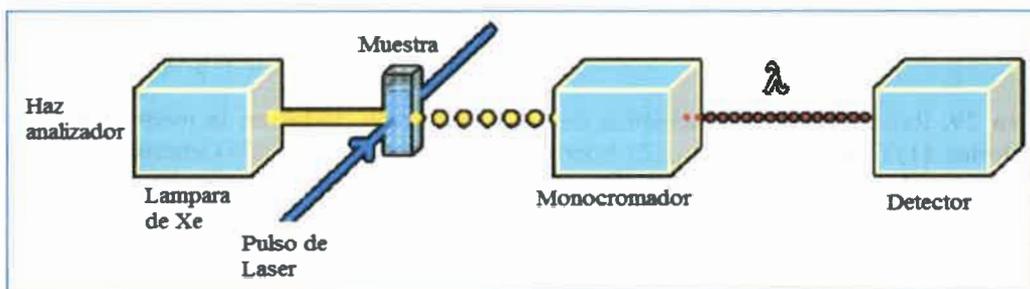
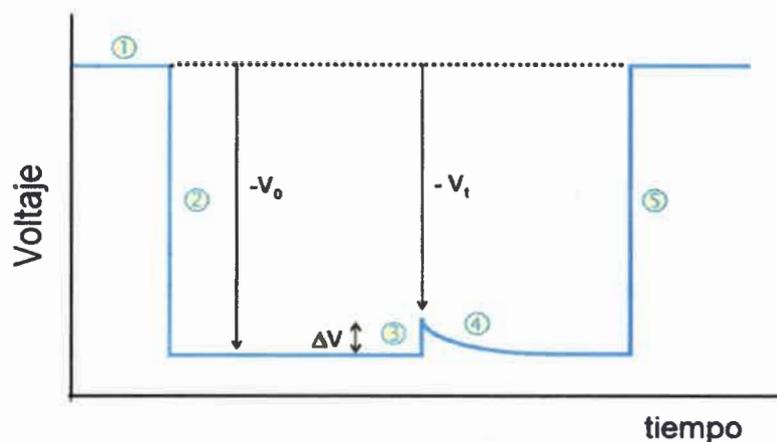


Figura 28. Representación de un equipo de LFP.

Como ya se mencionó, este método se basa en el hecho de que la muestra es expuesta a un pulso de láser, el cual genera especies transitorias y el cambio de intensidad del haz analizador depende de la diferencia de absorbancia entre las especies en el estado fundamental y en estado excitado ( $\Delta Abs$ ). El  $\Delta Abs$  es dependiente del tiempo (dado que el haz analizador es un fuente continua). Para proteger la muestra de una innecesaria exposición de luz, se emplean obturadores de alta velocidad sincronizados con el disparo del láser (shutter).

En la Figura 29 se observa en forma esquemática, como se realiza la detección de una medida en LFP. El cambio de absorbancia temporal puede ajustarse con funciones (monoexponenciales, biexponenciales, etc) para obtener información relacionada a los tiempos de vida y los mecanismos de desactivación de las especies transitorias. Tiempos de vida de entre 500 ns hasta varios segundos pueden medirse en el rango de 200 hasta 2500 nm (dependiendo del detector).



**Figura 29.** Representación esquemática de los pasos involucrados en la medida de especies transitorias. (1) Obturador cerrado. (2) Apertura del pulso analizador. (3) Generación de estados transitorios (Disparo del Láser). (4) Desactivación de los estados transitorios. (5) Cierre del pulso analizador.

En LFP, donde la detección de las especies se realiza con una lámpara de luz continua (selección de longitudes de ondas aisladas), las medidas pueden ser de dos formas:

- Modo espectroscópico (Figura 30): cuando el espectro de absorción del transitorio es obtenido a un tiempo determinado posterior al pulso de excitación. Con la colección de perfiles temporales, obtenidos a distintas longitudes de

onda, puede reconstruirse el espectro de absorción a partir de los valores de absorbancia correspondientes a un tiempo determinado.

- Modo cinético (Figura 31): cuando la absorción del transitorio es registrada a una longitud de onda fija como una función del tiempo. Con un solo flash se obtiene un perfil cinético completo del transitorio.

En la Figura 32 se observa para un dado sistema la representación tridimensional ( $\Delta Abs$  vs  $\lambda$  vs  $t$ ) construida a partir de los resultados aplicando los modos espectroscópico y cinéticos de la técnica.

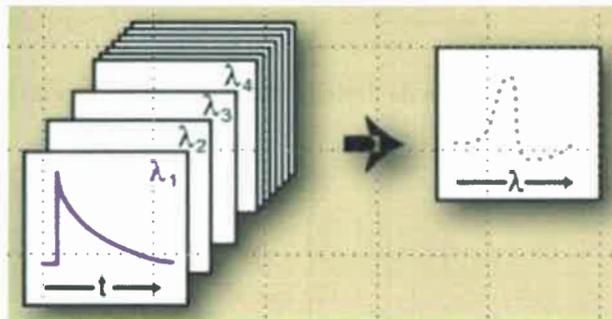


Figura 30. Modo espectroscópico en LFP.

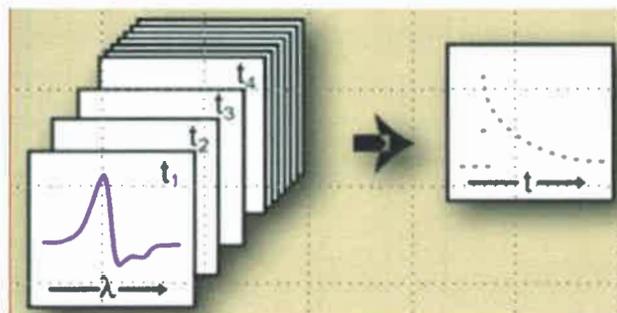
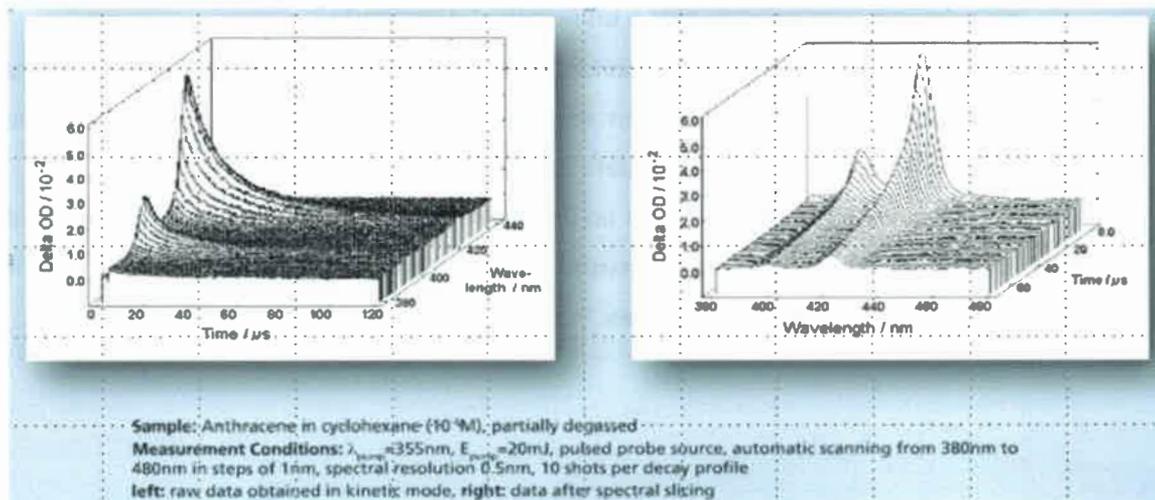


Figura 31. Modo cinético en LFP.



**Figura 32.** Medidas de fotólisis de destello de láser para antraceno en ciclohexano.

## IV. CAPITULO IV

### Materiales y métodos

---

#### 4.1- Reactivos

En la síntesis de 4(N,N-dimetilamino)bencilmetacrilamida (D), se utilizó: dihidrocloruro de 4-(dimetilamino)bencilamina, 98% de pureza, Aldrich; cloruro de metacriolo, 97%, Aldrich; hidroxido de sodio, 99% de pureza, Cicarelli; nitrito de sodio, ~ 98% de pureza, Aldrich; fosfato monopotásico puro, Berna.

Para la preparación de las Np, se empleó:

Surfactante: CTAB (bromuro de hexadeciltrimetilamonio), ~99% de pureza, Sigma Aldrich. Utilizado sin purificación.

Cosurfactantes: n-hexanol, pureza > 99%, Fluka. Utilizado sin purificación.

Monómeros monovinílicos: MMA (metilmetacrilato o metacrilato de metilo), ~98% de pureza, Aldrich. Ant-MMA (metilmetacrilato de (9-antraceni) metilo), 95% de pureza, Aldrich.

Monómero polivinílico: EGDMA (etilenglicol dimetacrilato o dimetacrilato de etileno), ~98% de pureza, Aldrich.

Iniciador: VA-044 (dihidrocloruro de 2,2'-Azobis(2-(4,5dihidroimidazol) propilo), Wako Pure Chemical Industries, 95% de pureza.

Los monómeros MMA y EGDMA se purificaron a través de columnas rellenas con una resina de intercambio iónico De-Hibit-200 (Polysciences).

Para la obtención de las partículas poliméricas, la precipitación de surfactante en la microemulsión se realizó por el agregado de solución de perclorato de sodio (Sigma – Aldrich > 98%). La filtración del precipitado se llevo a cabo con papel de filtro S y S 589/2- White Ribbon  $\varnothing = 6\mu\text{m}$ .

Desactivantes de fluorescencia: DMA (N, N-dimetilanilina) de 99% de pureza, Aldrich; TPA (Tripropilamina) de 99% de pureza, Aldrich. Ambas purificadas por destilación a presión reducida.

Fluoróforos: 9-MA (9-metilantraceno), 99% de pureza, Sigma Aldrich; Antraceno 99% de pureza, Sigma Aldrich. Ambos utilizados sin purificación previa en los estudios en solución.

#### 4.1.1- Solventes

En la síntesis de D, se utilizó: DCM (diclorometano; Sintogran, HPLC) y c-hexano (ciclohexano, Sintogran, HPLC).

Para las experiencias de polimerización en microemulsión se usó agua tridestilada.

Para la separación y purificación de las partículas de polímero de la microemulsión se empleó acetonitrilo (Cicarelli, para análisis).

En los estudios fotoquímicos y en las experiencias de dispersión de luz, se emplearon como solventes: cloroformo (Sintogran, HPLC), diclorometano (DCM; Sintogran, HPLC), acetato de etilo (Sintogran, HPLC), acetonitrilo (Sintogran, HPLC), THF (tetrahidrofurano; Sintogran, HPLC), n-hexano (Sintogran, HPLC), c-hexano (ciclohexano, Sintogran, HPLC), éter butílico (Sintogran, HPLC) y éter etílico (Sintogran, HPLC).

#### 4.2- Instrumental

Espectros de absorción fueron registrados con un espectrofotómetro Hewlett Packard Diode Array 8452.

Espectros de fluorescencia se obtuvieron con un fluorómetro Spex, modelo *Fluoromax*, equipado con un software DM 3000 3.2. y con un fluorómetro *Horiba Fluoromax-4*.

Los espectros infrarrojos se registraron con espectrofotómetro FT-IR Nicolet Impact 400, en pastilla de BrK.

Los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  fueron registrados con un equipo Bruker 400 (400 Mhz). Los datos fueron procesados por el software Topspin 3.0. Este equipo pertenece a la Universidad Nacional de Córdoba (UNC).

El espectro de masa fue obtenido utilizando un cromatógrafo CG Hewlett Packard 5890 con detector FID y detector selectivo de masas serie 5972, equipado con una columna HP-5 de 30 m x 0,32 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ , rellena con crosslinked 5 % PH ME silicone.

Los estudios de tamaño de partícula se realizaron con un equipo de dispersión de luz Malvern Instrument 4700. Las condiciones en las cuales se tomaron las medidas son: un ángulo de detección de  $90^\circ$ , temperatura:  $25^\circ\text{C}$  y la luz incidente fue a  $\lambda = 488$  nm (láser Ion Argón).

Las determinaciones de tiempos de vida se realizaron con un equipo de Conteo de fotón único Edinburgh Analytical Instrument FL-900 CDT. Equipado con dos LEDs de  $\lambda_{\text{exc}} = 378$  nm y 297 nm.

Se realizaron análisis de distribuciones de tiempos de vida por EI (Edimburg Instruments). Los parámetros fijados en este análisis (Ecuación 29, página 53), fueron  $n=50$ , es decir las distribuciones se obtienen a partir de 50 tiempos de vida; el valor mínimo de  $\tau_i$  se fijó en 100 ps (dada por la resolución temporal del instrumento); el valor máximo de  $\tau_i$  se estableció a partir de las propiedades emisivas del fluoróforo estudiado. Se tomó como regla que  $\tau_i^{\text{max}}$  sea cuatro veces el mayor tiempo de vida obtenido del análisis multiexponencial estándar de las muestras.

Los decaimientos de fluorescencia obtenidos experimentalmente también fueron ajustados con funciones de decaimiento multiexponenciales. El criterio utilizado para considerar la calidad de los ajustes fue  $\chi^2$  y el peso de los residuales ( $R_i$ ). Los parámetros obtenidos de los ajustes de las curvas de decaimientos experimentales se calificaron como aceptables cuando el  $\chi^2$  se encontraba en el rango  $0,85 < \chi^2 < 1,15$ .

Los estudios de láser flash fotólisis (LFP) se realizaron utilizando un equipo compuesto por un láser de Nd:Yag (Brilliant Quantel), utilizando como fuente de excitación el armónico a 355 nm, con un ancho de pulso de  $\sim 4$  ns. La detección comprende un monocromador acoplado a un tubo fotomultiplicador unido a un

osciloscopio digital HP (Hewlett Packard 54504A Digitizing oscilloscope). El haz del láser fue desenfocado a fin de cubrir en su totalidad el paso óptico del haz analizador proveniente de una lámpara de xenón de A-1010B Arc Lamp Housing (75 W).

Para llevar a cabo las medidas de anisotropía, se utilizó un equipo de formato L fluorómetro F-2500- Fluorescence Spectrophotometer, Hitachi; al cual se le adicionaron polarizadores de excitación y emisión: Polarization Acc. con polacoat Filte. Model 650-0155; Hitachi; Tokio; Japan.

Para las experiencias de fotólisis se empleo un fotoreactor circular Rayonet montado con 3 lámparas UV Philips F8T5/BLB ( $\lambda=350$  nm) de 8-W cada una.

## V. CAPITULO V

### Resultados y discusión

Los resultados se encuentran divididos en tres partes. En la primera (sección 5.1.1) se describe la síntesis y caracterización del monómero metacrilato de la DMA (D), el cual se utilizó posteriormente copolimerizado con distintos monómeros (ver Figura 39, página 76) en las síntesis de las nanopartículas. Además, en las secciones 5.1.2 y 5.1.3 se incluyen la síntesis de las nanopartículas estudiadas en la presente tesis y la determinación del tamaño mediante DLS, respectivamente.

Se sintetizaron cinco tipos diferentes de Np: PAnD0, PAnD25, PAnD75, PD25 y PD75. Se suspendieron las Np en distintos solventes orgánicos (como DCM y THF) y sus propiedades fotofísicas se estudiaron de forma extensa.

PAnD0 es un copolímero entrecruzado de MMA, EGDMA y monómero de antraceno (Ant-MMA) en una relación molar 93:53:1, respectivamente. En la síntesis de PAnD25 y PAnD75, el 25% y 75% del número total de moles de MMA fue reemplazado por moles de D, respectivamente; dejando constante la relación molar de EGDMA y Ant-MMA. PD25 y PD75 se prepararon de forma análoga a PAnD25 y PAnD75, sin incluir Ant-MMA.

Las Np sintetizadas se pueden dividir en dos grupos según su composición (ver Tabla 5):

- PAnD: contienen el fluoróforo antraceno (Ant) y D, este último en distintas proporciones, incorporados en la matriz polimérica (copolímero de MMA EGDMA).
- PD: contienen el fluoróforo D en distintas proporciones, incorporados en la matriz polimérica (copolímero de MMA y EGDMA).

**Tabla 5.** Relación molar de los monómeros involucrados en la síntesis de cada Np. negativo.

Np	Monómeros involucrados			
	Ant-MMA	D	MMA	EGDMA
PAnD0	1	0	110	60
PAnD25	1	30	80	60
PAnD75	1	80	30	60
PD25	-	30	80	60
PD75	-	80	30	60

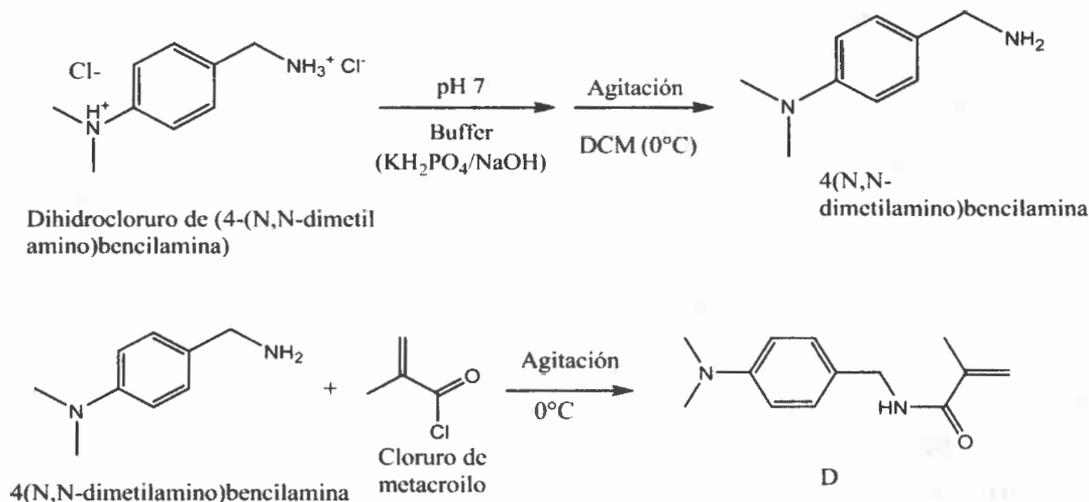
En la segunda parte de este capítulo se muestran los estudios concernientes a la caracterización espectroscópica de PAnD0, PD25 y PD75 (sección 5.2). Además en la sección 5.3 se contempla el estudio de desactivación de fluorescencia de antraceno en la PAnD0 por N,N-dimetilanilina (DMA) comparado con el correspondiente a ambas especies (9-MA y DMA) en solución.

La sonda fluorescente utilizada, el grupo antraceno sustituido en la posición 9 (Ant) se caracterizó en solución e incorporado en las Np. Ant es una molécula poliaromática cuya emisión tienen una estructura vibracional bien definida la cual no se ve afectada por el medio en el cual se encuentra.<sup>121</sup> Tanto el tiempo de vida de emisión como el rendimiento cuántico muestran una marcada dependencia sobre la viscosidad del entorno.<sup>121</sup>

Finalmente, en la tercer parte de este capítulo, en la sección 5.4.1 se muestran los estudios pertinentes a la Te fotoinducida intrapartícula observada en PAnD25 y PAnD75. Otro aspecto que se investigó fue el proceso de TE intra-Np el cual se detectó en PAnD25 y PAnD75 (sección 5.4.2). En dichas partículas al excitar al cromóforo D se observó la formación del estado singlete excitado de Ant.

### 5.1.1.1- Síntesis 4-(N,N-dimetilamino) bencil metacrilamida (D)

Los distintos pasos que involucran la síntesis de D se resumen en la Figura 33.



**Figura 33.** Síntesis del monómero D.

El procedimiento llevado a cabo se describe a continuación:

Se solubilizó 1 gr de dihidrocloruro de 4-(N,N-dimetilamino) bencilamina) ( $4,48 \times 10^{-3}$  moles), en un buffer a pH 7 (50 ml,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,316 M / NaOH, 0,19 M) a  $0^\circ\text{C}$ . Se adicionó 10 mgr de  $\text{NaNO}_2$  y 40 ml de DCM. Se agitó durante 30 min. Se agregaron 380  $\mu\text{l}$  de cloruro de metacrililo ( $4,48 \times 10^{-3}$  moles) disuelto en 2 ml de DCM, gota a gota, manteniendo la agitación. Se dejó reaccionar durante 1 hora. Se procedió a una extracción de la fase orgánica, la cual posteriormente se trató con zeolitas a baja temperatura durante toda la noche. En todos los pasos previos mencionados se realizaron cromatogramas en capa fina (TLC), para determinar el avance de la reacción. Se evaporó el solvente, obteniéndose un sólido de color amarillento (4-(N,N-dimetilamino) bencilmetacrilamida). El sólido se purificó por recrystalización (solvente c-hexano). El rendimiento de la síntesis fue de  $\sim 43\%$ .

### 5.1.1.2- Caracterización espectroscópica del monómero D

El nuevo compuesto fue caracterizado a través de sus espectros de masa  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, IR y UV-visible.

La espectroscopia de masa de D (PM: 218 gr/mol) arrojó los siguientes resultados (m/z): 218[M<sup>+</sup>], 201, 174, 148, 134, 118, 91, 77 y 69. En la Figura 34 se muestran las diferentes fragmentaciones posibles que pueden explicar parte de los picos presentes en el espectro de masas.

Las Figuras 35 y 36 muestran los espectros de resonancia magnética nuclear obtenidos para la caracterización. De forma sintética los datos experimentales se muestran a continuación:

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7,18 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H); 6,70 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H); 5,97 (s, 1H); 5,68 (s, 1H); 5,31 (s, 1H); 4,39 (d,  $J = 5,4$  Hz, 2H); 2,94 (s, 6H); 1,96 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168,52; 150,61; 140,52; 129,53; 126,19; 119,82; 113,15; 43,89; 41,05; 19,14. A partir del DEPT (siglas en ingles de "*Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer*") (Figura 36 inferior) se distinguen los carbonos metinos y metilos (señales positivas: 129,53; 113,15; 41,05; 19,14) de los metilenos (señales negativas: 119,82; 43,89) y los carbonos cuaternarios (señal nula: 168,52; 150,61; 140,52; 126,19).

En la Figura 37 se observan dos espectros de absorción UV-visible, correspondiente al monómero D (en solución de DCM, trazo rojo) y DMA (en DCM, trazo negro). Se pueden identificar las bandas características de las transiciones  $\pi, \pi^*$  (máximos a  $\sim 265$  nm y a  $\sim 306$  nm) propias del cromóforo (amina aromática)<sup>122</sup>. Cabe mencionar que se observa un corrimiento de las bandas de D con respecto a la DMA debido a la sustitución de la posición para del anillo aromático. Los coeficientes de absorción molar fueron obtenidos a partir de experimentos típicos de Lamber Beer. UV (DCM)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon/\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ): 263 nm (12000), 306 nm (1900).

En la Figura 38 y en la Tabla 6 (página 75) se muestra el espectro IR de D y la asignación de las diferentes bandas de absorción, respectivamente.

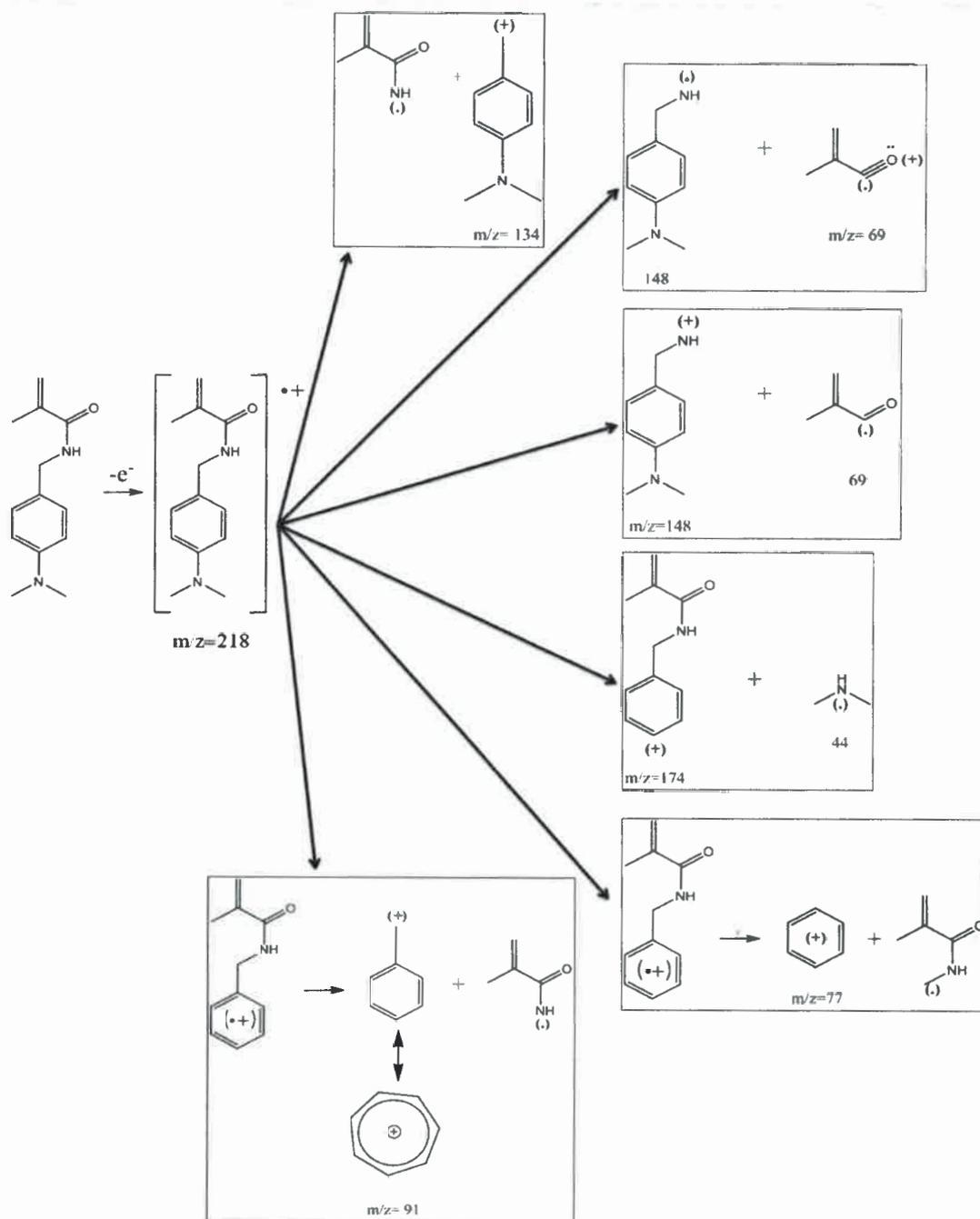


Figura 34. Posibles fragmentaciones (espectro de masa de la D).

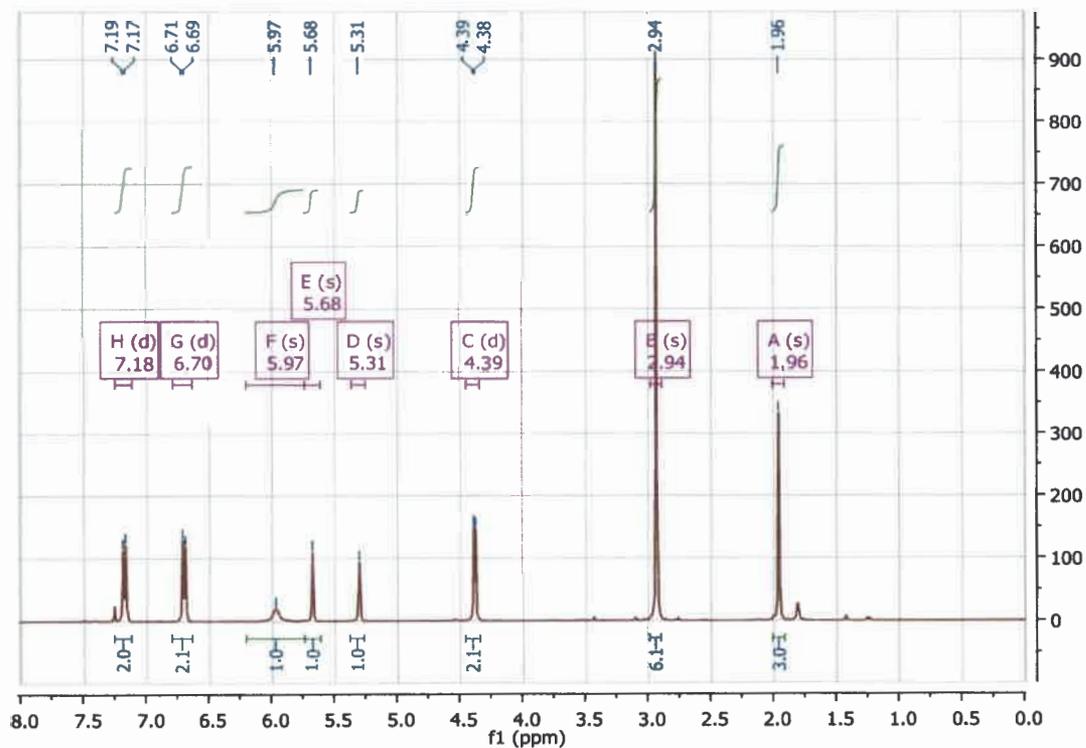
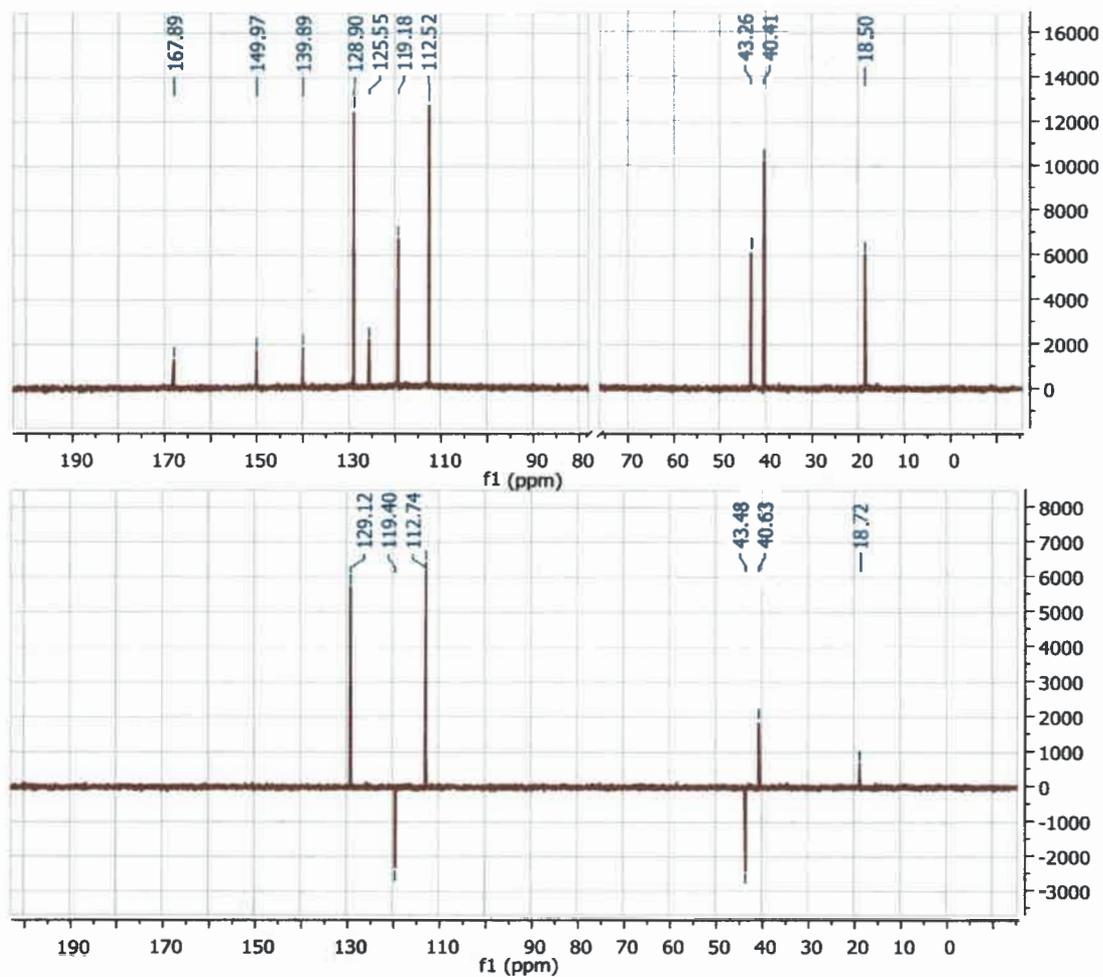


Figura 35 Espectro <sup>1</sup>H NMR de D. Solvente: CCl<sub>3</sub>D. 400 MHz.



**Figura 36.** Espectro superior  $^{13}\text{C}$  NMR. Espectro inferior  $^{13}\text{C}$  NMR DEPT. Compuesto D. Solvente:  $\text{CCl}_3\text{D}$ . 400MHz.

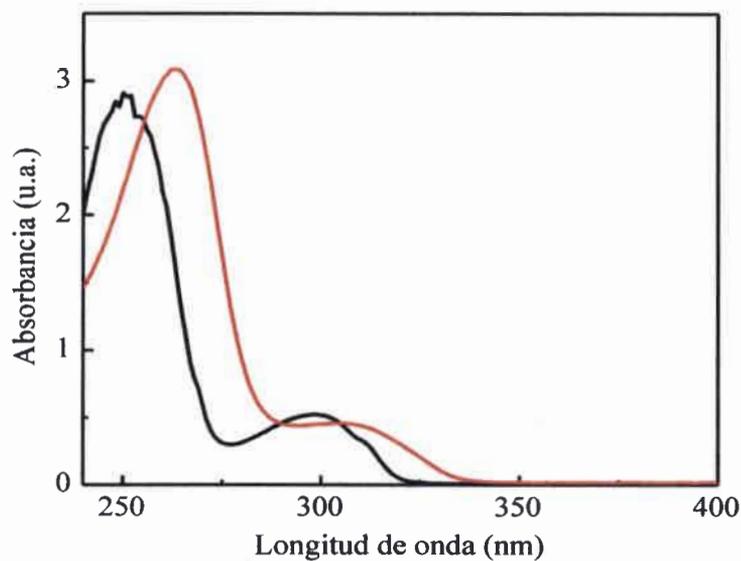


Figura 37. Espectros de absorción de DMA (negro)  $2,4 \times 10^{-4}$  M y D (rojo)  $2,29 \times 10^{-4}$  M. Solvente: DCM.

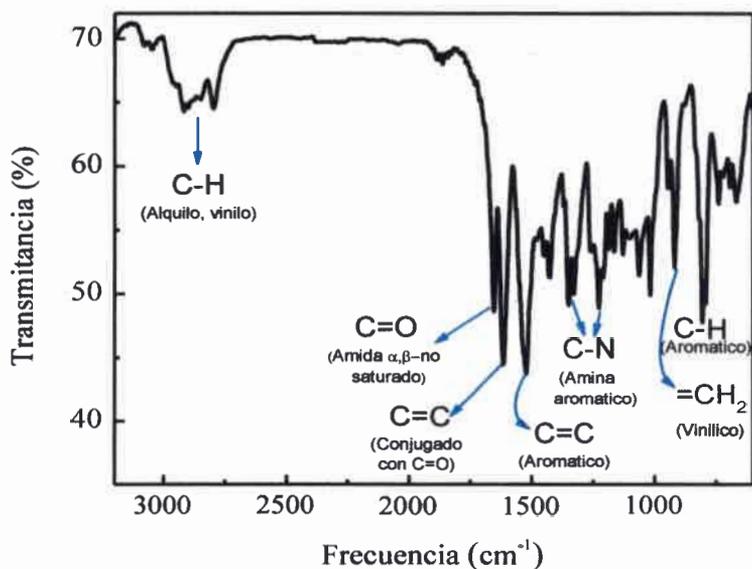


Figura 38. Espectro IR de D en pastilla de BrK.

**Tabla 6.** Interpretación de las bandas de absorción del espectro IR de la amida.

Banda de absorción seleccionada	Grupo funcional	Frecuencia (cm <sup>-1</sup> )	Asignación	Especificaciones
C-H	Vinílico, =CH <sub>2</sub>	~900	σ -deformación de flexión- (fuera del plano)	Señal fuerte
C-H	Aromático, C-H con 2H adyacentes	860-800	σ (fuera del plano)	Señal fuerte
C-N	Amina aromática	1370-1250	ν <sub>C-N</sub> -tensión-	Señal fuerte
C=C	C=C conjugado con C=O	1600	ν <sub>C=C</sub>	Señal fuerte
C=O	C=O α,β no saturado	1685	ν <sub>C=O</sub>	Señal fuerte
C-C	C=C Aromático	1600 1580 1500 1450	Vibraciones del esqueleto en el plano	La intensidad de las bandas en 1600 y 1500 pueden ser débiles
C-H	Alquilo, CH <sub>3</sub>	2960 2870	ν <sub>as</sub> -tensión asimétrica- ν <sub>s</sub> -tensión simétrica-	Señal débil Señal media
C-H	Alquilo, -CH <sub>2</sub> -	2925 2850	ν <sub>as</sub> ν <sub>s</sub>	Señal débil Señal media
C-H	Vinilo, =CH <sub>2</sub>	3080 2975	ν <sub>as</sub> ν <sub>s</sub>	Señal media Señal media

### 5.1.2- Síntesis de las Np

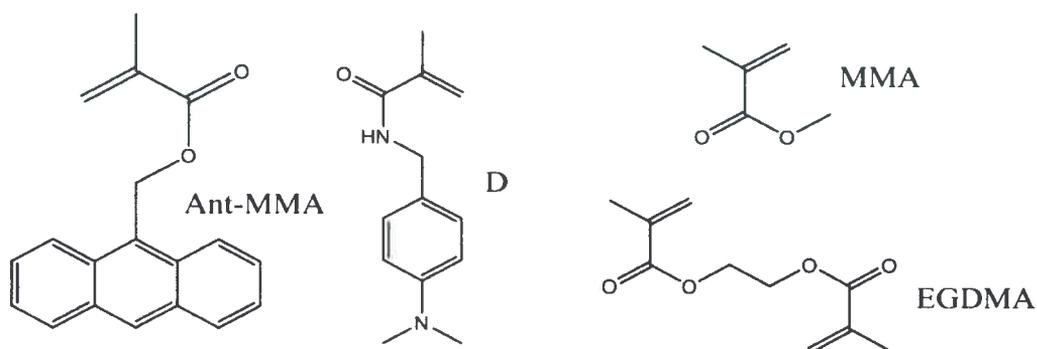
Se sintetizaron dos familias de Np a partir de la copolimerización térmica de los monómeros vinílicos en distintas proporciones. Los monómeros usados se muestran en la Figura 39.

En la Figura 40 se ilustra el método generalizado de síntesis. Los monómeros fueron encapsulados en micelas directas de CTAB (Figura 41), en la presencia de n-hexanol como co-surfactante.<sup>37-39</sup> Se utilizó un iniciador tipo azo hidrosoluble, VA-044, para dar

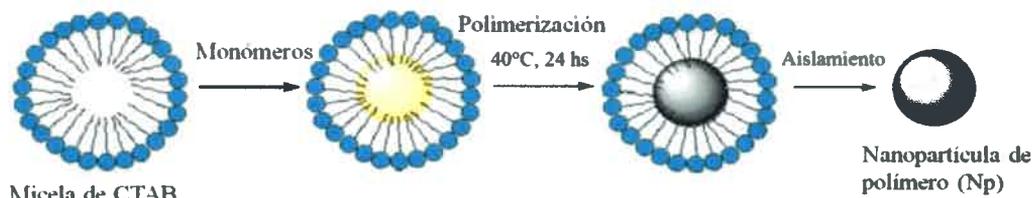
comienzo a la polimerización radicalaria (ver Figura 42). Una vez finalizada esta reacción, el polímero obtenido (emulsionado) se aisló de la mezcla reactante.

A tal fin, se precipitó el surfactante (desestabilización de las micelas) mediante el agregado de una solución concentrada de perclorato de sodio. El ion perclorato con el surfactante catiónico forma una sal insoluble en medio acuoso ( $\text{CTA}^+\text{ClO}_4^-$ ), lográndose así la separación del surfactante junto con Np del medio de reacción.

Luego, se separó el precipitado por filtración y se procedió a aislar el polímero que precipitó junto con la sal mediante la disolución del compuesto iónico ( $\text{CTA}^+\text{ClO}_4^-$ ) en un medio adecuado (solución de acetonitrilo: agua 1:1 v/v, en el cual el polímero es insoluble). Posteriormente se obtuvieron las Np por ultracentrifugación o filtración.



**Figura 39.** Monómeros vinílicos involucrados en la síntesis de Np.



**Figura 40.** Esquema de la síntesis de polímeros nanoparticulados.

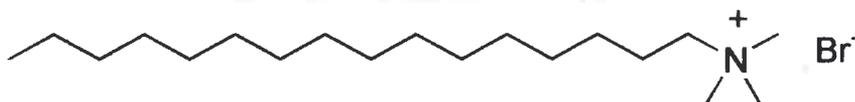


Figura 41. Estructura del CTAB.

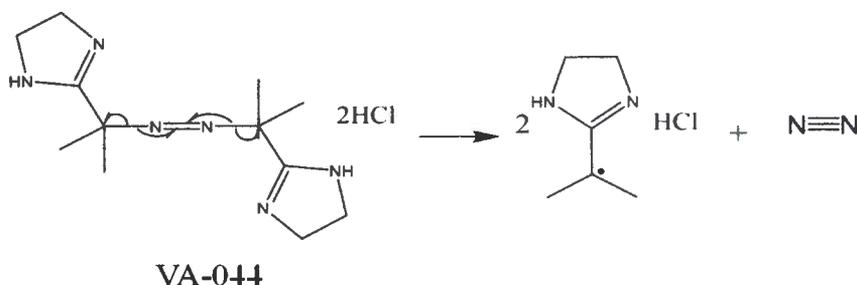


Figura 42. Reacción de iniciación en la polimerización radicalaria.

### 5.1.2.1- Síntesis de PAnD

En la Figura 43 se muestra la síntesis correspondiente a una de las Np (PAnD25). A continuación se describe en forma detallada el procedimiento general empleado para las síntesis.

Se disolvieron  $2,74 \times 10^{-4}$  moles de CTAB (0,1 gr) en 50 ml de agua tridestilada, en agitación continua, se agregó  $4,81 \times 10^{-4}$  moles de n-hexanol (60  $\mu$ l),  $4,67 \times 10^{-4}$  moles de MMA (50  $\mu$ l) (en el caso de la síntesis de la PAnD0 o lo que corresponda de MMA y D, para la obtención de las demás Np, ver Tabla 7),  $2,65 \times 10^{-4}$  moles de EGDMA (50  $\mu$ l),  $5 \times 10^{-6}$  moles de Ant-MMA e iniciador VA-044, al 10 % en relación con la masa de monómero y entrecruzador. Se burbujeó nitrógeno durante 15 minutos. Se colocó la mezcla de reacción en un baño termostatzado a 40°C durante 24 horas. Se le agregó al sistema 1 ml de solución acuosa de NaClO<sub>4</sub> de concentración 10% p/v para precipitar el surfactante y el polímero formado. Luego se separó el precipitado por filtración, y se procedió a aislar el polímero que precipito junto con la sal, mediante la disolución del compuesto iónico en 75 ml de solución acetonitrilo:agua en una relación 1:1 v/v. Previamente se determinó experimentalmente la solubilidad de la sal CTAClO<sub>4</sub> en dicha mezcla de solventes, la cual

correspondía a 0,05 gr/ml. Posteriormente se obtuvieron las Np por ultracentrifugación o filtración. El polímero se secó en una estufa a 60°C a presión reducida. En la Figura 44 se muestran los espectros FT-IR de PAnD0 y CTACIO<sub>4</sub> dispersados en pastillas de KBr, donde la ausencia de la banda a 617 cm<sup>-1</sup> (correspondiente al anión perclorato) en el espectro del polímero implica la obtención de la muestra pura. Las cantidades (en moles) involucradas en las síntesis de las PAnD0, PAnD25, y PAnD75 y su relación molar entre monómeros, se muestran en las Tablas 7 y 8, respectivamente.

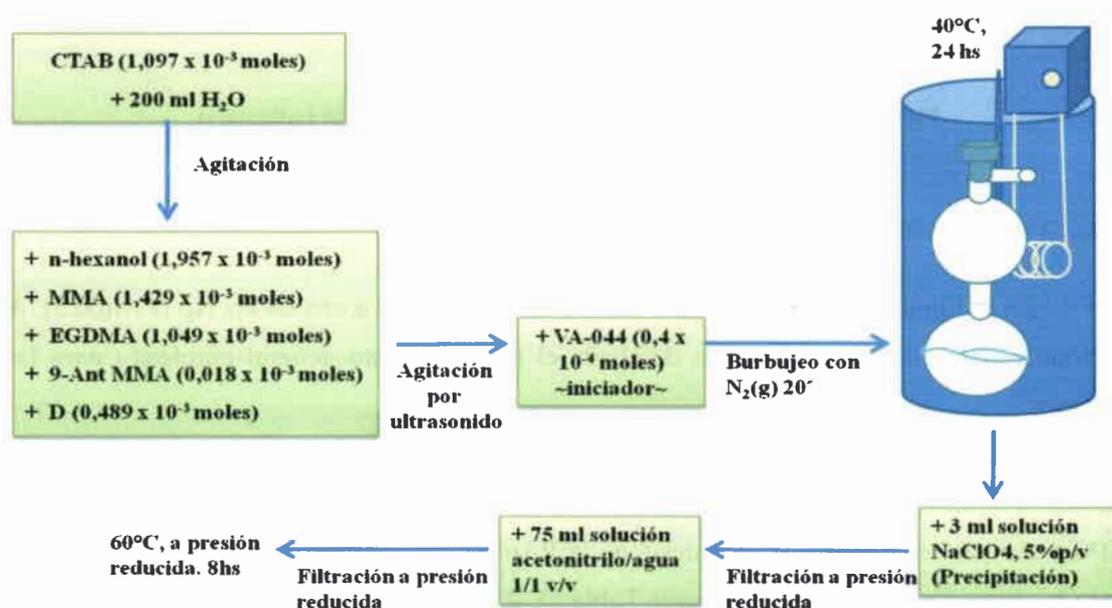
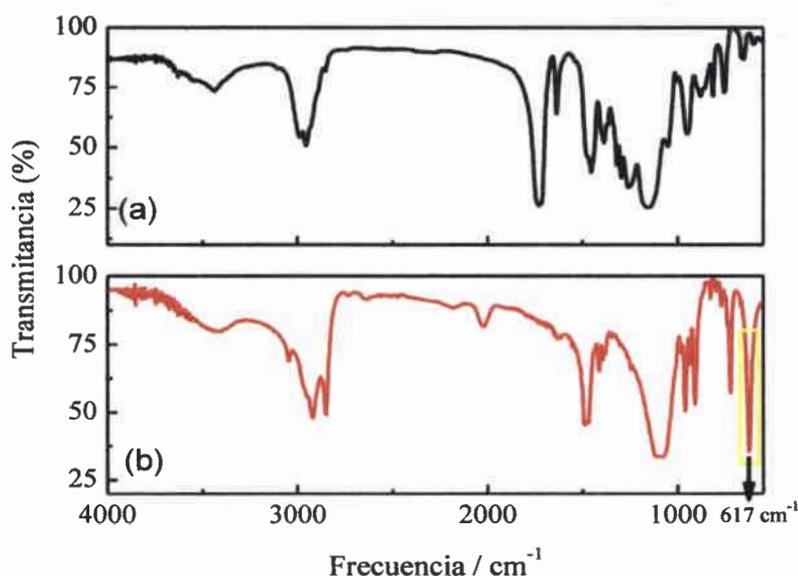


Figura 43. Procedimiento experimental para la síntesis de PAnD25.

En el espectro FT-IR de PAnD0 (Figura 44 (a)) se observan las bandas correspondientes a los grupos metilos y metilenos de la estructura polimérica: 1380 cm<sup>-1</sup> (C-H) de metilo; 2850 cm<sup>-1</sup> y 2930 cm<sup>-1</sup> (C-H) de metileno. Las absorciones C-H se producen en dos regiones, la región de tensión de C-H desde 3300 a 2500 cm<sup>-1</sup> y la región de flexiones desde 1550 a 650 cm<sup>-1</sup>. Además, se pueden reconocer bandas de absorción de los grupos funcionales ester y carbonilo; entre 1250-1000 cm<sup>-1</sup> (banda ancha) absorbe el

enlace C-O (éster); el enlace C=O absorbe en  $1735\text{ cm}^{-1}$ , grupo carbonilo (pico agudo e intenso). Entre  $1300\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$  se identifica la tensión simétrica y asimétrica de C-O-C (éster).



**Figura 44.** Espectros FT-IR de (a) PANd0 y (b) CTAClO<sub>4</sub>, ambos dispersos en KBr.

En la síntesis de las Np las concentraciones de Ant-MMA y EGDMA permanecen constantes. A partir de la Tabla 5 que muestra la relación molar entre los monómeros involucrados en la polimerización y la Tabla 8 donde se hace referencia a la fracción molar del monómero D se puede observar que en las PANd25 y PANd75, fueron reemplazadas, el 25% y 75% del monómero MMA por D respecto a la PANd0, respectivamente. De esta forma el número de los moles totales en cada sistema permanece constante.

En la Tabla 8 se informan los rendimientos obtenidos en cada síntesis. El valor correspondiente al de las PANd25 es relativamente bajo en comparación con los demás, lo cual se debe a que la separación de las Np se llevó a cabo por filtración y en los otros casos se eligió la ultracentrifugación como método separativo. De esta forma se compararon ambos métodos separativos, observándose que la ultracentrifugación era mejor (mayores rendimientos de síntesis).

**Tabla 7.** Reactivos utilizados en la síntesis de PAnD0, PAnD25 y PAnD75.

Reactivo	PM (gr/mol)	$\delta$ (gr/ml)	Vol (ml)	Moles involucrados en la síntesis / $10^{-4}$		
				PAnD0	PAnD25	PAnD75
MMA	100,12	0,94		4,67	3,55	1,22
EGDMA	198,22	1,05		2,65	2,65	2,65
Ant-MMA	276,33			0,05	0,05	0,05
D	218,30			0	1,15	3,44
CTAB	364,46			2,74	2,74	2,74
n-Hexanol	102,18	0,82		4,81	4,81	4,81
Agua	18,02	1,00	50	$2,77 \times 10^4$	$2,77 \times 10^4$	$2,77 \times 10^4$
VA-044	244,34			0,41	0,41	0,41

**Tabla 8.**  $\chi_D$ : fracción molar de D respecto a los moles totales de monómeros y rendimiento de cada síntesis.

Np	$\chi_D$	Rendimiento Síntesis
PAnD0	0	66,6%
PAnD25	0,18	45,6%
PAnD75	0,47	88,0%

Se calculó el número de ocupación ( $\bar{n}$ ) en la síntesis de cada partícula de esta familia, es decir el número promedio de moléculas de fluoróforo Ant por micela. Dicho valor es alrededor de 1,4 y se determinó a partir de la Ecuación 37:

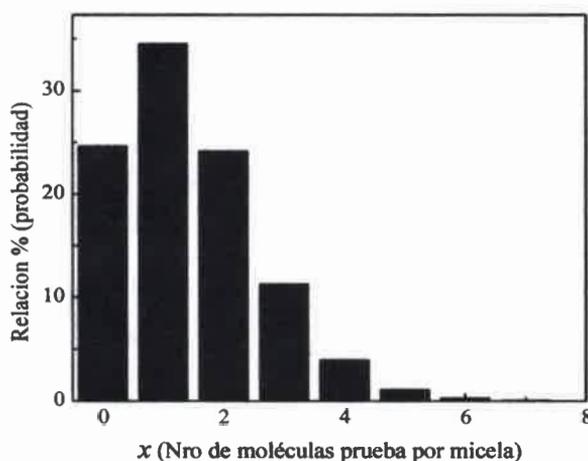
$$\bar{n} = \frac{[M] N_{ag}}{[Surf] - cmc}$$

Ecuación 37

donde [M] y [Surf] son las concentraciones molares del fluoróforo y el surfactante, respectivamente. En este caso, para CTAB los valores de  $N_{ag}$  y  $cmc$  son 60 y  $9,2 \times 10^{-4}M$ , respectivamente.

A partir de  $\bar{n}$  y basándonos en la distribución de Poisson (Ecuación 12) es posible calcular la distribución de moléculas de fluoróforo en las micelas.

Los resultados se muestran en la Figura 45. La figura indica que la mayoría de las micelas contienen 1 Ant (~35%), también pero en menor proporción hay micelas vacías y otras con 2 moléculas de fluoróforo (~25%). La probabilidad de encontrar micelas con más de 2 Ant es baja (>13%), volviéndose prácticamente cero para  $x = 6$ .



**Figura 45.** Distribución de Poisson para las moléculas de Ant por micela en la síntesis de Np.

Es preciso aclarar que estos valores corresponden al número de fluoróforo presentes durante el comienzo de la polimerización y que a medida que transcurre la síntesis, las partículas poliméricas formadas en las micelas crecen de tamaño (por difusión de monómeros presentes en otras micelas). Por este motivo, puede inferirse que el número de

fluoróforos por Np debería ser mayor a uno y no corresponder a la distribución mostrada en la Figura 45.

### 5.1.2.2- Síntesis de Np conteniendo el fluoróforo D

Con el fin de obtener sistemas de referencia respecto a las PANd, se sintetizaron sistemas nanoparticulados que solo contienen el fluoróforo D (PD). Su obtención se llevó a cabo a partir de la copolimerización de los monómeros vinílicos: MMA, EGDMA y D (Tabla 9). El procedimiento experimental fue el mismo que el llevado a cabo para la obtención de las PANd (Sección 3.2.1), respetando las relaciones molares de los reactivos pero sin incluir el monómero de Ant-MMA. En la Tabla 9, se puede observar claramente que las fracciones molares para MMA y D, respetan la relación 3:1 y 1:3 para PD25 y PD75, respectivamente.

**Tabla 9.** Reactivos involucrados en la síntesis de PD25 y PD75 y fracción molar ( $\chi$ ) de los monómeros involucrados.

Reactivo	PM (gr/mol)	$\delta$ (gr/ml)	Vol (ml)	Moles involucrados en la síntesis / $10^{-4}$		$\chi$	
				PD25	PD75	PD25	PD75
MMA	100,12	0,936		3,51	1,17	0,48	0,16
EGDMA	198,22	1,051		2,65	2,65	0,36	0,36
D	218			1,16	3,47	0,16	0,48
CTAB	364,46			2,88	2,83		
n- Hexanol	102,18	0,82		4,81	4,81		
Agua	18,02	1,00	50	$2,77 \times 10^4$	$2,77 \times 10^4$		
VA-044	244,34			0,39	0,41		

### 5.1.3- Determinación del tamaño de las Np

Las nanopartículas fueron caracterizadas empleando la técnica de DLS. Como ya se mencionó en los fundamentos teóricos de la técnica empleada (Sección 3.3.1) el tamaño es obtenido de la función correlación a partir del uso de algoritmos apropiados. A continuación se muestran los resultados obtenidos utilizando el método de análisis Automático (Malvern Instruments), el cual se utiliza si se desconocen las características de la muestra estudiada. Cabe destacar que los resultados obtenidos corresponden a un promedio de 6 a 10 medidas (solo admitiendo los datos que pasaron el test de calidad establecido por el equipo) para cada muestra de Np dispersas en el mismo solvente (DCM).

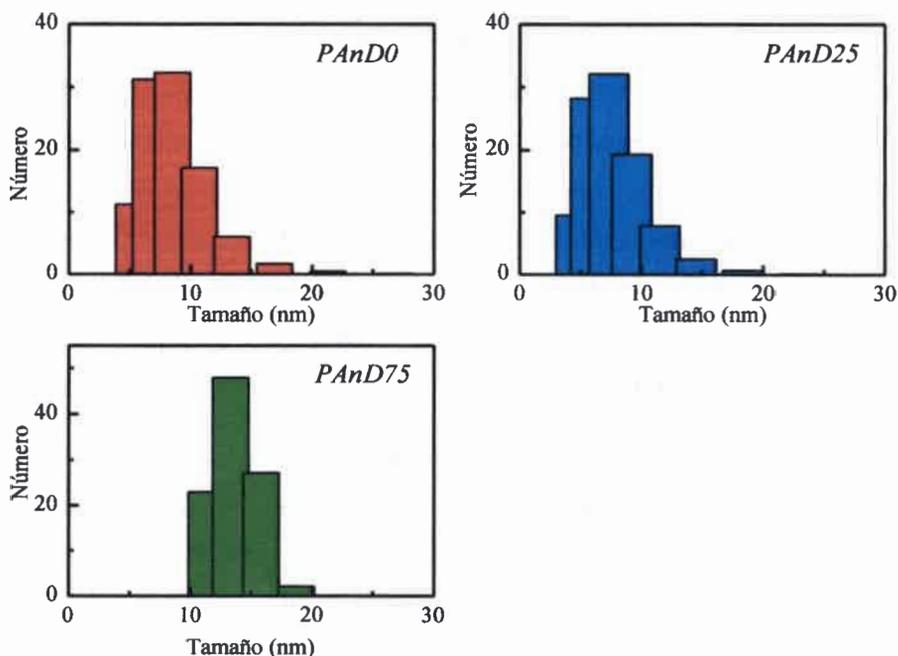
El diámetro estimado de las partículas poliméricas usando dicho algoritmo, para las PAnD y PD, se resumen en las Tablas: 10 y 11, respectivamente. En las Figuras 46 y 47 se muestran gráficos representativos de las distribuciones por número y por volumen para las PAnD. En todos los casos se observaron distribuciones monomodales.

**Tabla 10.** Diámetro hidrodinámico aparente promedio ( $\phi_h$ ) determinado por DLS para las Np,  $\delta$  corresponde al ancho de distribución y IP el rango de valores de índice de polidispersidad obtenidos. Determinaciones llevadas a cabo para dispersiones en DCM.

Np	Nro		Vol		IP
	$\phi_h$ (nm)	$\delta$ (nm)	$\phi_h$ (nm)	$\delta$ (nm)	
<i>PAnD0</i>	8	4	10	7	0,26-0,39
<i>PAnD25</i>	7	3	9	7	0,24-0,41
<i>PAnD75</i>	12	5	13	7	0,39-0,46

**Tabla 11.** Diámetro hidrodinámico aparente promedio ( $\phi_h$ ) determinado por DLS para las Np;  $\delta$  corresponde al ancho de distribución y IP el rango de valores de índice de polidispersidad obtenidos. Determinaciones llevadas a cabo para dispersiones en DCM.

Np	Nro		Vol		IP
	$\phi_h$ (nm)	$\delta$ (nm)	$\phi_h$ (nm)	$\delta$ (nm)	
<i>PD25</i>	12	7	14	6	0,27-0,40
<i>PD75</i>	13	8	15	7	0,26-0,43

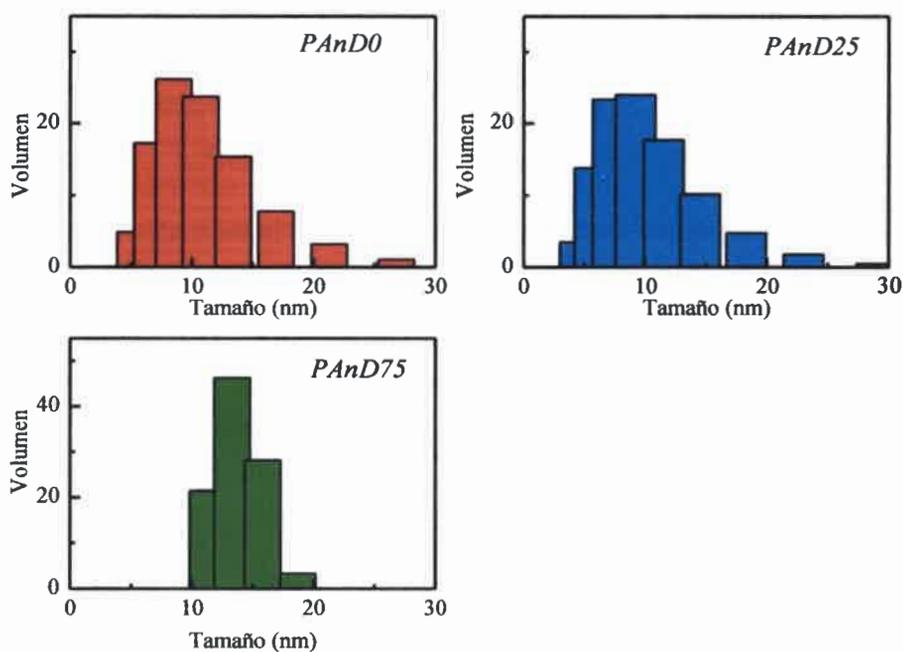


**Figura 46.** Distribución de tamaños de PANd, obtenidas a partir del análisis por número utilizando el algoritmo automático (Malvern Instruments).

El índice de polidispersidad (IP) es una medida del rango de los tamaños presentes en la muestra. Las medidas de intensidad obtenidos por el DLS sin procesar tienden a mostrar las partículas de mayor tamaño, las cuales dispersan más la luz que las partículas pequeñas. El software del equipo ajusta este comportamiento mediante el índice de refracción y la absorbancia de la muestra. A partir de esta información, se obtiene una distribución más realista ya sea por número o por volumen.<sup>123</sup> El IP presenta valores desde 0 a 1, siendo 0 el valor correspondiente a una muestra monodispersa y 1 a una polidispersa.<sup>123</sup> Además este parámetro es muy sensible a la presencia de agregados y polvo.<sup>124</sup>

Los resultados experimentales arrojan tamaños de  $N_p$  que oscilan desde 8 a 14 nm como valor medio con un ancho importante en la distribución, por lo que las partículas pueden variar hasta el doble de su tamaño.

Los diámetros de partículas determinados para las PD son similares a los observados para PAnD75, dando valores promedios de 12 y 14 nm, por número y volumen, respectivamente.



**Figura 47.** Distribución de tamaños de PAnD, obtenidas a partir del análisis por volumen utilizando el algoritmo automático (Malvern Instruments).

#### 5.1.4- Conclusiones parciales en la sección 5.1

A continuación se resumen los resultados más importantes obtenidos hasta este punto:

- Se sintetizó, purificó y caracterizó espectroscópicamente el monómero vinílico funcionalizado D, el cual fue empleado en la síntesis de algunas de las nanopartículas estudiadas.

- Se sintetizaron cinco tipos diferentes de Np: PAnD0, PAnD25, PAnD75, PD25 y PD75 a partir de la copolimerización térmica en microemulsión de diversos monómeros vinílicos en distintas proporciones.
- Las Np sintetizadas se pueden dividir en tres grupos, considerando los MF involucrados. a) Las que incluyen solo el grupo antracénico (PAnD0), b) las que incluyen solo el derivado de anilina (D) en distintas proporciones (PD25 y PD75) y c) las que incluyen ambos grupos funcionales (PAnD25, PAnD75).
- Las Np sintetizadas muestran distribuciones de tamaño monomodales. Los tamaños de las Np varían entre 7 y 13 nm (análisis por número) y entre 7 y 17 nm (análisis por volumen). Teniendo en cuenta la variación en la composición de los monómeros empleados en la síntesis de polímeros nanoparticulados, se puede concluir que la síntesis muestra una buena reproducibilidad en cuanto al tamaño de partícula fabricadas.

## 5.2- Caracterización espectroscópica de PAnD0, PD25 y PD75

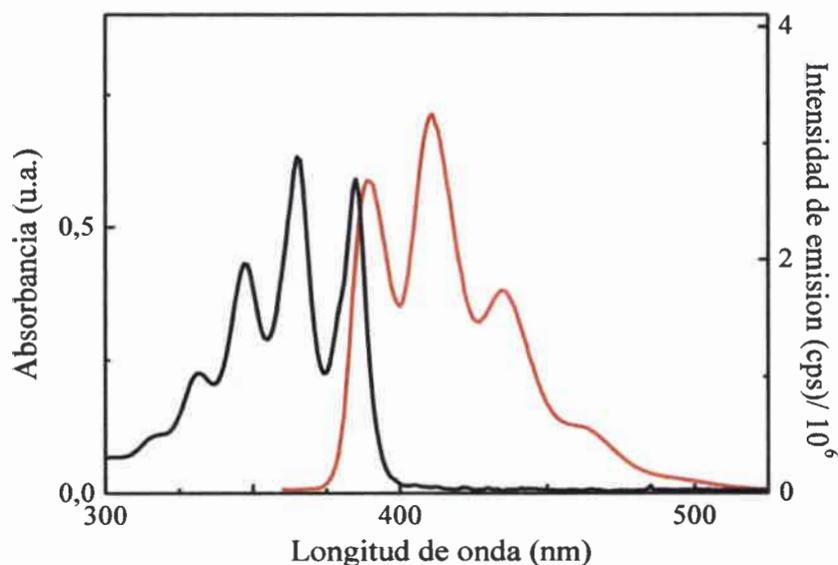
### 5.2.1- PAnD0 en DCM

#### 5.2.1.1- Resultados de espectroscopia estacionaria y anisotropía

A partir de las Np obtenidas fue posible preparar suspensiones estables y ópticamente transparentes en distintos solventes orgánicos como DCM, THF y una mezcla de acetato de etilo:acetonitrilo (1:1, v/v). Con el fin de llevar a cabo la caracterización fotofísica se realizaron estudios de espectroscopia de absorción UV-visible, fluorescencia estacionaria, técnicas de emisión resueltas en el tiempo y fotólisis pulsada por láser.

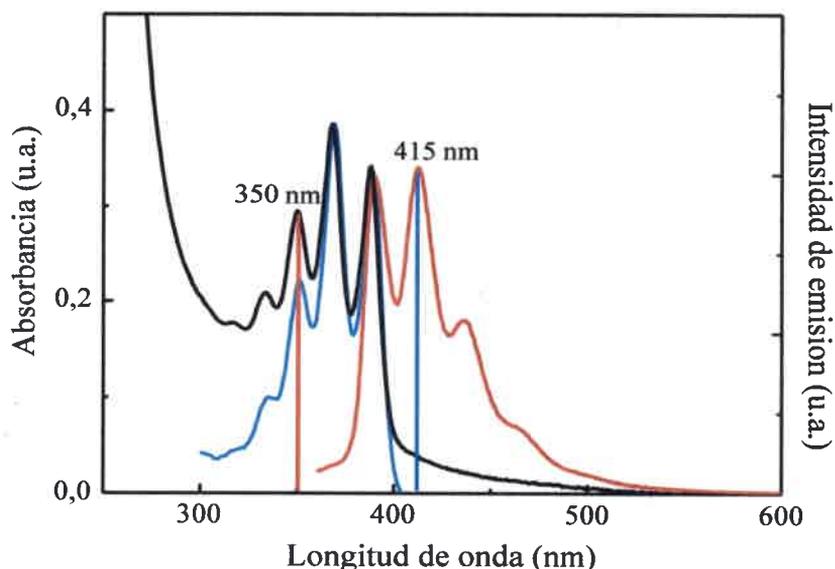
En las Figuras 48 y 49 se muestran los espectros de absorción y emisión para el 9-metilantraceno (9-MA) y PAnD0 en DCM, respectivamente. El sistema polimérico muestra la absorción característica del antraceno (estructura fina) en la región de 320-400 nm y su respectiva fluorescencia.<sup>78, 125</sup> Comparado con el fluoróforo antraceno en solución, la posición de los máximos de absorción y emisión no se ven afectados por los distintos entornos. Además, y como previamente se mencionó, las medidas correspondientes a las

suspensiones de Np presentan dispersión de luz, la cual se hace evidente en el espectro de absorción como una cola de gran intensidad a longitudes de onda menores de 300 nm y disminuye hasta aproximadamente 500 nm. El espectro de absorción y excitación de la PAnD0 se superponen aceptablemente, lo cual nos indica que hay una única especie que emite a 415 nm.



**Figura 48.** Espectros de absorción (negro) y emisión corregido (rojo) del 9-MA en DCM; concentración:  $6 \times 10^{-5}$  M. Longitud de onda de excitación: 350 nm.

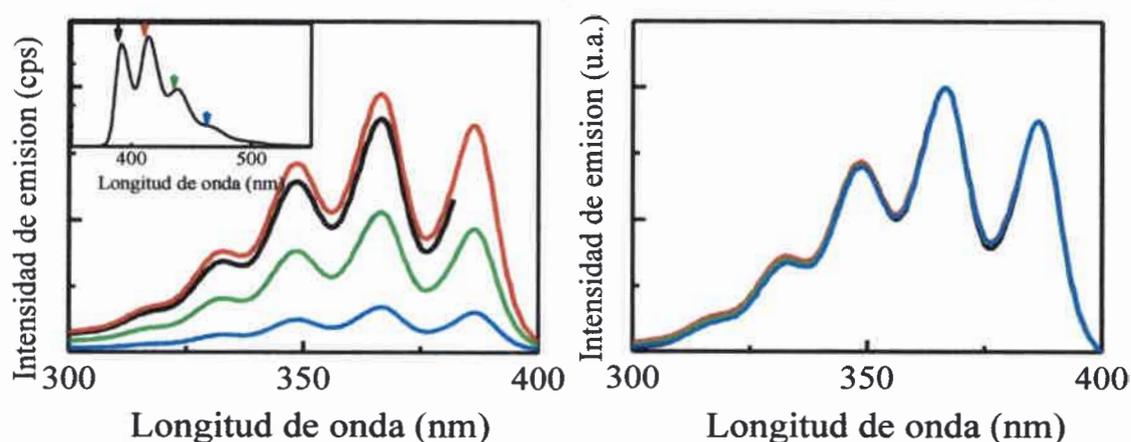
Otro aspecto importante para señalar es que no se observó fluorescencia correspondiente al excímero del antraceno (Figura 49).<sup>92, 93</sup> La observación directa de la emisión del excímero de antraceno fue reportada por primera vez por N. C. Yang y col. en 1976.<sup>93</sup> En un medio fluido saturado de antraceno, observó una banda sin estructura con un máximo a  $540 \pm 15$  nm y de baja intensidad ( $\Phi_f : 0,010 \pm 0,003$ ). En estudios más recientes en sistemas dendríticos fue posible la observación de la emisión del excímero a bajas concentraciones y en soluciones fluidas (debido a un efecto de agregación).<sup>92</sup> El hecho de que no se observa la emisión del excímero en PAnD0 se justifica debido a que las Np contiene un número de ocupación medio de Ant por partícula cercano a 1.



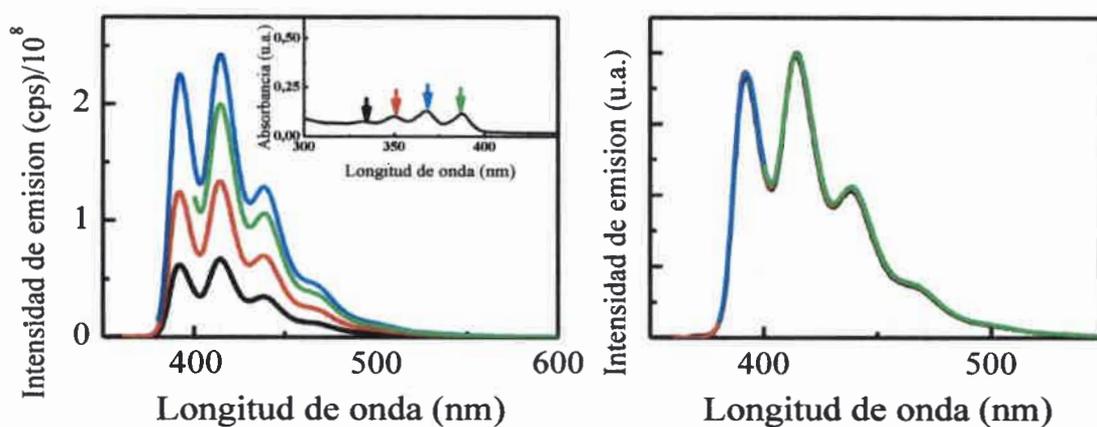
**Figura 49.** Espectros de absorción (negro), excitación (azul) y emisión (rojo) corregidos, correspondientes a PANdO en DCM (0,8 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 350 nm. Longitud de onda de emisión: 415 nm.

Se tomaron espectros de excitación variando la longitud de onda de monitoreo y espectros de emisión para distintas longitudes de onda de excitación. Estas experiencias se muestran en las Figuras: 50 y 51. Como se observa al variar la longitud de onda de excitación, no se observa ningún cambio en la forma de los espectros de emisión obtenidos (ver espectros normalizados, Figura 51). Lo que nos permite concluir que el entorno no afectó la forma del espectro, esto se observó al estudiar el efecto de la viscosidad y polaridad sobre la fluorescencia 9-MA<sup>121</sup> y se debe a que no hay un cambio apreciable en el momento dipolar de la molécula al ser excitada.

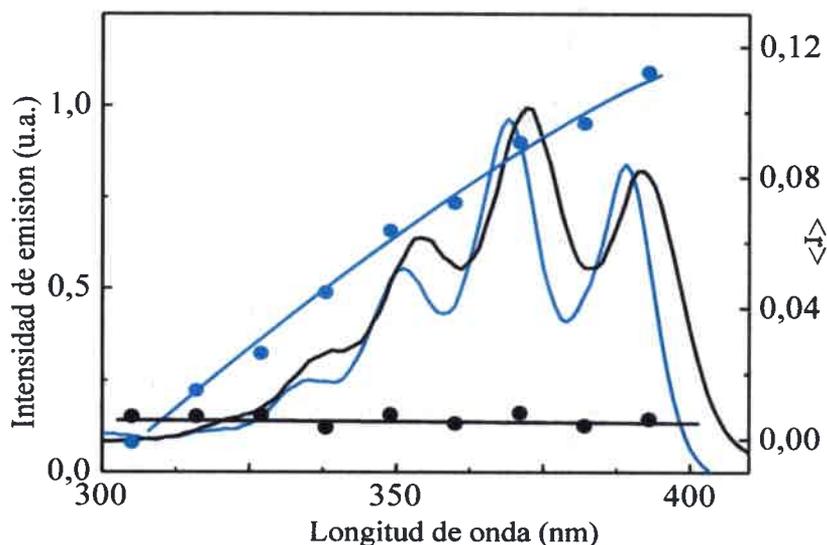
Con el objeto de estudiar como afecta el entorno polimérico sobre la emisión del fluoróforo se realizaron estudios de depolarización de luz. Se realizaron los estudios de anisotropía de fluorescencia estacionaria para suspensiones de PANdO en DCM. En la Figura 52 se muestran los espectros de excitación y de anisotropía de excitación correspondientes para antraceno en solución y una suspensión de PANdO.



**Figura 50.** Medidas de una suspensión de PANdO en DCM (0,15mgr/ml).Izquierda: Espectros de excitación corregidos. Longitudes de onda de emisión: 390 (negro), 415 (rojo), 440 (azul) y 470 nm (verde). Espectro de emisión correspondiente (grafico inserto). Derecha: Espectros de excitación normalizados. Longitudes de onda de emisión: 390 (negro), 415 (rojo), 440 (azul) y 470 nm (verde).



**Figura 51.** Izquierda: Espectros de emisión corregidos de una suspensión de PANdO en DCM (0,15 mgr/ml). Espectro de absorción correspondiente (grafico inserto). Derecha: Espectros de emisión normalizados. Longitudes de onda de excitación: 335 (negro), 350 (rojo), 370 (azul) y 390 nm (verde).

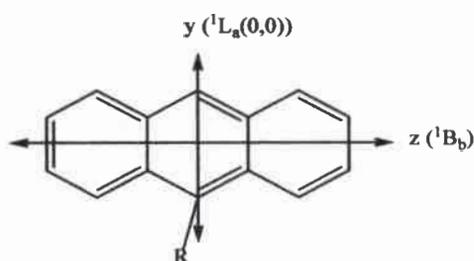


**Figura 52.** Espectros de excitación (línea) y anisotropía estacionaria (círculos) correspondientes a antraceno en solución de DCM (negro) y PAnD0 en suspensión de DCM (azul). Longitud de onda de emisión: 415 nm.

Como se puede observar en la Figura 52, el fluoróforo antraceno en solución muestra una despolarización total de la luz ( $\langle r \rangle \sim 0$ ) en todo el rango de excitación. Este es un resultado esperado debido al efecto del movimiento Browniano propio de un sistema fluido, tal como se mencionó en la sección 3.3.4, este movimiento aleatorio de las moléculas de fluoróforo es uno de los factores responsables de la despolarización de la radiación emitida.

En el caso de PAnD0 los valores de  $\langle r \rangle$  son distintos de cero ( $\langle r \rangle \sim 0,109 \pm 0,002$  a 390 nm) y como puede observarse en la Figura 52, crece con la longitud de onda de excitación. Este comportamiento ya ha sido observado para antraceno en sistemas vitrificados o de alta rigidez,<sup>79, 126</sup> y se debe a la contribución de dos transiciones de distinto momento dipolar propios de la molécula biaxial.<sup>126</sup> El grupo antracénico posee dos transiciones de momento dipolar de distinta dirección (Figura 53): la transición  ${}^1B_b$  (a 260 nm) está polarizada a lo largo del eje molecular de mayor tamaño (designado z) y la

banda  ${}^1L_a$  (0,0 a 390 nm) está polarizada a lo largo del eje de menor tamaño en el plano de la molécula (designado y). Los efectos conformacionales de sustituyentes alquílicos en la posición 9 del antraceno perturban débilmente la simetría apareamiento-orbital y no cambian las direcciones de estos momentos de transición. Así a medida que la longitud de onda de excitación crece de 306 nm a 390 nm se observa valores de anisotropía crecientes (desde 0 a  $\sim 0,12$ ), debido a que a esta última longitud de onda la transición corresponde casi exclusivamente a  ${}^1L_a$ , mientras que a longitudes de onda menores se observa la contribución de las dos transiciones.



**Figura 53.** Direcciones de las transiciones dipolares para 9-antracencil- cromóforo.

El hecho de que el Ant en la Np muestra una depolarización de la luz ( $\langle r \rangle \neq 0$ ) significa que se encuentra en un medio rígido, unido covalentemente al polímero. Cabe destacar que los estudios fueron llevados a cabo en las suspensiones de las partículas en medios fluidos, por lo que también están sometidas a movimiento Browniano afectando a los  $\langle r \rangle$  obtenidos, dando valores relativamente bajos, comparados con el comportamiento observado para el mismo fluoróforo en medios vítreos.

Se determinó el rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\varphi_f$ ) para las distintas PANd utilizando como referencia 9-MA en c-hexano.

El cálculo de  $\varphi_f$  se llevó a cabo a partir de la Ecuación 38.

$$\frac{\varphi_{f-Np_i}}{\varphi_{f-R}} = \frac{(1 - 10^{-(Abs R)}) \int Emis Np_i n_{Np_i}^2}{(1 - 10^{-(Abs Np_i)}) \int Emis R n_R^2}$$

Ecuación 38

donde Abs, corresponde al valor de absorbancia a una longitud de onda determinada (370 nm);  $\int Emis$  es la integral del espectro de emisión (en función de la frecuencia) y  $\eta$  el índice de refracción del solvente. Los subíndices R y Np<sub>i</sub> corresponden al fluoróforo de referencia (en este caso 9-MA) y a las nanopartículas, respectivamente. Como se podrá ver más adelante, para el cálculo de los rendimientos cuánticos de emisión, se utilizó este mismo procedimiento (usando el estándar de fluorescencia apropiado).

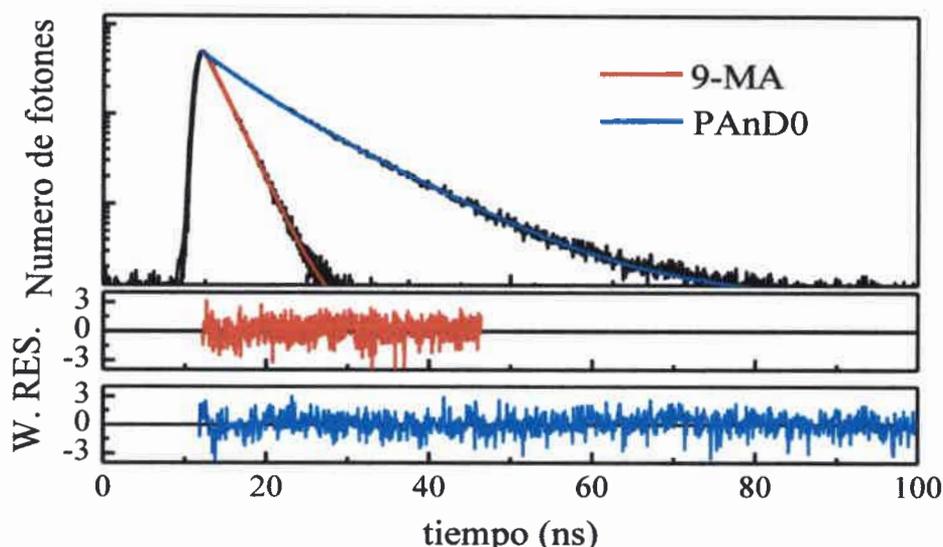
Los resultados de  $\varphi_f$  obtenidos se resumen en la Tabla 12. Notar que para PAnD0,  $\varphi_f$  es sustancialmente mayor que el correspondiente a 9-MA en solución de DCM. En la Tabla 12 también se muestran los valores de  $\varphi_f$  correspondientes a PAnD25 y PAnD75, los cuales se analizarán más adelante (sección 5.4.1-).

**Tabla 12.** Rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\varphi_f$ ) obtenido experimentalmente para distintos sistemas que contienen el fluoróforo Ant.

	Solvente	$\varphi_f$
9-MA	c-hexano	0,35
	DCM	0,17
PAnD0	DCM	0,53
PAnD25	DCM	0,14
PAnD75	DCM	0,04

### 5.2.1.2- Resultados de espectroscopia resuelta en el tiempo

Los decaimientos de fluorescencia para 9-MA y PAnD0 en DCM tras excitación pulsada a 378 nm se muestran en la Figura 54. Comparando ambos perfiles de decaimiento, se observa claramente que el tiempo de vida correspondiente al fluoróforo incorporado al polímero es mayor al de 9-MA en solución.



**Figura 54.** Perfiles de decaimientos de emisión (medidas de TCSPC) (líneas negras) y los ajustes correspondientes obtenidos para 9-MA (rojo) y PAnD0 (azul) en DCM (298 K). Las muestras no fueron desoxigenadas. Longitud de onda de excitación: 378 nm. Se colectó la fluorescencia en el máximo de emisión de la muestra:  $\sim 415$  nm. Valor de  $\chi^2$  obtenido fue de: 1,060 (9-MA) y 1,081 (PAnD0). En los gráficos inferiores se muestran los residuales correspondientes al ajuste. Las absorbancias de las muestras se ajustaron a 0,4 a 378 nm.

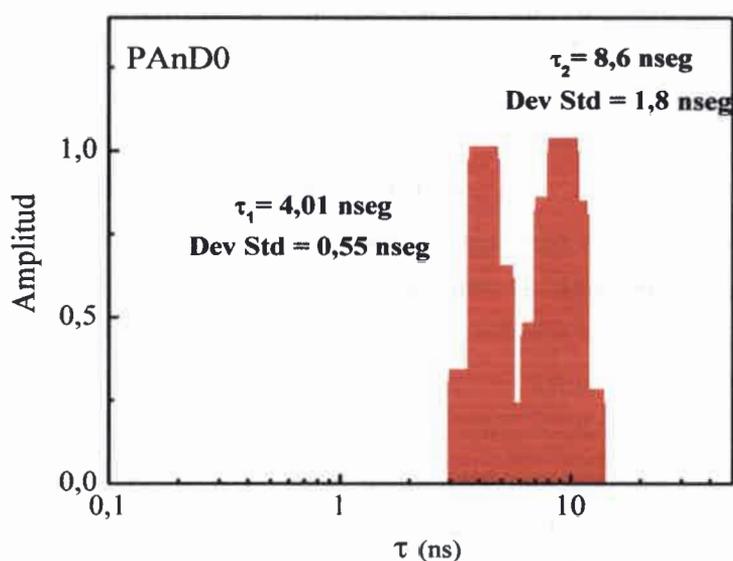
Como es de esperarse el 9-MA en solución posee un perfil de decaimiento monoexponencial.<sup>127, 128</sup> En el caso de PAnD0 el ajuste del perfil de emisión requiere una función de decaimiento biexponencial (Ecuación 29, página 53), un comportamiento que ya fue reportado para derivados de antraceno en medios poliméricos.<sup>127, 128</sup> Los resultados obtenidos a partir del ajuste de las curvas de decaimiento (modelo multiexponencial) se resumen en la Tabla 13. También se llevó a cabo el análisis del decaimiento de emisión por el método de distribución de tiempos de vida EI (Figura 55), los que indican la existencia de una distribución bimodal con máximos a  $\sim 4,0$  y  $8,6$  ns. Los datos obtenidos de dicho análisis se muestran en la Tabla 14. En las Tablas 13 y 14 también se muestran los resultados obtenidos para PAnD25 y PAnD75, los cuales se discutirán más adelante (sección 5.4.1-).

Es necesario notar que todos los valores de  $\tau_{Mi}$ ,  $\sigma_i$  y  $RW_i$  corresponden al promedio de al menos 4 medidas independientes (la desviación estándar entre las medidas es al

menos ~10%). Como era de esperarse, los valores de  $\tau_M$  calculado por los distintos modelos: de distribución y multiexponencial son semejantes (Ver sección 3.3.3-).

**Tabla 13.** Tiempos de vida ( $\tau_i$ ) y factores preexponenciales ( $a_i$ ) obtenidos de los ajustes de los perfiles de decaimiento de fluorescencia de Ant en las distintas Np. Longitud de onda de excitación: 378 nm.

	$\tau_1$ (ns)	$a_1$	$\tau_2$ (ns)	$a_2$	$\tau_3$ (ns)	$a_3$	$\tau_M$ (ns)
<b>9-MA</b>	2,26	0,05					
<b>PAnD0</b>	4,32	0,046	9,53	0,046	-	-	6,92
<b>PAnD25</b>	1,13	0,052	4,63	0,052	11,4	0,009	3,41
<b>PAnD75</b>	0,88	0,111	3,25	0,039	11,9	0,003	1,70



**Figura 55.** Distribuciones de tiempos de vida calculadas para PAnD0 en DCM (298 K). Longitud de onda de excitación: 378 nm. Longitud de onda de emisión: 415 nm.  $\chi^2$ : 1,080. La concentración de la dispersión fue de 2,5mgr/ml.

**Tabla 14.** Parámetros obtenidos en el análisis de distribución de tiempos de vida para el fluoróforo Ant en las distintas PAnD y 9-MA. Longitud de onda de excitación 378 nm. T: 298 K.

	$\varphi_f$	$\tau_{M1}$	$\sigma_1$	$RW_1$	$\tau_{M2}$	$\sigma_2$	$RW_2$	$\tau_{M3}$	$\sigma_3$	$RW_3$	$\tau_M$
		(ns)	(ns)	(%)	(ns)	(ns)	(%)	(ns)	(ns)	(%)	(ns)
<b>9-MA</b>											
<i>c-hexano</i>	0,35	4,6	0,01	100							4,6
<i>DCM</i>	0,17	2,25	0,01	100							2,25
<b>PAnD0</b>											
<i>DCM</i>	0,53	4,01	0,55	21	8,6	1,8	79				6,93
<b>PAnD25</b>											
<i>DCM</i>	0,14	0,83	0,11	12	4,6	1,0	66	11,8	1,4	22	3,47
<b>PAnD75</b>											
<i>DCM</i>	0,04	0,78	0,16	34	3,1	0,6	55	13,4	1,0	11	1,63

Los resultados observados pueden ser explicados considerando las propiedades fotoquímicas del 9-MA. La energía y la forma (intensidad relativa de los vibronicos) de los espectros de absorción y emisión del 9-MA son casi insensibles a las propiedades del medio. Sin embargo los valores de  $\tau$  y  $\varphi_f$  se incrementan marcadamente con la viscosidad del solvente. Blatt y col.<sup>121</sup> han demostrado que la vía principal de decaimiento no-radiativo del estado excitado singlete del 9-MA es el proceso de cruzamiento entre sistemas. Esta vía de desactivación se acopla a las coordenadas nucleares del “aleteo del anillo” el cual puede suprimirse al aumentar la viscosidad del medio.

En el estudio de Blatt y col.<sup>121</sup> se reportan las propiedades fotoemisivas tanto del antraceno como del 9-MA en una amplia variedad de solventes orgánicos y en un rango de temperatura de 293-328°K. Los espectros de absorción y emisión de ambas moléculas no mostraron cambios apreciables sobre el rango de temperaturas estudiado, lo cual sugirió que las variaciones observadas en los tiempos de vida de fluorescencia son debido a efectos

dinámicos causados por el solvente. Para el antraceno el  $\tau_f$  decrece con la viscosidad; en contraste a lo observado para el 9-MA cuyo tiempo de vida se incrementa, alcanzándose en ambos casos valores límites. Estos resultados fueron cuantitativamente interpretados usando un esquema cinético general donde las constantes de desactivación principal del estado excitado son dominadas por factores de Franck Condon. Dichos factores dependen de los modos vibracionales en el estado excitado, que pueden estar dados por movimiento de grupos pequeños, tales como los átomos de H (cuya dinámica es independiente al solvente) o movimientos de grandes porciones de la molécula (como el “aleteo del anillo”) los cuales son inversamente proporcionales a la viscosidad. Como anteriormente se sugirió el grupo Ant unido a la matriz polimérica en PANd0, da valores de  $\varphi_f$  y  $\tau_M$  mayores que los correspondientes a 9-MA en solución lo cual se debe a que el fluoróforo se encuentra en un medio mucho más viscoso o rígido.

Otra referencia importante que concuerda con lo anteriormente expuesto, fue reportada por Tan y col.<sup>127</sup>, quienes encontraron que el tiempo de vida de fluorescencia del 9-MA inmovilizado en poli-ácido metilmetacrilico es similar al tiempo de vida natural de su estado excitado ( $\tau_0$ )  $\sim$  13-15 ns. Sugiriendo que el fluoróforo se encuentra aislado, ya que la cadena polimérica en solución acuosa forma un agregado a su alrededor. El único proceso no radiativo en 9-MA que gobierna su desactivación es el cruzamiento entre sistemas a un estado triplete el cual es fuertemente dependiente de la temperatura y la viscosidad.

Así los resultados en la Figura 55, sugieren que el fluoróforo antraceno en la PANd0 percibe dos microentornos distintos. En los dos microentornos, la molécula prueba parece estar inmovilizada parcialmente, viéndose afectados los procesos normales de relajación del estado singlete excitado. El primer sub-grupo en la distribución de tiempos de vida se podría asignar a fluoróforos localizados en cavidades relativamente espaciales o flexibles dentro del polímero y el segundo conjunto de fluoróforos se encontraría en un entorno altamente rígido posiblemente en áreas centrales de la red polimérica.

### 5.2.1.3- Experiencias de fotólisis estacionaria. Fotoblanqueo del cromóforo

La fotodimerización del antraceno ocurre entre las posiciones 9,10 (meso)<sup>129</sup> (Figura 56), dando como producto un dímero cuyo espectro de absorción es semejante al del 1,2 dimetilbenceno (bandas de absorción a longitudes de onda menor por la pérdida de conjugación de los enlaces dobles durante la fotólisis). Además, como es de esperarse, la aparición de estas nuevas bandas están acompañadas por la desaparición de las bandas de absorción características del poliaromático.

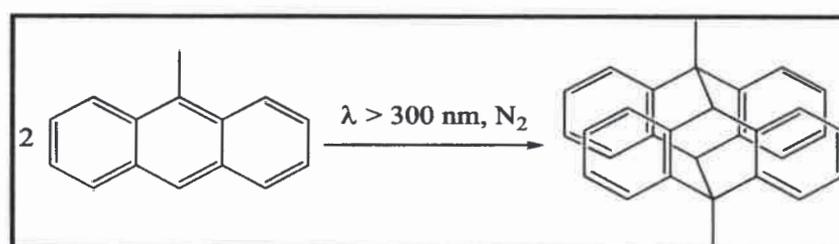
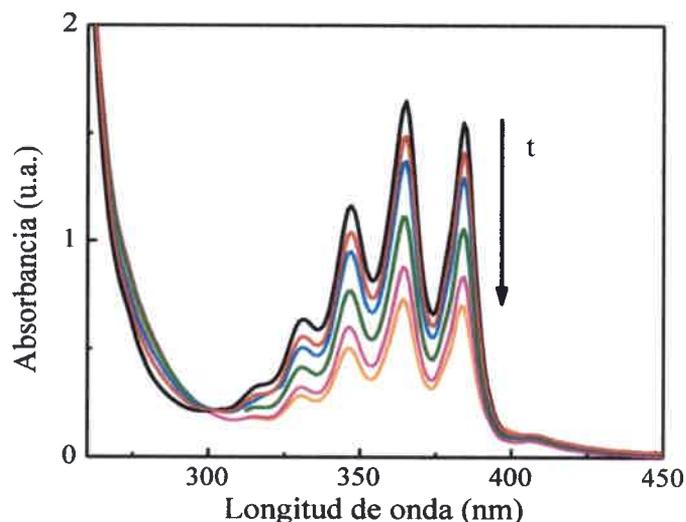


Figura 56. Fotodimerización del Ant.

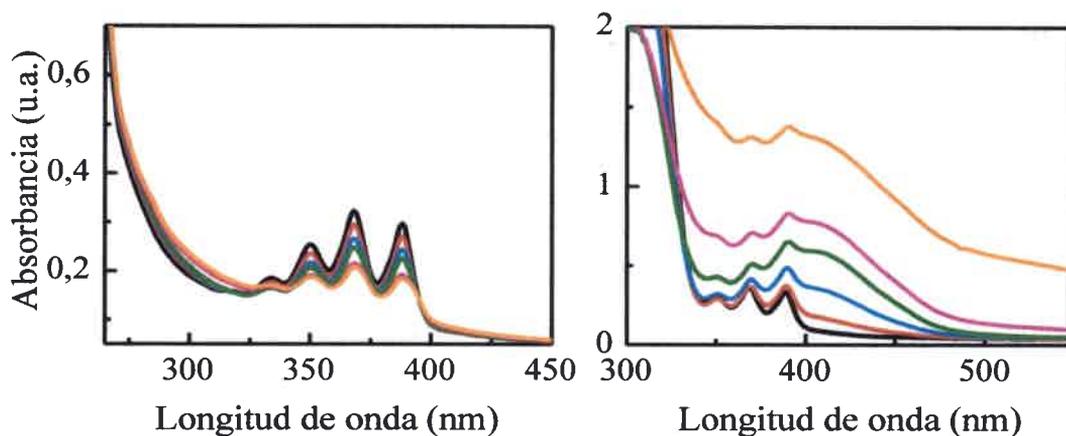
Basados en este hecho, se siguió la variación de la absorbancia del fluoróforo antracénico en el tiempo en distintos sistemas. En la Figura 57 se muestra la experiencia de fotólisis llevada a cabo para 9-MA en solución, con lámparas de 350 nm en un fotoreactor circular. En la Figura 58 se registró los distintos espectros de absorción en el tiempo de las PAnD0 y PAnD25. Las suspensiones de las PAnD0 y PAnD25 en acetonitrilo y una mezcla de acetonitrilo: acetato de etilo 1:1 v/v, respectivamente, se iluminaron con lámparas de 350 nm, en un fotoreactor circular. En todos los casos las muestras fueron previamente desoxigenadas.

Cabe aclarar que las Np PAnD0 presenta un comportamiento similar a la fotólisis de 9-MA en solución (ver Figuras 57 y 58- izquierda-), mientras que las PAnD25 presentaron un aumento de la absorbancia y una modificación en la forma del espectro (ver Figura 58- derecha-). Estos resultados son indicadores de la formación de productos secundarios por la fotodescomposición de D presente en el sistema, los cuales interfieren en las medidas (Figura 58). Estos estudios fueron de gran importancia para el diseño de los experimento de

fotólisis pulsada (LFP). En todos los casos, se trabajó con grandes volúmenes de muestra y limitando el número de pulsos de excitación por muestreo para evitar que el efecto de fotoblanqueo (o la formación de fotoproductos coloreados) interfirieran en la detección y asignación de las especies transitorias de fotoreacción.



**Figura 57.** Fotólisis del 9-MA en metanol con 5 lámparas de 350 nm. Espectros de absorción correspondientes a 0; 1,2; 2,3; 5,3; 9,6 y 16,6 minutos. La muestra fue desoxigenada por burbujeo con nitrógeno.

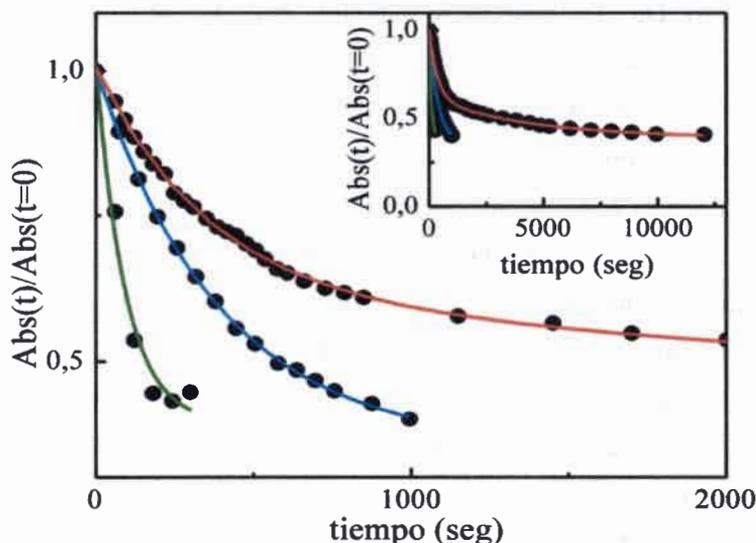


**Figura 58.** Izquierda: Fotólisis de PANDO en acetonitrilo. Espectros de absorción correspondientes a 0; 1; 4,1; 14; 117,7 y 172,3 minutos. Derecha: Fotólisis de PAN25 en mezcla de acetonitrilo y acetato de etilo (50%). Espectros de absorción correspondientes a 0; 1; 3,7; 9; 14,4 y 24 minutos. Las muestras fueron desoxigenadas por burbujeo con nitrógeno.

En la Figura 59 se graficó la variación de la absorbancia relativa a una dada longitud de onda (368 nm) de tres sistemas: (a) 9-MA en solución de metanol, (b) la mezcla prepolimérica de PAnD0 y (c) una suspensión de PAnD0 en acetonitrilo. Todas las experiencias se realizaron con 5 lámparas de 350 nm. Dadas las condiciones experimentales el valor de la absorbancia se relaciona directamente con la concentración de cromóforo presente en cada caso. De la Figura 59 se concluye que el grupo Ant en la mezcla prepolimérica la fotodimerización es más rápida ya que dentro de un tiempo relativamente corto (~92 seg) el 60% de las moléculas poliaromáticas dimerizaron. Este resultado puede compararse con el correspondiente a Ant en solución, donde la reacción es cinéticamente más lenta, en ~395 seg el 65% de la concentración de cromóforo ha desaparecido. Esto puede interpretarse considerando que en el sistema prepolimérico las moléculas de Ant se encuentran confinadas en las micelas, por lo que favorece la reacción de segundo orden en comparación con el sistema homogéneo. Considerando la PAnD0 en acetonitrilo, la reacción es mucho más lenta y alcanza un plateau, a tiempos mayores a los 4300 seg, donde un 60% de las moléculas dimerizaron. A diferencia de los sistemas anteriores, se observa un decaimiento de los valores de  $Abs(t)/Abs(t=0)$  inicial es de un 20% luego de 350 seg, que corresponde a un valor mucho menor en comparación con 9-MA en solución. Se podría entender que las  $N_p$  afectan la cinética de dimerización ya que los grupos Ant se encuentran covalentemente unidos a la matriz polimérica por lo que impide su difusión y accesibilidad.

A partir del análisis de la cinética de la fotodimerización del Ant se puede observar para PAnD0 la existencia de una fracción del cromóforo que no reacciona, debido a que las moléculas de Ant están unidas covalentemente a la matriz polimérica, impidiendo que difundan (encuentro de 2 Ant para dimerizar) así las medidas de absorción de luz alcanzan un plateau. Estos resultados se relacionan con los que se obtuvieron a partir del análisis del decaimiento de fluorescencia del Ant los cuales sugieren que el fluoróforo en la PAnD0 percibe dos microentornos: uno en el cual el Ant se encuentra en cavidades relativamente espaciaosas o flexibles dentro del polímero y el otro corresponde a un entorno altamente

rígido posiblemente en áreas centrales de la red polimérica. El microentorno más rígido puede corresponder a moléculas de Ant que no reaccionaron y alcanzan un plateau.



**Figura 59.** Relación de absorbancias  $Abs(t)/Abs(t=0)$  a 368 nm en función del tiempo para 9-MA en metanol (azul), la mezcla prepolimérica (síntesis de la PANdO sin agregado del iniciador-verde-) y PANdO en acetonitrilo (rojo). Figura inserta corresponde a un mayor rango temporal de las medidas. Fotólisis con 5 lámparas de 350 nm. Las muestras se burbujearon previamente con nitrógeno.

#### 5.2.1.4- Conclusiones parciales de la sección 5.2.1-

Luego, de los estudios hasta aquí presentados, se pueden remarcar los siguientes hechos experimentales:

- Las Np PANdO muestra la absorción característica del antraceno. La coincidencia entre los espectros de absorción y excitación indica que hay una única especie fluorescente.
- En las Np PANdO no se observa la emisión correspondiente al excímero de Ant, lo que permite asumir que el número de Ant por Np es pequeño, o bien que su movilidad está restringida para la formación del dímero con conformación “sándwich”.

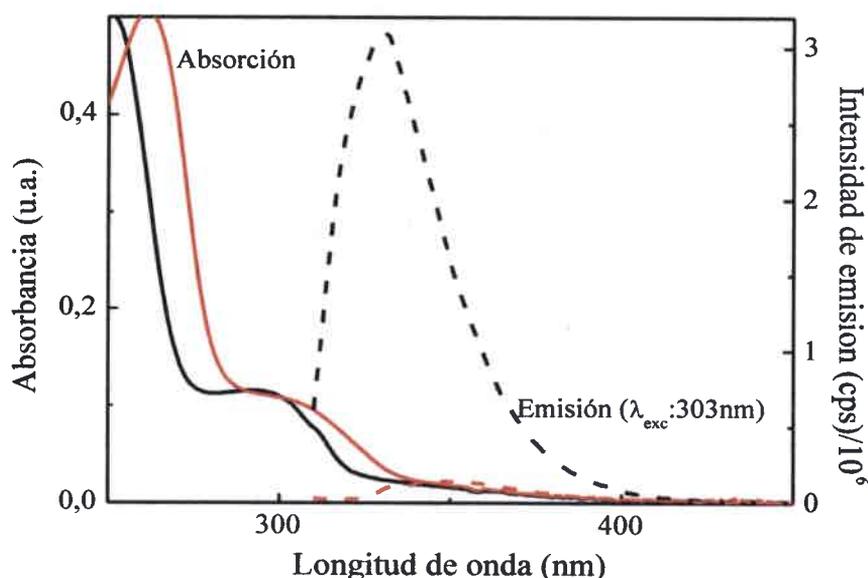
- Las experiencias de depolarización de la luz son consistentes con el hecho de que el grupo antracénilo en la Np se encuentra unido covalentemente al polímero.
- Tanto el rendimiento cuántico de fluorescencia como el tiempo de vida de emisión de la Np PAnD0 son sustancialmente mayores que los correspondiente a 9-MA en solución de DCM. Estos resultados concuerdan con el hecho que el fluoróforo se encuentra en un medio de movilidad restringida.
- A partir del análisis de las distribuciones de tiempos de vida se infiere que el fluoróforo antracénilo en la PAnD0 percibe dos microentornos distintos. El primer conjunto en la distribución se podría asignar a fluoróforos localizados en cavidades relativamente espaciosas del polímero, mientras que el segundo conjunto de fluoróforos se encontraría en entornos de gran rigidez correspondientes al seno de la red polimérica.
- Los estudios de fotoblanqueo del cromóforo Ant revelaron que para la suspensión de PAnD0, la reacción es cinéticamente más lenta y alcanza un plateau, a diferencia de la experiencia en solución y en una mezcla prepolimérica. Las Np afectan la cinética de dimerización ya que los grupos antracénilos se encuentran covalentemente unidos a la matriz polimérica por lo que impide su difusión y accesibilidad.

## 5.2.2- PD25 y PD75 en DCM y THF

### 5.2.2.1- Resultados de espectroscopia estacionaria y anisotropía

Se realizaron estudios espectroscópicos de absorción y emisión de luz para suspensiones en distintos solventes orgánicos de PD25 y PD75. Los espectros de absorción y emisión obtenidos de las nanopartículas PD25 y PD75 son similares a los correspondientes a la DMA en solución fluida.<sup>125</sup> En la Figura 60, se comparan los espectros de absorción y emisión para DMA en c-hexano y PD25 en DCM. La absorción de la DMA y PD25 fueron ajustadas al mismo valor a 303 nm. Como se puede inferir las PD

tienen una menor fluorescencia en DCM, comparada con la DMA en c-hexano. Esto es debido a la desactivación de la amina en el estado excitado por el solvente clorado.



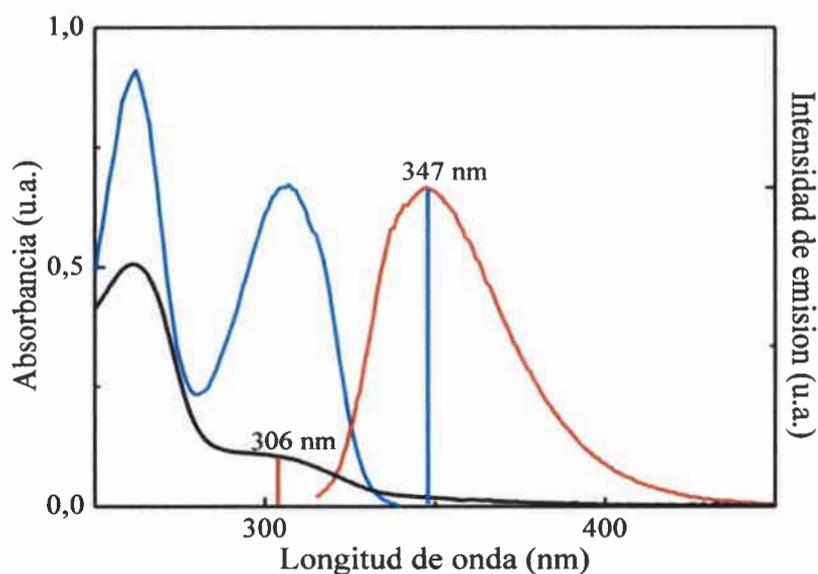
**Figura 60.** Espectros de absorción (línea continua) y emisión corregido (línea discontinua) para DMA en c-hexano (negro) y PD25 en DCM (rojo). Longitud de onda de excitación: 300 nm.

A partir de un estudio de *quenching* de emisión de DMA por DCM en c-hexano, se calculó  $k_q \sim 1,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . La desactivación de la fluorescencia de la DMA por otros alcanos clorados ya había sido reportado.<sup>130</sup>

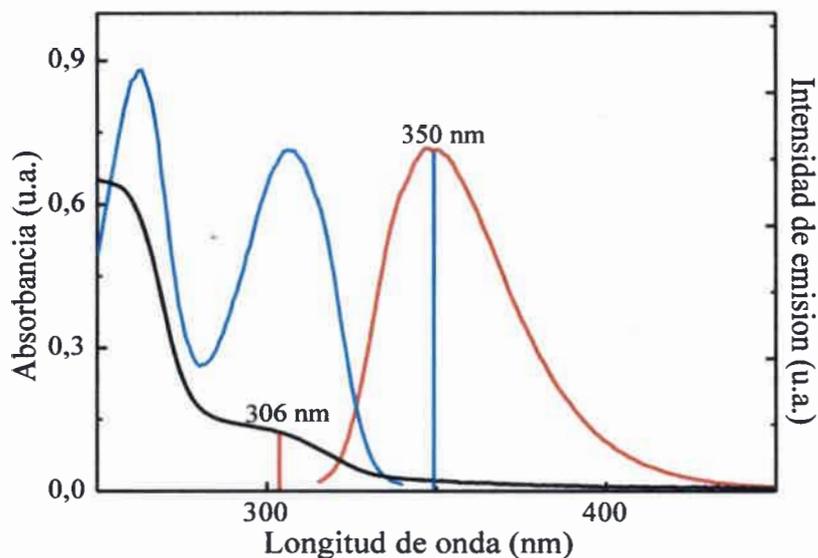
En DCM puro, el  $\phi_f$  de DMA es < 5% del observado en c-hexano. Adicionalmente, el tiempo de vida de emisión de DMA en DCM no se pudo determinar ya que es menor que la resolución temporal del equipo TCSPC (~100 ps). El mismo inconveniente se encontró en la determinación de los tiempos de vida de fluorescencia para PD25 y PD75 en DCM. Estos resultados sugieren que el DCM penetra en las redes poliméricas entrecruzadas de las nanopartículas desactivando a la amina que forma parte de la misma. Esta suposición se confirmó al estudiar las propiedades fotoemisivas de las Nps en THF.

Los espectros de absorción, excitación y emisión corregidos para PD25 y PD75 en THF se muestran en las Figuras 61 y 62, respectivamente. Como se observa estos son similares a los correspondientes a la DMA en solución fluida.<sup>125</sup> A partir del espectro de absorción se observan las transiciones  $\pi\pi^*$  correspondientes a  $S_0 \rightarrow S_1$  (~306 nm) y  $S_0 \rightarrow S_2$  (~260 nm).<sup>122</sup>

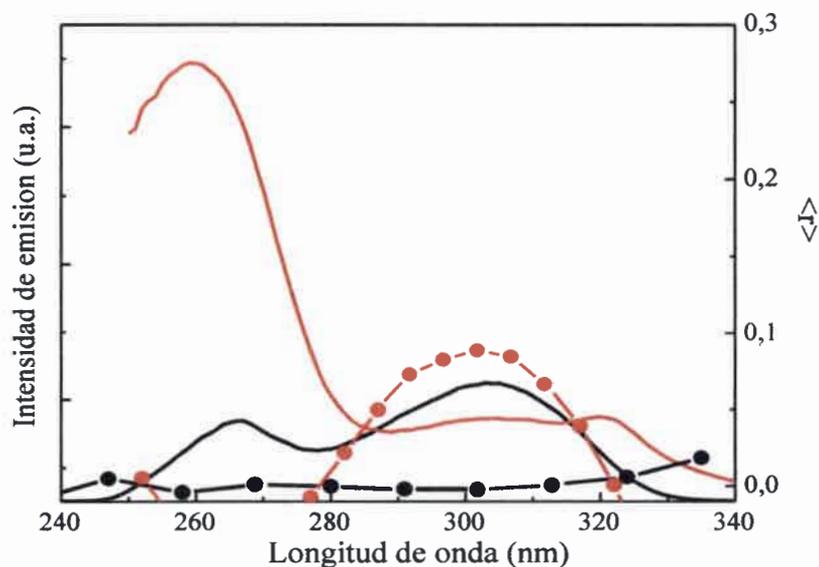
Se realizaron estudios de anisotropía de excitación para PD25 y PD75, los cuales mostraron resultados semejantes. En la Figura 63 se muestran los espectros de excitación y de anisotropía obtenidos para PD75 suspendido en THF y además para DMA en solución de THF, a modo comparativo; para la longitud de onda correspondiente al máximo de emisión del derivado de anilina (350 nm).



**Figura 61.** Espectros de absorción (negro), excitación (azul) y emisión (rojo) corregidos, correspondientes a PD25 en THF (0,1 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 306 nm. Longitud de onda de emisión: 347 nm.



**Figura 62.** Espectros de absorción (negro), excitación (azul) y emisión (rojo) corregidos, correspondientes a PD75 en THF (0,04 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 306 nm. Longitud de onda de emisión: 350 nm.



**Figura 63.** Espectros de excitación (línea continua) y anisotropía estacionaria (círculos) correspondientes a DMA en THF (negro) y PD75 en suspensión de THF (rojo). Longitud de onda de emisión: 350 nm.

La emisión del grupo D confinado en las nanopartículas PD25 y PD75 muestra cierto grado de polarización en el rango de 280-320 nm. El valor de  $\langle r \rangle$  es relativamente constante a lo largo de la transición  $S_0 \rightarrow S_1$  ( $\langle r \rangle \sim 0,1$  a 306 nm) y decrece al aumentar la energía de excitación. Comparando el espectro de anisotropía de DMA en solución (ver Figura 63, círculos en negro) donde el valor de  $\langle r \rangle$  es prácticamente cero en todo el rango de longitudes de onda estudiado con el obtenido para PD75 (Figura 63, círculos en rojo) no se observa el mismo comportamiento, debido que la molécula en las Np se encuentra en un medio rígido, formando parte del polímero (unida covalentemente).

Como se muestra en la Tabla 15, las eficiencias de emisión de la DMA, PD25 y PD75 en THF son similares a las observadas para DMA en c-hexano. Todos los  $\varphi_f$  fueron determinados utilizando DMA en c-hexano como referencia. En la Tabla 15 también figuran los valores de  $\varphi_f$  correspondientes al fluoróforo D en PAnD25 y PAnD75, los cuales se tratarán más adelante (sección 5.4.2-).

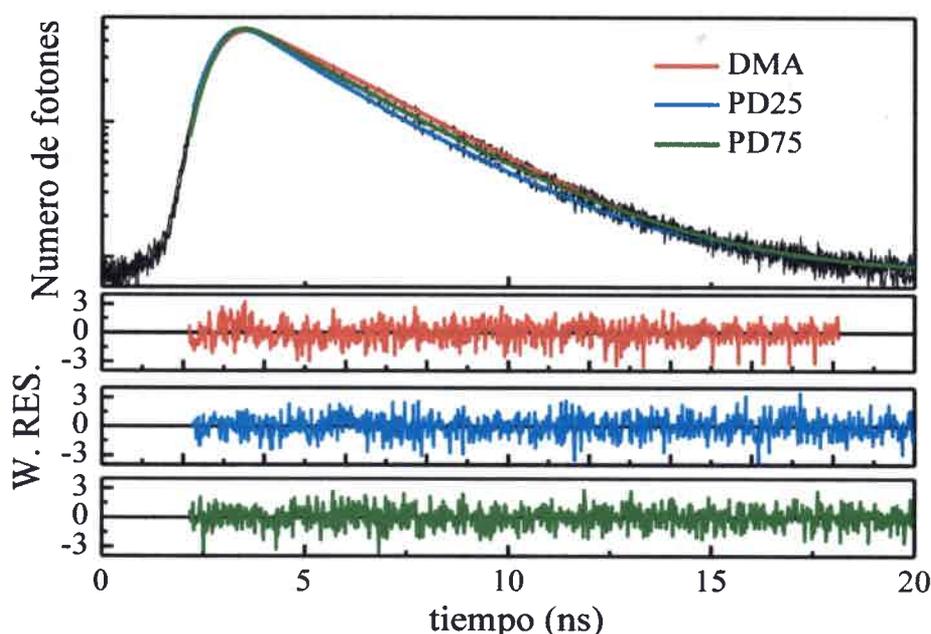
**Tabla 15.** Rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\varphi_f$ ) obtenido experimentalmente para distintos sistemas que contienen el fluoróforo DMA.

	Solvente	$\varphi_f$
DMA	c-hexano	0,110 <sup>125</sup>
	THF	0,088
PD25	THF	0,076
PD75	THF	0,075
PAnD25	THF	0,036
PAnD75	THF	0,040

### 5.2.2.2- Resultados de espectroscopia resuelta en el tiempo

Se estudió el decaimiento de emisión correspondiente al grupo dimetilanilina en los distintos sistemas: (a) en solución de c-hexano y THF y (b) en los polímeros PD25 y PD75

(suspensiones en medios fluidos en THF). En la Figura 64 se muestran los decaimientos de emisión para DMA en THF, PD25 y PD75 luego de la excitación pulsada a 297 nm. Como se observa los decaimientos ocurren en la misma escala de tiempo.



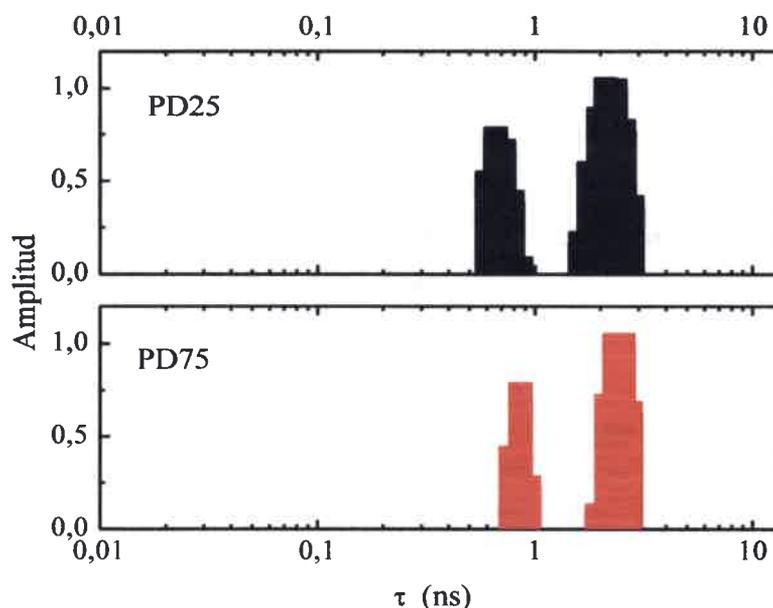
**Figura 64.** Perfiles de decaimientos de emisión (medidas de TCSPC) (líneas negras) y los ajustes correspondientes (líneas de color) obtenidos para DMA (rojo), PD25 (azul), y PD75 (verde) en THF (298 K). Las muestras no fueron desoxigenadas. Longitud de onda de excitación: 297 nm. Se colectó la fluorescencia en el máximo de emisión de la muestra:  $\sim 350$  nm. Valor de  $\chi^2$  obtenido fueron de: 1,081 (DMA), 0,997 (PD25) y 1,005 (PD75). En los gráficos inferiores se muestran los residuales correspondientes a los ajustes. Las muestras fueron preparadas con una absorbancia de  $\sim 0,4$  a 297 nm.

La molécula de DMA en solución muestra un decaimiento monoexponencial a diferencia de PD25 y PD75, las cuales están caracterizadas por decaimientos biexponenciales. En la Figura 65 y Tabla 16 se muestran los resultados obtenidos a partir del análisis de distribución de tiempos de vida. Una distribución bimodal de tiempos de vida fue observada en ambas Np. Se observó un pico relativamente pequeño ( $RW_1=7-8\%$ ) con  $\tau_M$  de  $\sim 600$  ps y  $\sim 700$  ps en PD25 y PD75, respectivamente. También las

distribuciones mostraron un segundo sub-arreglo mayor ( $RW_2 = 93\%-92\%$ ) con un  $\tau_M$  similar al correspondiente a la DMA en THF ( $\sim 2,5$  ns) de  $\sim 2,25$  ns y  $\sim 2,53$  ns para PD25 y PD75, respectivamente. Desafortunadamente no se han reportado estudios sobre la fotofísica de la DMA en medios rígidos/restringidos, haciéndose difícil racionalizar las distribuciones observadas. La Tabla 17 presenta los resultados correspondientes al ajuste de los decaimientos mediante una función multiexponencial. En las Tablas 16 y 17 también se muestran los resultados correspondientes a la emisión de D en PAnD25 y PAnD75, los cuales se discutirán más adelante. Tabla 16 se muestran los parámetros de ajustes obtenidos.

**Tabla 16.** Parámetros obtenidos en el análisis de distribución de tiempos de vida para el fluoróforo DMA en las distintas Np y en solución. Longitud de onda de excitación 397 nm. T: 298 K.

	$\tau_{M1}$	$\sigma_1$	$RW_1$	$\tau_{M2}$	$\sigma_2$	$RW_2$	$\tau_{M3}$	$\sigma_3$	$RW_3$	$\tau_M$
	(ns)	(ns)	(%)	(ns)	(ns)	(%)	(ns)	(ns)	(%)	(ns)
<b>DMA</b>										
<i>c-hexano</i>	2,4	0,01	100	-	-	-	-	-	-	2,40
<i>THF</i>	2,61	0,15	100	-	-	-	-	-	-	2,61
<b>PD25</b>										
<i>THF</i>	0,57	0,09	7	2,25	0,59	93	-	-	-	1,89
<b>PD75</b>										
<i>THF</i>	0,68	0,08	8	2,53	0,47	92	-	-	-	1,89
<b>PAnD25</b>										
<i>THF</i>	0,70	0,10	12	2,35	0,45	88	-	-	-	1,82
<b>PAnD75</b>										
<i>THF</i>	0,29	0,10	14	1,34	0,48	79	4,60	0,28	7	0,90



**Figura 65.** Distribuciones de tiempos de vida calculados para PD25 y PD75 en THF (298 K). Longitud de onda de excitación: 297 nm. Longitud de onda de emisión: 350 nm. El valor de  $\chi^2$  fue: 1,080 (PD25) y 1,125 (PD75). La concentración de las Nps fue de 0,6 mgr/ml.

**Tabla 17.** Tiempos de vida ( $\tau_i$ ) y factores preexponenciales ( $a_i$ ) obtenidos de los ajustes de los perfiles de decaimiento de fluorescencia del grupo DMA en las distintas NPs y en solución. Longitud de onda de excitación: 297 nm.

	$\tau_1$ (ns)	$a_1$ (ns)	$\tau_2$ (ns)	$a_2$ (ns)	$\tau_M$ (ns)
<b>DMA</b>					
<i>c-hexano</i>	2,12	0,022			2,12
<i>THF</i>	2,57	0,021			2,57
<i>PD25</i>	0,94	0,009	2,54	0,016	1,96
<i>PD75</i>	0,91	0,008	2,67	0,016	2,08
<i>PAnD25</i>	0,79	0,009	2,47	0,016	1,86
<i>PAnD75</i>	0,68	0,023	2,13	0,009	1,09

### 5.2.3- Conclusiones parciales en la sección 5.2

Resumiendo los resultados de esta sección cabe destacar:

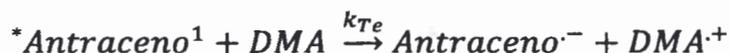
- Los espectros de absorción y emisión de las nanopartículas PD25 y PD75 son similares a los correspondientes a la DMA en solución fluida en todos los solventes estudiados.
- Las Np PD tienen escasa fluorescencia en DCM debido a la desactivación de la amina en el estado excitado por el solvente clorado. Este hecho sugiere que el DCM penetra en las redes poliméricas entrecruzadas de las nanopartículas, accediendo a los grupos D que forman parte de la misma.
- Los estudios de anisotropía de emisión demuestran que el grupo D se encuentra unido covalentemente a la matriz polimérica.
- En THF las propiedades de emisión de las PD y DMA son muy similares. Sin embargo, las suspensiones de PD25 y PD75 muestran decaimientos de fluorescencia biexponenciales. Estos resultados son coincidentes con las distribuciones de tiempos de vida bimodales observadas para ambas Np.

## 5.3- Estudios de desactivación de emisión de PAnD0 por DMA

### 5.3.1- Desactivación de la emisión de 9-MA en solución

La TeF entre compuestos poliaromáticos y aminas aromáticas se han estudiado por más de 5 décadas. En particular, los sistemas compuestos por antraceno y aminas aromáticas en soluciones homogéneas han sido investigados de manera exhaustiva.<sup>81, 91, 96, 131, 132</sup>

Se sabe que el *quenching* del estado excitado singlete del Antraceno por DMA se produce a través de un mecanismo de Te (Esquema 6).<sup>131</sup>



Esquema 6

Es posible determinar el valor de  $\Delta G^0$  aplicando la ecuación de Rehm-Weller (Ecuación 18, página 32) para este proceso. Usando los parámetros fotofísicos y electroquímicos enlistados en la Tabla 18 y considerando para el término Coulombico un valor de 0,06 eV, se obtiene un valor de  $\Delta G^0 \sim -0,73$  eV, claramente exergónico.<sup>79</sup>

**Tabla 18.** Propiedades espectroscópicas y electroquímicas de Ant y DMA.

	$E_S$ (eV)	$E_T$ (eV)	$E(A/A^{\cdot-})^{a,b}$	$E(D^{\cdot+}/D)^{a,b}$
Ant	3,31	1,85	-1,93	
DMA	3,85	2,99		0,81

<sup>a</sup>A temperatura ambiente. <sup>b</sup>Versus electrodo de calomel saturado (SCE) en Acetonitrilo.

A pesar de lo anteriormente expuesto, no pudo encontrarse antecedentes específicos sobre el *quenching* intermolecular de la emisión del 9-MA por DMA. Por tal razón, se llevaron a cabo una serie de experimentos sobre dicho sistema para alcanzar una mayor comprensión del mismo y poder explicar lo que ocurre en los sistemas nanoparticulados.

La inhibición del estado singlete excitado del 9-MA por DMA, se estudió en solventes de distinta polaridad. En la Tabla 19 se resumen los parámetros experimentales calculados en cada medio estudiado: la constante de *quenching* ( $k_q$ ), los valores correspondientes al tiempo de vida ( $\tau_e$ ), al máximo de emisión ( $h\nu_e^{max}$ ) del exciplexo 9-MA/DMA y el cambio de la energía libre de Gibbs del proceso directo de Te fotoinducida ( $\Delta G_{et}^*$ ).

Los valores de la  $\Delta G_{Te}^*$  fueron calculados a partir de un método reportado en trabajos de investigación previos,<sup>90</sup> utilizando la Ecuación 39:

$$\Delta G_{Te}^* = -\Delta G_{-Te}^{37,5} + c \Delta f_{\epsilon} - E_S$$

**Ecuación 39**

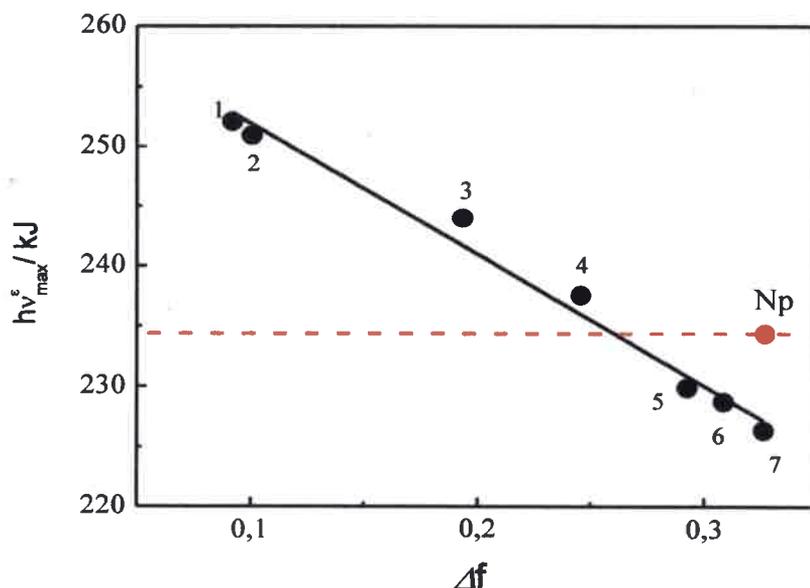
donde  $f_{\varepsilon} = \frac{\varepsilon-1}{2\varepsilon+1}$ ,  $\Delta G_{-Te}^{37,5} = -e\Delta E^{37,5} - w^{37,5}$ ,  $E_S$  es la energía del estado singlete excitado del fluoróforo antraceno y  $c = \frac{\mu_e^2}{4\pi\varepsilon_0\rho^3}$ .  $\Delta G_{-Te}^{37,5}$  se calculó a partir de los potenciales redox del donador ( $E_{ox} = 0.81$  V) y aceptor ( $E_{red} = -1.93$  V) medidas vs. SCE en acetonitrilo,<sup>131</sup>  $w$  es el término electrostático en acetonitrilo donde se asume un valor de  $-6$  kJ/mol<sup>133</sup> y  $c \sim 55$  kJ/mol se determinó a partir del gráfico de Lippert-Mataga (Figura 66).

Como puede observarse a partir de los valores reportados en la Tabla 19, el proceso de desactivación ( $k_q$ ) se aproxima al límite de la constante de difusión para todos los solventes estudiados. Este comportamiento concuerda con los cálculos de energía  $\Delta G_{Te}^*$  que son claramente exergónicos en todos los medios.

**Tabla 19.** Desactivación del estado singlete excitado del 9-MA por DMA en distintos medios. Caracterización fotoquímica del exciplexo.

Solvente	$\varepsilon$	$n$	$k_q / M^{-1} s^{-1}$	$\Delta G_{Te}^* /$ (kJ/mol)	$h\nu_e^{max} /$ kJ	$\tau_e /$ ns
Hexano	1,88	1,375	$1,5 \cdot 10^{10}$	-36,9	252,1	8,1
c-hexano	2,02	1,426	-	-37,8	250,9	-
Éter butílico	3,08	1,399	-	-42,7	243,9	12,6
Éter etílico	4,02	1,352	$1,4 \cdot 10^{10}$	-45,1	237,6	23,8
Acetato de etilo	6,02	1,372	-	-47,9	229,8	-
THF	7,58	1,407	$1,4 \cdot 10^{10}$	-49,1	228,7	17,1
DCM	9,08	1,445	$1,6 \cdot 10^{10}$	-50,4	226,3	23,4
Acetonitrilo	35,7	1,339	$1,5 \cdot 10^{10}$	-50,4	-	-

Constante dieléctrica ( $\varepsilon$ ) e índice de refractancia ( $n$ ) de los distintos solventes.



**Figura 66.** El gráfico de Lippert-Mataga para el excíplejo 9-MA/DMA intermolecular (círculos negros) y la correspondiente energía de emisión del excíplejo intrapartícula formado en PAnD75 en DCM (línea roja). Solventes: n-hexano (1), c-hexano (2), éter butílico (3), éter etílico (4), acetato de etilo (5), THF (6) y DCM (7).

Los espectros de emisión y los gráficos de Stern-Volmer obtenidos para los experimentos de inhibición de la fluorescencia en estado estacionario ( $I_0/I$ ) y resuelta en el tiempo ( $\tau_0/\tau$ ) en DCM se muestran en las Figuras 67 y 68, respectivamente.

La Figura 67 muestra claramente como la emisión de la molécula poliaromática disminuye al aumentar la concentración de Q y adicionalmente se observa la aparición de una banda al rojo centrada a  $\sim 530$  nm, sin estructura que se incrementa frente al aumento de la concentración de DMA y se detecta un punto isoemisivo a  $\sim 460$  nm. Dicha banda corresponde al excíplejo 9-MA/DMA, cuya caracterización se tratará más adelante.

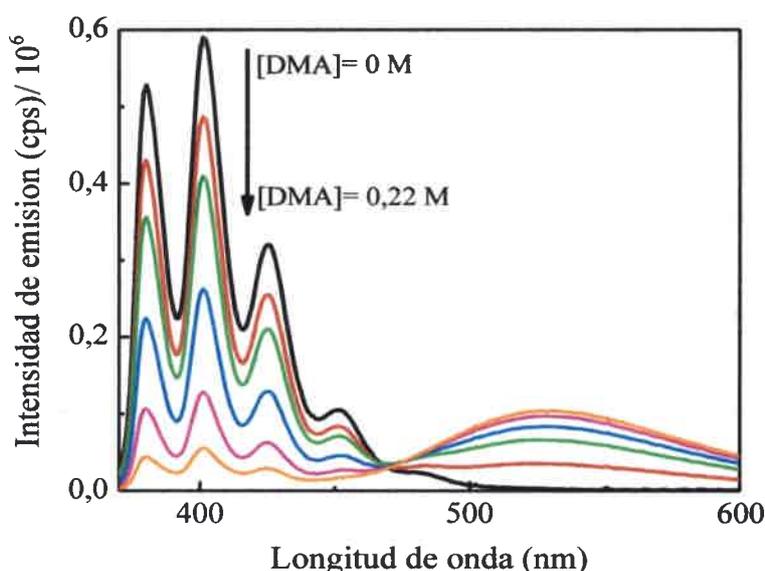
Como se observa en la Figura 68, a baja concentración de DMA, ambos gráficos coinciden y a partir de la pendiente inicial ( $K_{SV} \sim 26,1 \text{ M}^{-1}$ ) puede estimarse un valor de  $k_q \sim 1,6 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Sin embargo, a valores mayores de concentración de la amina, el

gráfico de  $I_0/I$  muestra una desviación de la linealidad, curvándose hacia arriba (positiva). Este comportamiento es debido a efectos transitorios sobre los procesos de *quenching*<sup>79, 134</sup>, que no se han podido estudiar en detalle debido a la limitada resolución del equipo TCSPC. No obstante, el gráfico  $I_0/I$  fue analizado usando el modelo de *quenching* estático de la esfera de acción (modelo de Perrin)<sup>85</sup> - ver Sección 3.2.4.2.3-.

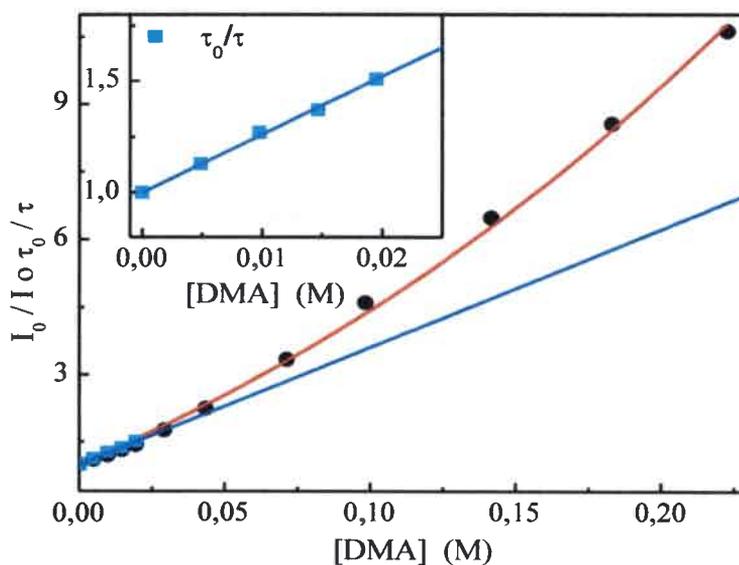
$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} \exp^{(vN_A[Q])} = \left(1 + k_q \tau_0 [Q]\right) \exp^{\left(\frac{4\pi N_A [Q]}{3R_{AD}^3}\right)}$$

#### Ecuación 40

donde  $R_{AD}$  es el radio de la esfera de acción y  $N_A$  es el número de Avogadro. El valor de  $R_{AD}$  obtenido fue de  $\sim 9,3 \text{ \AA}$ . Lo cual es coherente con los valores de  $R_{AD}$  reportados para el sistema antraceno / anilina<sup>91</sup>. Notar que el valor de  $R_{AD}$  supera ligeramente la suma de los radios del par donor/aceptor ( $\sim 6,3 \text{ \AA}$ ) calculado a partir del modelo de Zissimos.<sup>135</sup>

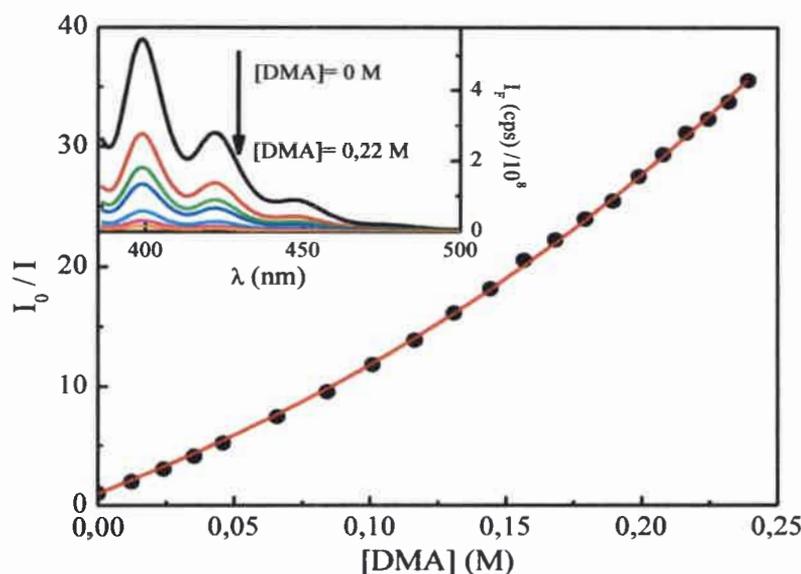


**Figura 67.** *Quenching* de la emisión de 9-MA por DMA: 0 M (negro), 0,010 M (rojo), 0,019 M (verde), 0,043 M (azul), 0,098 M (rosa) y 0,222 M (naranja). Solvente: DCM. Longitud de onda de excitación = 350 nm.



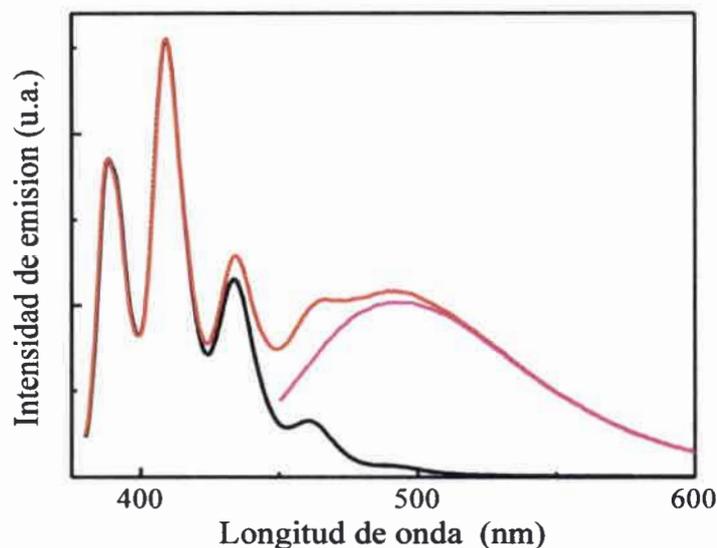
**Figura 68.** *Quenching* de la emisión del 9-MA por DMA. Gráficos de Stern-Volmer para los estudios en estado estacionario (círculos negros) y resuelto en el tiempo (cuadrados celestes). Solvente: DCM. Longitud de onda de excitación = 350 nm.

La Figura 69 muestra los estudios de desactivación del estado singlete del 9-MA en acetonitrilo. Al igual que en el solvente halogenado, se observa una desviación positiva de la linealidad en el gráfico de Stern-Volmer. Aplicando el modelo de Perrin, cuyo ajuste se muestra en rojo sobre la curva  $I_0/I$  (Figura 69), se obtuvo valores de  $k_q \sim 1,5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  y  $R_{AD} \sim 9,5 \text{ \AA}$ , los cuales son semejantes a los obtenidos en DCM. Los valores calculados para todos los solventes estudiados aplicando el modelo de Perrin se muestran en la Tabla 19 (página 111). Cabe mencionar que en acetonitrilo no se observó la emisión del exciplexo 9-MA/DMA. Este comportamiento es típico y se debe a un cambio de mecanismo del procesos de Te.<sup>90</sup>



**Figura 69.** Quenching de la emisión del 9-MA por DMA en acetonitrilo. Gráfico de Stern-Volmer para los estudios en estado estacionario (círculos negros). Figura inserta: Espectros de emisión correspondientes. [DMA]: 0 M (negro), 0,012 M (rojo), 0,024 M (verde), 0,035 M (azul), 0,084 M (celeste), 0,14 M (rosa) y 0,22 M (naranja). Solvente: acetonitrilo. Longitud de onda de excitación = 375 nm.

La emisión del exciplexo 9-MA/DMA puede ser observada únicamente en medios de polaridad media o baja. A modo de ejemplo, el espectro de emisión del exciplexo en éter etílico se muestra en la Figura 70. El complejo fue caracterizado en distintos solventes (para un amplio rango de polaridad) y los datos relevantes al sistema son informados en la Tabla 19 (página 111). A partir de los valores de  $h\nu_e^{max}$  se construyó un gráfico de Lippert-Mataga (Figura 66). La expresión de Lippert-Mataga está dada por la Ecuación 19 (página 37). De la pendiente del gráfico (Figura 66) es posible calcular la relación:  $\frac{\mu_e^2}{4\pi\epsilon_0\rho^3} \sim 55$  kJ/mol. A su vez este valor fue utilizado para calcular el valor de  $\Delta G_{et}^{*\epsilon}$  (Tabla 19, página 111). El gráfico mostrado en la Figura 66 también es útil para inferir la polaridad del entorno que percibe Ant/D en las Np.

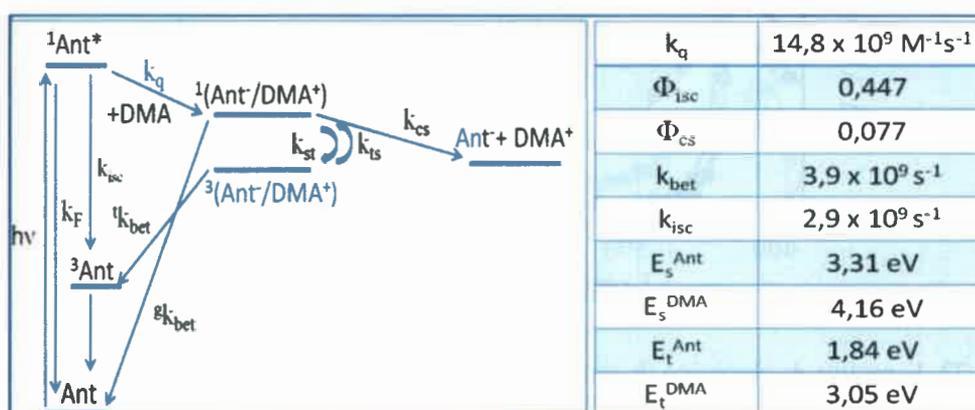


**Figura 70.** Espectro de emisión del 9-MA en ausencia (negro) y en presencia de DMA 0,1M (rojo). Ambos espectros fueron normalizados a 415 nm. El espectro de emisión para el exciplexo intramolecular (rosa), fue obtenido de sustraer el espectro negro del rojo. Solvente: éter etílico. Longitud de onda de excitación: 370 nm.

Como es de esperarse la energía de emisión del estado transferencia de carga decrece al aumentar la polaridad del medio (Figura 66). Tanto el 9-MA como el exciplexo tienen un decaimiento monoexponencial en todos los medios estudiados, sugiriendo que la formación del estado de transferencia de carga es irreversible.<sup>95, 136, 137</sup> La vía principal de desactivación no radiativa del estado de transferencia de carga es el cruzamiento entre sistemas al estado triplete excitado del Ant. El estado triplete del poliaromático muestra una fuerte absorción  $\sim 430$  nm en experimentos de LFP (ver más adelante).<sup>132, 138, 139</sup> En solventes de polaridad media o baja la formación del catión radical de la DMA ( $\text{DMA}^{+\bullet}$ ) y el anión radical del antraceno ( $\text{Ant}^{\bullet-}$ ) pueden detectarse durante el tiempo de vida del estado de transferencia de carga (en la escala de los nanosegundos).<sup>131</sup> La  $\text{DMA}^{+\bullet}$  muestra una banda de absorción ancha centrada a  $\sim 480$  nm<sup>38, 51</sup> y el  $\text{Ant}^{\bullet-}$  muestra una serie de picos en la región de 650-750 nm<sup>51, 52</sup>. En estos solventes la baja permitividad del medio imposibilita la separación de los iones radicales favoreciendo el proceso de Te para formar

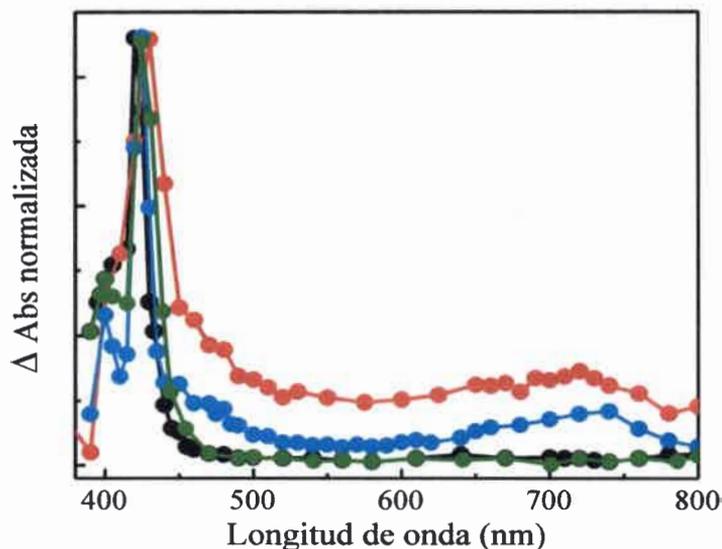
el par neutro 9-MA/DMA. En cambio, en solventes polares, la Te fotoinducida da lugar a la formación de pares de iones radicales libres.

A partir de estudios de especies transitorias reportados por Mataga y col.<sup>140</sup> sobre estructuras moleculares del tipo Ant-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-DMA, se determinaron las longitudes de onda donde se esperan observar bandas de absorción correspondientes a las especies involucradas en la Te. En la Figura 71 se resumen los parámetros más importantes sobre este proceso en solución de acetonitrilo.<sup>131</sup>



**Figura 71.** Diagrama de niveles de energía y constantes cinéticas involucradas en la desactivación de  $^1\text{Ant}^*$  por la DMA en acetonitrilo.<sup>131, 141</sup>

En la Figura 72, se comparan los espectros de especies transitorias normalizados obtenidos luego de 5  $\mu\text{s}$  del pulso del láser para Ant y Ant+DMA en DCM y acetonitrilo. En el caso de Ant en solución en ausencia del desactivante se observa solo la absorción correspondiente al estado triplete del compuesto aromático ( $\sim 430 \text{ nm}$ ). En presencia de la DMA (0,4 M) la absorción de  $\text{DMA}^{\cdot+}$  y  $\text{Ant}^{\cdot-}$  pueden detectarse en acetonitrilo a  $\sim 480$  y  $\sim 730 \text{ nm}$ , respectivamente. En contraste en DCM donde la formación de los iones radicales libres no es posible, no se observan las bandas del  $\text{DMA}^{\cdot+}$  y  $\text{Ant}^{\cdot-}$ .

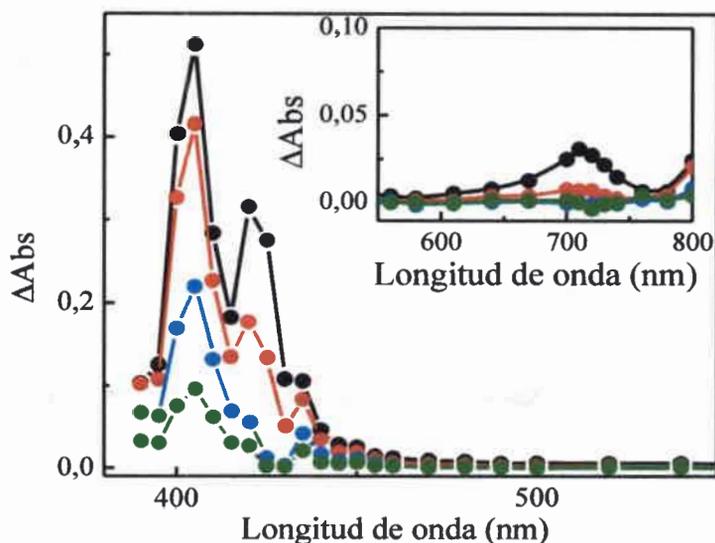


**Figura 72.** Espectros de absorción de especies transitorias obtenidos a 5  $\mu$ seg luego de el pulso de excitación del láser (355 nm) para antraceno en acetonitrilo (negro), Ant + DMA 0,4 M en acetonitrilo (azul), Ant + DMA 0,40 M en DCM (verde) y PANdO (2,5 mgr/ml)+ DMA 0,40 M en acetonitrilo (rojo). Las muestras se estudiaron en una atmósfera de argón.

Para Ant en una solución, no se observó la típica absorción del estado triplete (dos bandas en la región 400-450 nm).<sup>132, 138, 139</sup> La causa de las distorsiones mostradas en la Figura 73 es debido a la absorción del estado singlete del Ant. Este fenómeno ha sido descrito por Saltiel y col.<sup>142</sup> donde el estado  $S_1$  de larga vida es generado por aniquilación triplete-triplete cuando son utilizados pulsos láser de alta intensidad. Esta distorsión espectral desaparece tanto atenuando la energía del laser como en presencia de DMA que es un desactivante de la fluorescencia del grupo antracénico y sus derivados.<sup>131, 143</sup>

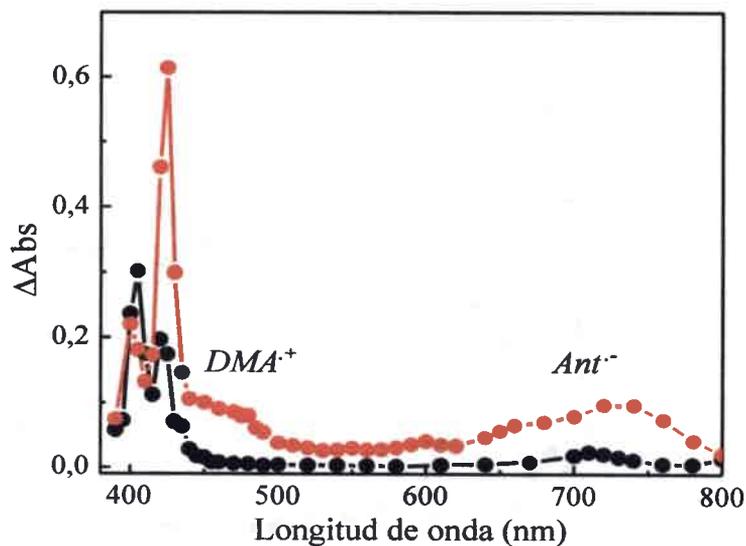
Además de la distorsión espectral observada para Ant en solución (Figura 73) también se puede vislumbrar una señal de baja intensidad en la región de 600 a 800 nm (figura inserta), la cual corresponde a una reacción entre el estado singlete excitado  $Ant^*$  con acetonitrilo produciendo el catión radical  $Ant^{\cdot+}$ .<sup>144</sup> Con la finalidad de suprimir

reacciones indeseadas se atenuó la energía del láser (desenfocando el haz) y así se obtuvieron espectros aceptables (Figura 74).



**Figura 73.** Espectro de especies transitorias para antraceno en solución a 5  $\mu\text{seg}$  (negro), 20  $\mu\text{seg}$  (rojo), 100  $\mu\text{seg}$  (azul) y 250  $\mu\text{seg}$  (verde) después del pulso del láser. Inserto: ampliación de los espectros entre 550 y 800 nm. Los espectros se tomaron en atmósfera de argón. Solvente: acetonitrilo. Excitación del láser a 355 nm.

En la Figura 74 se muestran los espectros de especies transitorias para Ant y Ant+DMA, ambos sistemas en acetonitrilo, registrados a 1  $\mu\text{seg}$  después del pulso de excitación. Se puede observar que el espectro de especies transitorias de Ant (línea en negro, Figura 74) cambia al agregar la DMA (espectro en rojo, Figura 74). El espectro de Ant se ve distorsionado como se explicó anteriormente, mientras que en presencia de DMA, el espectro observado es asignado típicamente al  $^* \text{Ant}^3$  (en la región entre 390 y 430 nm). Además, el espectro en presencia de DMA muestra las bandas correspondientes al catión radical de la DMA (banda a  $\sim 480$  nm) y al anión radical del Ant (serie de picos en la región 650-750 nm).<sup>145-147</sup> La detección de estos iones radicales permite concluir que la desactivación del singlete de Ant\* por DMA es debido a un proceso de Te.



**Figura 74.** Espectro de especies transitorias para antraceno en solución (negro) y antraceno + DMA 0,4M (rojo) a 1 μseg después del pulso del láser. Los espectros se tomaron en atmósfera de argón. Solvente: acetonitrilo. Excitación del láser a 355 nm.

### 5.3.2- Conclusiones parciales en la sección 5.3.1

Resumiendo los resultados más importantes de esta sección:

- Se observó la formación de excíplejos en soluciones de 9-MA y DMA en una amplia variedad de solventes de polaridad baja e intermedia.
- Se estudió en solventes de distinta polaridad el proceso de desactivación del estado singlete excitado de 9-MA por DMA. En todos los casos las constantes cinéticas de *quenching* se aproximan al límite difusional, lo cual concuerda con la alta exergonicidad calculada para el proceso de desactivación por Te.
- Los experimentos de fotólisis pulsada (LFP) muestran la formación del par de iones radicales libres en solventes polares como acetonitrilo. En DCM no se observó la formación de los iones ya que se recombinan en la escala del nanosegundo.

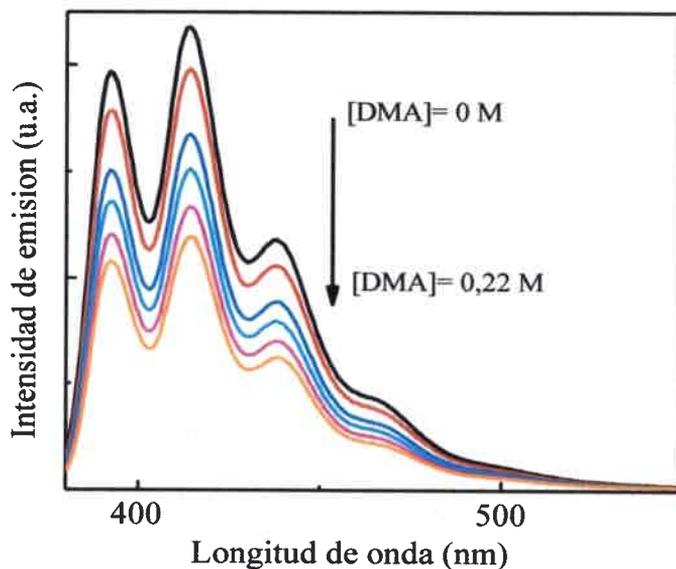
### 5.3.3- Desactivación de la emisión de PAnD0 suspendida en solventes orgánicos

Se estudió la desactivación de la fluorescencia del grupo antraceno incorporado en las Np (PAnD0) suspendidas en un medio fluido por un agente inhibidor. Se realizaron distintas experiencias empleando distintos solventes y agentes desactivantes. Se estudió:

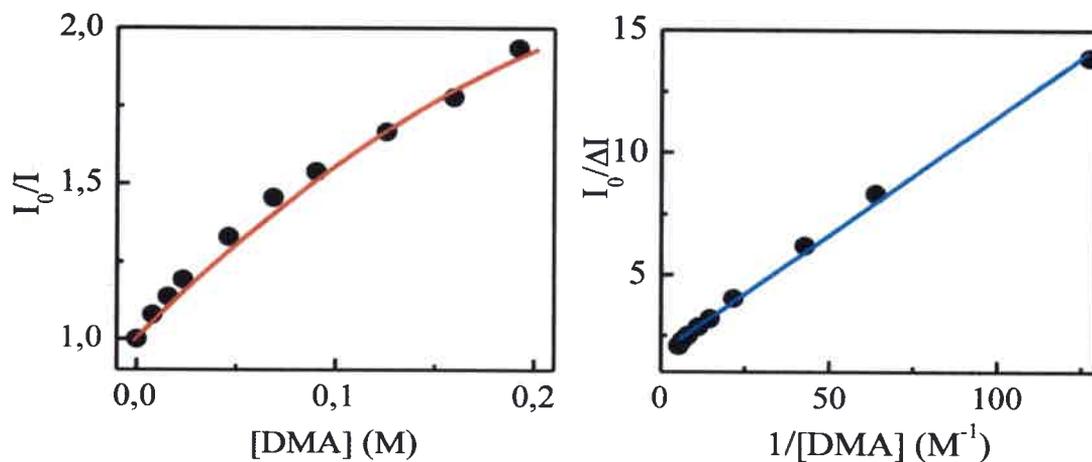
- La desactivación de la fluorescencia de PAnD0 por DMA en acetonitrilo.
- La desactivación de la fluorescencia de PAnD0 por tripropilamina (TPA) en acetonitrilo.
- La desactivación de la fluorescencia de PAnD0 por DMA en DCM.

Suponiendo que el proceso de desactivación del estado  $^1Ant^*$  es por Te (desde la amina hacia la molécula poliaromática), se estimaron los cambios de energía libre involucrados usando la ecuación de Rhem-Weller (Ecuación 18, página 32) y suponiendo que las propiedades del grupo antraceno unido a las Np son semejantes a las de 9-MA en solución. Así, se calculó para DMA y TPA  $-0,73$  y  $-0,5$  eV, respectivamente. Dado que ambos valores son negativos (claramente exergónicos), se puede considerar que las dos moléculas dadoras deberían comportarse como *quencher*s efectivos.

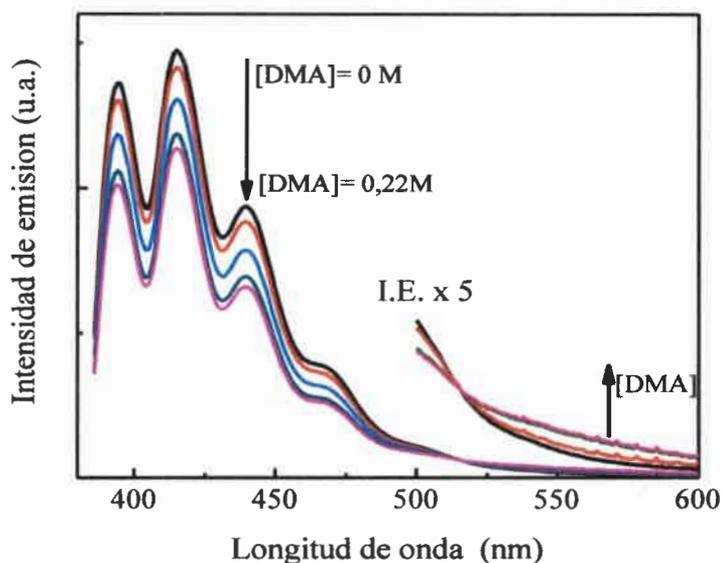
Las Figuras 75 y 76 muestran los espectros de emisión y los gráficos de Stern Volmer, respectivamente, correspondientes a la experiencia de *quenching* de PAnD0 por DMA en acetonitrilo. De igual manera las Figuras 77 y 78, corresponden a la misma experiencia de *quenching* cambiando el solvente a DCM. Además, en la Figura 79 se muestran los gráficos de Stern Volmer para el estudio de desactivación de PAnD0 por TPA en acetonitrilo.



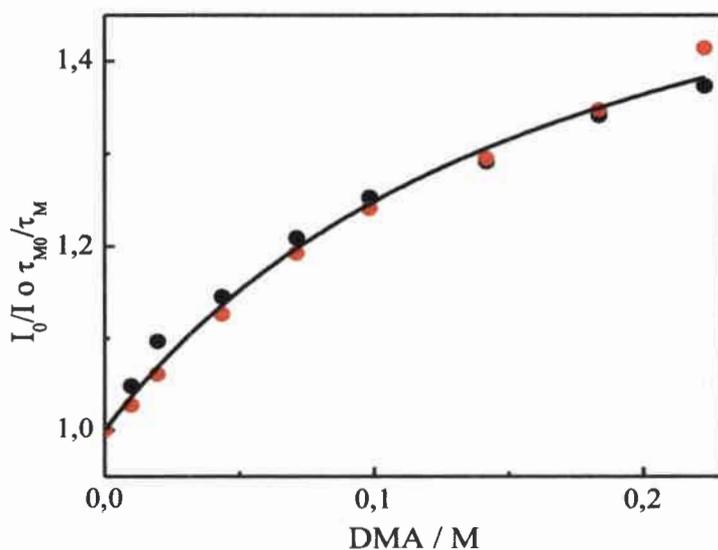
**Figura 75.** *Quenching* de la emisión de la PANdO por DMA. [DMA]: 0 M (negro); 0,015 M (rojo); 0,053 M (azul); 0,090 M (celeste); 0,159 M (rosa) y 0,22 (naranja). Solvente: acetonitrilo. Longitud de onda de excitación = 370 nm. Concentración de la dispersión 1,0 mgr/ml.



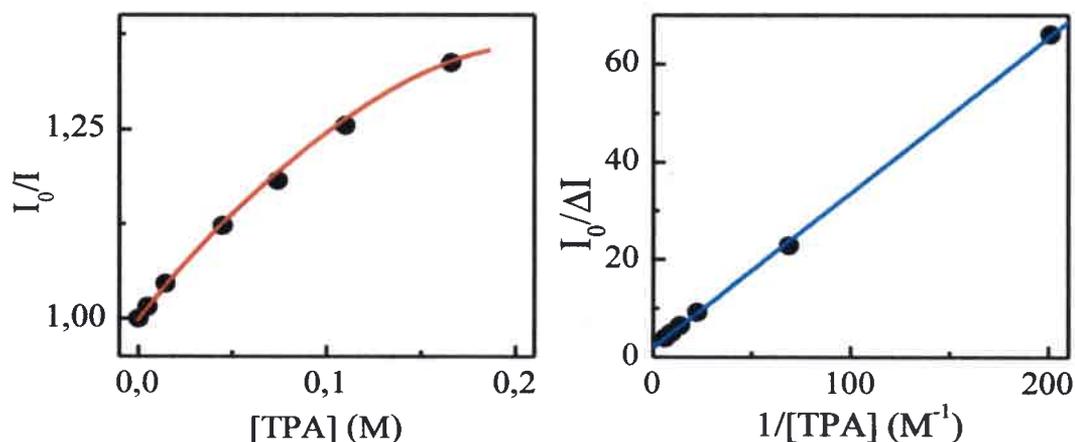
**Figura 76.** *Quenching* de fluorescencia PANdO por DMA. Izquierda: grafico de Stern-Volmer. Derecha: grafico de Stern-Volmer modificado. Solvente acetonitrilo. Longitud de onda de excitación = 370 nm. Concentración de la dispersión 1,0 mgr/ml.



**Figura 77.** *Quenching* de la emisión de la PANdO por DMA: 0 M (negro); 0,043 M (rojo); 0,093 M (azul); 0,141 M (celeste) y 0,222 M (rosa). Solvente: DCM. Longitud de onda de excitación = 370 nm. Concentración de la dispersión 1,0 mgr/ml.



**Figura 78.** Gráficos de Stern-Volmer a partir de medidas de emisión estacionarias ( $I_0/I$ , círculos negros) y resueltas en el tiempo ( $\tau_{M0}/\tau_M$ , círculos rojos). *Quenching* de PANdO por DMA en DCM (298K). La línea negra es el mejor ajuste de la Ecuación 42 a partir de los datos experimentales.



**Figura 79.** *Quenching* de fluorescencia PAnD0 por TPA. Izquierda: grafico de Stern-Volmer. Derecha: grafico de Stern-Volmer modificado. Solvente acetonitrilo. Longitud de onda de excitación = 370 nm. Concentración de la dispersión de 1,0 mgr/ml.

Respecto a las experiencias realizadas en acetonitrilo (Figura 75, página 122), no se observó la presencia de una nueva especie emisiva (exciplejo Ant/DMA o Ant/TPA). Esta observación es consistente con los resultados obtenidos en la desactivación del singlete del 9-MA por DMA en el mismo solvente (Figura 69, página 115).

En cuanto a los gráficos de Stern Volmer se detectó para todos los experimentos realizados una desviación de la linealidad hacia abajo (negativa), lo cual sugiere que existe una porción de moléculas de antraceno que se encuentran en lugares del polímero donde las aminas empleadas no pueden acceder.<sup>79, 148, 149</sup> Mediante el grafico de  $I_0/\Delta I$  (ecuación de Stern Volmer modificada-Ecuación 17, página 30-), se determinaron en cada caso los parámetros involucrados para este proceso de inhibición, los cuales se resumen en la Tabla 20. A partir de los valores de la tabla, se pudo concluir que la cantidad de fluoróforo inaccesible oscila en un rango 30-50%, dependiendo tanto del solvente como de los distintos desactivantes. Cabe acotar que la Ecuación 17 (página 30) solo considera la existencia de dos tipos de fluoróforos; uno completamente accesible al *quencher* y el otro completamente inaccesible. Como se discute en la siguiente sección, esto es una sobresimplificación del problema. Experimentos de distribución de tiempos de vida realizados en

DCM demuestran claramente la existencia de más de dos tipos de fluoróforos en las Np analizadas.

Los valores de  $K_{acc}$  (constante de Stern Volmer para la fracción de fluoróforos accesible) calculados (Tabla 20) concuerdan con lo esperado para procesos de desactivación por Te, ya que el *quencher* que tiene un menor potencial de oxidación (DMA), tendrá un valor de  $\Delta G$  más exergónica y por lo tanto una mayor constante de *quenching* para estudios realizados en un mismo medio (solvente).

**Tabla 20.** Parámetros obtenidos de las experiencias de *quenching* del estado singlete excitado de PAnD0 (aplicando la Ecuación de Stern-Volmer modificada).

Q	solvente	$f_{acc}$	$K_{acc} (M^{-1})$
DMA	DCM	0,71±0,07	4,2±0,5
DMA	acetonitrilo	0,62±0,04	14,6±0,4
TPA	acetonitrilo	0,52±0,07	6,0±0,9

Como ya se mencionó, en la Figura 77 se muestra la desactivación de la emisión de PAnD0 por DMA en DCM y el gráfico de Stern-Volmer correspondiente se muestra en la Figura 78 (ver página 123). En contraste a lo observado para el sistema 9-MA/DMA (Figura 68, página 114), el gráfico de Stern-Volmer exhibe una curvatura negativa. Además, en los espectros del *quenching* aparece un punto isoemisivo a ~ 515 nm y un muy pequeño incremento de la intensidad de emisión entre 500-600 nm (Figura 77, página 123). A la máxima concentración de DMA estudiada (0,222 M) aproximadamente el 30% de la emisión de la nanopartícula fue desactivada. Para la misma fracción de *quenching*, el sistema 9-MA/DMA (en DCM) se observa una emisión del exciplexo intermolecular ~530 nm (Figura 67, página 113). Es conocido que los sistemas antraceno/aminas aromáticas forman exciplejos tipo “sándwich”<sup>52, 53</sup>. Sin embargo, para la estabilización de estos estados de CT intermoleculares es requerida una distancia y orientación espacial adecuadas entre las moléculas aceptora y dadora. Los resultados que se muestran en la Figura 77 sugieren que la matriz polimérica imposibilita la formación del exciplejo. Por lo tanto, el proceso de

Te fotoinducido parece conducir a la formación de pares de iones radicales pobremente interactuantes tal que la formación de excíplejos es impedida de manera significativa.

Los experimentos de emisión resuelta en el tiempo se realizaron solo para el sistema: PANd0 + DMA en DCM. Los perfiles de decaimiento obtenidos presentan un comportamiento complejo y fueron ajustados de forma aceptable usando un modelo multiexponencial. Esto sugiere que la molécula prueba se encuentra en distintos microentornos en la partícula polimérica afectando su tiempo de vida de forma diferente.

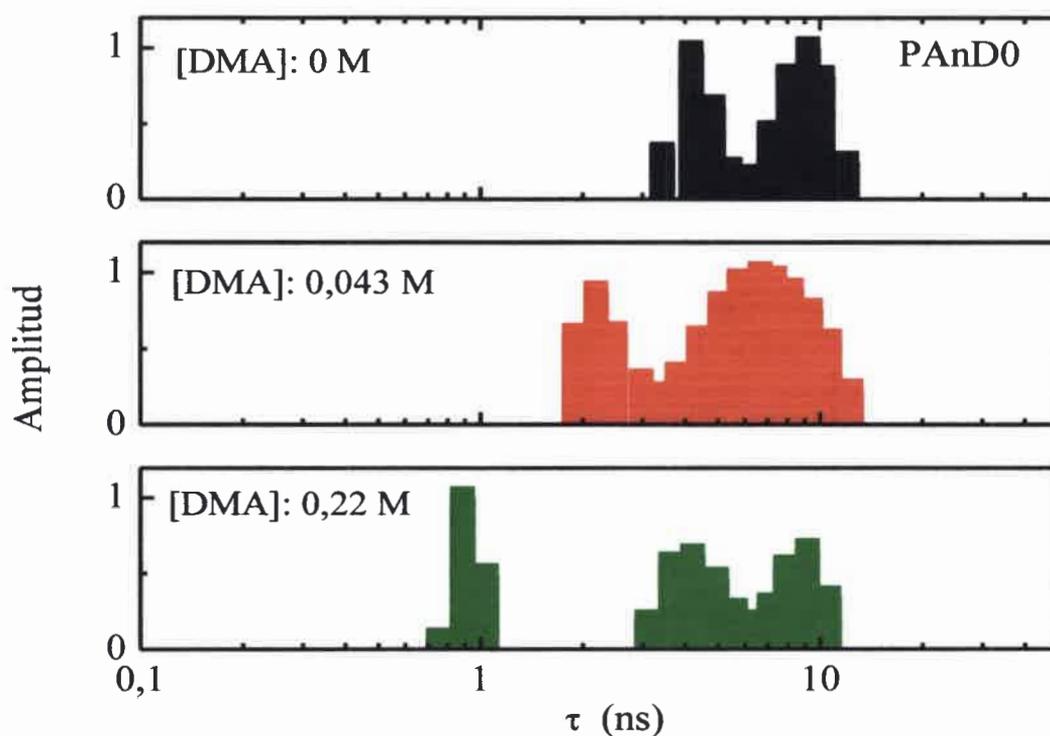
En la Figura 80 se muestran los resultados obtenidos a partir del análisis por el método de EI de los decaimientos de emisión para PANd0 a tres concentraciones distintas de DMA. Los valores correspondientes a este análisis, para todas las concentraciones de desactivante empleadas, se incluyen en la Tabla 21. A partir del análisis de estos resultados se puede señalar que:

- Como se discutió anteriormente la PANd0 tiene dos poblaciones de antraceno claramente distinguibles.
- A una concentración relativamente baja de DMA ( $< 0,05M$ ) la distribución de tiempos de vida en su totalidad se mueve a valores menores y se vuelve más ancha.
- Por encima de  $0,07M$  de DMA la distribución se divide en tres subconjuntos. A medida que la concentración de *quencher* aumenta, el ancho de los subconjuntos ( $\sigma$ ) se vuelven progresivamente más angostos, mientras que el peso relativo (RW) no cambia significativamente.

Debido a que en DCM se pudo suspender todas las Np sintetizadas. Se seleccionó este solvente para realizar estudios exhaustivos (resueltos en el tiempo) de desactivación de fluorescencia de PANd0 por DMA. Para poder luego realizar estudios comparativos respecto a los otros sistemas.

A partir de los valores de la Tabla 21 se calculó el  $\tau_M$ , para cada concentración de acuerdo a la Ecuación 35 (página 56), cuyos valores se muestran en la misma tabla. En la

Figura 78 se graficó  $\tau_{M0}/\tau_M$  junto a  $I_0/I$ . Dado que ambas curvas se superponen aceptablemente, se interpreta que el *quenching* es principalmente dinámico (dependiente de la difusión) en todo el rango de concentración de DMA estudiado. La curvatura negativa del gráfico de Stern-Volmer, en principio sugiere la existencia de múltiples poblaciones de fluoróforos con distintas accesibilidad al *quencher*.



**Figura 80.** Análisis de distribución de tiempos de vida por EI de la dispersión de PAnD0 en DCM (298K), a distintas concentraciones de DMA. El  $\chi^2$  es de: 1,059; 1,140 y 0,983, para 0,000; 0,043 y 0,222 M de *quencher*, respectivamente. Longitud de onda de excitación: 378 nm. Longitud de onda de emisión: 415 nm. La concentración de PAnD0 fue de 1,0 mgr/ml.

**Tabla 21.** Análisis de distribución de tiempos de vidas por el método EI. *Quenching* de fluorescencia de PAnD0 por DMA.

[DMA] (M)	$\tau_{M1}$ (ns)	$\sigma_1$ (ns)	$RW_1$ (%)	$\tau_{M2}$ (ns)	$\sigma_2$ (ns)	$RW_2$ (%)	$\tau_{M3}$ (ns)	$\sigma_3$ (ns)	$RW_3$ (%)	$\tau_M$ (ns)
0	4,01	0,55	18	8,62	1,89	82	-	-	-	6,94
0,010	3,48	0,53	17	8,13	2,08	83	-	-	-	6,25
0,019	2,86	0,39	14	7,89	1,93	86	-	-	-	6,33
0,043	2,18	0,29	9	7,36	2,53	91	-	-	-	6,06
0,071	1,66	0,18	7	4,76	0,84	30	9,14	1,81	63	5,74
0,098	1,51	0,18	7	4,55	0,80	29	9,10	1,80	64	5,54
0,142	1,25	0,12	6	4,37	0,76	29	9,08	1,76	65	5,38
0,183	1,11	0,11	6	4,18	0,71	27	8,99	1,77	67	5,17
0,223	1,00	0,08	5	4,51	0,75	32	9,43	1,54	63	5,06

Un modelo general para la interpretación de desactivación de emisión en sistemas microheterogéneos fue propuesto por Carraway y col.<sup>150</sup> El modelo se aplicó para el *quenching* por oxígeno de la luminiscencia de  $Ru(phen)_3^{+2}$  adsorbido sobre superficies de sílica. Los autores asumen la existencia de un número finito de poblaciones de fluoróforos ( $k$ ), cada una decayendo monoexponencialmente y siendo capaces de ser inhibidas por oxígeno con la misma constante  $k_q$ . En el caso de un *quenching* puramente dinámico, se demuestra que:

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_{M0}}{\tau_M} = \left[ \sum_{i=1}^k \frac{RW_{0i}}{(1 + k_q \tau_{0i} [Q])} \right]^{-1} = \left[ \sum_{i=1}^k RW_{0i} \tau_i \right]^{-1}$$

#### Ecuación 41

donde  $RW_{0i} = \alpha_{0i} \tau_{0i} / \sum_{i=1}^k \alpha_{0i} \tau_{0i}$  y  $\tau_i = \tau_{0i} / (1 + k_q \tau_{0i} [Q])$  representa el peso relativo de la emisión total y el tiempo de vida de la  $i$ -ésima población, respectivamente. El perfil de decaimiento para el complejo de Ru(II) sin desactivar, fue ajustado con una distribución de

vida bi-Gaussiana. Se debe destacar que estos resultados son similares a los resultados anteriormente descritos, esto es, el complejo de Ru(II) absorbido muestra dos poblaciones iniciales bien definidas, que se mueven a menores tiempos con la adición de oxígeno. Asumiendo una  $k_q = 1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , los decaimientos de emisión a las distintas concentraciones de oxígeno también fueron ajustadas, resultando en distribuciones bimodales, no Gassianas. La existencia de una correlación entre  $I_0/I$  y  $\tau_{M0}/\tau_M$  permitió a Carraway y col.<sup>150</sup> concluir que el *quenching* es virtualmente dinámico en su totalidad y más importante aún, que la correlación observada puede ser tomada como una validación para el método planteado.

Sin embargo, el modelo de Carraway involucra varias suposiciones que son difíciles de justificar. Notar que las distribuciones de tiempos de vida no contienen ninguna información respecto a la accesibilidad del *quencher* a los fluoróforos. Carraway y col. suponen que la accesibilidad es la misma cuando asumen que la  $k_q$  es idéntica para todos los fluoróforos. Como se discute en la sección 3.4.1, la distribución de tiempos de vida observada para el antraceno en la PAnD0, puede ser atribuida a las restricciones impuestas por la matriz polimérica a los procesos de relajación normales para el Ant\*. En principio, es razonable pensar que los fluoróforos que muestran un  $\tau_{0i}$  largo, están localizados en los microentornos más rígidos y consecuentemente, más difícil que sean encontrados por el *quencher* (Q). Al contrario, el modelo de Carraway, asume que los fluoróforos con un mayor tiempo de vida son los más “fuertemente” desactivados. Otro aspecto omitido en el modelo de Carraway es la imposibilidad de “rastrear” las diferentes poblaciones de fluoróforos con el cambio de concentración de *quencher*. Notar que dos fluoróforos con similar  $\tau_{0i}$  y que contribuyen a la distribución de tiempos de vida inicial con amplitudes  $\alpha_{0i}$ , pueden tener diferentes accesibilidades al *quencher* y por lo tanto, pueden ser inhibidas con distintas  $k_{qi}$ . Entonces, en la presencia de Q estas dos poblaciones aparentemente idénticas se dividirán, y sus amplitudes individuales se ajustarán a dos valores distintos de  $\tau_i$ . Esta “transferencia” entre los sub-arreglos no puede ser predicha, volviendo la estimación de las constantes de *quenching* ( $k_{qi}$ ) para cada componente de los sub-distribuciones simplemente imposible.

Por lo tanto, la única solución realista que puede considerarse para este problema sería obtener una distribución de  $k_q$ , utilizando la técnica de fluorescencia de partícula individual (o molécula individual). Ejemplos muy interesantes del uso de esta técnica fueron publicados recientemente por Lian *et al.*<sup>151</sup>. Desafortunadamente dada la naturaleza intrínseca del sistema estudiado (rendimiento cuántico de fluorescencia bajo, absorción y emisión a longitudes de onda relativamente cortas, aparente irreversibilidad en el proceso de *quenching*, etc.) no es posible llevar a cabo este experimento con la tecnología actual.

A fin de poder obtener información cinética “aproximada” de los gráficos de Stern-Volmer (Figura 78), los resultados experimentales fueron analizados de acuerdo a:

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_{M0}}{\tau_M} = \left[ \sum_{i=1}^n \frac{RW_n}{(1 + K_{SVn}[Q])} \right]^{-1}$$

#### Ecuación 42

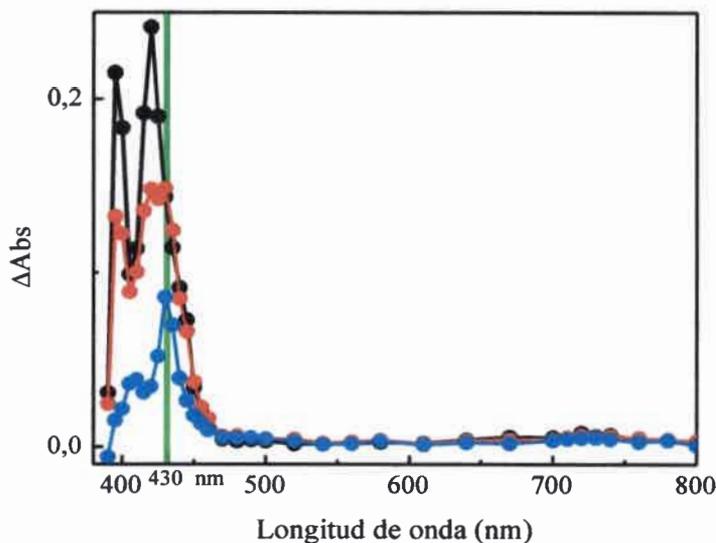
La Ecuación 42, es una simplificación de la Ecuación 41, que asume la existencia de un número discreto de poblaciones de fluoróforos ( $n$ ), cada una caracterizada por un  $RW_n$  particular y capaz de ser quencheado con una constante promedio de Stern-Volmer ( $K_{SVn}$ ). Es preciso aclarar que la Ecuación 42, es la expresión general de Stern-Volmer para la desactivación de  $n$  poblaciones de fluoróforos con distinta accesibilidad del *quencher*. En la Figura 78 se muestra el mejor ajuste de los datos experimentales obtenido mediante esta ecuación, con  $n=2$  (incrementando el valor de  $n$ , no se produce ninguna mejora importante en la calidad del ajuste). Los valores obtenidos para  $RW_1, RW_2, K_{SV1}$  y  $K_{SV2}$  fueron 41%, 59%,  $9 \text{ M}^{-1}$  y  $0,1 \text{ M}^{-1}$ , respectivamente. Estos resultados indican que cerca del 60% del  $\text{Ant}^*$  no puede ser alcanzado por el *quencher*. Esto concuerda con los datos en la Tabla 21 (página 128), teniendo en cuenta que el tiempo de vida promedio de la sub-distribución correspondiente al estado excitado que más vive ( $\tau_{M3}$ ) no cambia significativamente con la  $[Q]$  y representa aproximadamente el 65% de la emisión total. Sin embargo no se debe perder de vista que la distribución de tiempos de vidas real indica que el proceso de *quenching* global es más complejo que la interpretación aproximada obtenida usando la Ecuación 42. Comparando este resultado con los obtenidos aplicando la ecuación de Stern

Volmer- modificada sobre las medidas estacionarias (Tabla 20, página 125) donde se estableció una fracción de fluoróforo inaccesible de  $\sim 30\%$ . Se observa claramente que dicho valor representa casi la mitad del obtenido a partir de las medidas resueltas en el tiempo. Así, la ecuación de Stern-Volmer modificada no resulta un modelo confiable en el análisis de los datos.

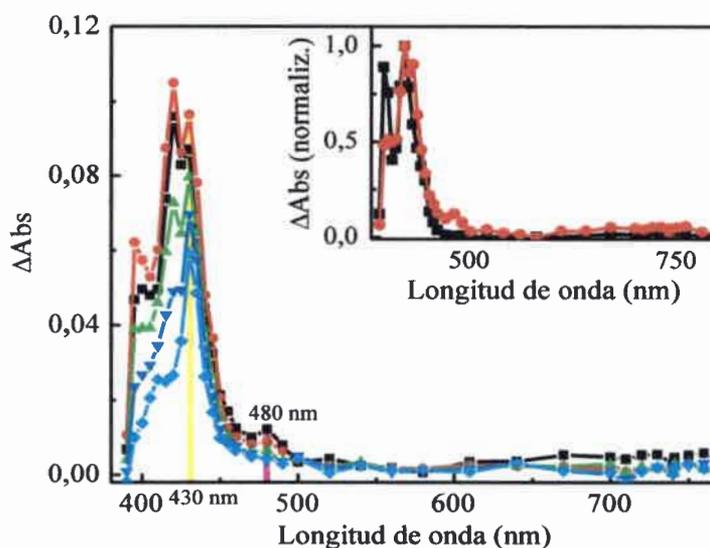
Con la finalidad de confirmar el proceso de Te entre Ant\* y DMA en el medio polimérico, se llevaron a cabo experimentos de LFP ( $\lambda_{exc}$ : 350 nm) en acetonitrilo y DCM. En la Figura 72 (ver página 118) se mostró el espectro de especies transitorias obtenido de PAnD0 + DMA en acetonitrilo junto con el correspondiente a Ant + DMA en el mismo solvente y a igual concentración de *quencher* (0,4 M), observando el mismo comportamiento para ambos sistemas.

En las Figuras 81 y 82 se muestran los espectros de especies transitorias obtenido para dispersiones de PAnD0 y PAnD0 + DMA (0,4M) en DCM a distintos tiempos. En ambos casos, es decir tanto para PAnD0 solo como con el agregado del agente desactivante, se observó una banda a  $\sim 430$  nm que corresponde al estado triplete excitado de la molécula poliaromática.<sup>132</sup> Sin embargo para PAnD0 (Figura 81) se detectó una absorción anómala a 400 nm, la cual como ya se menciono se debe a la absorción transiente de  $^1\text{Ant}^*$ . Dicho fenómeno se observó para Ant en solución y ya fue discutido (sección 5.3.1-).

Comparando las Figuras 81 y 82, se puede concluir que el agregado de DMA (0,4 M) a la suspensión de PAnD0 da lugar a la aparición de una nueva banda con un máximo a 480 nm, la cual puede atribuirse a la  $\text{DMA}^{\cdot+}$ <sup>146</sup> (Figura 82, figura inserta). En una sección posterior se discutirá tal asignación. Se debe mencionar que no se detectó absorción en la región correspondiente al anión radical del Ant, sin embargo si se observó el catión radical de la DMA. Además, la presencia de  $\text{Ant}^{\cdot-}$  fue detectada en acetonitrilo (ver Figura 72, página 118), por lo que se sugiere que el medio en el que se encuentran suspendidas las Np afecta sobre las formación de las especies cargadas.



**Figura 81.** Espectro de especies transitorias para PANdO a 1  $\mu$ seg (negro), 200  $\mu$ seg (rojo) y 440  $\mu$ seg (azul) después del pulso del láser. Los espectros correspondientes a las medidas se obtuvieron en atmósfera de argón. Solvente: DCM; excitación del láser a 355 nm.



**Figura 82.** Espectro de especies transitorias para PANdO + DMA a 1  $\mu$ seg (negro), 100  $\mu$ seg (roja), 200  $\mu$ seg (verde), 300  $\mu$ seg (azul) y 440  $\mu$ seg (celeste) después del pulso del láser. Espectros de especies transitorias (normalizados) correspondiente a PANdO (negro) y en presencia de DMA (0,4 M) (grafico inserto). Los espectros se tomaron en atmósfera de argón. Solvente: DCM; excitación del láser a 355 nm.

### 5.3.4- Conclusiones parciales en la sección 5.3.3

Los resultados más importantes de esta sección se resumen a continuación:

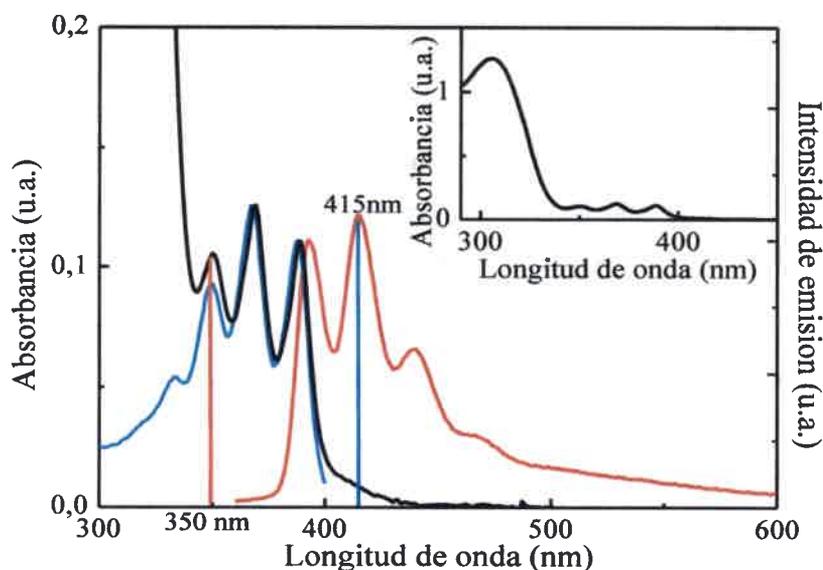
- La emisión del Ant incorporado a las Np PAnD0 es inhibida por la DMA en todos los solventes estudiados. La formación del excíplejo Ant/DMA se observa de forma “escasa” en DCM, indicando que el *quenching* tiene lugar a distancias mayores a las de contacto AD.
- Los gráficos de Stern-Volmer obtenidos a partir de medidas de fluorescencia estacionaria muestran una desviación negativa. Este resultado sugiere que existen en la Np fluoróforos con distinta accesibilidad al *quencher*.
- La distribución de tiempos de vida de PAnD0 en función de la concentración de DMA revela la complejidad del problema. Si bien algunas conclusiones cualitativas pueden obtenerse de este estudio, no existe actualmente un modelo que permita racionalizar el comportamiento observado.
- Los espectros de absorción de especies transitorias en la escala del  $\mu\text{s}$  muestran que el *quenching* de PAnD0 por DMA en acetonitrilo lleva a la formación del catión radical de DMA y al anión radical del poliaromático.

## 5.4- Caracterización espectroscópica de PAnD25 y PAnD75

### 5.4.1- Procesos de Te fotoinducida intra- Np

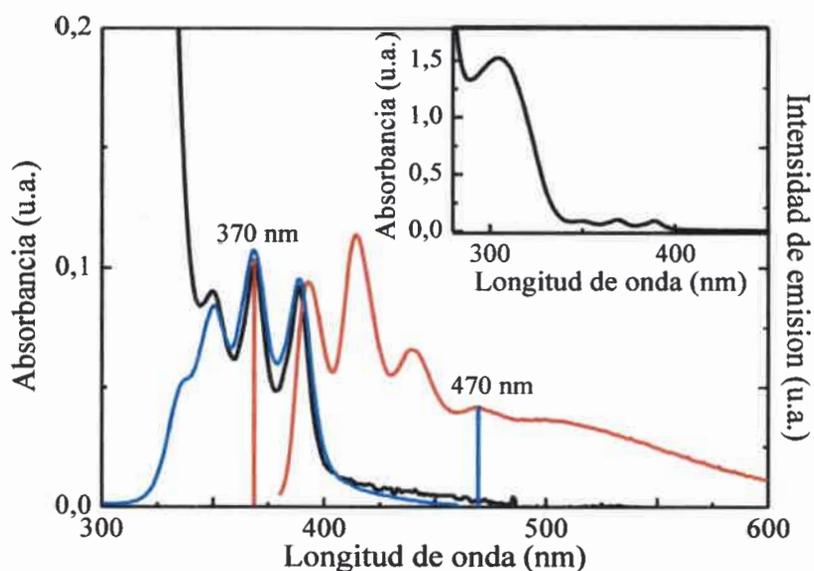
En las Figuras 83 y 84, se graficaron los espectros de absorción, emisión y excitación de las Np PAnD25 y PAnD75 suspendidas en DCM, respectivamente. Comparando estas figuras con la correspondiente a la de PAnD0 (Figura 49), se observa que el espectro de absorción de las Np muestran las bandas del fluoróforo Ant y además, una nueva banda centrada en  $\sim 306$  nm, correspondiente a la DMA. A medida que se incorpora más cantidad de D a las Np, el espectro de absorción se ve modificado. La

absorción de la DMA que se superpone a la del Ant, se incrementa en forma relativa. Al comparar los espectros de absorción y excitación en cada caso, se obtiene que se corresponden aceptablemente.

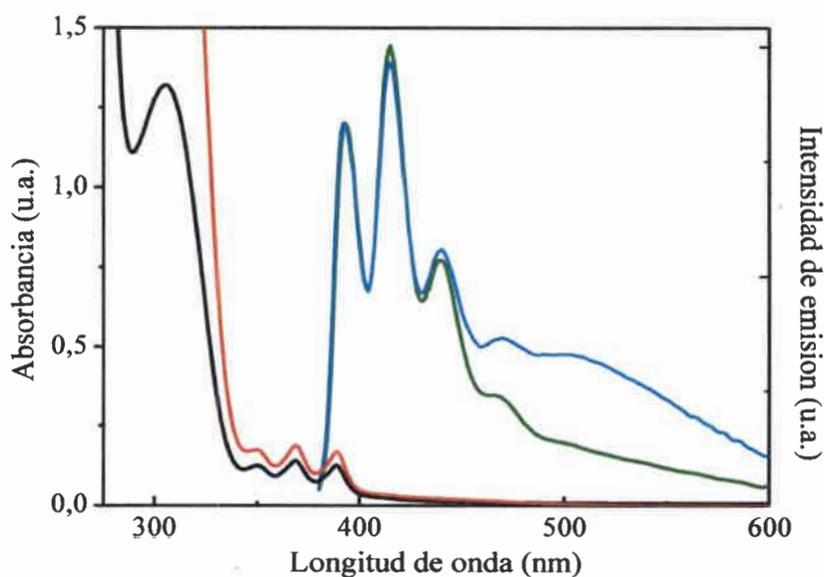


**Figura 83.** Espectros de absorción (negro), excitación (azul) y emisión (rojo) corregidos, correspondientes a PANd25 en DCM (0,6 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 350 nm. Longitud de onda de emisión: 415 nm. Espectro de absorción correspondiente a la muestra en figura inserta.

La Figura 85, muestra los espectros de absorción y emisión obtenidos para las dispersiones de PANd25 y PANd75 en DCM. Al comparar la fluorescencia resultante a partir de la excitación de la molécula poliaromática (369 nm) con la correspondiente a la PANd0 (Figura 49), los espectros se superponen en la región 390-460 nm (correspondiente a  $^1\text{Ant}^*$ ) y aparece una fluorescencia distinta en la región entre 500-600 nm. Al normalizar los espectros (Figura 88), esta banda se vuelve más evidente y de mayor intensidad para la PANd75 respecto a PANd25. Se puede concluir que esta banda corresponde a la formación del excíplejo Ant/D intrapartícula, es decir un complejo en el estado excitado que presenta transferencia electrónica parcial, cuyo estudio en solución de las moléculas “libres” se trató en la sección 5.5.1.

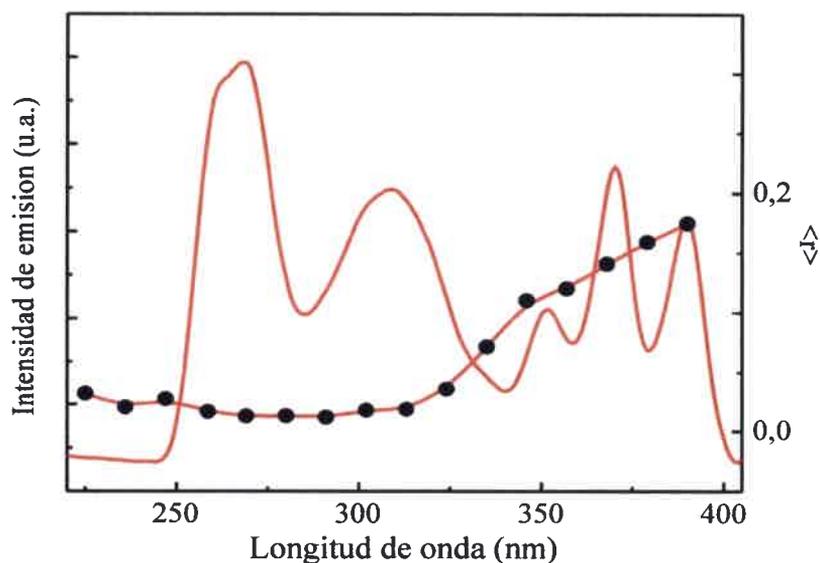


**Figura 84.** Espectros de absorción (negro), excitación (azul) y emisión (rojo) corregidos, correspondientes a PANd75 en DCM (0,5 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 370 nm. Longitud de onda de emisión: 470 nm. Espectro de absorción correspondiente a la muestra en figura inserta.



**Figura 85.** Espectros de absorción obtenidos para PANd25 (0.6 mg/ml) (negro) y PANd75 (1.36 mg/ml) (rojo) en DCM a 298K. Espectros de emisión corregidos, normalizados a 375 nm, de PANd25 (verde) y PANd75 (azul) al excitar a 368 nm.

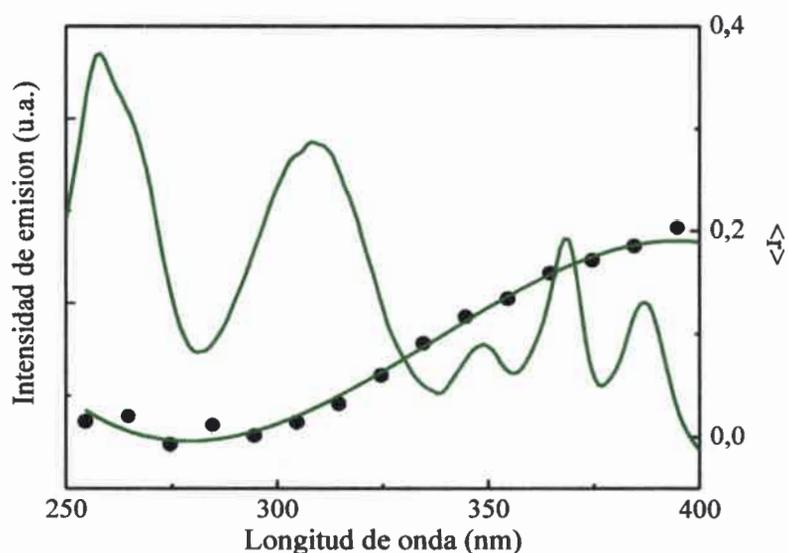
El espectro de excitación y de anisotropía respectivos para una suspensión de PAnD25 se muestran en la Figura 86. Como ya se observó el valor de  $\langle r \rangle$  es prácticamente cero para DMA en solución (ver Figura 63, página 104), lo cual es razonable para este caso ya que el movimiento aleatorio de la molécula prueba en el medio fluido depolariza la luz. Para PAnD25 se observan valores de  $\langle r \rangle$  distintos de cero, en la región donde absorbe la amina (250-325 nm) es de  $\sim 0,033 \pm 0,003$  y aumenta marcadamente en la región que corresponde a la absorción del grupo antracénilo (350-400 nm), con  $\langle r \rangle$  de  $0,17 \pm 0,01$  a 390 nm. El hecho de que ambas especies emisivas no muestren depolarización total de la luz incidente sugiere que se encuentran en un medio de alta viscosidad, unidos covalentemente a la matriz polimérica, que impiden a los dipolos excitados (que se encontraban alineados con la luz de excitación) cambien completamente su dirección antes de emitir.



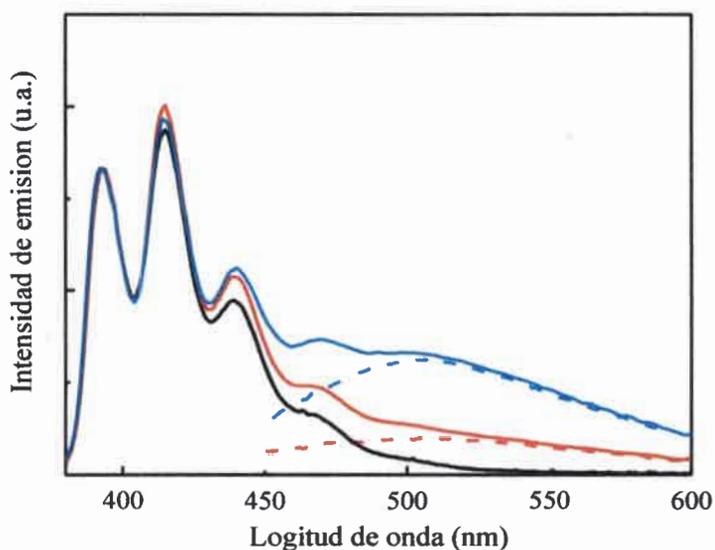
**Figura 86.** Espectros de excitación (línea continua) y anisotropía estacionaria (círculos) correspondientes a PAnD25 en suspensión de DCM. Longitud de onda de emisión: 415 nm.

El comportamiento observado para PAnD25 también se observó para PAnD75, los espectros de excitación y anisotropía se muestran en la Figura 87. De los resultados de

anisotropía es posible afirmar que en todos los casos los grupos estudiados se encuentran unidos covalentemente al polímero, en un medio rígido o confinado en la red polimérica.



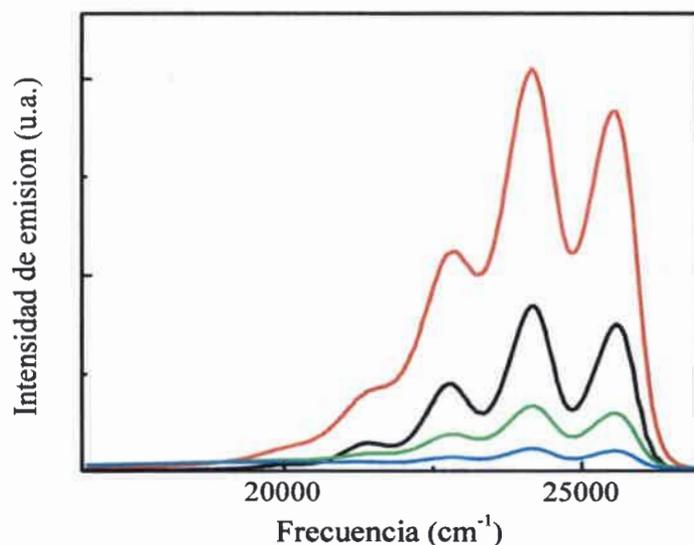
**Figura 87.** Espectros de excitación (línea continua) y anisotropía estacionaria (círculos) correspondientes a PANd75 en suspensión de DCM. Longitud de onda de emisión: 415 nm.



**Figura 88.** Espectros de emisión para PANd0 (negro), PANd25 (rojo) y PANd75 (azul) en DCM. Todos los espectros fueron normalizados a 490 nm. Las líneas entrecortadas muestran la emisión del exciplexo intra-Np obtenido por sustracción de los espectros.

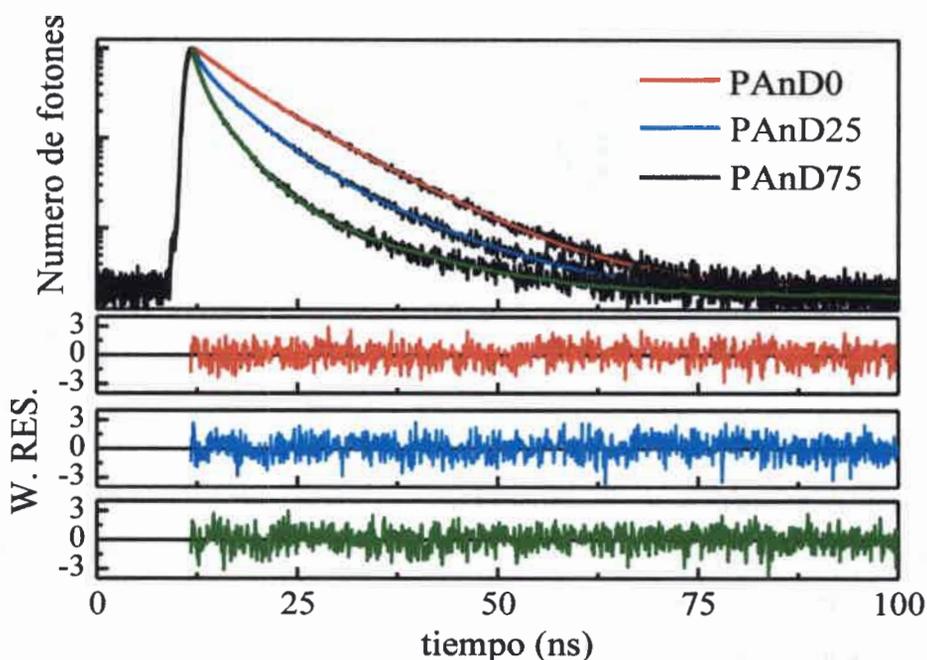
El rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\varphi_f$ ) para el fluoróforo antraceno (Ant) en las distintas partículas PAnD se reporta en la Tabla 12 (ver página 92). En la Figura 89, a modo comparativo se graficaron los espectros de emisión (en función de la frecuencia) para las PAnD0, PAnD25, PAnD75 y 9-MA en DCM, correspondientes a valores de absorción semejantes ( $\sim 0,1$  a 370 nm). A partir de estos gráficos se determinaron los  $\varphi_f$  (Ecuación 38, página 92).

Comparando los valores obtenidos, se observó que el  $\varphi_f$  de PAnD25 ( $\sim 0,14$ ) es menor al correspondiente a PAnD0 (0,53), sugiriendo una inhibición significativa de la emisión del poliaromático ( $\sim 74\%$ ) en esta clase de partículas. En el caso de PAnD75, el  $\varphi_f$  en DCM es de  $\sim 0,04$ , lo cual correspondería a un  $\sim 92\%$  de *quenching* de la emisión del Ant. Como ya se demostró, la desactivación de la fluorescencia es debido a un proceso de Te fotoinducida entre la amina dadora y el  $^1\text{Ant}^*$  aceptor. Este proceso se halla favorecido termodinámicamente ( $\Delta G_{Te} < 0$ ) dando lugar a la formación de los iones radicales libres ( $\text{DMA}^+$  y  $\text{Ant}^-$ ) en solventes polares y a la formación del exciplexo en solventes de media o baja polaridad.

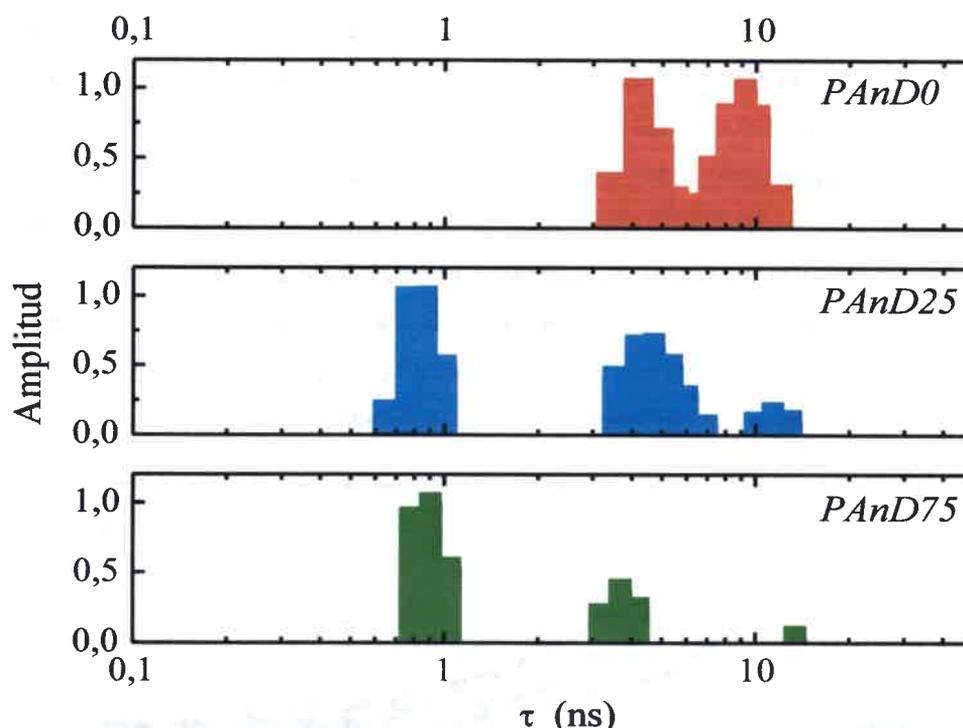


**Figura 89.** Espectros de emisión corregidos para 9-MA (negro), PAnD0 (rojo), PAnD25 (verde) y PAnD75 (azul) en DCM. Para valores de absorción a 370 nm  $\sim 0,1$  para todas las muestras.

Los estudios de fluorescencia resuelta en el tiempo para el grupo antracénico en las PAnD0, PAnD25 y PAnD75 en DCM se muestran en la Figura 90. Como se puede concluir a partir de dicha figura, la presencia de la amina aromática incorporada en las Np poliméricas, desactiva la fluorescencia del Ant\* afectando el tiempo de vida del mismo. Como ya se mencionó, esto también se refleja en los valores de rendimiento cuánticos de fluorescencia obtenidos para cada sistema. Los perfiles de decaimientos de emisión obtenidos para las dispersiones de Np, requirieron funciones de ajuste triexponenciales (Tabla 13, ver página 94). Como es de esperarse, el análisis de EI, muestra distribuciones de tiempos de vida complejas (ver Figura 91 y Tabla 14 –página 95-). Las distribuciones obtenidas para PAnD0 en DCM son las mismas que se mostraron en la Figura 55, este gráfico se repite para una mejor comparación de los resultados.



**Figura 90.** Perfiles de decaimientos de emisión (medidas de TCSPC) (líneas negras) y los ajustes correspondientes (líneas de color) obtenidos para PAnD0 (rojo), PAnD25 (azul), y PAnD75 (verde) en DCM (298 K). Las muestras sin desoxygenar se excitaron con un LED de 378 nm. Se colectó la fluorescencia en el máximo de emisión de la muestra: ~ 415 nm. Valor de  $\chi^2$  obtenido fue de: 1,081 (PAnD0), 1,011 (PAnD25) and 1,116 (PAnD75). En los gráficos inferiores se muestran los residuales correspondientes al ajuste. La concentración de las dispersiones de Nps fue de 2.5 mgr/ml.



**Figura 91.** Distribuciones de tiempos de vida calculadas para las distintas Nps en DCM (298 K). Longitud de onda de excitación: 378 nm. Longitud de onda de emisión: 415 nm. El  $\chi^2$  obtenido fue de: 1,080 (PAnD0), 1,125 (PAnD25) and 1,122 (PAnD75). La concentración de las dispersiones fue de 2,5mgr/ml.

A partir de los valores de  $\tau_M$  (Tabla 14, página 95) se calcularon los porcentajes de desactivación Ant\* en PAnD25 y PAnD75 (usando el  $\tau_M$  de PAnD0 como  $\tau_{M0}$ ) dando resultados de ~50% y 74%, respectivamente. Estos porcentajes de inhibición son muchos menores que aquellos calculados a partir de los valores correspondientes a  $\varphi_f$  (Tabla 22), por lo que se puede concluir que el *quenching* intrapartícula del fluoróforo antraceno involucra componentes estáticos y dinámicos. El *quenching* estático debe ser un proceso muy rápido y por lo tanto, no sería posible detectarlo con el TCSPC utilizado. Resultados similares para *quenching* mediante TE de  $Ru(bpy)_3^{+2*}$  por antraceno en monolitos de poli(etilenglicol) dimetacrilato semirrígidos fueron reportados por Meyer y col.<sup>26</sup> Los

autores atribuyen el *quenching* dinámico observado a un proceso bimolecular lento el cual requiere difusión de los reactivos en el medio polimérico.

**Tabla 22.** Rendimientos cuánticos ( $\phi_f$ ) y tiempos de vida media ( $\tau_M$ ) de fluorescencia para Ant en las distintas Np-Ant suspendidas en DCM y el porcentaje de inhibición calculado en cada caso.

<i>Np</i>	$\phi_f$	<i>Inh. fluoresc.</i> (%)	$\tau_M$ (ns)	<i>Inh. fluoresc.</i> (%)
<i>PAnD0</i>	0,53	0	6,93	0
<i>PAnD25</i>	0,14	74	3,47	50
<i>PAnD75</i>	0,04	92	1,63	74

Las distribuciones de tiempos de vida obtenidas para PAnD25 y PAnD75 en DCM se muestran en la Figura 91. Ambas distribuciones muestran una sub-distribución nueva, centrada en  $\sim 800$  ps, a diferencia de la distribución de tiempo de vida de PAnD0. El peso relativo (RW) de este nuevo sub-conjunto aumenta claramente al incrementarse la concentración de amina desactivante en la nanopartícula. Esta sub-distribución que no se observa en el estudio de la emisión de PAnD0, puede relacionarse con los resultados observados para la desactivación de PAnD0 por DMA a altas concentraciones (ver Tabla 21, página 128). Tanto el derivado de antraceno como el de amina están covalentemente unidos a la matriz polimérica, por lo que el *quenching* “dinámico” observado no involucra traslación (difusión) de los reactivos. En concordancia, las distribuciones de tiempos de vida no muestran el comportamiento típico observado para un proceso de *quenching* bimolecular (Figura 80, página 127). Consecuentemente, estos subconjuntos con  $\tau_{M1} \sim 800$  ps deberían representar un proceso de *quenching* de primer orden. En principio este proceso puede atribuirse al *quenching* por Te a larga distancia del fluoróforo antracénilo por la DMA. Esta suposición parece estar de acuerdo con la desaparición gradual del segundo ( $\tau_{M2} \sim 4$  ns) y tercer ( $\tau_{M3} \sim 10$  ns) sub-conjuntos al aumentar la concentración de la especie desactivante en la matriz polimérica. Aparentemente, los fluoróforos que no están siendo desactivados durante el tiempo de vida del estado excitado, perciben microentornos

similares a los hallados en la PAnD0 (Figura 91). Obviamente la existencia de estos fluoróforos “aislados” se vuelve menos frecuente con el aumento de la concentración de *quencher* en las matrices poliméricas.

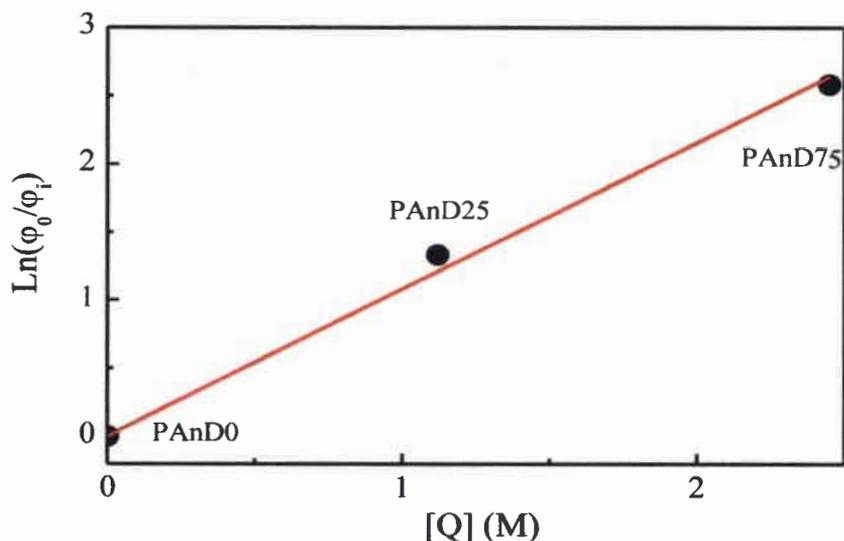
Se utilizó el modelo de Perrin para estimar la distancia crítica entre el aceptor (A) y el donador (D) - $R_{AD}$  - para el proceso de *quenching* global. A partir de los valores de  $\varphi_f$  y  $\tau_M$  experimentales (Tabla 22) y de acuerdo a:

$$\ln\left(\frac{\varphi_{fPAnD0}}{\varphi_{fPAnDi}}\right) = \frac{4\pi N_A}{3R_{AD}^3} [Q]$$

**Ecuación 43**

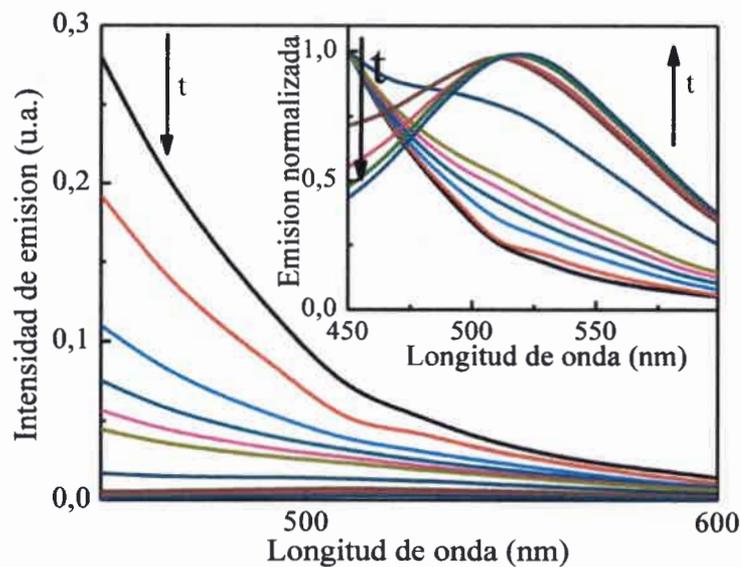
donde  $i=25$  o  $75$ , dependiendo de la nanopartícula estudiada y  $[Q]$  es la concentración de *quencher* (D), la cual se calcula a partir de la mezcla prepolimérica (Tabla 7, página 80), resultando  $1,12M$  y  $2,45M$  para PAnD25 y PAnD75, respectivamente. Se obtuvo una correlación lineal (Figura 92), lo cual sugiere que las moléculas de amina donoras se encuentran alrededor del fluoróforo antraceno según una distribución de Poisson. De este gráfico, se calculó la distancia crítica promedio  $R_{AD} \sim 7,5 \text{ \AA}$ . Como se mencionó anteriormente, una fracción importante de desactivación fue indetectable para el equipo de TCSPC usado. La componente de *quenching* “inmediata” (indetectable), probablemente ocurre a distancias de separación  $A^*/D$  muy pequeñas, cercanas al contacto. Entonces la componente “lenta” (el tiempo de vida menor determinado dada la resolución del equipo) representada por la sub-distribución con  $\tau_M \sim 800 \text{ ps}$ , correspondería a procesos de Te fotoinducida a  $R > 7.5 \text{ \AA}$ .

Como se muestra en la Figura 88, el máximo de emisión para el exciplexo intrapartícula es observado a  $510-520 \text{ nm}$ . Para estimar la polaridad sensada por este exciplexo, se utilizó el gráfico de Lipper-Mataga confeccionado para el exciplexo intermolecular 9-MA/DMA (Figura 66, página 112). Los resultados indican que el exciplexo intra-Np esta sensando una polaridad intermedia entre acetato de etilo y éter etílico. Esto podría significar que el solvente (DCM) no penetra completamente la matriz polimérica.



**Figura 92.** Gráfico de Perrin (Ecuación 43) para el *quenching* “total” por Te intra- Nps del fluoróforo antracénilo en función de la concentración del derivado de DMA (Q).

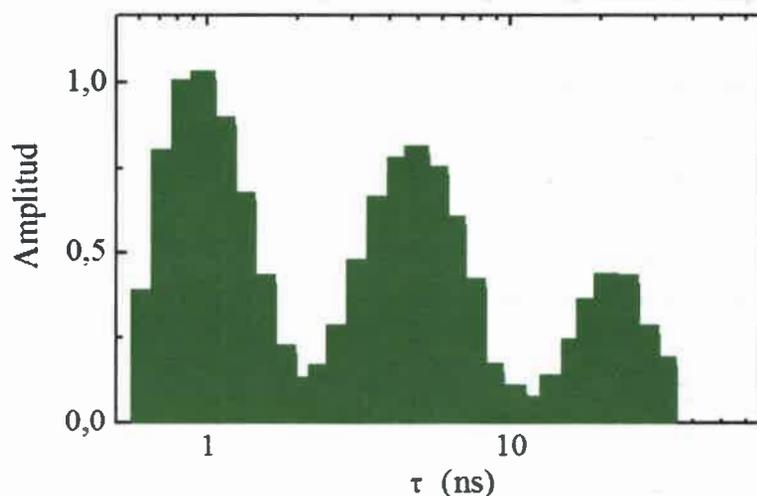
Además se obtuvo información acerca de los procesos de formación-desactivación del excíplejo intrapartícula a partir de medidas de fluorescencia resueltas en el tiempo. En la Figura 93 se muestra el espectro de emisión resuelto en el tiempo (TRES), para la PAnD75 en DCM en la región del espectro correspondiente a 450-600 nm. Considerando la resolución del equipo TCSPC utilizado, la formación del excíplejo es instantánea. A tiempos de vida cortos el espectro muestra principalmente la emisión del fluoróforo antracénilo, el cual se extiende hasta 550 nm. Cuando la emisión de la molécula poliaromática desaparece, se observa el espectro característico del excíplejo. En la Tabla 21 (ver página 144), se incluyen los resultados obtenidos del análisis de distribución de tiempos de vida por EI, de la emisión del excíplejo a 520 nm (Figura 94). La distribución que se obtiene es tri-modal. Los dos primeros subconjuntos, centrados a  $\sim 1$  ns y 5 ns, se pueden atribuir al decaimiento del estado singlete del antracénilo (ver Figura 91). El último pico ( $\tau_M \sim 21$  ns) corresponde al decaimiento del excíplejo intrapartícula. Este tiempo de vida es similar al observado para el excíplejo 9-MA/DMA en medio fluido (Tabla 19, página 111).



**Figura 93.** Espectro de emisión resuelto en el tiempo (TRES) obtenido de una dispersión de PAnD75 en DCM (2.5 mg/ml). Longitud de onda de excitación: 378 nm. Los espectros de emisión corresponden a 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 10; 20; 30; 40 y 50 ns luego del pulso de excitación.

**Tabla 23.** Parámetros obtenidos en el análisis de distribución de tiempos de vida para el exciploje Ant/D intrapartícula en PAnD75. Longitud de onda de excitación 378nm. T: 298 K.

	Valor (ns)	$\sigma_i$ (ns)	$RW_i$ (%)
$\tau_1$	0,97	0,2	8
$\tau_2$	4,0	0,7	29
$\tau_3$	21,0	2,5	63



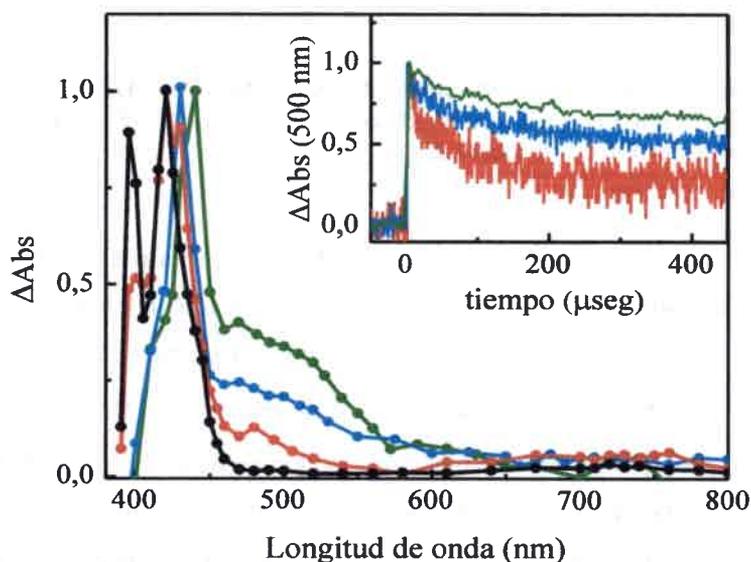
**Figura 94.** Distribuciones de tiempos de vida calculadas para PANd75 en DCM a 298 K. Longitud de onda de excitación: 378 nm. Longitud de onda de emisión: 520 nm. El  $\chi^2$  obtenido fue de 1,080. La concentración de la dispersión de Np fue de 2,5 mgr/ml.

Los espectros de absorción de especies transitorias (normalizados) para PANd25 y PANd75 en DCM, tomados a 1  $\mu$ seg después de la excitación del pulso del láser, bajo atmósfera de argón, se muestran en la Figura 95. Se observa la absorción característica del estado triplete excitado del grupo antraceno ( $\sim$ 430 nm) y de  $DMA^+$  ( $\sim$ 480 nm). La detección de  $DMA^+$  puede considerarse una clara evidencia de que en el sistema existe Te fotoinducida intrapartícula. Debido a su alta reactividad, el anión radical del Ant no puede ser observado en la escala de tiempo estudiada ( $\mu$ seg). En la Figura 95 se comparan las absorciones de especies transitorias obtenidas para las distintas Np y para PANd0 también se muestra el espectro correspondiente con agregado de DMA. Se observó el mismo comportamiento ya mencionado para el antraceno, bandas intensas en la región cercana a 430 nm, que son asignadas al estado triplete del cromóforo antraceno.<sup>132</sup> Los pequeños cambios en la posición de la banda de absorción del triplete del Ant para las diferentes Np puede deberse a los cambios en la naturaleza química del entorno polimérico que rodea los grupos Ant. Cuando a la suspensión de PANd0 se le agrega DMA (0,4 M) se observa la aparición de una nueva banda con un máximo a 480 nm, que corresponde al la  $DMA^{+}$ <sup>146</sup>.

Es importante notar que la cantidad de iones formados, y por lo tanto la eficiencia de transferencia de carga, se incrementa con la fracción molar del monómero D presente en las distintas Np (ver Tabla 8 - página 80- y Figura 95).

Los tiempos de vida de la  $DMA^+$  generada en las distintas Np (gráfico inserto en Figura 95) muestran la siguiente tendencia:

$$\tau_{DMA^+}^{PAnD75} > \tau_{DMA^+}^{PAnD25} > \tau_{DMA^+}^{PAnD0+DMA0.4M}$$



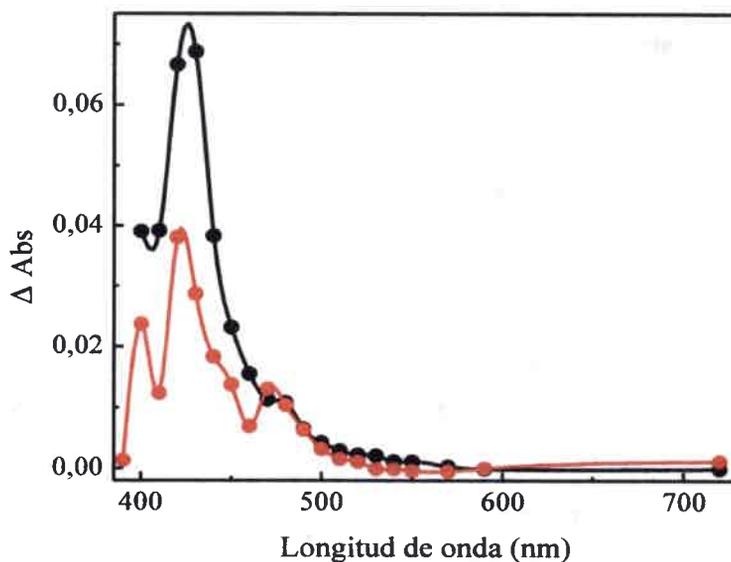
**Figura 95.** Espectros de especies transitorias normalizados correspondientes a PAnD0 (negro), PAnD0 + DMA (0,4M) (rojo), PAnD25 (azul) y PAnD75 (verde), obtenidos a 1  $\mu$ seg después del pulso de excitación del láser y sus perfiles de decaimientos correspondientes a 480 nm (gráfico inserto). Los espectros fueron obtenidos en atmósfera de argón. Solvente: DCM; excitación del láser a 355 nm.

Considerando que la absorción del anión radical de Ant muestra una serie de picos en la región comprendida entre 650-750 nm<sup>152</sup>, el cual es muy similar al espectro del 9-MA<sup>152</sup>, es un hecho inesperado que en nuestros experimentos no se detecte este producto de la Te. Dicha especie cargada negativamente podría reaccionar con impurezas presentes en la matriz polimérica impidiendo su observación. Se ha observado que el Ant<sup>-</sup> reacciona de

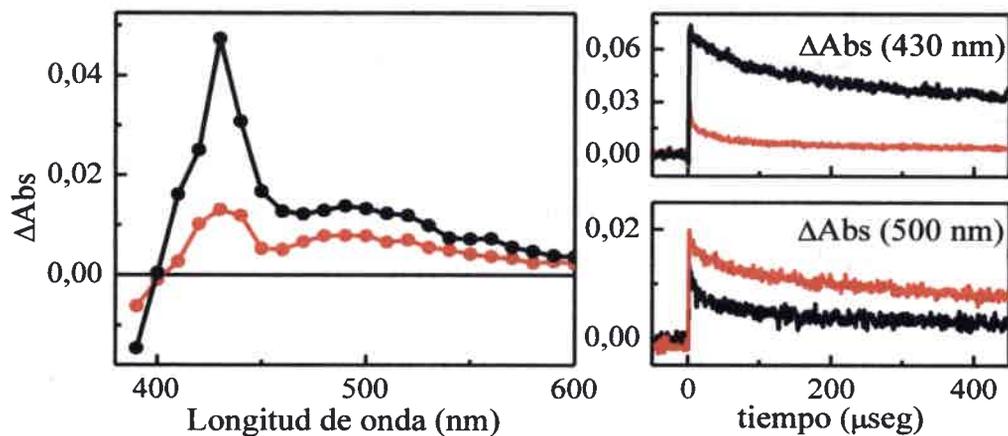
forma inmediata con una amplia variedad de sustratos (incluidos trazas de agua que pueda contener el solvente), imposibilitando su detección en la escala temporal de los  $\mu\text{seg}$ .<sup>140, 145, 152-154</sup> Teniendo en cuenta que ambos iones radicalarios son producidos en igual proporción y que el coeficiente de absorción molar del anión radical antraceno ( $\epsilon$ :  $10.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  a  $720 \text{ nm}$ ) es aproximadamente el doble que el de la  $\text{DMA}^{\cdot-}$  ( $480 \text{ nm}$ ;  $\epsilon$ :  $4700 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), ambos considerados en sus respectivos máximos<sup>146, 152, 155, 156</sup>, la única explicación razonable es que los tiempos de vida de ambas especies sean muy distintos. Si el tiempo de vida del anión radical antraceno es muy corto, su detección en la ventana temporal accesible por esta técnica ( $\mu\text{seg}$ ) no sería posible.

Debido a que el espectro de absorción triplete- triplete de la DMA es similar a su catión radical, es decir el triplete de DMA tiene una absorción ( $\epsilon$ :  $5000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  a  $465 \text{ nm}$ )<sup>147</sup> que se superpone con la del catión radical de DMA ( $480 \text{ nm}$ ;  $\epsilon$ :  $4700 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) se llevaron a cabo experimentos en presencia de oxígeno. Bajo estas condiciones, los estados tripletes son desactivados selectivamente y así se excluye la posibilidad de que la absorción con máximo en la región de  $\sim 480 \text{ nm}$  se deba a  $\text{DMA}^{\cdot-}$  sino al producto de la Te ( $\text{DMA}^{\cdot+}$ ).

En las Figuras 96 y 97 se muestran las experiencias con oxígeno donde se obtuvieron los espectros para PANd0 + DMA y PANd25, respectivamente. En ambos casos hubo un importante decrecimiento del triplete del antraceno, mientras que la banda centrada a  $480 \text{ nm}$  no se ve apreciablemente afectada. Estos resultados confirman la formación del catión radical de la DMA y por lo tanto corrobora el proceso de transferencia de carga en las Np. En la Figura 97 se muestra el efecto del oxígeno sobre las especies transitorias en una solución de PANd25. Como evidencia adicional, las trazas de decaimiento a diferentes longitudes de onda en el rango  $460\text{-}520 \text{ nm}$  revelan la existencia de dos especies.



**Figura 96.** Espectro de especies transitorias para PANd0 + DMA (0,33M) en DCM, en atmósfera de argón (rojo) y en atmósfera de aire (negro) a 15  $\mu$ seg luego del pulso del láser. Longitud de onda de excitación: 355 nm.



**Figura 97.** Izquierda: Espectro de especies transitorias para PANd25 en DCM, en atmósfera de argón (rojo) y en atmósfera de aire (negro) a 3  $\mu$ seg luego del pulso del láser. Derecha: Decaimientos correspondientes a 430 nm y 500 nm. Longitud de onda de excitación: 355 nm.

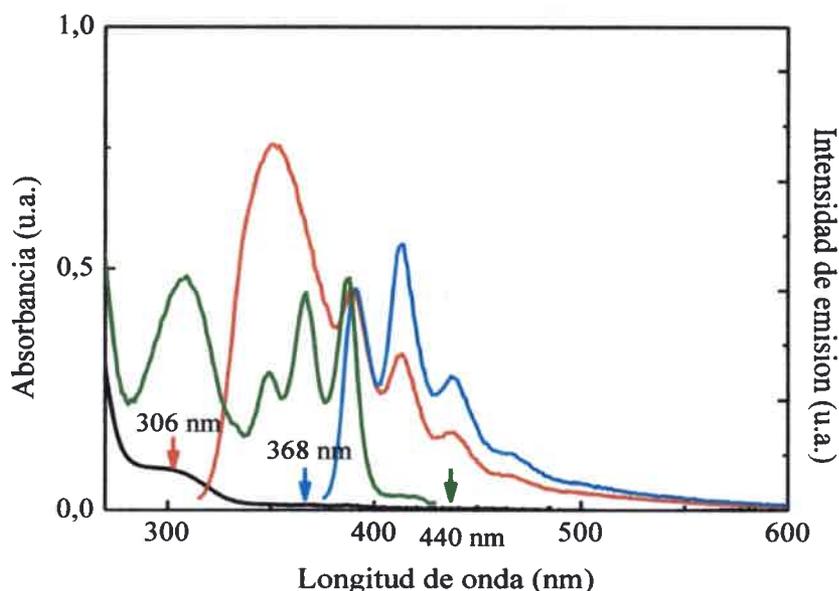
### 5.4.1.1- Conclusiones parciales en la sección 5.4.1

Resumiendo los resultados de esta sección:

- A partir del análisis de los espectros de absorción, excitación y emisión obtenidos para las dispersiones de PAnD25 y PAnD75 en DCM, se puede concluir que existe un eficiente proceso de Te intrapartícula.
- Por comparación de los porcentajes de desactivación de Ant\* en PAnD25 y PAnD75 obtenidos del análisis de rendimientos cuánticos de fluorescencia y de tiempos de vida medio de fluorescencia, se puede concluir que el *quenching* intrapartícula del fluoróforo antraceno involucra componentes estáticos y una población de fluoróforo cuya fluorescencia fue desactivada y no pudo ser detectada a partir del análisis del decaimiento de fluorescencia. El *quenching* no implica, sin embargo, la traslación de los reactantes en la matriz polimérica debido a que se encuentran unidos covalentemente a la misma (medio rígido). Las distribuciones de tiempos de vida obtenidos pueden correlacionar con la proximidad entre Ant y D.
- Los espectros de emisión de PAnD25 y PAnD75 muestran una banda asignable al exciplexo Ant/D intrapartícula. Los resultados indican que el exciplexo intra-Np está sensando una polaridad intermedia entre acetato de etilo y éter etílico.
- Los espectros de absorción de especies transitorias para PAnD25 y PAnD75 muestran claramente la banda de absorción asignada al catión radical de D lo cual es una clara evidencia de Te intrapartícula. Debido a su alta reactividad, el anión radical del Ant no puede ser observado en la escala de tiempo estudiada ( $\mu\text{seg}$ ). La cantidad de iones formados, y por lo tanto, la eficiencia de transferencia de carga, se incrementa con la fracción molar del monómero D presente en las distintas Np.

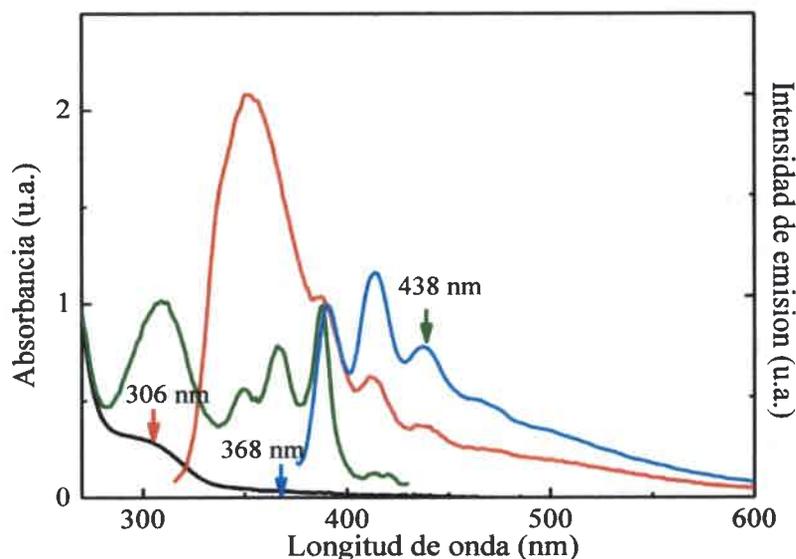
#### 5.4.2- Procesos de TE intra-Np

En la Figura 98 se observan los espectros de absorción y emisión de una dispersión de PAnD25 en THF (0,15 mg/ml) tras la excitación preferencial del cromóforo amina a 306 nm se observa una banda de fluorescencia alrededor de 350 nm (línea roja) correspondiente a la DMA. Adicionalmente también aparece la emisión del Ant entre 370-500 nm. Excitando a 368 nm donde absorbe exclusivamente el poliaromático se observa su espectro de emisión característico (línea azul). Se debe notar que el espectro de emisión que muestra la combinación de ambas especies excitadas (DMA\* y Ant\*-línea roja-) no puede originarse a partir de la excitación directa del poliaromático ya que a esta particular longitud de onda (306 nm) la fracción de luz absorbida por este es despreciable comparada con la de la amina aromática.



**Figura 98.** Espectro de absorción (negro) de una dispersión de PAnD25 de concentración 0,15 mg/ml en THF. Los espectros de emisión fueron obtenidos a partir de la excitación de la muestra a 368 nm (azul) y a 306 nm (rojo). El espectro de excitación se obtuvo colectando la luz a 440 nm (verde). Las flechas indican las longitudes de onda de excitación y emisión correspondientes.

En la Figura 98 se muestra también el espectro de excitación, monitoreando la emisión a 440 nm, que corresponde a uno de los máximos de emisión de Ant (línea verde). Como se puede apreciar el espectro tiene contribuciones tanto del cromóforo Ant como de la D y estos resultados pueden interpretarse como una evidencia de un proceso de TE singlete-singlete de D\* hacia el Ant. Al excitar en la región donde absorbe la amina (306 nm), D\* le transfiere energía a un grupo antracénico cercano. Por lo tanto, a partir de la emisión de Ant se pueden observar ambas especies. Estas observaciones realizadas para PAnD25, también se observan en el caso de suspensiones de PAnD75 en THF (Figura 99).



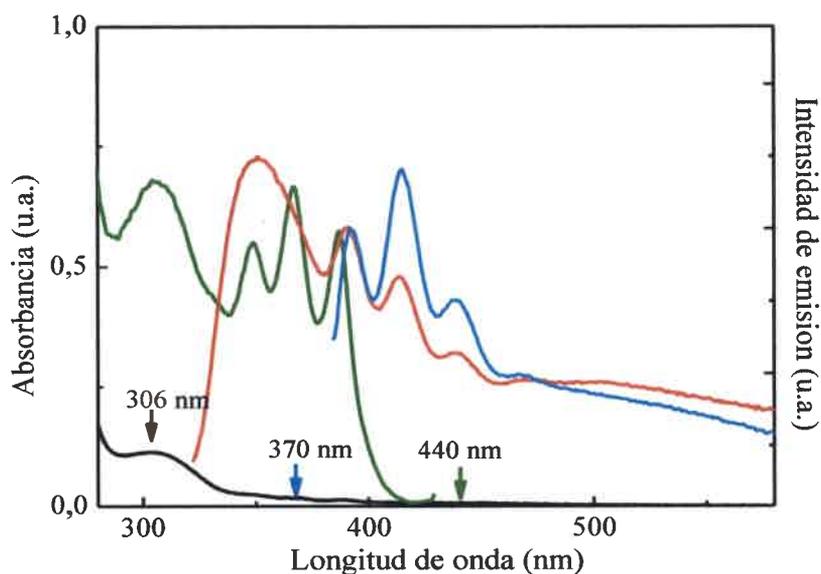
**Figura 99.** Espectro de absorción (negro) de una dispersión de PAnD75 de concentración 0,02 mg/ml en THF. Los espectros de emisión obtenidos a partir de la excitación de la muestra a 368 nm (azul) y a 306 nm (rojo) y de excitación colectando la luz a 438 nm (verde). Las flechas indican las longitudes de onda de excitación y emisión correspondientes.

Las medidas de anisotropía respaldaron esta hipótesis. En las Figuras 86 y 87 (páginas 136 y 137, respectivamente) se muestran las medidas de anisotropía de excitación para las PAnD25 y PAnD75, respectivamente. En ambos sistemas cuando se observa la emisión correspondiente al poliaromático excitando a longitudes de onda correspondiente a la amina (306 nm), que corresponde a los círculos negros en ambas figuras, los valores de

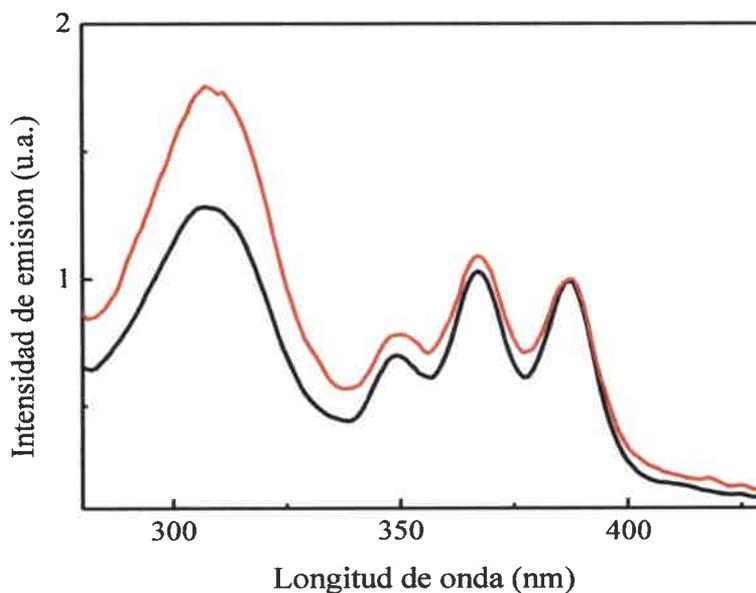
anisotropía obtenidos son bajos y en la región correspondiente a la absorción del Ant crece significativamente ( $\langle r \rangle \sim 0,15-0,18$  a 370 nm), lo cual se condice con el hecho de que la TE es un factor de depolarización de la luz. Estos resultados son consistentes al mecanismo de TE por resonancia Föster. La TE tiene lugar desde  $D^*$  a los cromóforos de Ant orientados aleatoriamente lo que involucra la depolarización completa de la emisión poliaromática.

Se debe aclarar que los estudios concernientes a la TE se realizaron en THF, debido a que como se discutió en la sección 5.4.3, hay evidencia de una desactivación de  $^1D^*$  por el DCM. Por lo tanto se descartó este solvente clorado en la preparación de las suspensiones de Np para el estudio de TE ya que este proceso compite con el proceso de *quenching* por DCM en la desactivación de  $D^*$ . En la Figura 100 se muestran los espectros de emisión excitando a Ant (370 nm) y a D (306 nm) para PAnD75 en DCM. También se muestra en la figura el espectro de excitación colectando la luz a 440 nm, correspondiente a la emisión de Ant. Comparando el espectro de emisión al excitar a 306 nm –línea roja- de esta figura con el de la Figura 99 que corresponde a PAnD75 en THF, se observa que la relación de bandas entre la emisión de D y Ant es marcadamente diferente, evidenciando una mayor TE en THF.

En la Figura 101 se muestran los espectros de excitación, monitoreando la emisión a 500 nm, que corresponde a la emisión del exciplexo Ant/D para PAnD25 y PAnD75 en THF. Como se puede apreciar los espectros obtenidos tienen contribuciones tanto del cromóforo Ant como de D y estos resultados sugieren una TE singlete-singlete de  $D^*$  hacia el Ant, muy próximos. Al excitar en la región donde absorbe la amina (280-330 nm),  $D^*$  le transfiere energía a un grupo antracénico cercano. El Ant  $^*$  resultante por TE ya próximo a la molécula de D dadora de energía, forma a su vez el exciplexo de forma simultánea. Por lo tanto, a partir de la emisión del exciplexo se pueden observar ambas especies. Adicionalmente cuando se excita directamente al Ant, este reacciona con una D cercana dando lugar a la formación del exciplexo.



**Figura 100.** Espectro de absorción (negro) de una dispersión de PAnD75 de concentración 0,02 mg/ml en DCM. Los espectros de emisión obtenidos a partir de la excitación de la muestra a 370 nm (azul) y a 306 nm (rojo) y de excitación colectando la luz a 440 nm. Las flechas indican las longitudes de onda de excitación y emisión correspondientes.

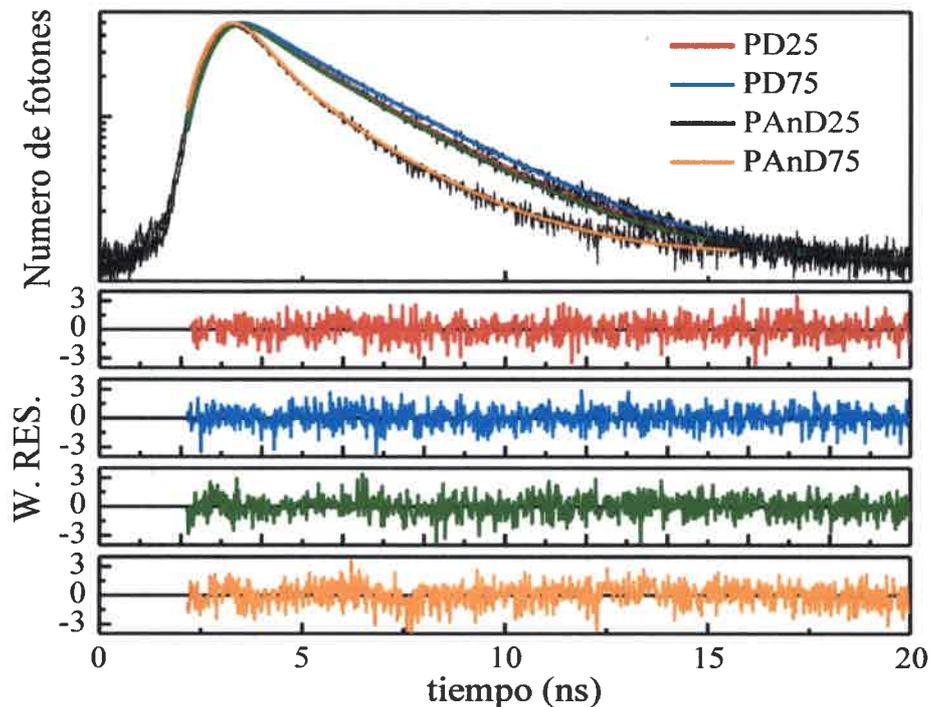


**Figura 101.** Espectros de excitación de PAnD25 (negro) y PAnD75 (rojo) en THF. Concentración de PAnD25: 0,15 mg/ml y de PAnD75: 0,02 mg/ml. Longitud de onda de emisión 500 nm.

Se realizaron estudios de emisión resuelta en el tiempo para el grupo D incorporado en las Np (PAnD25 y PAnD75) en THF. Los perfiles de decaimiento de emisión luego de la excitación pulsada a 297 nm se muestra en la Figura 102. En la misma figura se muestran los decaimientos de emisión para PD25 y PD75. Como se puede observar el decaimiento de PAnD75, es más rápido (tiempo de vida menor) que para PD75, lo cual se puede atribuir a un proceso de desactivación del estado excitado de la D por la presencia del fluoróforo antraceno. Dicho proceso, como ya se mencionó, podría corresponder a la TE desde D\* hacia el Ant. En las Tablas 16 y 17 (páginas 108 y 107) se encuentran los datos pertinentes al análisis multiexponencial y de distribución de tiempos de vida). Los resultados observados en ambas tablas muestran claramente que  $\tau_M$  de D para PD es mayor para PAnD, dado que la presencia de Ant, desactiva a  $^1D^*$  por TE.

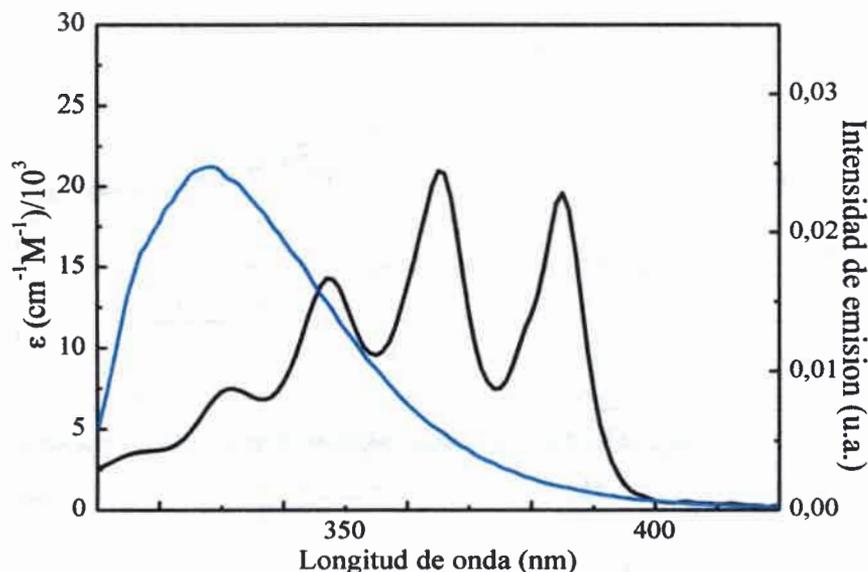
Los valores de  $E_{00}$  reportados para D y A son de 429 y 316 kJ/mol,<sup>99</sup> respectivamente. Esto permite calcular un  $\Delta E_{00} \sim -113$  kJ/mol para el proceso de TE. La distancia crítica ( $R_0$ ) para el proceso de TE de resonancia de Förster, se calculó a partir de la Ecuación 21 (página 41), a partir del solapamiento del espectro de emisión de la DMA y el de absorción del 9-MA (ver Figura 103), asumiendo un factor de orientación  $\kappa^2 = 2/3$ . El valor de  $R_0$  obtenido fue  $\sim 27$  Å. Por lo tanto el proceso de TE de Förster es favorable. En un principio la TE tipo Dexter también sería posible. Este mecanismo requiere una distancia de separación de contacto entre A/D (Te) y en estas circunstancias la formación directa del par de iones radicales ocurriría precedida por la TE. En otras palabras la TE vía este mecanismo no podría ser detectada.

En principio una estimación de la eficiencia de TE intrapartícula ( $\Phi_{TE}$ ) puede ser calculada vía la comparación de las medidas experimentales de  $\varphi_f$  (o  $\tau_M$ ) para PAnD25, PAnD75, Np-Ant-25 y PD75. Como se muestra en la Tabla 24 (página 157), los valores de  $\varphi_f$  y  $\tau_M$  estimados para PAnD25 son ligeramente menores que para PD25. Sin embargo los valores para PAnD75 y PD75 son significativamente diferentes.



**Figura 102.** Perfiles de decaimientos de emisión (medidas de TCSPC) (líneas negras) y los ajustes correspondientes (líneas de color) obtenidos para PD25 (rojo), PD75 (azul), PAnD25 (verde) y PAnD75 (naranja) en THF (298 K). Las muestras sin desoxygenar fueron excitadas con un LED a 297 nm. Se colectó la fluorescencia en el máximo de emisión de la muestra:  $\sim 350$  nm. Valor de  $\chi^2$  obtenido fue de: 0,997 (PD25); 1,005 (PD75); 1,003 (PAnD25) y 1,024 (PAnD75). En los gráficos inferiores se muestran los residuales correspondientes al ajuste. Las muestras fueron preparadas en celdas de 1 cm de paso óptico y absorbancia de  $\sim 0,4$  (a 297 nm).

En la Figura 104, se comparan las distribuciones de tiempos de vida de estas dos clases de nanopartículas. Se puede discernir que la distribución para PAnD75 se mueve a tiempos de vida menores y se vuelve más ancha que la obtenida para PD75, lo cual sugiere procesos de TE altamente heterogéneos. La distribución de tiempos de vida muestra además una tercer sub-distribución a  $\sim 4$  ns. Es necesario notar que dado el bajo  $\varphi_f$  observado para PAnD75 a 350 nm, se utilizaron rendijas de emisión relativamente anchas para obtener perfiles de decaimientos aceptables en un tiempo de adquisición razonable. Por lo que el tercer sub-conjunto puede ser atribuido a luz proveniente de la emisión sensibilizada del Ant.



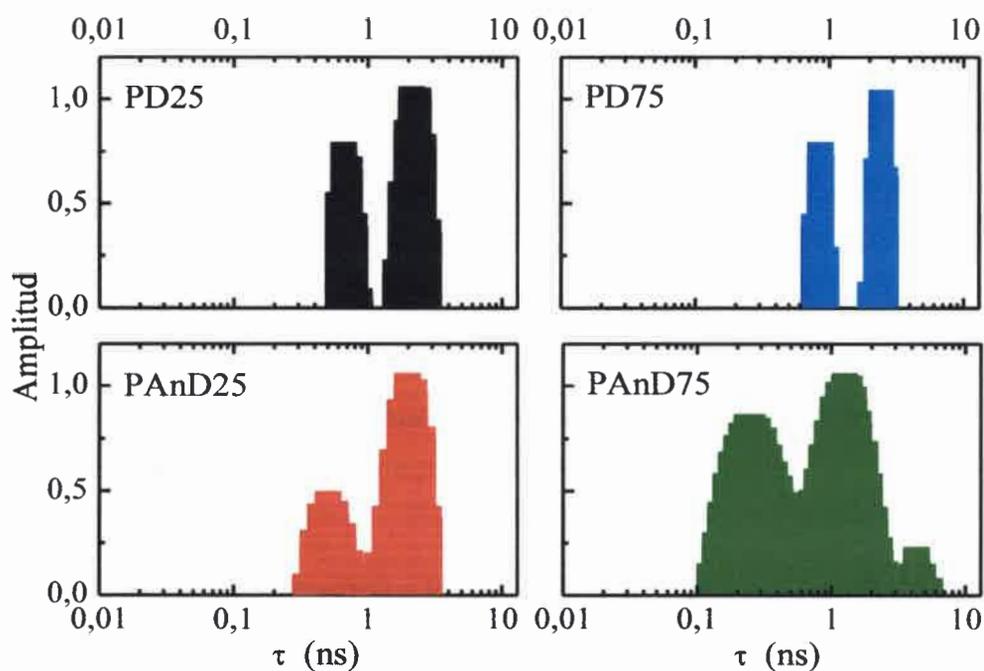
**Figura 103.** Espectros de absorción para 9-MA en c-hexano (negro) y de emisión para DMA (azul), excitando a 306 nm. Solapamiento de los espectros, para el cálculos de  $R_0$  para TE.

De los datos experimentales en la Tabla 24, valores aproximados de  $\Phi_{TE}$  se calcularon de acuerdo a:

$$\Phi_{TE} = 1 - \frac{\varphi_f^{PDi}}{\varphi_f^{PAnDi}} = 1 - \frac{\tau_M^{PDi}}{\tau_M^{PAnDi}}$$

**Ecuación 44**

donde  $i = 25$  o  $75$ , es el porcentaje de derivado de DMA, referido a las distintas nanopartículas estudiadas: PD, son las Np que solo tienen el donador de energía (D) incorporado y PAD tienen aceptor (Ant) y dador de Energía incorporado. Entonces, para PAnD25 y PAnD75, se obtuvieron valores promedios de  $\sim 0,04$  ( $\pm 0,01$ ) y  $\sim 0,50$  ( $\pm 0,06$ ), respectivamente. Por otro lado, estos valores pueden ser usados para calcular la distancia de separación promedio  $D^*/A$  (R) mediante la Ecuación 23 (página 42). Los valores obtenidos fueron de  $\sim 50$  ( $\pm 5$ ) y  $\sim 27$  ( $\pm 2$ ) Å para PAnD25 y PAnD75, respectivamente. Como es de esperarse, los valores de R calculados revelan una separación del par  $D^*/A$  mucho más pequeña para PAnD75.



**Figura 104.** Distribuciones de tiempos de vida calculados para PD75 y PAnD75 en THF (298 K). Longitud de onda de excitación: 297 nm. Longitud de onda de emisión: 350 nm. El valor de  $\chi^2$  fue: 1,080 (PD75) y 1,125 (PAnD75). La concentración de las Nps fue de 0,6 mgr/ml.

**Tabla 24.** Rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\varphi_f$ ) y tiempos de vida medios ( $\tau_M$ ) obtenidos experimentalmente para distintos sistemas que contienen el fluoróforo D en THF. Y los valores correspondientes a TE de rendimiento ( $\Phi_{TE}$ ) y distancia promedio (R).

	$\varphi_f$	$\tau_M$ (ns)	$\Phi_{TE}$	R (Å)
<b>PD25</b>	0,076	1,89		
<b>PD75</b>	0,075	1,89		
<b>PAnD25</b>	0,036	1,82	$0,04 \pm 0,01$	$50 \pm 5$
<b>PAnD75</b>	0,04	0,90	$0,50 \pm 0,06$	$27 \pm 2$

#### 5.4.2.1- Conclusiones parciales en la sección 5.4.2

En resumen:

- Del análisis de los espectros de absorción, excitación y emisión obtenidos para las dispersiones de PAnD25 y PAnD75 en THF se pudo constatar la ocurrencia de un proceso de TE singlete-singlete desde D\* (donor) hacia el Ant (aceptor).
- Los resultados de medidas de anisotropía de fluorescencia estacionaria son consistentes al mecanismo de TE del tipo Föster. La TE tiene lugar desde D\* a los cromóforos de Ant orientados aleatoriamente, lo que provoca la depolarización de la emisión del poliaromático.
- La distancia crítica ( $R_0$ ) para el proceso de TE de resonancia de Föster, se calculó a partir del solapamiento del espectro de emisión de la DMA y el de absorción del 9-MA. El valor de  $R_0$  obtenido fue  $\sim 27 \text{ \AA}$ . Por lo tanto el proceso de TE de Föster es favorable. En un principio la TE tipo Dexter también es posible.
- Se determinó la  $\Phi_{TE}$  intrapartícula para PAnD25 y PAnD75, observándose valores promedios de  $\sim 0,04 (\pm 0,01)$  y  $\sim 0,50 (\pm 0,06)$ , respectivamente. La eficiencia de TE es marcadamente mayor para PAnD75, donde la distancia de separación promedio D\*/A (R) es mucho menor.

## CAPITULO VI

### Conclusiones

---

Se sintetizaron cinco tipos de nanopartículas poliméricas con el fin de estudiar procesos de Te y TE en medios microheterogéneos. Aún en estos dominios, los sistemas heterogéneos sólidos más sencillos que pudieran estudiarse, la dinámica de ambos procesos se revela muy compleja. Sin embargo, varias conclusiones interesantes surgen del análisis de los sistemas estudiados:

- A partir de los estudios de distribución de tiempos de vida (emisión resuelta en el tiempo) se observó que los fluoróforos Ant\* y DMA\* se encuentran distribuidos heterogéneamente en las nanopartículas. En las PAnD0, Ant\* es capaz de distinguir al menos dos entornos con rigidez marcadamente diferente. Un aumento en la rigidez del medio disminuye la velocidad del proceso de cruzamiento entre sistemas, lo cual se manifiesta en un incremento del  $\varphi_f$  y del tiempo de vida promedio del estado excitado. Resultados similares son observados para DMA\* en las PD25 y PD75.
- El *quenching* de la emisión de Ant\* en las dispersiones de Np PAnD0 por DMA en solución es debido a un proceso de Te controlado por difusión. Si bien los resultados pueden ser interpretados usando un modelo simple que considera la existencia de fluoróforos con distintas accesibilidades al *quencher*, el análisis de la distribución de tiempos de vida muestra que la complejidad del proceso de *quenching* es mucho mayor.
- La desactivación de Ant\* intrapartícula en PAnD25 y PAnD75 ocurre vía un mecanismo de Te. La observación de la emisión del exciplexo  $^1(\text{Ant/DMA})^*$  y la formación de iones radicales libres en estudios de LFP permitieron corroborar este

mecanismo. El proceso de *quenching* intrapartícula es básicamente estático y puede explicarse razonablemente usando el modelo de Perrin.

- A partir de medidas de absorción UV-Vis y de fluorescencia estacionaria se demostró la existencia de un proceso de TE entre DMA\* y Ant en PAnD. La eficiencia de este proceso aumenta claramente con la disminución de la distancia promedio entre el dador y el aceptor de energía. El proceso ocurre vía mecanismo de Förster.
- Finalmente, este estudio también permitió demostrar la factibilidad de la síntesis de nanopartículas poliméricas capaces de ser dispersadas en solventes orgánicos. Este resultado es de suma importancia ya que abre la posibilidad de sintetizar distintas nanopartículas para diversas aplicaciones tecnológicas.

---

## VI. Referencias

---

1. M. A. Winnik, *Photophysical and photochemical tools in polymer science*, Springer, 1986.
2. S. T. Correale and N. S. Murthy, Simultaneous thermal and structural measurements of oriented polymers by DSC/XRD using an area detector, *Adv. X-Ray Anal.*, 1989, **32**, 617-632.
3. B. Chu and B. S. Hsiao, Small-angle X-ray scattering of polymers, *Chem. Rev.*, 2001, **101**, 1727-1762.
4. J. Guillet, *Polymer photophysics and photochemistry: an introduction to the study of photoprocesses in macromolecules*, Cambridge University Press, New York, 1985.
5. S. Farid, P. Martic, R. Daly, D. Thompson, D. Specht, S. Hartman and J. Williams, Selected aspects of photochemistry in polymer media, *Pure Appl. Chem.*, 1979, **51**, 241-259.
6. C. Lindstrom and X. Zhu, Photoinduced electron transfer at molecule-metal interfaces, *Chem. Rev.*, 2006, **106**, 4281-4300.
7. B. O'regan and M. Gratzel, A low-cost, high-efficiency solar cell based on dye-sensitized, *Nature*, 1991, **353**, 737-740.
8. M. Grätzel, Photoelectrochemical cells, *Nature*, 2001, **414**, 338-344.
9. U. Bach, D. Lupo, P. Comte, J. Moser, F. Weissörtel, J. Salbeck, H. Spreitzer and M. Grätzel, Solid-state dye-sensitized mesoporous TiO<sub>2</sub> solar cells with high photon-to-electron conversion efficiencies, *Nature*, 1998, **395**, 583-585.
10. J. B. Asbury, E. Hao, Y. Wang, H. N. Ghosh and T. Lian, Ultrafast Electron Transfer Dynamics from Molecular Adsorbates to Semiconductor Nanocrystalline Thin Films, *J. Phys. Chem. B*, 2001, **105**, 4545-4557.
11. A. P. Kulkarni, C. J. Tonzola, A. Babel and S. A. Jenekhe, Electron Transport Materials for Organic Light-Emitting Diodes, *Chem. Mater.*, 2004, **16**, 4556-4573.
12. P.-T. Chou and Y. Chi, Phosphorescent Dyes for Organic Light-Emitting Diodes, *Chem. Eur. J.*, 2007, **13**, 380-395.
13. M. C. Gather, A. Köhnen and K. Meerholz, White Organic Light-Emitting Diodes, *Adv. Mater.*, 2011, **23**, 233-248.
14. J. Mabeck and G. Malliaras, Chemical and biological sensors based on organic thin-film transistors, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, **384**, 343-353.
15. C. D. Dimitrakopoulos and P. R. Malenfant, Organic thin film transistors for large area electronics, *Adv. Mater.*, 2002, **14**, 99-117.
16. H. Sirringhaus, Device Physics of Solution-Processed Organic Field-Effect Transistors, *Adv. Mater.*, 2005, **17**, 2411-2425.
17. J. Zaumseil and H. Sirringhaus, Electron and ambipolar transport in organic field-effect transistors, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 1296-1323.
18. J. C. Scott and L. D. Bozano, Nonvolatile Memory Elements Based on Organic Materials, *Adv. Mater.*, 2007, **19**, 1452-1463.

19. B. Liu and G. C. Bazan, Optimization of the Molecular Orbital Energies of Conjugated Polymers for Optical Amplification of Fluorescent Sensors, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 1188-1196.
20. J. Kong, N. R. Franklin, C. Zhou, M. G. Chapline, S. Peng, K. Cho and H. Dai, Nanotube Molecular Wires as Chemical Sensors, *Science*, 2000, **287**, 622-625.
21. H. Miyasaka, S. R. Khan and A. Itaya, Photoinduced electron transfer dynamics in aromatic vinyl polymers and related systems: time-resolved detection of primary events, *J. Photochem. Photobiol., C*, 2003, **4**, 195-214.
22. Y. Shirota, Organic materials for electronic and optoelectronic devices, *J. Mater. Chem.*, 2000, **10**, 1-25.
23. Y. Sun, N. C. Giebink, H. Kanno, B. Ma, M. E. Thompson and S. R. Forrest, Management of singlet and triplet excitons for efficient white organic light-emitting devices, *Nat Mater*, 2006, **440**, 908-912.
24. B. Geffroy, P. le Roy and C. Prat, Organic light-emitting diode (OLED) technology: materials, devices and display technologies, *Polym. Int.*, 2006, **55**, 572-582.
25. J. V. Beitz and J. R. Miller, Exothermic rate restrictions on electron transfer in a rigid medium, *J. Chem. Phys.*, 1979, **71**, 4579.
26. A. Ito, D. J. Stewart, Z. Fang, M. K. M. K. Brennaman and T. J. Meyer, Sensitization of ultra-long-range excited-state electron transfer by energy transfer in a polymerized film, *PNAS*, 2012, **109**, 15132-15135.
27. P. J. S. Gomes, C. Serpa, R. M. D. Nunes, L. G. Arnaut and S. o. J. Formosinho, Exothermic Rate Restrictions in Long-Range Photoinduced Charge Separations in Rigid Media, *J. Phys. Chem. A*, 2010, **114**, 2778-2787.
28. O. S. Wenger, B. S. Leigh, R. M. Villahermosa, H. B. Gray and J. R. Winkler, Electron Tunneling Through Organic Molecules in Frozen Glasses, *Science*, 2005, **307**, 99-102.
29. M. A. Fox, Introduction - Electron Transfer: A Critical Link between Subdisciplines in Chemistry, *Chem. Rev.*, 1992, **92**, 365-368.
30. A. Ponce, H. B. Gray and J. R. Winkler, Electron Tunneling through Water: Oxidative Quenching of Electronically Excited Ru(tpy)<sub>2</sub><sup>2+</sup> (tpy = 2,2':6,2' '-terpyridine) by Ferric Ions in Aqueous Glasses at 77 K, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 8187-8191.
31. T. Guarr, M. E. McGuire and G. McLendon, Long range photoinduced electron transfer in a rigid polymer, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 5104-5111.
32. H. Ohkita and S. Ito, Transient absorption spectroscopy of polymer-based thin-film solar cells, *Polymer*, 2011, **52**, 4397-4417.
33. M. R. Vigil, J. Bravo, T. Atvars and J. Baselga, Photochemical sensing of semicrystalline morphology in polymers: pyrene in polyethylene, *Macromolecules*, 1997, **30**, 4871-4876.
34. K. Landfester, Recent developments in miniemulsions — formation and stability mechanisms, *Macromol. Symp.*, 2000, **150**, 171-178.
35. K. Landfester, The Generation of Nanoparticles in Miniemulsions, *Adv. Mater.*, 2001, **13**, 765-768.
36. P. Lianos, Fluorescence probe study of the interaction between pyrene and microemulsion-polymerized styrene, *J. Phys. Chem.*, 1982, **86**, 1935-1937.

37. S. S. Atik and J. K. Thomas, Polymerized microemulsions, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 4279-4280.
38. S. S. Atik and J. K. Thomas, Photochemistry in polymerized microemulsion systems, *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 5868-5874.
39. S. Atik and J. K. Thomas, Photoinduced reactions in polymerized microemulsions, *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, **105**, 4515-4519.
40. L. M. Gan, T. H. Chieng, C. H. Chew and S. C. Ng, Microporous Polymeric Materials from Microemulsion Polymerization, *Langmuir*, 1994, **10**, 4022-4026.
41. A. Hammouda, T. Gulik and M. P. Pileni, Synthesis of Nanosize Latexes by Reverse Micelle Polymerization, *Langmuir*, 1995, **11**, 3656-3659.
42. N. Munshi, T. K. De and A. Maitra, Size Modulation of Polymeric Nanoparticles under Controlled Dynamics of Microemulsion Droplets, *J. Colloid Interface Sci.*, 1997, **190**, 387-391.
43. X.-a. Fu and S. Qutubuddin, Polymerization of Styrene with a Polymerizable Cationic Surfactant in Three-Component Microemulsions, *Langmuir*, 2002, **18**, 5058-5063.
44. J. P. Schillemans, F. M. Flesch, W. E. Hennink and C. F. van Nostrum, Synthesis of Bilayer-Coated Nanogels by Selective Cross-Linking of Monomers inside Liposomes, *Macromolecules*, 2006, **39**, 5885-5890.
45. B. Kriwet, E. Walter and T. Kissel, Synthesis of bioadhesive poly(acrylic acid) nano- and microparticles using an inverse emulsion polymerization method for the entrapment of hydrophilic drug candidates, *J. Controlled Release*, 1998, **56**, 149-158.
46. J. K. Oh, R. Drumright, D. J. Siegwart and K. Matyjaszewski, The development of microgels/nanogels for drug delivery applications, *Prog. Polym. Sci.*, 2008, **33**, 448-477.
47. M. Yan and O. Ramström, eds., *Molecularly imprinted materials: science and technology*, CRC press, New York, 2005.
48. E. Commission, *Third European Report on Science & Technology Indicators*, Office for Official Publications of the European Communities, Brusellas, 2003.
49. G. Schmid, *Nanoparticles: from theory to application*, Wiley-VCH, Verlag GmbH, Weinheim, 2004.
50. K. E. Geckeler and E. Rosenberg, eds., *Functional nanomaterials*, American Scientific Publishers, Valencia, USA, 2006.
51. M. Hosokawa, K. Nogi, M. Naito and T. Yokoyama, eds., *Nanoparticle technology handbook*, Elsevier, Amsterdam 2007.
52. K. E. Geckeler and H. Nishide, eds., *Advanced nanomaterials*, John Wiley & Sons, New York, 2009.
53. X. Wang, C. J. Summers and Z. L. Wang, Large-scale hexagonal-patterned growth of aligned ZnO nanorods for nano-optoelectronics and nanosensor arrays, *Nano Lett.*, 2004, **4**, 423-426.
54. J. Jang and J. H. Oh, Novel crystalline supramolecular assemblies of amorphous polypyrrole nanoparticles through surfactant templating, *Chem. Commun.*, 2002, 2200-2201.

55. H. Fudouzi and Y. Xia, Photonic papers and inks: color writing with colorless materials, *Adv. Mater.*, 2003, **15**, 892-896.
56. S. Brahim, D. Narinesingh and A. Guiseppi-Elie, Amperometric determination of cholesterol in serum using a biosensor of cholesterol oxidase contained within a polypyrrole-hydrogel membrane, *Anal. Chim. Acta*, 2001, **448**, 27-36.
57. Q. Zhang and K. T. Chuang, Adsorption of organic pollutants from effluents of a Kraft pulp mill on activated carbon and polymer resin, *Adv. Environ. Res*, 2001, **5**, 251-258.
58. J. P. Rao and K. E. Geckeler, Polymer nanoparticles: preparation techniques and size-control parameters, *Prog. Polym. Sci.*, 2011, **36**, 887-913.
59. D. Urban and K. Takamura, *Polymer dispersions and their industrial applications*, Wiley-VCH, Weinheim, 2002.
60. G. Odian, *Principles of polymerization*, John Wiley & Sons, New York, Fourth edn., 2004.
61. P. C. Hiemenz, *Polymer chemistry: the basic concepts*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1984.
62. D. Braun, H. Cherdrón, M. Rehahn, H. Ritter and B. Voit, *Polymer Synthesis: Theory and Practice*, Springer, Germany, fourth edn., 2005.
63. B. Agboola and T. Nyokong, Electrocatalytic oxidation of chlorophenols by electropolymerised nickel(II) tetrakis benzylmercapto and dodecylmercapto metallophthalocyanines complexes on gold electrodes, *Electrochim. Acta*, 2007, **52**, 5039-5045.
64. H. Cherdrón and M. Rehahn, *Polymer synthesis: theory and practice; fundamentals, methods, experiments*, Springer, 2013.
65. F. M. Fowkes and K. Shinoda, Solvent Properties of Surfactant Solutions, by K. Shinoda, *Marcel Dekker, New York*, 1967, 65.
66. K. Martinek, A. Yatsimirsky, A. Levashov, I. Beresin and K. Mittal, *Micellization, solubilization, and microemulsions*, Plenum Press, New York- London, 1977.
67. K. L. Mittal, *Solution chemistry of surfactants*, Plenum Press New York, 1979.
68. H.-F. Eicke and G. D. Parfitt, *Interfacial phenomena in apolar media*, CRC Press, 1987.
69. S. Hayashi and S. Ikeda, Micelle size and shape of sodium dodecyl sulfate in concentrated sodium chloride solutions, *J. Phys. Chem.*, 1980, **84**, 744-751.
70. C. Tanford, Micelle shape and size, *J. Phys. Chem.*, 1972, **76**, 3020-3024.
71. P. S. Goyal, B. A. Dasannacharya, V. K. Kelkar, C. Manohar, K. Srinivasa Rao and B. S. Valaulikar, Shapes and sizes of micelles in CTAB solutions, *Physica B*, 1991, **174**, 196-199.
72. H. De Bruyn, C. M. Miller, D. R. Bassett and R. G. Gilbert, Emulsion Polymerization of Vinyl neo-Decanoate, a "Water-Insoluble" Monomer, *Macromolecules*, 2002, **35**, 8371-8377.
73. Y. Dong and D. C. Sundberg, Radical Entry in Emulsion Polymerization: Estimation of the Critical Length of Entry Radicals via a Simple Lattice Model, *Macromolecules*, 2002, **35**, 8185-8190.
74. J. Puig, Microemulsion polymerization (oil-in water), in *Polymeric materials encyclopedia*, ed. J. Salamone, CRC Press Inc, Boca Raton, USA, 1996.

75. M. Antonietti and K. Landfester, Polyreactions in miniemulsions, *Prog. Polym. Sci.*, 2002, **27**, 689-757.
76. H.-P. Hentze and E. W. Kaler, Polymerization of and within self-organized media, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2003, **8**, 164-178.
77. R. de Vries, C. C. Co and E. W. Kaler, Microemulsion Polymerization. 2. Influence of Monomer Partitioning, Termination, and Diffusion Limitations on Polymerization Kinetics, *Macromolecules*, 2001, **34**, 3233-3244.
78. B. Valeur, *Molecular fluorescence: principles and applications*, Wiley-VCH, Weinheim, 2002.
79. J. R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*, Springer, New York, third edn., 2006.
80. N. J. Turro, V. Ramamurthy and J. C. Scaiano, *Principles of molecular photochemistry: an introduction*, University science books, 2009.
81. G. J. Kavarnos and N. J. Turro, Photosensitization by reversible electron transfer: theories, experimental evidence, and examples, *Chem. Rev.*, 1986, **86**, 401-449.
82. N. J. Turro, *Modern molecular photochemistry*, University Science Books, 1991.
83. J. Verhoeven, Glosario de términos usados en fotoquímica, 2ª edición Recomendaciones de la Comisión de Fotoquímica de la IUPAC, 1996 IUPAC, *Glossary of terms used in photochemistry en Pure and Applied Chemistry*, 1999, **68**, 2223-2286.
84. J. T. Edward, Molecular volumes and the Stokes-Einstein equation, *J. Chem. Educ.*, 1970, **47**, 261.
85. F. Perrin, *C.R. Hebd. Seances Acad. Sci.*, 1924, **178**, 1978-1980.
86. F. Perrin, Théorie quantique des transferts d'activation entre molécules de même espèce. Cas des solutions fluorescentes, *Ann. Phys. (Paris)*, 1932, **17**, 283-314.
87. J. B. Leblond, G. Perrin and P. Suquet, Exact results and approximate models for porous viscoplastic solids, *International Journal of Plasticity*, 1994, **10**, 213-235.
88. A. Ito, Z. Fang, M. K. Brennaman and T. J. Meyer, Long-range photoinduced electron transfer dynamics in rigid media, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2014, **16**, 4880-4891.
89. M. J. Pilling and S. A. Rice, Long range energy transfer by dipole-dipole and exchange interactions in rigid media and in liquids, *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*, 1976, **72**, 792-801.
90. C. Solis, V. Grosso, N. Faggioli, G. Cosa, M. Romero, C. Previtali, H. Montejano and C. Chesta, Estimation of the solvent reorganization energy and the absolute energy of solvation of charge-transfer states from their emission spectra, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2010, **9**, 675-686.
91. A. Reddy, J. Thipperudrappa, D. Biradar, M. Lagare and S. Hanagodimath, Fluorescence quenching of anthracene by aniline in different solvents, *Indian J. Pure Appl. Phys.*, 2004, **42**, 648-652.
92. R. Akatsuka, A. Momotake, Y. Shinohara, Y. Kanna, T. Sato, M. Moriyama, K. Takahashi, Y. Nishimura and T. Arai, Observation of anthracene excimer fluorescence at very low concentrations utilizing dendritic structures, *J. Photochem. Photobiol., A*, 2011, **223**, 1-5.

93. J. K. McVey, D. M. Shold and N. C. Yang, Direct observation and characterization of anthracene excimer in solution, *J. Chem. Phys.*, 1976, **65**, 3375-3376.
94. J. Martinho, Heavy-atom quenching of monomer and excimer pyrene fluorescence, *J. Phys. Chem.*, 1989, **93**, 6687-6692.
95. J. B. Birks, D. J. Dyson and I. H. Munro, 'Excimer' Fluorescence. II. Lifetime Studies of Pyrene Solutions, *Proc. R. Soc. London, Ser. A*, 1963, **275**, 575-588.
96. H. Beens, H. Knibbe and A. Weller, Dipolar Nature of Molecular Complexes Formed in the Excited State, *J. Chem. Phys.*, 1967, **47**, 1183-1184.
97. G. N. Taylor, E. A. Chandross and A. H. Schiebel, Geometry of intermolecular aromatic hydrocarbon-dialkylaniline exciplexes, *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, **96**, 2693-2697.
98. G. Zhang, J. K. Thomas, A. Eremenko, T. Kikteva and F. Wilkinson, Photoinduced Charge-Transfer Reaction between Pyrene and N,N'-Dimethylaniline on Silica Gel Surfaces, *J. Phys. Chem. B*, 1997, **101**, 8569-8577.
99. N. Beens and A. Weller, Excited molecular  $\pi$ -complexes in solution, in *Organic molecular photophysics*, ed. J. Birks, Wiley and Sons, New York, 1975, pp. 159-215.
100. J. B. Birks, *Photophysics of aromatic molecules*, John Wiley & Sons, New York, 1970.
101. P. Klán and J. Wirz, *Photochemistry of organic compounds: From concepts to practice*, John Wiley & Sons, New York, 2009.
102. M. Inokuti and F. Hirayama, Influence of Energy Transfer by the Exchange Mechanism on Donor Luminescence, *J. Chem. Phys.*, 1965, **43**, 1978-1989.
103. G. D. Scholes, Long-range resonance energy transfer in molecular systems, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 2003, **54**, 57-87.
104. J.-L. Brédas, D. Beljonne, V. Coropceanu and J. Cornil, Charge-transfer and energy-transfer processes in  $\pi$ -conjugated oligomers and polymers: a molecular picture, *Chem. Rev.*, 2004, **104**, 4971-5004.
105. H. C. van de Hulst, *Light scattering by small particles*, Courier Dover Publications, 2012.
106. A. A. Kokhanovsky, ed., *Light Scattering Reviews-Single and Multiple Light Scattering*, Springer in association with Praxis, Chichester, UK, 2006.
107. W. Schártl, *Light scattering from polymer solutions and nanoparticle dispersions*, Springer, Germany, 2007.
108. A. Grinvald and I. Z. Steinberg, On the analysis of fluorescence decay kinetics by the method of least-squares, *Anal. Biochem.*, 1974, **59**, 583-598.
109. M. G. Badea and L. Brand, [17] Time-resolved fluorescence measurements, *Methods Enzymol.*, 1979, **61**, 378-425.
110. W. R. Ware, L. J. Doemeny and T. L. Nemzek, Deconvolution of fluorescence and phosphorescence decay curves. Least-squares method, *J. Phys. Chem.*, 1973, **77**, 2038-2048.
111. J. Vecer, A. Kowalczyk, L. Davenport and R. Dale, Reconvolution analysis in time-resolved fluorescence experiments—an alternative approach: Reference-to-excitation-to-fluorescence reconvolution, *Rev. Sci. Instrum.*, 1993, **64**, 3413-3424.

112. M. Van den Zegel, N. Boens, D. Daems and F. De Schryver, Possibilities and limitations of the time-correlated single photon counting technique: a comparative study of correction methods for the wavelength dependence of the instrument response function, *Chem. Phys.*, 1986, **101**, 311-335.
113. M. Zuker, A. Szabo, L. Bramall, D. Krajcarski and B. Selinger, Delta function convolution method (DFCM) for fluorescence decay experiments, *Rev. Sci. Instrum.*, 1985, **56**, 14-22.
114. D. R. James, D. R. Demmer, R. E. Verrall and R. P. Steer, Excitation pulse-shape mimic technique for improving picosecond-laser-excited time-correlated single-photon counting deconvolutions, *Rev. Sci. Instrum.*, 1983, **54**, 1121-1130.
115. A. Siemiarz, B. D. Wagner and W. R. Ware, Comparison of the maximum entropy and exponential series methods for the recovery of distributions of lifetimes from fluorescence lifetime data, *J. Phys. Chem.*, 1990, **94**, 1661-1666.
116. M. A. El-Kemary and I. M. El-Mehasseb, Global and distribution analysis of fluorescence decays and spectrofluorimetric determination of stoichiometry and association constant of the inclusion complex of 2-amino-5,6-dimethylbenzimidazole with  $\beta$ -cyclodextrin, *Talanta*, 2004, **62**, 317-322.
117. Riccarton and Currie, *Operating Instructions*, Edinburgh Analytical Instruments, Edinburgh, UK, EHI4 4AP, 1995.
118. J. Malicka, R. Ganzynkiewicz, M. g. Groth, C. Czaplewski, J. Karolczak, A. Liwo and W. a. Wicz, Fluorescence decay time distribution analysis of cyclic enkephalin analogues; Influence of solvent and Leu configuration in position 5 on conformation, *Acta Biochim. Pol.*, 2001, **48**, 95-102.
119. B. Wandelt, P. Turkewitsch, S. Wysocki and G. D. Darling, Fluorescent molecularly imprinted polymer studied by time-resolved fluorescence spectroscopy, *Polymer*, 2002, **43**, 2777-2785.
120. B. W. Rossiter and A. Weissberger, *Physical methods of chemistry*, John Wiley & Sons, New York, 1993.
121. E. Blatt, F. E. Treloar, K. P. Ghigginio and R. G. Gilbert, Viscosity and temperature dependence of fluorescence lifetimes of anthracene and 9-methylanthracene, *J. Phys. Chem.*, 1981, **85**, 2810-2816.
122. E. Drougas, J. G. Philis and A. M. Kosmas, Ab initio study of the structure of aniline in the S1 and S2  $\pi\pi^*$  states, *J. Mol. Struct.: THEOCHEM*, 2006, **758**, 17-20.
123. R. C. Murdock, L. Braydich-Stolle, A. M. Schrand, J. J. Schlager and S. M. Hussain, Characterization of nanomaterial dispersion in solution prior to in vitro exposure using dynamic light scattering technique, *Toxicological Sciences*, 2008, **101**, 239-253.
124. M. Kaszuba, D. McKnight, M. T. Connah, F. K. McNeil-Watson and U. Nobbmann, Measuring sub nanometre sizes using dynamic light scattering, *Journal of Nanoparticle Research*, 2008, **10**, 823-829.
125. I. B. Berlman, *Handbook of Fluorescence Spectra of Aromatic Molecules*, ACS Publications, New York and London, second edn., 1971.
126. C. Wang, J. Xu and R. G. Weiss, Factors Influencing Orientations of Covalently-Attached and Doped Aromatic Groups in Stretched Polyethylene Films, *J. Phys. Chem. B*, 2003, **107**, 7015-7025.

127. K. L. Tan and F. E. Treloar, Solubilization of 9-methylanthracene by the hypercoiled form of poly(methacrylic acid) in water: fluorescence decay and rotational diffusion measurements, *Chem. Phys. Lett.*, 1980, **73**, 234-239.
128. M. J. Tiera and M. G. Neumann, Anthracene- Bound Fluorescence Studies of Methacrylic Acid-co-Methylmethacrylate Copolymers *J. Braz. Chem. Soc.*, 1995, **6**, 191-197.
129. D. O. Cowan and R. L. Drisko, *Elements of organic photochemistry*, Plenum Press New York, 1976.
130. M. F. Budyka and M. V. Alfimov, Photochemical reactions of complexes of aromatic amines with polyhalomethanes, *Russ. Chem. Rev.*, 1995, **64**, 705.
131. M. Mac, J. Najbar and J. Wirz, Fluorescence quenching of derivatives of anthracene by organic electron donors and acceptors in acetonitrile. Electron and proton transfer mechanism, *Chem. Phys. Lett.*, 1995, **235**, 187-194.
132. M. Ottolenghi, C. R. Goldschmidt and R. Potashnik, Intersystem crossing in the charge-transfer quenching of molecular fluorescence, *J. Phys. Chem.*, 1971, **75**, 1025-1031.
133. L. Ebersson, Electron-transfer reactions in organic chemistry, *Adv. Phys. Org. Chem.*, 1982, **18**, 79-185.
134. J. Keizer, Nonlinear fluorescence quenching and the origin of positive curvature in Stern-Volmer plots, *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, **105**, 1494-1498.
135. Y. H. Zhao, M. H. Abraham and A. M. Zissimos, Fast Calculation of van der Waals Volume as a Sum of Atomic and Bond Contributions and Its Application to Drug Compounds, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 7368-7373.
136. W. R. Ware, D. Watt and J. D. Holmes, Exciple photophysics. I. The  $\alpha$ -Cyanonaphthalene-Olefin System, *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, **96**, 7853-7860.
137. M. S. Altamirano, M. del Valle Bohorquez, C. M. Previtali and C. A. Chesta, Proton-Transfer Mediated Quenching of Pyrene/Indole Charge-Transfer States in Isooctane Solutions, *J. Phys. Chem. A*, 2008, **112**, 589-593.
138. M. Ottolenghi, Charge-transfer complexes in the excited state. Laser photolysis studies, *Acc. Chem. Res.*, 1973, **6**, 153-160.
139. G. P. Zanini and H. A. Montejano, Solvent Effects in the Electron Transfer Quenching of the Triplet State of Anthracene by p-Benzoquinones, *Bol. Soc. Chil. Quím.*, 2001, **46**, 81-90.
140. T. Okada, T. Fujita, M. Kubota, S. Masaki, N. Mataga, R. Ide, Y. Sakata and S. Misumi, Intramolecular electron donor-acceptor interactions in the excited state of (anthracene)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-(N,N-dimethylaniline) systems, *Chem. Phys. Lett.*, 1972, **14**, 563-568.
141. W. D. Oosterbaan, M. Koeberg, J. Piris, R. W. A. Havenith, C. A. van Walree, B. R. Wegewijs, L. W. Jenneskens and J. W. Verhoeven, N,N-Dialkylanilines: The S<sub>1</sub> State Absorption Spectrum and Efficient Intramolecular Triplet-Triplet Energy Transfer to an Olefinic Bond, *J. Phys. Chem. A*, 2001, **105**, 5984-5989.
142. J. C. del Valle, A. M. Turek, N. D. Tarkalanov and J. Saltiel, Distortion of the Fluorescence Spectrum of Anthracene with Increasing Laser Pulse Excitation Energy, *J. Phys. Chem. A*, 2002, **106**, 5101-5104.

143. X. Allonas and P. Jacques, Factors affecting adiabaticity in bimolecular photoinduced electron transfer reaction between anthracene derivatives and organic donors, *Chem. Phys.*, 1997, **215**, 371-378.
144. C. Zimmermann, M. Mohr, H. Zipse, R. Eichberger and W. Schnäbel, Photoionization of anthracene and anthracene derivatives, *J. Photochem. Photobiol., A*, 1999, **125**, 47-56.
145. T. Okada, M. Kawai, T. Ikemachi, N. Mataga, Y. Sakata, S. Misumi and S. Shionoya, Picosecond laser spectroscopy of dual excited electronic states of 4-(9-anthryl)-N,N-dimethylaniline, *J. Phys. Chem.*, 1984, **88**, 1976-1981.
146. T. Shida, *Electronic absorption spectra of radical ions*, Elsevier Amsterdam, 1988.
147. C. A. Chesta, J. J. Cosa and C. M. Previtali, The N,N-dimethylaniline-photosensitized dechlorination of chlorobenzenes, *J. Photochem.*, 1986, **32**, 203-215.
148. S. Hashimoto and J. K. Thomas, Fluorescence study of pyrene and naphthalene in cyclodextrin-amphiphile complex systems, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 4655-4662.
149. H. Morimoto, A. Hashidzume and Y. Morishima, Fluorescence studies of associative behavior of cationic surfactant moieties covalently linked to poly(acrylamide) at the surfactant head or tail, *Polymer*, 2003, **44**, 943-952.
150. E. R. Carraway, J. N. Demas and B. A. DeGraff, Luminescence quenching mechanism for microheterogeneous systems, *Anal. Chem.*, 1991, **63**, 332-336.
151. N. Song, H. Zhu, S. Jin, W. Zhan and T. Lian, Poisson-Distributed Electron-Transfer Dynamics from Single Quantum Dots to C60 Molecules, *ACS Nano*, 2010, **5**, 613-621.
152. S. U. Pedersen, T. Bo Christensen, T. Thomasen and K. Daasbjerg, New methods for the accurate determination of extinction and diffusion coefficients of aromatic and heteroaromatic radical anions in N,N-dimethylformamide, *J. Electroanal. Chem.*, 1998, **454**, 123-143.
153. Y. Taniguchi and N. Mataga, Formation of ion radicals from the non-relaxed state of excited charge transfer systems, *Chem. Phys. Lett.*, 1972, **13**, 596-599.
154. S. Arai, H. Ueda, R. F. Firestone and L. M. Dorfman, Pulse-Radiolysis Observation of Molecular Cations of Aromatic Compounds in Halogenated Liquids, *J. Chem. Phys.*, 1969, **50**, 1072-1077.
155. I. Amada, M. Yamaji, S. i. Tsunoda and H. Shizuka, Laser photolysis studies of electron transfer between triplet naphthoquinones and amines, *J. Photochem. Photobiol., A*, 1996, **95**, 27-32.
156. K. R. Naqvi and T. B. Melø, Reduction of tetranitromethane by electronically excited aromatics in acetonitrile: Spectra and molar absorption coefficients of radical cations of anthracene, phenanthrene and pyrene, *Chem. Phys. Lett.*, 2006, **428**, 83-87.

73220

U.N.R.C  
Biblioteca Central



73220