

66067
T.560

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PORCAL, G.V.
Fotofísica y Fotoquímica

2009 66067

***FOTOFÍSICA Y FOTOQUÍMICA DE
COLORANTES FENOXAZÍNICOS EN
MEDIO HOMOGÉNEO Y SISTEMAS
ORGANIZADOS***

TESIS DOCTORAL EN CIENCIAS QUÍMICAS

Gabriela Valeria Porcal

Río Cuarto, Marzo de 2009



CREER.CREAR.CRECER



El presente trabajo de tesis fue realizado en el departamento de química, Facultad de Ciencias Exactas Físicoquímicas y Naturales, y se presenta como requerimiento para optar al grado de doctor en Ciencias Químicas.

Director de tesis:


Dra. Sonia G. Bertolotti

Codirector de tesis:

Dr. Carlos M. Previtali

Aprobado por el jurado:

Dr. Edgardo Durantini



Dr. Daniel Mártire



Dr. Héctor Gsponer



Río Cuarto, Marzo 2009

66067

MFN:
Clasif:
66067
T-560

Agradecimientos

Gracias a todos los que colaboraron de una forma u otra en la realización de esta Tesis.

En especial:

A Carlos Previtali por su enseñanza y colaboración a lo largo de mi carrera doctoral.

A Sonia Bertolotti por dirigirme. Por el tiempo que destinó para contribuir a mi formación científica.

A Marcela Altamirano, por su gran colaboración y amistad.

A Fernando, el amor de mi vida, por apoyarme durante todo este tiempo, por aceptarme y sobre todo por amarme.

A los miembros del jurado: Héctor, Edgardo y Daniel, por sus aportes y sugerencias.

A mis padres, Osvaldo y Gladys, quienes me dieron la posibilidad de iniciarme en la vida universitaria.

A mi querida hermana, Andrea, por su comprensión y a quien le agradezco por mi sobrino Mateo, quienes siempre han estado a mi lado, sobre todo en los momentos difíciles.

A Juan y Titi porque siempre estuvieron dispuestos a colaborar en todos los aspectos de mi vida.

A mis amigas de siempre: Evangelina, Ivana, Eugenia y Verónica por su amistad y por todos los hermosos momentos que compartimos.

A mis amigos de la Universidad: Adrián, Luciana y Carolina por acompañarme a lo largo de todos estos años y con quienes viví momentos muy agradables.

A mis compañeros y no docentes del departamento de Química: Carlos S., Walter M., Alicia B., Mariano C., Daniel, Gaby, Inés, Diego P., Rosita, Cacho y Maricel quienes de alguna manera colaboraron en la realización de este trabajo.

A Alejandro y Silvia, mis suegros, por la ayuda que siempre me brindaron.

A la Universidad Nacional de Río Cuarto, por haberme facilitado sus instalaciones para desarrollar esta Tesis.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina (CONICET), por financiar esta etapa de mi formación.

*Los quiero mucho a todos...
gracias, gracias y muchísimas gracias.*



Dedicado a:

 Mi familia.....
.....por su comprensión y cuidado

 Mi esposo.....
.....por su amor y apoyo incondicional

TESIS DOCTORAL EN CIENCIAS QUÍMICAS

FOTOFÍSICA Y FOTOQUÍMICA



Gabriela Valeria Porcal

Marzo de 2009

RESUMEN

Se estudió la fotofísica de los colorantes de la familia fenoxazina-3-ona, resazurina (RZ) y resorufina (RF), en medio homogéneo y sistemas organizados. Dentro de los sistemas organizados se emplearon, micelas directas de CTAC y SDS, micelas inversas de AOT y BHDC, y microemulsiones de W / O de lecitina de soja.

En primer lugar, se determinaron los parámetros fotofísicos en medio homogéneo para luego facilitar la interpretación de los resultados encontrados en los diferentes medios organizados. Con este fin se estudiaron los espectros de absorción y emisión de fluorescencia, tiempos de vida y rendimientos cuánticos de fluorescencia, espectros de absorción de transitorios, rendimientos cuánticos y coeficientes de absorción molar del estado triplete.

En presencia de micelas directas de CTAC, los espectros de absorción y de fluorescencia de ambos colorantes, muestran corrimientos hacia el rojo junto con un aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia. La atracción electrostática entre los colorantes aniónicos y los grupos cabeza polar de las moléculas de surfactante, favorece la localización de ambos colorantes en la interfase micelar. En SDS, no se observaron cambios en los espectros con respecto a agua pura, lo que sugiere que ambos colorantes se localizan en la fase acuosa debido a la repulsión electrostática con el grupo cabeza polar aniónico del surfactante.

En los sistemas micelares inversos, las propiedades espectrales dependen de la carga del surfactante y de la cantidad de agua adicionada en la laguna acuosa. En el caso de AOT, a bajo contenido acuoso, ambos colorantes se localizan en la interfase micelar y cuando el contenido acuoso incrementa las propiedades espectrales son muy similares a aquellas en agua pura. En BHDC y en las microemulsiones de lecitina de soja, ambos colorantes están localizados en la interfase micelar sensando un entorno de polaridad similar al de soluciones alcohólicas.

También se investigó el comportamiento fotoquímico de RZ en presencia de trietanolamina (TEOHA) en agua, metanol, CTAC y en microemulsiones de lecitina mediante fotólisis estacionaria. La irradiación del colorante en presencia de aminas alifáticas terciarias conduce a la formación del producto desoxigenado RF. Esta reacción procede desde el estado triplete y en ausencia de oxígeno. Un aumento de la velocidad de reacción se observó en los sistemas micelares, excepto para SDS. Se calcularon los rendimientos cuánticos de fotorreacción, encontrándose un valor mayor cuando el colorante se encuentra en micelas directas de CTAC. Este efecto es atribuido a un aumento de la concentración local de la amina en la zona donde se ubica el colorante.

ABSTRACT

The photophysics of phenoxazin-3-one dyes, resazurin (RZ) and resorufin (RF) was studied in homogeneous solution and in organized assemblies. The organized systems employed were direct micellar solutions of cetyltrimethylammonium chloride (CTAC) and sodium dodecylsulphate (SDS), reverse micelles of 1,4-bis(2-ethylhexyl) sulfosuccinate (AOT) and benzylhexadecyldimethylammonium chloride (BHDC). The studies were also performed in water-in-oil (W/O) microemulsions of soybean lecithin.

In order to compare and interpret the results in different organized media, the photophysical parameters were first determined in homogeneous solution. Absorption and fluorescence emission spectra, fluorescence quantum yields, T-T transient absorption spectra, triplet quantum yields and triplet molar absorption coefficients, as well as fluorescence lifetimes were measured.

In the presence of direct micelles of CTAC, both dyes display red shifts in the absorption and fluorescence spectra together with an increase in the fluorescence lifetime increase. The electrostatic attraction between the anionic dyes and the positive micellar interface favors the location of the dyes closer to the head groups of the surfactant molecules. However, in SDS, the spectra do not present changes as compared to pure water; it seems that the dyes are still in the water pseudophase due to electrostatic repulsions with the anionic head group of the surfactant.

In reverse micellar systems the spectral properties depend upon the charge of the surfactant and water content. In the case of AOT, at low water content both dyes were incorporated into the interface; as the water content increased their spectral properties sensed to those in pure water. In contrast, in the case of cationic surfactant and in the W/O microemulsions of soybean lecithin, the dyes were located in the interfacial pseudophase as a result of electrostatic interactions and the polarity sensed is similar to alcoholic solutions.

Also, the photochemical behavior of RZ in the presence of triethanolamine (TEOHA) in water, CTAC and in lecithin microemulsions was investigated by stationary photolysis. The irradiations of the dye in the presence of tertiary amines produce the deoxygenated RF. This reaction proceeds from the triplet state and in absence of oxygen. An increase in the reaction speed was observed in the organized systems, except for SDS. The photoreaction quantum yields were higher in direct micelles of CTAC. This effect is attributed to an increase in the local concentration of the amine in the microenvironment of the dye.

INDICE GENERAL

INDICE DE CONTENIDO	IV
INDICE DE FIGURAS	VII
INDICE DE TABLAS	XIV

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	I
ABSTRACT.....	II
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
I-1. IMPORTANCIA DEL TEMA Y OBJETIVOS	2
I-2. Presentación de capítulos	4
I-3. Aspectos teóricos.	5
I-3-1. Sistemas Organizados	5
I-3-1-1. Características generales.....	5
I-3-1-2. Micelización y concentración micelar crítica (cmc).	7
I-3-1-3. Estructura y propiedades de las micelas directas	10
I-3-1-3-1. Solubilización y organización de sustratos	12
I-3-1-4. Micelas inversas	12
I-3-1-4-1. Micelas inversas de AOT	13
I-3-1-4-2. Naturaleza del agua en la laguna acuosa.....	14
I-3-1-5. Microemulsiones	15
I-3-1-5-1. Principales aplicaciones de las microemulsiones	18
I-3-1-6. Solubilización y localización de solutos en micelas inversas y microemulsiones.....	19
I-3-1-7. Procesos de estados electrónicamente excitados.....	20
I-3-1-7-1. Efecto del medio	21
I-3-1-7-2. Fotorreacción.....	22
REFERENCIAS	24
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
II-1. Reactivos y solventes.....	28
II-2. Metodologías y equipamientos.....	28
II-2-1. Preparación de soluciones y condiciones experimentales.	28
II-2-2. Dispersión dinámica de luz (DLS).	30
	IV

II-2-3. Espectros de absorción.....	32
II-2-4. Medidas de fluorescencia.....	32
II-2-4-1. Medidas estacionarias.....	32
II-2-4-2. Medidas dinámicas.....	33
II-2-5. Fotólisis de destello láser (láser flash fotólisis).....	34
II-2-5-1. Determinación de rendimiento cuántico y coeficiente de extinción molar del estado triplete.....	37
II-2-6. Fotólisis de Estado Estacionario.....	39
II-2-6-1. Actinometría química.....	40
II-2-6-1-1. Propiedades de un actinómetro químico.....	40
II-2-6-2. Actinometría mediante fotooxidación via oxígeno singlete.....	41
II-2-6-2-1. Fotosensibilización y determinación de rendimiento cuántico de fotorreacción.....	41
REFERENCIAS.....	45

CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

MEDIO HOMOGÉNEO Y MICELAS DIRECTAS.....	46
III-1. Estudios en medio homogéneo.....	47
III-1-1. Estudios espectroscópicos.....	47
III-1-1-1. Determinación de los coeficientes de absorción molar.....	48
III-1-1-2. Efecto del solvente sobre los espectros de absorción y emisión.....	49
III-1-1-2-1. Espectros de absorción y emisión de fluorescencia en mezclas de solventes.....	52
III-1-1-3. Efecto del pH.....	55
III-1-1-4. Determinación tiempos de vida de fluorescencia.....	57
III-1-1-5. Estado excitado triplete.....	57
III-1-1-5-1. <i>Resazurina</i>	57
III-1-1-5-2. <i>Resorufina</i>	59
III-2. Estudios en medio organizado.....	60
III-2-1. Micelas directas de CTAC.....	60
III-2-1-1. Espectros de absorción y fluorescencia.....	60
III-2-1-2. Medición de los tiempos de vida de fluorescencia.....	65

III-2-1-3. Estado excitado triplete.....	66
III-2-2. Micelas directas de SDS.....	72
REFERENCIAS.....	75
 CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
MICELAS INVERSAS Y MICROEMULSIONES.....	76
IV-1. Micelas inversas de AOT.....	77
IV-1-1. Propiedades fotofísicas de RF y RZ en micelas inversas de AOT.....	77
IV-1-1-1. Absorción UV-Visible.....	77
IV-1-1-2. Fluorescencia estacionaria y resuelta en el tiempo.....	83
IV-1-1-3. Absorción del estado excitado triplete de RF y RZ en micelas inversas de AOT / n-heptano.....	90
IV-2. Micelas inversas de BHDC.....	91
IV-2-1. Propiedades fotofísicas de RF y RZ en micelas inversas de BHDC.....	91
IV-2-1-1. Absorción UV-Visible.....	92
IV-2-1-2. Fluorescencia estacionaria y resuelta en el tiempo.....	96
IV-2-1-3. Absorción del estado excitado triplete de RF y RZ en micelas inversas de BHDC / benceno.....	101
IV-3. Microemulsiones de lecitina de soja.....	106
IV-3-1. Propiedades fotofísicas de RF y RZ en microemulsiones de lecitina de soja / isooctano- 10% 1-propanol.....	106
IV-3-1-1. Espectros de absorción y emisión de fluorescencia en microemulsiones.....	106
IV-3-1-1-1. Efecto variación de la concentración de lecitina.....	106
IV-3-1-1-2. Influencia del contenido de agua de la microemulsiones.....	110
IV-3-1-1-2-1. Absorción UV-visible y emisión de fluorescencia.....	110
IV-3-1-2. Absorción del estado excitado triplete de RF y RZ en las microemulsiones de lecitina.....	115
REFERENCIAS.....	123

CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

REACCIÓN FOTOQUÍMICA	124
V-1. Fotorreacción de RZ	125
V-1-1. Efecto del medio micelar	127
V-1-2. Efecto de la concentración de amina sobre la velocidad de fotorreacción	129
V-1-3. Determinación del rendimiento cuántico de fotorreacción	132
REFERENCIAS	139

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES GENERALES.....	141
---	------------

INDICE DE FIGURAS

Figura I.1: Representación de estructuras organizadas en distintos medios	6
Figura I.2: Estructura general de un surfactante.....	7
Figura I.3: Estructuras de diferentes tipos de surfactantes.....	8
Figura I.4: Agregación de moléculas de surfactante y formación de micelas.....	9
Figura I.5: Estructura completa de una micela directa.....	11
Figura I.6: Representación esquemática de una micela inversa de AOT. (1) Laguna acuosa, (2) interfase micelar, (3) fase orgánica.....	13
Figura I.7: Diagrama de fase hipotético para un sistema de microemulsión formado por agua, aceite, surfactante y cosurfactante	16
Figura I.8: Representación esquemática de los posibles sitios de solubilización de solutos en soluciones de micelas inversas.	20
Figura I.9: Diagrama de Jablonski de los procesos fotofísicos unimoleculares.	21
Figura II.1: Radio hidrodinámico en nm de los microagregados de lecitina 0,05 M en isooctano- 10% 1-propanol en función de w a T = 25 °C.....	31
Figura II.2: Representación esquemática del equipo de conteo de fotón único.....	34
Figura II.3: Esquema equipo láser flash fotólisis utilizado para el estudio de especies transitorias.....	35

Figura II.4: Representación de una señal transitoria típica obtenida por Láser flash Fotólisis	36
Figura II.5: Actinometría utilizando la absorbancia del estado triplete de ZnTPP (470 nm) para la determinación del rendimiento cuántico de triplete a 700 nm de RF en microemulsiones de lecitina $w = 30$	38
Figura II.6: Arreglo experimental empleado para las experiencias de fotólisis.....	39
Figura III.1: (—) Espectro de absorción y (—) emisión de fluorescencia de RF ($\lambda_{exc} = 570$) en agua a pH = 8,5.....	47
Figura III.2: (—) Espectro de absorción y (—) emisión de fluorescencia de RZ ($\lambda_{exc} = 590$) en agua a pH = 8,5.....	47
Figura III.3: Ley de Lambert y Beer para RF (a 572 nm) y RZ (a 602 nm) en solución acuosa pH = 8,5.....	48
Figura III.4: Espectros de absorción normalizados (A) y espectros de emisión de fluorescencia normalizados (B) de RF en diferentes solventes.	49
Figura III.5: Espectros de absorción normalizados (A) y espectros de emisión de fluorescencia normalizados (B) de RZ en diferentes solventes.	49
Figura III.6: Diagrama de Jablonski para la fluorescencia de un fluoróforo con la relajación del solvente	50
Figura III.7: Corrimiento de Stokes de A) RF y B) RZ en función del parámetro de solvente de Brakhshiev $f(\epsilon_r, n)$	52
Figura III.8: Espectros de absorción de RF y RZ ($8,0 \times 10^{-6}$ M) en mezclas de isooctano con diferentes agregados de 1-propanol.....	53
Figura III.9: Espectros de fluorescencia corregidos de RF (8×10^{-6} M) en isooctano con diferentes % de 1-propanol a $\lambda_{exc} = 500$ nm a T = 25 °C.....	54
Figura III.10: Espectros de fluorescencia corregidos de RZ ($8,0 \times 10^{-6}$ M) en isooctano con diferentes % de 1-propanol a $\lambda_{exc} = 520$ nm a T = 25 °C.....	54
Figura III.11: Espectro de absorción de RF en agua en función del pH.....	55
Figura III.12: Espectro de absorción de RZ en agua en función del pH.....	56
Figura III.13: Espectro de absorción de transitorio de RZ en agua pH = 8,5 a diferentes tiempos: 1 μ s (●) y 80 μ s (○) después del pulso del láser	58

Figura III.14: Espectro de absorción de transitorio de RZ en 1-propanol a 1 μ s después del pulso del láser.	59
Figura III.15: Espectro de absorción de transitorio de RF en agua pH = 8,5 a diferentes tiempos: 2 μ s (●) y 150 μ s (○) después del pulso del láser	59
Figura III.16: Espectro de absorción de transitorio de RF en MeOH (□) e isopropanol (■) a 1,5 μ s luego del pulso del laser.	60
Figura III.17: Espectros de absorción de RF en agua pH = 8,5 en función de la [CTAC] a T = 25°C	61
Figura III.18: Espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 a T = 25°C en función de la [CTAC]	62
Figura III.19: Espectros de absorción de RZ y RF en CTAC 0,025 M comparado con etanol e isopropanol respectivamente.	62
Figura III.20: Espectros de emisión de fluorescencia de RF en agua pH = 8,5 en función de [CTAC].	63
Figura III.21: Espectros de emisión de fluorescencia de RZ en agua pH= 8,5 en función de [CTAC].	64
Figura III.22: Tiempos de vida de fluorescencia de los colorantes en agua pH = 8.5 con diferentes agregados de CTAC. A) RZ; B) RF.	65
Figura III.23: Espectro de absorción de transitorio de RZ en agua pH = 8,5 y CTAC 0,025 M a 25 °C a 5 μ s después del pulso del láser.....	67
Figura III.24: Espectro de absorción de transitorio de RF en agua pH = 8,5 y CTAC 0,025 M a 25 °C a 5 μ s después del pulso del láser.....	67
Figura III.25: Depleción del estado fundamental de RZ en agua pH = 8,5 y en CTAC 0,025 M a 25 °C a 5 μ s del pulso del láser.....	68
Figura III.26: Espectro de absorción de triplete de RF en agua pH = 8,5 y CTAC 0,025 M a 25 °C a 5 μ s después del pulso del láser.	69
Figura III.27: Espectro de absorción de triplete de RZ en agua pH = 8,5 y CTAC 0,025 M a 25 °C a 5 μ s después del pulso del láser.	69
Figura III.28: Actinometría utilizando la absorbancia del estado triplete de ZnTPP (470 nm) para la determinación del rendimiento cuántico de triplete a 700 nm de RF en solución acuosa y en micelas de CTAC.....	70
Figura III.29: Espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 con diferentes agregados de SDS	73

Figura III.30: Espectros de emisión de RZ en agua pH = 8,5 con diferentes agregados de SDS	73
Figura III.31: Espectros de absorción de RZ en SDS, metanol y agua pH = 8,5	74
Figura IV.1: Espectros de absorción de RF en AOT / n-heptano 0,2 M a T = 25 °C a: (—) w = 4,4 y (—) w = 40 con adición de agua pH = 8,5	78
Figura IV.2: Espectros de absorción de RF en AOT / n-heptano 0,2 M a T = 25 °C, a distintos w con adición de agua pH = 12	79
Figura IV.3: Espectros de absorción de RF en AOT / n-heptano 0.2 M a T = 25 °C, a w distintos con adición de agua pH= 12 y espectros de absorción de RF en agua a pH básico y ácido	79
Figura IV.4: Gráfico de absorbancia de RF en función del pH del agua adicionada a la micela; (●) $\lambda_{\max} = 572$ nm en solución acuosa; (○) $\lambda_{\max} = 572$ nm en micelas inversas de AOT / n-heptano 0.2 M a w = 20	80
Figura IV.5: Espectros de absorción de RZ en AOT / n-heptano 0,2 M a T = 25 °C a distintos w con adición de agua pH = 12	81
Figura IV.6: Espectros de absorción RZ en AOT / n-heptano 0,2 M a T = 25 °C a w distintos con adición de agua pH = 12 y espectros de absorción de RZ en agua a pH básico y ácido	82
Figura IV.7: Espectros de emisión de fluorescencia de RF en AOT / n-heptano a $\lambda_{\text{exc}} = 470$ nm y T = 25 °C con diferentes agregados de agua a pH = 12	83
Figura IV.8: Espectros de emisión de fluorescencia de RF en AOT / n-heptano w = 25 y en agua pH = 8, a $\lambda_{\text{exc}} = 550$ nm y T = 25 °C	84
Figura IV.9: Espectros de emisión de fluorescencia de RF en AOT / n-heptano a $\lambda_{\text{exc}} = 550$ nm y T = 25 °C en función de w con agua pH = 12.	84
Figura IV.10: Intensidad de fluorescencia de RF en AOT / n-heptano a $\lambda = 583$ nm en función de w ($\lambda_{\text{exc}} = 550$ nm)	85
Figura IV.11: Perfil del decaimiento de fluorescencia de RF en AOT / n-heptano a w = 6. Curva sólida representa el mejor ajuste de los puntos experimentales	86
Figura IV.12: Distribución de tiempos de vida de fluorescencia de RF en AOT/n-heptano a) w = 25, b) w = 30 y c) agua pH = 8,5	87



Figura IV.13: Espectros de fluorescencia de RZ en AOT / n-heptano a $\lambda_{exc} = 535$ nm y $T = 25$ °C con diferentes agregados de agua a pH = 12.....	88
Figura IV.14: Espectros de fluorescencia de RZ en AOT / n-heptano a $\lambda_{exc} = 590$ nm y $T = 25$ °C con diferentes agregados de agua a pH = 12.....	89
Figura IV.15: Espectros de fluorescencia de RZ en agua pH = 8,5 y en AOT w = 25 a $T = 25$ °C	89
Figura IV.16: Intensidad de fluorescencia de RZ en AOT / n-heptano a $\lambda = 640$ nm en función de w.....	90
Figura IV.17: Espectro de absorción de transitorio en AOT 0,2 M w = 30 a $T = 25$ °C a 2 μ s del pulso del laser, A) RZ, B) RF.....	91
Figura IV.18: Absorción de RF en BHDC / benceno 0,1 M en función w con agua pH = 12 a $T = 32$ °C.....	92
Figura IV.19: Absorción de RF en BHDC / benceno 0,1 M a $T = 32$ °C a diferente w con agua pH = 12, en benceno y en agua a pH ácido y básico.....	93
Figura IV.20: Espectros de absorción de RZ en BHDC / benceno 0,1 M en función w con agua pH = 12 a $T = 32$ °C.....	94
Figura IV.21: Espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 y en BHDC / benceno 0,1 M w = 17.....	95
Figura IV.22: Espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 con distintos agregados de BHDC / agua pH = 8,5 a $T = 32$ °C.....	95
Figura IV.23: Espectros de emisión de fluorescencia corregidos de RF en BHDC / benceno en función de w con agua pH = 12 a $\lambda_{exc} = 588$ nm y $T = 32$ °C.....	96
Figura IV.24: Intensidad de fluorescencia de RF en BHDC / benceno a $\lambda = 592$ nm en función de w.....	96
Figura IV.25: Espectros de emisión de fluorescencia de RF en agua a pH = 8,5 y en micelas inversas de BHDC / benceno w = 17 a $\lambda_{exc} = 588$ y $T = 32$ °C.....	97
Figura IV.26: Espectro de emisión de fluorescencia de RF en BHDC / benceno w = 17 (—) $\lambda_{exc} = 550$ y espectro de excitación (---) $\lambda_{emis} = 595$, junto con el espectro de absorción en agua pH = 8,5 (---).....	98
Figura IV.27: Perfil del decaimiento de fluorescencia de RF en BHDC / benceno a w = 6. Curva sólida representa el mejor ajuste de los puntos experimentales.....	99
Figura IV.28: Espectros de fluorescencia de RZ en BHDC / benceno 0,1 M en función de w con agua pH = 12 a $T = 32$ °C.....	100

Figura IV.29: Intensidad de fluorescencia a $\lambda = 642$ nm en función de w.....	100
Figura IV.30: Espectro de absorción de transitorio de RF en agua pH = 8,5 y BHDC 0,1 M w = 20 a T = 32 °C a 2 μ s después del pulso del láser.	102
Figura IV.31: Espectro de absorción de transitorio de RZ en agua pH = 8,5 y BHDC 0,1M w = 20 a T = 32 °C a 2 μ s después del pulso del láser.	102
Figura IV.32: Espectro de absorción de triplete de RF en agua pH = 8,5 y BHDC 0,1 M a T = 32 °C a 2 μ s después del pulso del láser.	103
Figura IV.33: Espectro de absorción de triplete de RZ en agua pH = 8,5 y BHDC 0,1 M a 32 °C, a 2 μ s después del pulso del láser.....	104
Figura IV.34: Espectros de absorción de RF en isooctano-10% 1-propanol en función de la concentración de lecitina a T = 25 °C.....	107
Figura IV.35: Espectros de fluorescencia de RF en isooctano-10% 1-propanol en función de la concentración de lecitina a $\lambda_{exc} = 470$ nm y T = 25 °C.....	107
Figura IV.36: Espectros de absorción de RZ en isooctano-10% 1-propanol en función de la concentración de lecitina a T = 25 °C.....	108
Figura IV.37: Espectros de absorción de RZ en isooctano-1,5% 1-propanol en función de la concentración de lecitina a T = 25 °C.....	109
Figura IV.38: Espectros de fluorescencia de RZ en isooctano-10% 1-propanol en función de la concentración de lecitina, corregidos a igual cantidad de luz absorbida A) $\lambda_{exc} = 610$ nm, B) $\lambda_{exc} = 525$ nm a T = 25 °C.	110
Figura IV.39: Absorción de RF en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua pH = 12 a T = 25 °C.....	111
Figura IV.40: Espectros de fluorescencia de RF en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua pH = 12, $\lambda_{exc} = 475$ nm a T = 25 °C.	111
Figura IV.41: Espectros de fluorescencia de RF en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua pH = 12, $\lambda_{exc} = 579$ nm a T = 25 °C.	112
Figura IV.42: Espectros de absorción de RZ en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua pH = 12 a T = 25 °C.	113
Figura IV.43: Espectros de fluorescencia de RZ en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua pH = 12.....	114
Figura IV.44: Espectros de fluorescencia de RZ en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua pH = 12, $\lambda_{exc} = 535$ nm a T = 25 °C.....	114

Figura IV.45: Espectro de absorción de transitorio de RF en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M a w = 30 y T = 25 °C.....	115
Figura IV.46: Espectro de absorción de transitorio de RZ en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M a w = 30 a T = 25 °C.....	116
Figura IV.47: Espectro de absorción de triplete de RF en agua pH = 8,5 y lecitina 0,05 M a w = 30, T = 25 °C a 1 μs después del pulso del láser.....	117
Figura IV.48: Espectro de absorción de triplete de RZ en agua pH= 8,5 y lecitina 0,05 M a w = 30, T = 25 °C a 1 μs después del pulso del láser.....	117
Figura IV.49: Depleción del estado fundamental de RF en lecitina 0,05 M a w = 30, T = 25 °C a 1 μs del pulso del láser.....	118
Figura IV.50: Depleción del estado fundamental de RZ en lecitina 0,05 M a w = 30, T = 25 °C a 1 μs del pulso del láser.....	119
Figura IV.51: Espectro de absorción de triplete de RF en agua pH = 8,5 y lecitina 0,05 M a w = 30, T = 25 °C a 1 μs después del pulso del láser.....	119
Figura IV.52: Espectro de absorción de triplete de RZ en agua pH = 8,5 y lecitina 0,05 M a w = 30, T = 25 °C a 1 μs después del pulso del láser.....	120
Figura V.1: Efecto de la irradiación ($\lambda = 620$ nm) sobre los espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 en presencia de TEOHA $5,25 \times 10^{-4}$ M, T = 20°C.....	127
Figura V.2: Efecto de la irradiación ($\lambda = 620$ nm) sobre los espectros de absorción RZ en CTAC 0,025 M en presencia de TEOHA $5,25 \times 10^{-4}$ M, T = 20°C.....	128
Figura V.3: Efecto de la irradiación ($\lambda = 620$ nm) sobre los espectros de absorción RZ en SDS 0,02 M en presencia de TEOHA $5,25 \times 10^{-4}$ M, T = 20°C.....	128
Figura V.4: Efecto de la irradiación ($\lambda = 620$ nm) sobre los espectros de absorción RZ en lecitina 0,05 M w = 30, en presencia de TEOHA $5,25 \times 10^{-4}$ M, T = 20°C.....	129
Figura V.5: Absorbancia de RZ en agua normalizadas en función del tiempo de irradiación ($\lambda = 620$ nm) a diferentes concentración de TEOHA. T = 20 °C.	130
Figura V.6: Absorbancia de RZ en metanol normalizadas en función del tiempo de irradiación ($\lambda = 620$ nm) a diferentes concentración de TEOHA. T = 20 °C.	130
Figura V.7: Absorbancia de RZ en CTAC 0,025 M normalizadas en función del tiempo de irradiación ($\lambda = 620$ nm) a diferentes concentración de TEOHA. T = 20 °C.....	130

Figura V.8: Absorbancia de RZ en SDS 0,02 M normalizadas en función del tiempo de irradiación ($\lambda = 620$ nm) a diferentes concentración de TEOHA, T = 20 °C.	131
Figura V.9: Absorbancia de RZ en lecitina 0,05 M normalizadas en función del tiempo de irradiación ($\lambda = 620$ nm) a diferentes concentración de TEOHA. T = 20 °C.....	131
Figura V.10: Velocidad inicial de RZ en los diferentes medios en función de la concentración de TEOHA.....	132
Figura V.11: Efecto de la irradiación ($\lambda = 620$ nm) sobre los espectros de absorción de DMA + MB en metanol T = 20 °C.....	132
Figura V.12: Efecto de [TEOHA] sobre el rendimiento cuántico de fotorreacción de RZ en agua, T = 20 °C.....	133
Figura V.13: Efecto de [TEOHA] sobre el rendimiento cuántico de fotorreacción de RZ en CTAC 0,025 M, T = 20 °C.....	134
Figura V.14: Efecto de [TEOHA] sobre el rendimiento cuántico de fotorreacción de RZ en lecitina 0,05 M a w = 30, T = 20 °C.....	134
Figura V.15: Gráfico de la desactivación del triplete de RZ por TEOHA a $\lambda = 825$ nm en, A) agua, B) lecitina y C) CTAC.....	136

INDICE DE TABLAS

Tabla III.1: Longitud de onda (nm) de los máximos de absorción y fluorescencia estacionaria para RF y RZ en varios solventes.	51
Tabla III.2: Tiempos de vida de fluorescencia (τ_F) de RZ y RF en varios solventes. ...	57
Tabla III.3: Rendimientos cuánticos de fluorescencia (Φ_F) de RZ y RF en CTAC 0,025 M y en solución acuosa.....	65
Tabla III.4: Parámetros fotofísicos de resorufina en agua pH = 8,5 y CTAC.....	71
Tabla III.5: Parámetros fotofísicos de resazurina en agua pH = 8,5 y CTAC.....	72
Tabla IV.1: Tiempo de vida de RF en AOT / n-heptano a T = 25 °C, LED 500 nm y $\lambda_{emis} = 580$ nm.	86
Tabla IV.2: Tiempo de vida de RF en BHDC / benceno a 32 °C. LED 500 nm y $\lambda_{emis} = 600$ nm	98

Tabla IV.3: Tiempo de vida de RZ en BHDC / benceno a 25 °C, LED 600 nm y $\lambda_{emis} = 640$ nm	101
Tabla IV.4: Parámetros fotofísicos de resorufina en micelas inversas y agua para comparación.	105
Tabla IV.5: Parámetros fotofísicos de resazurina en micelas inversas y agua para comparación.	105
Tabla IV.6: Tiempo de vida de RF en microemulsiones de lecitina a 25 °C, LED 500 nm y $\lambda_{emis} = 590$ nm.....	112
Tabla IV.7: Parámetros fotofísicos de resorufina en las microemulsiones de lecitina a alto w y en agua para comparación.	121
Tabla IV.8: Parámetros fotofísicos de resazurina en las microemulsiones de lecitina a alto w y en agua para comparación.	121
Tabla V.1: Rendimientos cuánticos de reacción (Φ_{RZ}) de RZ con TEOHA.....	135
Tabla V.2: Rendimiento cuántico de reacción (ϕ_{RZ}), fracción de quenching (f) y eficiencia de reacción (η) para RZ en agua, CTAC y lecitina w = 30.	138

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

I-1. IMPORTANCIA DEL TEMA Y OBJETIVOS

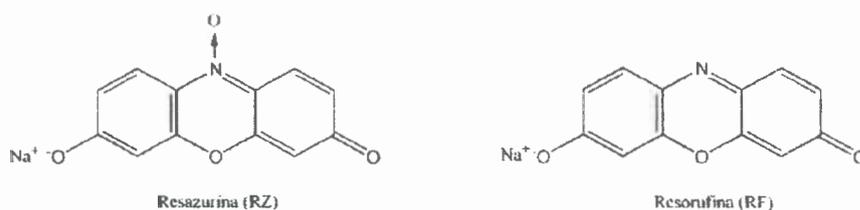
El estudio del comportamiento fotofísico y fotoquímico de moléculas orgánicas en sistemas organizados ha recibido considerable interés durante los últimos años. Este interés surge de la posibilidad que tienen los sistemas organizados de solubilizar moléculas de muy distintas propiedades fisicoquímicas, del uso de dichos sistemas como modelos de procesos fotobiológicos, y del interés intrínseco en obtener información sobre el propio sistema organizado mediante el uso de moléculas sonda. Los fenómenos químicos y fotoquímicos que se producen en la naturaleza, como la fotosíntesis, ocurren en interfases, superficies y en sistemas heterogéneos que contienen múltiples fases. La heterogeneidad permite que los reactantes y productos se localicen en los compartimientos de los diferentes microsistemas, facilitando así el transporte de sustratos de y hacia diferentes ubicaciones. El concepto aquí importante es la organización molecular.

En un medio organizado como: micelas, micelas inversas, calixarenos, ciclodextrinas, los reactantes están confinados en una pequeña región del tamaño de unos pocos nanómetros. Debido a esto las propiedades locales como la polaridad, viscosidad y pH pueden ser bastante diferentes de aquellas en el medio homogéneo. Consecuentemente, las propiedades físicas y químicas de moléculas orgánicas como los colorantes, pueden sufrir importantes cambios en estos sistemas.

Las interacciones colorante-surfactante han sido objeto de muchos estudios, debido a que estas pueden mimetizar varios procesos biológicos que ocurren entre moléculas orgánicas y biomembranas, y pueden actuar como un sistema redox modelo. Por lo tanto, el estudio de colorantes en un medio organizado es importante para comprender las reacciones inducidas por luz o calor en biomembranas [1]. Además, el estudio de las interacciones entre colorantes iónicos y superficies cargadas son de interés en numerosos usos, desde los límites en el diseño de dispositivos electrónicos hasta la caracterización de sistemas de liberación de drogas.

El presente trabajo de Tesis, está orientado a contribuir al conocimiento del comportamiento fotofísico y fotoquímico de los colorantes fenoxazínicos 3-ona; resazurina (RZ) y resorufina (RF) tanto en medios homogéneos como organizados (microheterogéneos).

Resazurina (RZ), es un colorante *N*-óxido heterocíclico muy utilizado para el estudio de materiales biológicos [2,3]. La mayoría de estas aplicaciones se basan en la reacción de transferencia del átomo de oxígeno actuando el colorante como donador. Así resazurina se reduce en una reacción térmica que utiliza compuestos orgánicos o enzimas como catalizadores [4,5], o en una reacción fotoquímica [6] obteniéndose un producto altamente fluorescente resorufina (RF), la cual puede ser utilizada como molécula sonda fluorescente. RF también ha sido empleada para el estudio de reorientación de moléculas de solventes, y ha mostrado tener interesantes propiedades químicas y fotoquímicas en solventes próticos que dependen fuertemente de la temperatura, viscosidad y estructura del solvente [7,8]. Las estructuras de ambos colorantes se muestran a continuación:



También se han empleado estos colorantes como sensibilizadores de procesos de fotopolimerización vinílica con buenos resultados [9]. Todos estos antecedentes, especialmente lo que hace a su empleo en sistemas biológicos, hacen interesante estudiar estas moléculas en sistemas microheterogéneos.

Los objetivos de este trabajo de tesis se describen a continuación:

- La caracterización de los parámetros fotofísicos de ambos colorantes en sistemas de micelas directas e inversas formadas por distintos detergentes sintéticos. Determinación de sus espectros de absorción y emisión, rendimientos cuánticos y tiempos de vida de fluorescencia. Estudio de las propiedades del estado triplete en los mismos sistemas, su espectro de absorción y cinética de decaimiento.
- El estudio de la fotofísica en microemulsiones formadas por fosfolípidos naturales o sintéticos.
- Estudio de reacciones fotoquímicas de los colorantes en los mismos sistemas en los que se determinaron los parámetros fotofísicos, mediante la cinética de

decaimiento de los estados excitados en presencia de distintos sustratos. En este caso el estudio se centró en la fotorreacción de RZ en presencia de donores de electrones como aminas. Fue observado, en solución acuosa, que esta reacción es altamente dependiente de la estructura de la amina y sólo es eficiente en presencia de aminas alifáticas terciarias [10]. Debido a que los sistemas organizados solubilizan, concentran y compartimentalizan los sustratos y catalizan procesos químicos y físicos, es que nuestro interés estuvo focalizado sobre el efecto de dichos medios en la velocidad de fotorreacción como también del rendimiento cuántico de fotorreacción.

I-2. Presentación de capítulos

Este trabajo de tesis se encuentra organizado en seis capítulos.

El Capítulo I, comprende una breve introducción a la importancia del tema y objetivos del trabajo de tesis, y se subdivide en secciones en las que se introduce al lector en el campo de los medios organizados.

En el Capítulo II, se describen los reactivos y equipamientos empleados, así como la metodología utilizada.

Los resultados y discusiones se encuentran distribuidos en tres capítulos. Capítulo III, el que está dividido en dos partes, en la primera parte se muestran las experiencias realizadas en medio homogéneo y en la segunda, las realizadas en los medios organizados empleando micelas directas. Capítulo IV, micelas inversas y microemulsiones. Capítulo V, estudio de la reacción fotoquímica.

Finalmente en el Capítulo VI, se exhiben las conclusiones alcanzadas a partir de la interpretación de los resultados obtenidos.

I-3. Aspectos teóricos

I-3-1. Sistemas Organizados

I-3-1-1. Características generales

Las soluciones diluidas, soluciones de electrolitos, soluciones regulares, difieren entre ellas de acuerdo al tipo de solvente, soluto y naturaleza de las interacciones. Sin embargo se describen adecuadamente considerando el mezclado al azar por movimiento térmico de sus solutos y solventes [11]. Por el contrario, en el mundo real de varios sistemas de importancia biológica y tecnológica, tales como las micelas directas e inversas y las membranas biológicas, las cuales proveen compartimentos de tamaño, forma y microentorno definidos hay un alto grado de orden, resultado de las grandes y diversas áreas de interfases que están concentradas en pequeños volúmenes [12]. El transporte de solutos y muchos otros procesos que forman parte de los procesos celulares, son eventos que ocurren a través de las membranas biológicas. La mayor parte del conocimiento de la estructura de la membrana biológica, se obtuvo a través de la investigación utilizando modelos, los cuales tratan de imitar los procesos que ocurren en las mismas, pero en sistemas relativamente más simples como son: las micelas, microemulsiones, monocapas, bicapas, vesículas y liposomas. Estos modelos de organización son llamados en su conjunto "agentes imitadores de membrana" o "sistemas organizados". Generalmente estos sistemas son formados por la asociación de moléculas en un medio fluido, que en muchos casos es agua. Aunque estas soluciones parecen diferir notablemente unas de otras tienen en común lo concerniente a la orientación, agregación, y formación de estructuras entre las moléculas que las forman. También pueden formarse por el agregado de un tercer o cuarto componente, resultando en sistemas binarios, terciarios o cuaternarios, respectivamente. A estos sistemas también se los conoce como "microheterogéneos", ya que a simple vista presentan una sola fase, como si fuese una solución homogénea, isotrópica y termodinámicamente estable [13] pero son heterogéneos si son observados a escalas microscópicas ya que poseen dos o más de lo que se conoce con el nombre de "pseudofases", y por lo tanto algunas de sus propiedades no son uniformes en todo el seno de la solución. Este hecho tiene implicancias relevantes. La distribución de un soluto en este tipo de solución

puede ser no homogénea; pudiendo existir cavidades microscópicas con propiedades hidrofílicas o hidrofóbicas, que pueden disolver o no un soluto, o pueden existir superficies cargadas que afecten la distribución de solutos y la reactividad de éstos frente a otras moléculas. En la figura I.1, se muestra una representación simplificada de estructuras organizadas en diferentes medios.

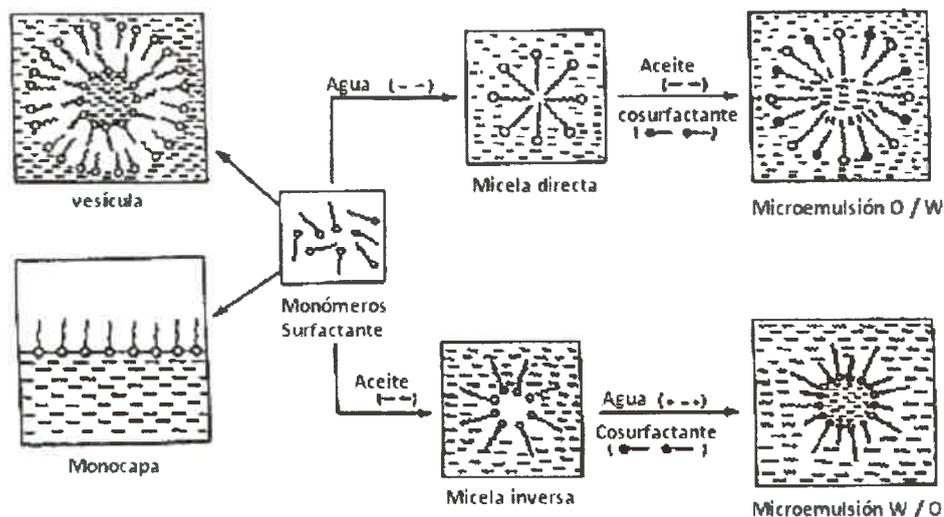


Figura I.1: Representación de estructuras organizadas en distintos medios.

Por lo general, las moléculas que forman agregados moleculares poseen propiedades y características anfífilas, es decir que poseen una parte polar y otra no polar. Estos compuestos fueron llamados en un principio anfipáticos, para denotar la presencia de un grupo lipofílico que tiene preferencia (simpatía) por medios no polares y un segundo grupo lipofóbico, el cual no tiene preferencia por los mismos (figura I.2). Estos grupos reciben comúnmente el nombre de "cola" y "cabeza polar", respectivamente [14]. Si el solvente es agua los dos grupos reciben el nombre de "hidrofóbico" e "hidrofílico".

La mayoría de las moléculas anfífilas son llamadas surfactantes, del inglés "surfactant" (surface active agent), porque son capaces de adsorber fuertemente en la interfase aire-agua, reduciendo la tensión superficial. Estas sustancias permiten controlar las propiedades del sistema y, según el caso y el uso, se califican como jabón, detergente, tensoactivo, emulsionante, dispersante, espumante, etc.

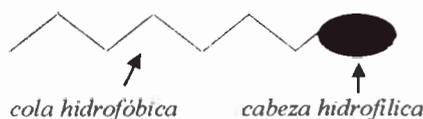


Figura I.2: Estructura general de un surfactante.

El grupo polar en los surfactantes es en general un grupo funcional como alcohol, ácido carboxílico, sulfonato, fosfato, amina, etc., que posee afinidad por solventes polar en particular el agua. Por el contrario, el grupo no polar o poco polar, puede contener una o más cadenas de diferente longitud, es en general un grupo hidrocarbonado de tipo alquil o alquil benceno, y que puede contener eventualmente átomos de halógenos u oxígeno. Dependiendo del tipo de grupo polar los surfactantes se pueden clasificar en [15]:

- Aniónicos: carboxilatos, sulfonatos, etc.
- Catiónicos: sales de amonio o amonio cuaternario.
- No-iónicos: mono glicérido de un ácido graso, polioxietilalquifenol.
- Zwiteriónicos: carácter aniónico y catiónico en el grupo. Ej: aminoácidos, betainas o fosfolípidos.

Las estructuras de algunos surfactantes, los que a su vez son los que se utilizarán en este trabajo de tesis, se muestran en la figura I.3.

I-3-1-2. Micelización y concentración micelar crítica (cmc)

La propiedad fundamental de los surfactantes en solución acuosa, es su capacidad de auto-asociación. Las primeras moléculas de surfactante presentes en una solución tienen una fuerte tendencia a migrar hacia una interfase y adsorberse en ella, y la fuerza motriz de tal adsorción es el efecto hidrófobo, a saber la sustracción de la cola apolar del medio acuoso. La formación de una monocapa más o menos densa de surfactante en una interfase es la primera manifestación de la tendencia a asociarse. Cuando la concentración de surfactante aumenta en la fase acuosa, se procede rápidamente a la saturación del área interfacial, y como consecuencia el número de moléculas disueltas tiende a aumentar. En la figura I.4 se muestra tal agregación.

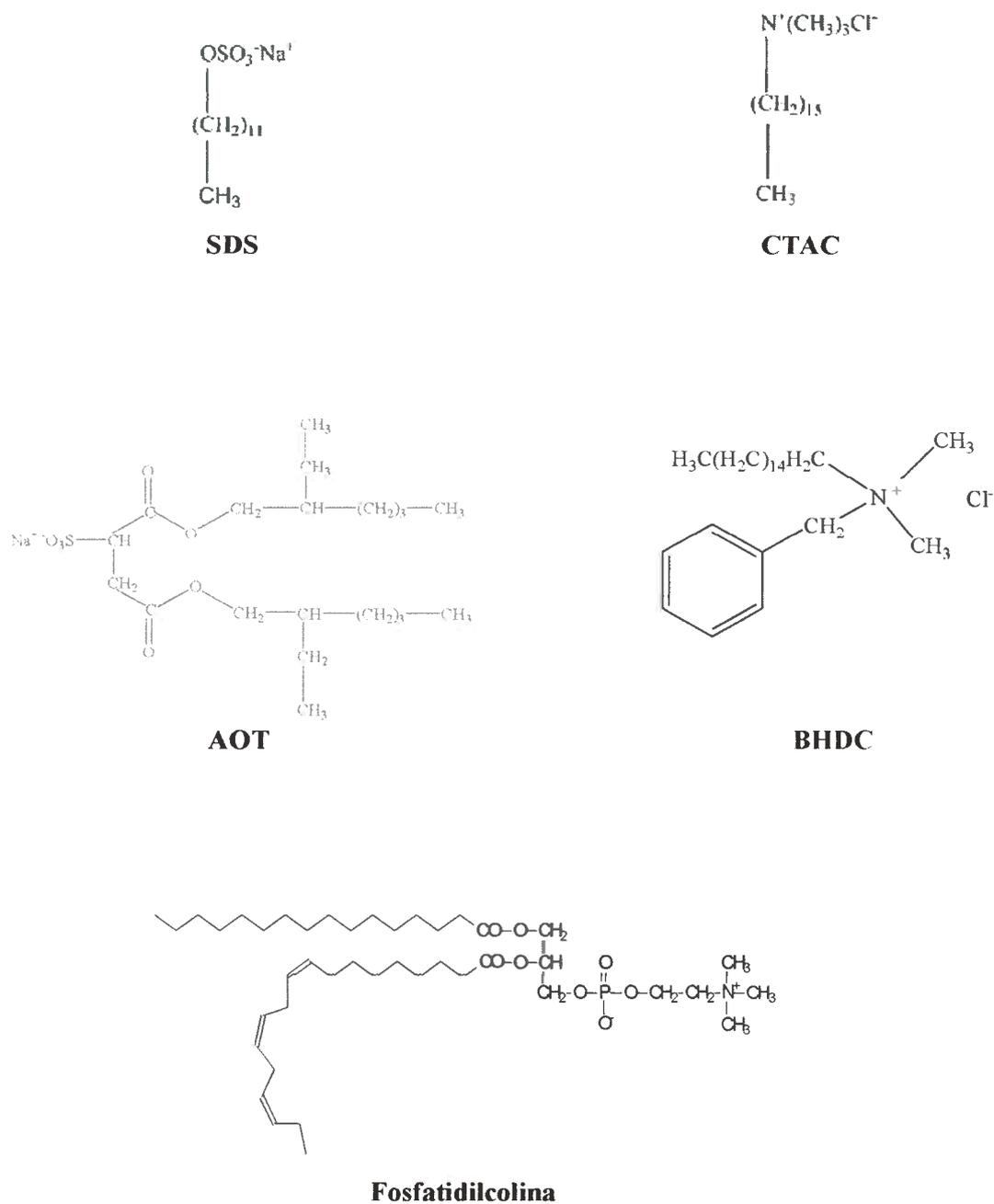


Figura L3: Estructuras de diferentes tipos de surfactantes: SDS (dodecilsulfato de sodio), CTAC (cloruro de cetiltrimetil amonio), AOT (1, 4-bis (2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio), BHDC (cloruro de bencil n-hexadecil dimetil amonio) y fosfatidilcolina.

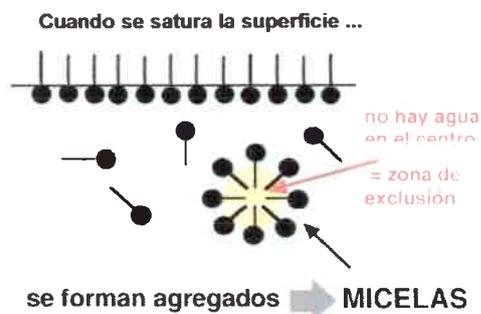


Figura I.4: Agregación de moléculas de surfactante y formación de micelas.

La agregación de los surfactantes resulta en una gran variedad de estructuras [13]. Los agregados más simples y mejores conocidos son las micelas, particularmente llamadas micelas normales o directas.

Una de las propiedades fisicoquímicas más importantes que caracteriza a los sistemas micelares es su concentración micelar crítica (cmc), parámetro que corresponde a la concentración de surfactante a la cual comienza la asociación de moléculas para formar los microagregados. El fenómeno se inicia con la formación de microagregados pequeños (o premicelas), que crecen rápidamente en un rango de concentraciones específico para cada surfactante. La posterior adición de tensoactivo provoca un aumento en el número de microagregados presentes en solución, mientras el tamaño y forma micelar permanecen relativamente inalterados en un rango dado. La cmc no es un valor preciso, corresponde a un rango de concentración y su magnitud experimental depende normalmente de la metodología empleada para evaluarla. Su valor es experimentalmente accesible y detectable por algunas propiedades que cambian abruptamente en la cmc, las más usadas son: la tensión superficial, conductancia equivalente, viscosidad dentro de los métodos no invasivos y la absorción y fluorescencia de moléculas prueba sensibles al medio, dentro de los métodos invasivos, es decir, en los que se requieren de una molécula sonda para su determinación. Los valores de cmc es característica de cada surfactante y solvente, además dependen de la hidrofobicidad de la cadena, de la carga neta del surfactante, de la naturaleza polar de los grupos que posea, de los contraiones y de la presencia de electrolitos que pueden ser agregados en forma externa [16].

Otra característica importante de los sistemas micelares corresponde al número de moléculas de surfactante que conforman cada microagregado, magnitud definida

como número de agregación (N_{ag}). Este parámetro no sólo contiene información acerca del tamaño y forma micelar, sino que además es importante en la determinación de la estabilidad y posibles aplicaciones prácticas del sistema en estudio [17].

Además es importante conocer la concentración de micelas que se define como:

$$[\text{Mic}] = \frac{[\text{Surf}] - \text{cmc}}{N_{ag}} \quad (\text{I.1})$$

En el caso de que se esté en presencia de un sustrato, p. ej. colorante, en el medio micelar, es importante conocer el número de ocupación promedio (n) que se refiere al número promedio de moléculas de colorante por micela y se define como:

$$n = \frac{[\text{Solute}]_{mic}}{[\text{Mic}]} \quad (\text{I.2})$$

El conocimiento de este último parámetro es esencial para la interpretación de varios procesos bimoleculares de los estados excitados como la desactivación o quenching de fluorescencia, transferencia de electrones y energía.

I-3-1-3. Estructura y propiedades de las micelas directas

El modelo aceptado actualmente para una micela iónica consiste de un centro o corazón de radio aproximadamente igual a la longitud de las cadenas alquílicas totalmente extendidas de los surfactantes, rodeado por la capa de Stern conteniendo agua, los grupos cabeza y más de la mitad de los contraiones y esto es rodeado a su vez por la capa de Gouy-Chapman que contiene agua y los contraiones restantes (ver figura 5). La densidad de carga superficial y el tamaño de las colas hidrofóbicas, son el principal factor que controla el tamaño micelar. También se acepta generalmente que las micelas son especies fuertemente hidratadas. Datos hidrodinámicos indican que tanto como 10-12 moléculas de agua están enlazadas por ión de surfactante, correspondiendo al 40% del volumen micelar. Sin embargo no hay un acuerdo acerca de la localización exacta de las moléculas de agua en la micela. La cantidad de agua en el interior micelar varía de surfactante a surfactante, pero en la actualidad, se considera que el agua penetra

la superficie micelar a distancias de aproximadamente seis átomos de carbono.

En contraste con las micelas iónicas, la localización y magnitud de la penetración de agua en micelas no-iónicas parece estar bastante claro. Hay evidencias que sugieren que el corazón hidrofóbico está libre de agua y que las unidades de óxido de etileno externas están fuertemente hidratadas. Hay aproximadamente cuatro moléculas de agua por unidad de óxido de etileno.



Figura I.5: Estructura completa de una micela directa [13].

Las micelas son estructuras dinámicas en equilibrio con monómeros y otras formas de agregados en solución. Dependiendo de las condiciones experimentales (concentración del surfactante, temperatura, presencia de aditivos, etc.), la distribución del tamaño micelar para una forma u otra puede dominar.

El equilibrio de asociación micelar ha estado sujeto a muchas investigaciones mediante las técnicas de flujo detenido, salto de temperatura y presión y relajación ultrasónica. Estos estudios mostraron en general, la presencia de dos procesos de relajación, caracterizados por dos tiempos de relajación τ_1 y τ_2 . El proceso rápido es del orden de unos pocos microsegundos y el proceso lento se extiende a varios milisegundos. El proceso rápido ha sido asignado al intercambio de un monómero del surfactante entre la fase micelar y el solvente externo. El proceso lento ha sido asignado al equilibrio de micelización-disolución [13].

I-3-1-3-1. Solubilización y organización de sustratos

Muchas aplicaciones de las micelas están relacionadas a su habilidad para disolver o solubilizar sustancias insolubles en agua. La solubilización es una consecuencia de la asociación mutua de las moléculas solubilizadas, solubilización con monómeros o de comicelización. Las sustancias hidrofóbicas no están asociadas apreciablemente con surfactantes monoméricos. Un repentino incremento de la solubilización ocurre en la región de la cmc. De hecho, la solubilización de un sustrato puede ser usada para determinar la cmc. En contraste con la disolución en un solvente orgánico, la solubilización micelar es un fenómeno altamente cooperativo. La solubilización es la base de muchos procesos industriales y es de fundamental importancia para comprender el efecto micelar sobre reactividades.

La solubilización fue establecida como un proceso dinámico que involucra ambas interacciones hidrofóbicas y electrostáticas. Basados sobre el adagio “semejante disuelve a semejante”, moléculas polares estarían asociadas con la cabeza polar de los surfactantes, mientras que las no polares, estarían preferentemente localizadas en el corazón micelar.

La solubilización de un sustrato en micelas ha sido tratada más recientemente en términos de un proceso de dos fases. La distribución entre dos sitios extremos es considerada en este modelo. Los sitios corresponden a un “estado disuelto” hidrófobo, en el interior micelar, y un “estado adsorbido” más polar, en la interfase micela-agua. La adsorción es la principal consecuencia de la actividad superficial del sustrato y esta está mayormente amplificada por la gran relación superficie micelar / volumen.

I-3-1-4. Micelas inversas

La asociación de surfactantes en solventes no polares o poco polares es consecuencia predominantemente de interacciones dipolo-dipolo y de par iónico entre las moléculas anfifílicas. Esto es bastante diferente a las repulsiones electrostáticas, las cuales son una de las interacciones responsables de la micelización en agua. El proceso de agregación es mucho más complejo que en agua y depende de la naturaleza y concentración del surfactante, de la naturaleza del contraión como también de las propiedades del solvente orgánico externo [15]. Estos agregados son lo opuesto a las

micelas directas, ya que los surfactantes poseen su grupo cabeza polar orientado hacia el centro conteniendo agua, con las colas hidrocarbonadas orientadas hacia el solvente orgánico, tal como se muestra en la figura I.1. Constan por lo menos de tres zonas bien diferenciadas en donde pequeñas moléculas, solutos, pueden solubilizarse, las cuales son: una microfase acuosa interna (llamada en inglés "water pool" y que se denomina en castellano "laguna o corazón acuoso"); la interfase (donde se ubican los grupos cabeza polares y contraiones del surfactante) y la fase orgánica externa [13].

Aquí el concepto de cmc, es aceptado para sistemas que cumplen con el tipo de modelo de agregación: n monómeros \rightleftharpoons (monómeros) $_n$, el número n de moléculas de monómero o surfactante en cada agregado, N_{ag} , depende de la cantidad de agua que posea la micela [12,15].

I-3-1-4-1. Micelas inversas de AOT

Uno de los surfactantes más empleado en la formación de micelas inversas es el 1,4-bis(2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio (AOT), debido a que forma micelas inversas y microemulsiones de agua en aceite termodinámicamente estables. En la figura I.6 se muestra la estructura de una micela inversa de dicho surfactante. AOT es importante como surfactante modelo porque no requiere la presencia de un cosurfactante para formar micelas inversas. El cosurfactante es usualmente un alcohol de cadena corta, cuya función es estabilizar la microemulsión haciendo mínima la tensión superficial de la interfase, para permitir la formación casi espontánea de los microagregados. Además puede solubilizar grandes cantidades de agua, pudiendo alcanzar un w ($w = [Agua] / [Surfactante]$) entre 40-60 dependiendo del solvente orgánico no polar [18].

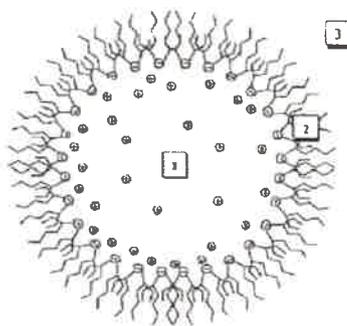


Figura I.6: Representación esquemática de una micela inversa de AOT. (1) Laguna acuosa, (2) interfase micelar, (3) fase orgánica.



Estos agregados son relativamente monodispersos en solución y esféricos a muy bajas concentraciones de surfactante. La máxima cantidad de agua que pueden disolver estos sistemas depende de la concentración de surfactante y de la temperatura; y a una temperatura fija, de la naturaleza química del medio dispersante (por ejemplo del largo de la cadena alquílica del solvente orgánico).

I-3-1-4-2. Naturaleza del agua en la laguna acuosa

Las micelas inversas se pueden formar en principio, en ausencia o en presencia de agua solubilizada [15]. Sin embargo, generalmente se propone que si el medio está completamente libre de agua, no se puede definir con exactitud una cmc, y en este caso los agregados formados son muy pequeños y polidispersos, indicando un mínimo de cooperatividad en la asociación del surfactante. Esto ha sido particularmente establecido para AOT en diferentes solventes orgánicos [19].

La laguna acuosa atrapada en las micelas inversas ha sido extensamente utilizada como medio para reacciones químicas y biológicas [19]. El estudio de la naturaleza del agua en micelas inversas, particularmente a bajo contenido acuoso, ha recibido gran atención y se demostró que exhibe propiedades fisicoquímicas que difieren de aquellas que presentan en agua pura. El agua atrapada es de naturaleza heterogénea y sus propiedades como: micropolaridad, constante dieléctrica, el potencial puente de hidrógeno, etc., pueden variar en función de w [13].

Cuando el contenido acuoso es bajo, todas las moléculas de agua interactúan con las cabezas polares del surfactante y contraiones, por lo tanto en estas condiciones no se puede definir una laguna acuosa [13,15,20].

La mayoría de los estudios para la comprensión de la estructura de las micelas inversas, están limitados al estudio de la naturaleza del agua atrapada en el corazón micelar. Kondo y colaboradores [21], han clasificado a las moléculas de agua en el centro de las micelas inversas en dos categorías: (a) las moléculas que residen cerca de la interfase micelar que están unidas fuertemente a las cabezas polares del surfactante; y (b) aquellas las cuales no interaccionan directamente con los surfactantes, y muestran un medio idéntico al del agua pura. Ellos han caracterizado varios agregados micelares inversos por técnicas de fluorescencia usando piranina como molécula sonda, y sugieren que piranina puede estar distribuida en dos fases acuosas dependiendo de la atracción o

repulsión electrostática en el corazón micelar.

El tamaño del corazón micelar está controlado por el parámetro w , y depende grandemente del tipo de solvente no polar y de la concentración de surfactante. Para AOT, se ha demostrado que el agua está totalmente estructurada hasta $w \cong 10$, lo cual se interpreta en términos de las interacciones con los grupos cabeza y contraiones del surfactante [20-22]. El agua libre o "normal" predomina para $w > 20$, mientras que para $10 < w < 20$, se presentan situaciones intermedias en cuanto al comportamiento de las moléculas de agua [23,24].

Dado que las propiedades del agua en el interior de las micelas inversas difiere bastante de las del agua pura, especialmente cuando el contenido acuoso es bajo, como ya se ha mencionado, la acidez de la laguna acuosa y las reacciones de transferencia de protones que se produzcan en esta región ha merecido gran atención. Bardez y colaboradores [25], obtuvieron información sobre la eficiencia de transferencia de protón y la acidez en la laguna acuosa de micelas inversas de AOT, utilizando piranina como sonda fluorescente. Encontraron que la eficiencia de transferencia de protón de piranina es similar a la del agua pura a w mayor que 12. A valores menores de w , la eficiencia disminuye debido a que las moléculas de agua están comprometidas, solvatando las cabezas polares del surfactante y piranina presenta un espectro de emisión correspondiente a su forma protonada.

El surfactante catiónico BHDC en benceno forma micelas inversas y puede solubilizar agua hasta un $w = 20$. Las propiedades de este sistema son similares a aquellas de las micelas inversas de AOT. Esto es confirmado por la naturaleza de la laguna acuosa en BHDC, la cual muestra que las propiedades (NMR, IR) se aproximan a las del agua normal, cuando un exceso de agua es adicionado de manera que la solvatación de las cabezas polares del surfactante es completa [26].

I-3-1-5. Microemulsiones

Estrechamente relacionadas a las micelas inversas están las microemulsiones, las cuales son de interés como medio de reacción debido a sus similitudes con varios sistemas biológicos. Estas son dispersiones isotrópicas, transparentes y termodinámicamente estables, formadas por cuatro componentes: solvente orgánico, agua, surfactante y cosurfactante, tienen un diámetro de micro-gota entre

aproximadamente 5-100 nm (figura I.1) [27,28]. Dependiendo de la naturaleza de los constituyentes y sus concentraciones, una microemulsión puede ser del tipo aceite en agua (O / W) consistiendo en gotas formadas por un centro hidrocarbonado rodeado por el surfactante y cosurfactante dispersadas en un medio acuoso, mientras que las del tipo agua en aceite (W / O), contienen un corazón acuoso rodeado por el surfactante y cosurfactante, y dispersado en un solvente de baja polaridad. Las microemulsiones (O / W) pueden ser consideradas como análogas a las micelas directas, y las microemulsiones (W / O) son similares a los sistemas micelares inversos. Las características de las microgotas de agua en aceite son diferentes de aquellas del agua pura.

El comportamiento de fase de un sistema de microemulsión simple se puede comprender mediante un diagrama de fase ternario o cuaternario como se muestra en la figura I.7, donde cada esquina corresponde a un 100 % de concentración del componente puro.

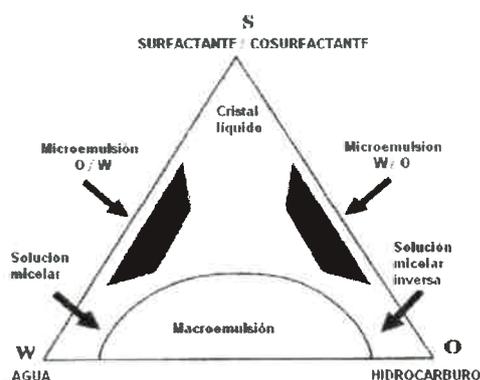


Figura I.7: Diagrama de fase hipotético para un sistema de microemulsión formado por agua, aceite, surfactante y cosurfactante [29].

De la figura anterior se puede apreciar que a alto contenido de aceite o hidrocarburo, el surfactante puede formar micelas inversas capaces de solubilizar moléculas de agua en su interior hidrofílico. Un posterior agregado de agua a este sistema, resulta en la formación de microemulsiones de W / O. A una cierta cantidad de agua límite, el sistema pasa de una región claramente isotrópica a una región turbia, que con una mayor disolución de agua se forma una región líquida cristalina, en la cual el

agua está atrapada en una doble capa de moléculas de surfactante. Finalmente, cuando la cantidad de agua incrementa, esta estructura lamelar se rompe formándose una región continua de microemulsiones de O / W.

La mayoría de los estudios con microemulsiones encontrados en la literatura han sido realizados en sistemas basados con surfactantes sintéticos, tal como AOT. Estas moléculas son generalmente tóxicas y no pueden ser empleadas por ejemplo, en aplicaciones farmacéuticas. Una alternativa atractiva podría ser el uso de surfactantes naturales como emulsificantes para preparar microemulsiones de W / O. Las lecitinas, son surfactantes naturales, que han sido mostrado ser una buena alternativa para formar microemulsiones adecuadas para estudios enzimáticos [30-32].

Las lecitinas naturales son mezclas de fosfolípidos y el que se encuentra en mayor proporción es fosfatidilcolina. La estructura molecular de los fosfolípidos deriva de la estructura de los triglicéridos reemplazando uno de los ácidos grasos por un éster del ácido fosfórico (figura I.3). Los fosfolípidos son los principales constructores de las membranas lipídicas celulares, en el ser humano, animales, plantas y microorganismos. Por lo que las microemulsiones formadas por fosfolípidos pueden ser usadas como sistemas modelos para simular las membranas biológicas. Estas moléculas tienen importantes propiedades fisicoquímicas, las cuales son aprovechadas principalmente en la tecnología farmacéutica [33]:

- Tienen una fuerte hidrofobicidad debido a las dos largas cadenas hidrocarbonadas.
- Una fuerte lipofobicidad debido a la cabeza de grupo zwitteriónica polar, la cual tiene un momento dipolar y está fuertemente hidratada.
- Un equitativo balance de las propiedades hidrofílicas y lipofílicas, aunque levemente desplazado hacia el lado lipofílico.
- Bajo ciertas condiciones, especialmente con respecto a concentraciones y temperatura, los fosfolípidos forman espontáneamente estructuras de membrana (lamelar, liposomal, micelar, etc.)

Debido a las propiedades mencionadas y al hecho, de que la tolerancia fisiológica natural de los fosfolípidos es generalmente excelente y además son metabolizados sin ninguna dificultad, se explica porqué el rango de aplicaciones de



estos compuestos se incrementa día a día. Aún así el conocimiento de estas moléculas y sus varias potenciales aplicaciones es aún bastante desconocido en la tecnología y desarrollo farmacéutico, lo que nos alienta a profundizar más nuestros estudios sobre ellos y los sistemas organizados que forman.

En esta tesis vamos a trabajar con lecitina de soja como surfactante para formar microemulsiones ternarias y estudiar el comportamiento fotofísico de colorantes en este sistema.

La formación de microemulsiones con lecitina de soja ha comenzado a estudiarse en los últimos años [34-39]. Se han realizados estudios fisicoquímicos con respecto a las propiedades del sistema tales como, la dependencia con la temperatura [40], de la microestructura de la microemulsión [41].

En base a los antecedentes encontrados sobre la caracterización de los sistemas de microemulsiones formados con lecitina de soja, y al hecho de que no se han hallado estudios fotofísicos y fotoquímicos en estos sistemas, es que surgió el interés de estudiar el efecto sobre las propiedades fotofísicas de los colorantes fenoxazínicos-3-ona en presencia de lecitina.

I-3-1-5-1. Principales aplicaciones de las microemulsiones

Desde el descubrimiento de las microemulsiones, estas han logrado una importancia creciente tanto en la investigación básica como en la industria. Debido a sus principales ventajas a saber: sistemas termodinámicamente estables por lo que son fáciles de preparar sin requerir contribución energética, gran área superficial, tensión interfacial muy baja y existencia de diferentes micro-dominios en los cuales pueden solubilizar drogas tanto hidrofílicas como lipofílicas. Estas propiedades hacen que una de las aplicaciones más importantes de las microemulsiones sea su utilización como sistemas de liberación de drogas.

En los últimos años, el interés de las microemulsiones ha estado focalizado hacia varias aplicaciones en biotecnología tales como, el estudio de reacciones enzimáticas, inmovilización de proteínas y bioseparación. Otras de las posibles aplicaciones son en la industria alimenticia, cosmetológica y textil, como combustibles, como medio de síntesis, en aplicaciones analíticas, etc [42].

I-3-1-6. Solubilización y localización de solutos en micelas inversas y microemulsiones

La solubilización de sustancias orgánicas e inorgánicas por micelas inversas representa un papel esencial de estas soluciones y juegan un rol muy importante en los procesos biológicos e industriales.

El establecer los sitios de solubilización de un determinado soluto en una micela, puede ser de gran importancia para explicar las propiedades de éste y las de su microentorno [43,44]. En forma cualitativa la localización promedio de pequeñas moléculas solubilizadas en soluciones de micelas inversas puede ser resumida en la figura I.8. Para moléculas que sólo son solubles en el solvente no polar (caso A), el soluto no perturbará la estructura de la micela ya que permanecerá soluble en la fase orgánica.

Para solutos localizados en la laguna acuosa (caso B y C), se espera que las propiedades físicas y químicas medidas sean similares a las obtenidas en solución acuosa aunque no iguales.

Los solutos localizados en la interfase (caso E), actúan como cosurfactantes causando un aumento en el área superficial y de modo tal que el radio de la laguna acuosa disminuye. También la solubilización de una molécula sonda en la interfase micelar puede dar información valiosa sobre sus propiedades (como capacidad dadora / aceptora de hidrógeno, propiedades de hidratación, etc.).

Solutos localizados en la parte externa de la interfase (caso D), se comportan de manera similar a lo observado en el caso A, es decir, no perturban la estructura de la micela.

Finalmente los solutos que son muy grandes comparados con el tamaño de la laguna acuosa, pueden inducir a la formación de pequeños agregados alrededor de ellos (caso F).

Como consecuencia de la existencia de estos lugares de preferente solubilización, surge otra propiedad importante de los medios micelares, la capacidad de dichos medios para concentrar o separar reactivos. También pueden aislar a uno de los reactivos del otro, separándolo e impidiendo que se produzca una dada reacción. La solubilización selectiva de reactivos en la micela los puede acercar respecto a su

situación en la disolución acuosa, favoreciéndose reacciones que en fase acuosa eran lentas.

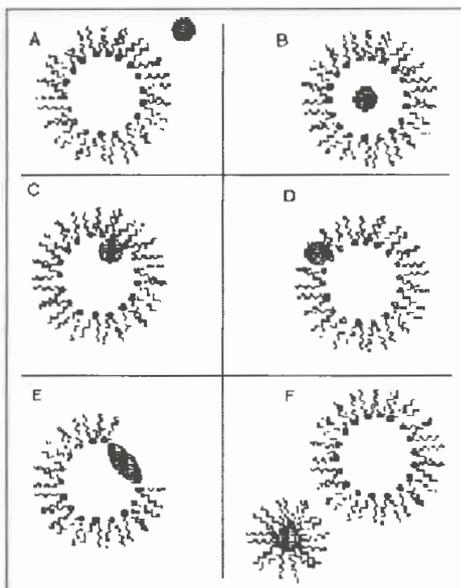


Figura I.8: Representación esquemática de los posibles sitios de solubilización de solutos en soluciones de micelas inversas.

I-3-1-7. Procesos de estados electrónicamente excitados

La absorción de un fotón por una molécula conduce a su excitación. Consecuentemente la especie excitada puede sufrir varios tipos de cambios físicos y / o químicos. Todos los posibles procesos de los estados excitados se explican mediante el diagrama de Jablonski (figura I.9). Cada nivel de energía electrónico en una molécula está asociado con un estado de energía vibracional y rotacional. La molécula se excita por absorción de radiación electromagnética de una cierta frecuencia hacia un nivel de energía vibracional alto de un estado excitado singlete de mayor energía. Procesos de relajación térmica como, relajación vibracional ($\sim 10^{-12}$ s), relajación rotacional ($\sim 10^{-11}$ s) y relajación colisional ($\sim 10^{-10}$ s) llevan a la molécula al nivel vibracional más bajo del estado excitado superior. La molécula puede retornar al estado fundamental por emisión radiativa, llamada fluorescencia que ocurre aproximadamente 10^{-8} s luego de la excitación, o por procesos no radiativos. Hay dos formas de desactivación de la energía no radiativamente, la conversión interna (IC) y cruce entre sistemas (ISC). El primero es

un proceso de relajación térmico desde un nivel de energía superior hacia un nivel de menor energía, y el segundo involucra una transición no radiativa desde el estado singlete (S_1) al estado triplete (T_1). La molécula sufre una relajación hacia el nivel vibracional más bajo en el estado triplete y luego puede retornar al estado fundamental por una transición radiativa (fosforescencia) o no radiativa (ISC).

Otro proceso de desactivación de estados excitados y que compite con los procesos normales de desactivación nombrados anteriormente, es el “quenching”. Este es un proceso de desactivación bimolecular, que implica la transferencia de energía o electrón de la molécula excitada a otra partícula presente en la solución. De esta manera el decaimiento del estado excitado al estado fundamental es acelerado por la presencia de otra molécula llamada “quencher”.

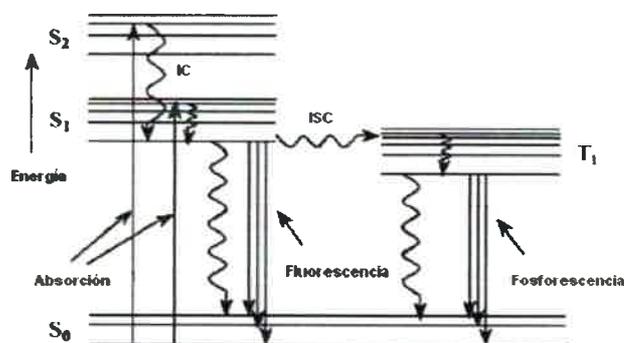


Figura I.9: Diagrama de Jablonski de los procesos fotofísicos unimoleculares.

I-3-1-7-1. Efecto del medio

En un sistema homogéneo las moléculas de solvente constituyen el medio que afecta las propiedades fotofísicas de una molécula [45,46]. En sistemas microheterogéneos el medio, referido como el microentorno, dependerá del sitio de localización de la molécula y puede alterar algunos de los procesos de los estados excitados anteriormente descritos. Usualmente los solventes polares interactúan más fuertemente con los estados excitados con mayor carácter bipolar comparado con el estado fundamental. Las interacciones soluto-solvente pueden afectar las poblaciones relativas de los niveles vibracionales del estado excitado o la posición relativa del estado excitado de menor energía (S_1) con respecto al estado fundamental. El efecto de

las poblaciones relativas de los niveles vibracionales, se pone de manifiesto con variaciones en las intensidades de la estructura fina vibracional del espectro de fluorescencia y el último efecto, en grandes corrimientos hacia el rojo o azul del máximo de emisión, acompañado por cambios en el rendimiento de fluorescencia. Cuando los espectros de emisión de fluorescencia son medidos en solventes de polaridad creciente, se encuentra que para algunos sistemas la longitud de onda perteneciente al máximo se corre a mayor longitud de onda (corrimiento hacia el rojo o batocrómico), y para otros una situación inversa es encontrada, un corrimiento hacia el azul o hipsocrómico. La distancia entre el máximo de absorción y emisión se denomina corrimiento de Stokes, y es muy útil para medir polaridad de ciertas moléculas en diferentes medios.

El estudio de las propiedades espectrales, absorción, fluorescencia y fosforescencia, de distintas moléculas orgánicas en medios micelares permite obtener información muy valiosa sobre las propiedades de estos sistemas. En general, el microentorno micelar ofrece una protección especial a los estados excitados singlete y triplete de una molécula frente a procesos de atenuación o desactivación no radiante, observándose en general grandes aumentos en los rendimientos cuánticos de luminiscencia en el seno de un medio micelar.

De hecho, los sistemas micelares causan aumentos en los tiempos de vida de tripletes de algunos compuestos, que son difíciles de alcanzar en solventes moleculares como por ejemplo, alcanos o arenos. Impurezas en estos solventes, disminuyen el tiempo de vida del triplete mientras que las micelas protegen el triplete de impurezas [47].

I-3-1-7-2. Fotorreacción

La fotoquímica de colorantes, en especial la fotorreducción por varios tipos de dadores de electrones ha sido bastante estudiada, y en muchos casos, mecanismos que dan cuenta de los resultados observados han sido propuestos y explicados en términos de la teoría de transferencia de electrones [48-51].

Las reacciones fotorredox tienen una potencial aplicación en el campo de la conversión fotoquímica de energía solar. Esto es muy importante en una amplia variedad de procesos químicos y biológicos, como la fotosíntesis. En solventes

homogéneos varios sistemas han mostrado exhibir reacciones de transferencia de electrones inducidas por luz eficientemente [13].

Se han encontrado varios estudios sobre la fotorreducción de colorantes con compuestos conteniendo grupos amino [52-56].

La reacción fotoquímica de RZ con aminas en solventes homogéneos ha sido reportada [6,10]. Se encontró que una fotodesoxigenación pura generando resorufina ocurre desde el estado triplete del colorante y es inhibida por la presencia de oxígeno. La desoxigenación fotoinducida de *N*-óxidos ha sido reportada para otras moléculas [57], y se encontró que procede sobre la irradiación del *N*-óxido solo en presencia de donores de electrones como aminas [58,59].

El interés en estas reacciones ha crecido fuertemente en los últimos años debido al uso de ciertos colorantes en reacciones de polimerización fotoiniciada. Se encontró que los colorantes RZ y RF, en presencia de trietanolamina, producen radicales que son eficientes fotoiniciadores de polimerización de acrilamida en agua [9]. Más recientemente, se ha reportado sobre la reacción de RZ con cloruro de difeniliodonio, y un mecanismo de fotoiniciación fue propuesto para la polimerización de acrilamida [60].

Debido a estos antecedentes es que surge el interés de estudiar el efecto del medio sobre la reacción de fotorreducción de RZ con aminas alifáticas mediante la técnica de fotólisis estacionaria. Los sistemas microheterogéneos pueden ser de real importancia en estas reacciones debido a la separación espacial de los reactivos y productos.

REFERENCIAS

-
- [1] V. B. Gawandi, S. N. Guha, K. I. Priyadarsini, H. Mohan, *J. Colloid Interface Sci.*, 9 (2001) 242.
- [2] M. G. Mahmoud, F. H. Comhaire, L. Vermeulen and E. Andreou, *Human Reprod.*, 9 (1994) 71.
- [3] T. Guerin, M. Mondido, B. McClenn and B. Peasley, *Lett. Appl. Microbiol.*, 32 (2001) 340.
- [4] L. Flamigni, E. Venuti, N. Camaioni, and F. Barigelletti, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 85(2) (1989) 1935.
- [5] W.A. Prütz, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 40 (1994) 1639.
- [6] M.G. Neumann, C.C. Schmitt, C. M. Previtali, S. G. Bertolotti, *Dyes Pigm.*, 32 (1996) 93.
- [7] G.J. Blanchard and C.A. Cihal., *J. Phys. Chem.*, 92 (1988) 5950.
- [8] P. Schellenberg and J. Friedrich, *J. Lumin.*, 56 (1993) 143.
- [9] L. Villegas, M.V. Encinas, A. M. Rufs, C. Bueno, S. Bertolotti and C. M. Previtali, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, 39 (2001) 4074.
- [10] C. Bueno, M. L. Villegas, S. G. Bertolotti, C. M. Previtali, M. G. Neumann, M. V. Encinas, *J. Photochem. Photobiol.*, 76(4) (2002) 385.
- [11] K. Shinoda, *J. Phys. Chem.*, 89 (1985) 2429.
- [12] F. MacRitchie, *Chemistry at Interfaces*, Academic Press, Inc. (1990).
- [13] K. Kalyanasundaram, *Photochemistry in Microheterogeneous Systems*. Academic Press, Inc. (1987).
- [14] M. Bourrel, R. S. Schechter, *Microemulsions and Related Systems*, Vol. 30. Marcel Dekker, Inc., New York and Basel (1988).
- [15] H. J. Fendler, (Ed), *Membrane Mimetic Chemistry*. John Wiley & Sons, New York, (1982).
- [16] M. J. Rosen, (Ed), *Surfactants and Interfacial Phenomena 2nd*. John Wiley & Sons, New York (1988).
- [17] R. G. Alargova, I. I. Kochijashky, M. L. Sierra, and R. Zana, *Langmuir*, 14 (1998) 5412.
- [18] J. J. Silber, M. A. Biasutti, E. Abuin, E. Lissi, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 82 (1999) 189.

- [19] M. P. Pileni, *Structure and Reactivity in Reverse Micelles*. Elsevier, Amsterdam (1989).
- [20] Q. Li, S. Weng; J. Wu and N. Zhou, *J. Phys. Chem. B.*, 102 (1998) 3168.
- [21] H. Kondo, I. Miwa and J. Sunamoto, *J. Phys. Chem.*, 86 (1982) 4826.
- [22] P. Baglioni, H. Nakamura and L. Kevan, *J. Phys. Chem.*, 95 (9) (1991) 3856.
- [23] P. Baglioni, S. Das, A. Datta and K. Bhattacharyya, *J. Phys. Chem. A*, 101 (18) (1997) 3299.
- [24] C. Boned, J. Peyrelasse and M. Moha-Ouchane, *J. Phys. Chem.*, 90 (4) (1986) 634.
- [25] E. Bardez, B. Goguillon, E. Keh and B. Valeur, *J. Phys. Chem.*, 88 (1984) 1909.
- [26] R. Mcneil and Thomas, *J. Colloid Interface Sci.*, 83 (1) (1981) 57.
- [27] K. Shinoda, S. Friberg, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 4 (1975) 281.
- [28] S. Senapati, P. K. Dash, B. K. Mishra, G. B. Behera, *Ind. J. Chem. 32A* (1995) 278.
- [29] S. Ballaro, F. Mallamace, F. Wanderlingh, D. Senatraz and G. Giubilaro, *J. Phys. C: Solid State Phys.*, 12, (1979) 4729.
- [30] Q. Peng and P. L. Luisi, *Eur. J. Biochem.*, 188 (1990) 471.
- [31] S. Backlund, M. Rantala and O. Molander, *Colloid Polym. Sci.*, 272 (1994) 1098.
- [32] S. Backlund and M. Rantala, *Colloid Polym. Sci.*, 273 (1995) 293.
- [33] K. Shinoda, M. Araki, A. Sadaghiani, A. Khan and B. Lindman, *J. Phys. Chem.*, 95 (1991) 989.
- [34] K. Shinoda, Y. Shibata and B. Lindman, *Langmuir*, 9 (1993) 1254.
- [35] M. Kahlweit, G. Busse and B. Faulhaber, *Langmuir*, 11 (1995) 1576.
- [36] P. Cirkel and G. Koper, *Langmuir*, 14, (1998) 7095.
- [37] M. Kahlweit, G. Busse, B. Faulhaber and H. Eibl, *Langmuir*, 11 (1995) 4185.
- [38] M. Kahlweit, G. Busse and B. Faulhaber, *Langmuir*, 12 (1996) 861.
- [39] M. Kahlweit, G. Busse and B. Faulhaber, *Langmuir*, 13 (1997) 5249.
- [40] M. Kahlweit, *J. Phys. Chem.*, 99 (1995) 1281.
- [41] P. Schurtenberer, L. Magid, J. Penfold y R. Heenan, *Langmuir*, 6 (1990) 1800.
- [42] K. Paul Bidyut and S. P. Moulik, *Current Sci.*, 80 (8) (2001) 25.
- [43] Masatoshi Hasegawa, *Langmuir*, 17 (2002) 1426.
- [44] N. M. Correa, A. Biasutti, J. J. Silber, *Curr. Top. Colloid Interface Sci.*, 3 (1999) 35.
- [45] J. B. Birks, *Photophysics of Aromatic Molecules*, Wiley Interscience, New York, 1970.

- [46] N. J. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, Benjamin Publishing Company, Inc., 1978.
- [47] J. K. Thomas, *Chemical Reviews*, 80 (4) (1980) 283
- [48] (a) D. Rehm and A. Weller, *Ber. Bunsenges. J. Phys. Chem.*, 73 (1969) 834; (b) D. Rehm and A. Weller, *Isr. Z Chem.*, 8 (1970) 259.
- [49] (a) A. K. Chibisov, *Progr. Reaction Kinetics*, 13 (1984) 1; (b) L. Ebersson, *Electron Transfer Reaction in Organic Chemistry*, Springer, Berlin, 1987.
- [50] M. G. Neumann, M. M. Spirandelli and F. Gessner, *Atual Fis. Quim. Org.*, (1985) 221.
- [51] (a) M.G. Neumann, M.M. Spirandelli and F. Gessner, *J. Photochem.*, 32 (1986) 379; (b) M.G. Neumann, F. Gessner, A.R. Souza and C.C. Schmitt, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 45 (1988) 355.
- [52] M. G. Neumann, J. I. Matthews and S. E. Braslavsky, *J. Photochem. Photobiol.*, 39 (1984) 31.
- [53] M. V. Encinas, C. M. Previtali, S. G. Bertolotti and G. M. Neumann, *J. Photochem. Photobiol.*, 62 (1995) 64.
- [54] M. V. Encinas, C. M. Previtali, M. H. Gehlen and G. M. Neumann, *J. Photochem. Photobiol. A*, 94 (1996) 237.
- [55] D. M. Shafiqul Islam, Y. Yoshikawa, M. Fujitsuka, O. Ito, S. Komatsu and Y. Usui, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 134 (2000) 155.
- [56] J. L. De la Fuente, V. Neira, C. Saitz, C. Jullian and E. Sobazo-Sanchez, *J. Phys. Chem. A*, 109 (26) (2005) 5897.
- [57] A. Albini, E. Fasani, A. M. Amer. *CRC Handbook of Photochem. Photobiol.*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- [58] S. Pietra, G. F. Bettinetti, A. Albini, E. Fasani, R. Oberti. *J. Chem. Soc., Perkin II* (1978) 185.
- [59] M. Sako, K. Shimada, K. Hirota, Y. Maki. *J. Am. Chem. Soc.*, 108 (1986) 6039.
- [60] M. L. Gómez, C. M. Previtali, H. A. Montejano, S. G. Bertolotti. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 188 (2007) 83.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

II-1. Reactivos y solventes

Los colorantes estudiados de la familia fenoxazina-3-ona son, resorufina [7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona] y resazurina [7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona 10-óxido], y fueron obtenidos de Sigma como sales sódicas y utilizadas sin purificación.

Trietanolamina (TEOHA) usada como donador de electrones, se obtuvo de Aldrich y fue purificada por destilación a alto vacío.

Azul de metileno (MB) y 9,10-dimetilantraceno (DMA), cuya reacción fotosensibilizada de generación de oxígeno singlete fue utilizada como actinómetro, fueron adquiridos de Aldrich y no fueron sometidos a purificación.

El surfactante CTAC provisto por Kodak, fue purificado mediante recristalización tres veces desde una mezcla etanol-acetona 1:1 y secado a alto vacío como mínimo tres horas. SDS obtenido de Berna también, fue recristalizado para su purificación tres veces desde etanol puro y secado al vacío.

El surfactante AOT fue utilizado tal como se lo recibió de Sigma y BHDC obtenido de Fluka, fue recristalizado dos veces desde acetato de etilo antes de su uso.

Lecitina de soja (Epikuron 200) usada para preparar las microemulsiones, fue obtenida de Lucas Meyer, Alemania.

Los solventes orgánicos n-heptano y benceno utilizados para formar las micelas inversas de AOT y BHDC respectivamente, e isooctano para formar la fase dispersante de las microemulsiones, y los demás solventes como, metanol, propanol, etanol e isopropanol, todos provistos de Sintorgan calidad HPLC.

El agua utilizada fue de Sintorgan calidad HPLC y en algunos casos se utilizó también agua tridestilada. Para ajustar los valores de pH de las soluciones acuosas se utilizó ácido clorhídrico e hidróxido de sodio obtenidos de Merck.

II-2. Metodologías y equipamientos

II-2-1. Preparación de soluciones y condiciones experimentales

Las soluciones de los colorantes en agua y en los solventes orgánicos fueron preparadas por disolución de las drogas sólidas. El ajuste de pH, en las soluciones

acuosas que así lo requerían, se realizó mediante el agregado de hidróxido de sodio o ácido clorhídrico, utilizando un pH-metro.

Las soluciones de micelas directas, fueron preparadas por pesada de la droga sólida y disolución en una solución del colorante en agua con posterior sonicación. Luego, la solución micelar al igual que la solución acuosa del colorante, fue también ajustada a pH entre 8-9 con hidróxido de sodio con el fin de obtener los colorantes deprotonados.

Para la preparación de las soluciones de micelas inversas y microemulsiones, generalmente se procede a la disolución del surfactante en el solvente orgánico que se utiliza como fase dispersante. Luego a esta solución se le agregaron alícuotas de agua, hasta alcanzar la relación molar agua / surfactante (w) deseada. Dicha relación se calcula con la siguiente expresión:

$$w = \frac{n^{\circ} \text{ moles } H_2O}{n^{\circ} \text{ moles Surf}} = \frac{V_{H_2O} \times 55,5}{V_{\text{Surf}} [\text{Surf}]} \quad (\text{II.1})$$

Donde V_{H_2O} es el volumen (litros) de agua agregada, 55,5 es la concentración molar del agua pura, V_{Surf} (litros) y $[\text{Surf}]$ son el volumen y la concentración molar de la solución de surfactante. Esta ecuación supone que $V_{\text{Surf}} = V_{\text{total}}$.

Para introducir los colorantes en las soluciones de micelas inversas, se preparó una solución concentrada (aproximadamente 10^{-4} M) de estos en agua a pH entre 8-9 y luego mediante la ecuación II.1 se calculó cuanta solución del colorante se debería agregar para obtener un valor inicial de w bajo (≤ 6), de esta forma se transfirió el volumen necesario con microjeringa calibrada a la solución del surfactante en el solvente orgánico. Se realizaron experiencias variando w entre 4-30 dependiendo del surfactante utilizado agregando agua. Después de cada agregado de agua en la solución del surfactante, las soluciones son agitadas enérgicamente hasta lograr total disolución del agua en la solución.

Para introducir los colorantes en las microemulsiones, se preparó una solución concentrada de los colorantes en 1-propanol y unos pocos microlitos fueron disueltos en la mezcla isooctano-10% propanol (fase dispersante) y esta solución resultante se utilizó para disolver el surfactante. Las experiencias fueron realizadas a una temperatura de 25 °C.



En soluciones de AOT / n-heptano y lecitina de soja / isooctano-10% propanol, todas las experiencias fueron llevadas a cabo a 25 °C. Cuando se trabajó con BHDC / benceno la temperatura fue de 32 °C, por debajo de esta temperatura se observa insolubilidad del BHDC en benceno.

Las experiencias de láser flash fotólisis, se realizaron en una celda especial realizada adaptando a una celda común de cuarzo una bocha de vidrio para aumentar el volumen de solución de muestra a utilizar, de esta manera la solución puede ser renovada mediante agitación, para evitar la descomposición de la misma por contacto con luz de alta energía. Para corroborar si la muestra se fotolizaba, fue necesario tomar los espectros de absorción al comienzo y al final de la experiencia. Las soluciones fueron previamente desoxigenadas por burbujeo con gas argón durante aproximadamente 30 min.

Las experiencias de fotólisis se realizaron por irradiación a 620 nm de las soluciones en una celda de absorción o fluorescencia de paso óptico 1 cm, utilizando un volumen final constante de 3 ml. Las soluciones de RZ con la amina fueron previamente desoxigenadas por burbujeo con gas argón durante 40 min, para que tenga lugar la reacción y mezcladas durante la irradiación empleando un agitador magnético. La solución del actinómetro se mantuvo homogéneamente saturada de aire mediante continua agitación, y fue irradiada en idénticas condiciones. La temperatura se mantuvo constante a 20 °C.

II-2-2. Dispersión dinámica de luz (DLS)

La técnica de dispersión dinámica de luz, es muy utilizada para medir el tamaño de las nanogotas en microemulsiones [1,2]. Esta técnica mide las fluctuaciones de la intensidad de luz dispersada en el tiempo (escala μ s), causadas por el movimiento browniano de las partículas en solución.

Las experiencias fueron realizadas con un equipo Malvern 4700. El sistema experimental consta de un láser de ion-argón, utilizado como fuente de excitación y que emite un haz polarizado verticalmente de 488 nm de longitud de onda, un goniómetro, que al girar con el detector permite realizar medidas a diferentes ángulos, y un correlador 7132, que realiza el cálculo de la función de autocorrelación de la intensidad de luz dispersada. Se utilizó un volumen de solución de las microemulsiones de lecitina

de soja 0,05 M en isooctano / 10% 1-propanol de 2 ml, previamente filtrada, contenida en una celda común de cuarzo. La intensidad de luz dispersada de la solución de microemulsiones, fue determinada a un ángulo de 90° con respecto a la luz láser incidente, por un fotomultiplicador. Todas las mediciones se llevaron a cabo, a una temperatura de 25 °C mediante un baño termostático.

Los datos fueron analizados por un desarrollo de CONTIN para tener información de la distribución completa del tamaño de las partículas (monomodal o multimodal). El radio hidrodinámico (r_h) obtenido (radio de la laguna acuosa más la longitud de las cabezas polares del surfactante), en función de w se muestra en la siguiente figura. Las determinaciones se hicieron por triplicado, a cada w , aceptándose como válidas aquellas en las que el índice de polidispersidad arrojado fue $\leq 0,7$.

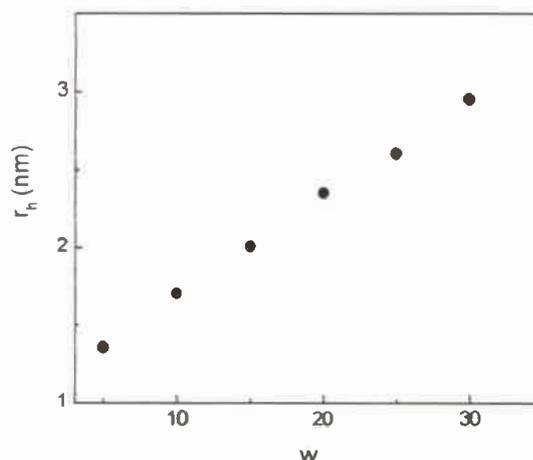


Figura II.1: Radio hidrodinámico en nm de los microagregados de lecitina 0,05 M en isooctano- 10% 1-propanol en función de w a 25 °C.

Se obtuvo un r_h a bajo w de 1,3 nm siendo similar al obtenido para micelas inversas de AOT cuyo r_h es aproximadamente 1,5 nm en similares condiciones [2]. Como se puede observar de la figura II.1, la variación del radio hidrodinámico en función de w resultó ser lineal, lo que significa que los agregados formados son esféricos y no interactúan entre ellos.

II-2-3. Espectros de absorción

Fueron determinados con un espectrofotómetro UV-visible Hewlett Packard 8452A o Shimadzu 2401, cuyo detector presenta un arreglo de diodos. El intervalo de detección está comprendido entre 190 y 820 nm.

II-2-4. Medidas de fluorescencia

II-2-4-1. Medidas estacionarias

Los espectros de fluorescencia en estado estacionario fueron tomados con un espectrofluorímetro Spex Fluoromax. En algunos casos, los espectros de fluorescencia se corrigieron a igual cantidad de luz absorbida utilizando para esta la siguiente relación:

$$I_a = I_0 (1 - 10^{-A}) \quad (\text{II.2})$$

donde I_a es la intensidad de luz absorbida, I_0 la intensidad de luz incidente y A la absorbancia correspondiente a la longitud de onda de excitación. Generalmente la concentración del colorante utilizada fue del orden de 5×10^{-6} M, correspondiendo a una absorción de las soluciones entre 0,1-0,2, a la longitud de onda de excitación.

Los rendimientos cuánticos de fluorescencia (Φ_F) [3] de los colorantes se obtuvieron utilizando como estándar una solución de violeta de cresilo en metanol, con $\Phi_F = 0,54$ [4], mediante la técnica de actinometría relativa. Las soluciones preparadas, tanto para la muestra como para la referencia, fueron diluidas (absorbancia menores que 0,1) y ajustadas a igual absorbancia. El rendimiento cuántico de fluorescencia se determinó mediante la ecuación (II.3) [4]:

$$\Phi_F = \frac{(A_{ref} F_{muestra} \eta^2)}{(A_{muestra} F_{ref} \eta_0^2)} \Phi_{ref} \quad (\text{II.3})$$

donde A es la absorbancia, F el área de la banda de emisión integrada y η , η_0 son los índices de refracción de el solvente conteniendo la muestra y la referencia, respectivamente.

II-2-4-2. Medidas dinámicas

Los tiempos de vida de fluorescencia fueron medidos utilizando la técnica de conteo de fotón único [5,3] con un equipo Edinburgh Instruments OB900. En la figura II.2 se muestra un esquema simplificado del equipo empleado en el laboratorio. Este consta de una fuente de excitación, la cual genera un pulso repetitivo de luz que estimula la absorción de la muestra. A baja velocidad de excitación, cada molécula absorbe a lo sumo un fotón, en una escala de tiempo que es prácticamente instantánea. La subsecuente relajación de las moléculas en el estado excitado, hacia al estado fundamental vía la emisión de un fotón fluorescente, ocurre con una distribución de decaimientos en el tiempo. La técnica de conteo de fotón único, registra tal distribución por medición del tiempo de decaimiento de un fotón individual fluorescente con respecto al tiempo de llegada del pulso de excitación. El sistema de detección, comúnmente un tubo fotomultiplicador (PMT), mide la diferencia de tiempo entre el pulso de excitación y la llegada del primer fotón fluorescente de la muestra. Una parte esencial es un convertidor de tiempo a amplitud (TAC), que transforma el tiempo entre la señal de partida (START) y la de detención (STOP) del pulso de excitación en un voltaje. El pulso de excitación sirve como señal de partida para cargar un capacitor en el TAC, el voltaje en el capacitor incrementa hasta que un fotón es detectado y se genera una señal que detiene la carga del capacitor. Este luego es acumulado y convertido en una señal digital usando un convertidor analógico digital, que luego es almacenado en un analizador multicanal (MCA) y colocado en el canal de tiempo correspondiente. Por repetición del ciclo start-stop varias veces, un histograma es formado, el cual representa el decaimiento de la fluorescencia.

Para la determinación de los tiempo de decaimiento de fluorescencia, se utilizaron LEDs (Ligth emitting diodes) como fuentes de excitación. El empleo de LEDs permite acortar considerablemente los tiempos de adquisición de muestras y aumentar la resolución temporal, ya que dichas fuentes de luz poseen anchos de pulso en el orden de los cientos de picosegundos. La calidad de los ajustes fue determinada a

través del parámetro estadístico χ^2 (chi cuadrado) y del gráfico de los residuos pesados. En el caso de un buen ajuste el valor de chi cuadrado tiene que ser cercano a la unidad. Con respecto al parámetro de ajuste de los residuos pesados, se encuentra que éste es bueno cuando el gráfico de los residuos en función de los canales se distribuye al azar alrededor del cero.

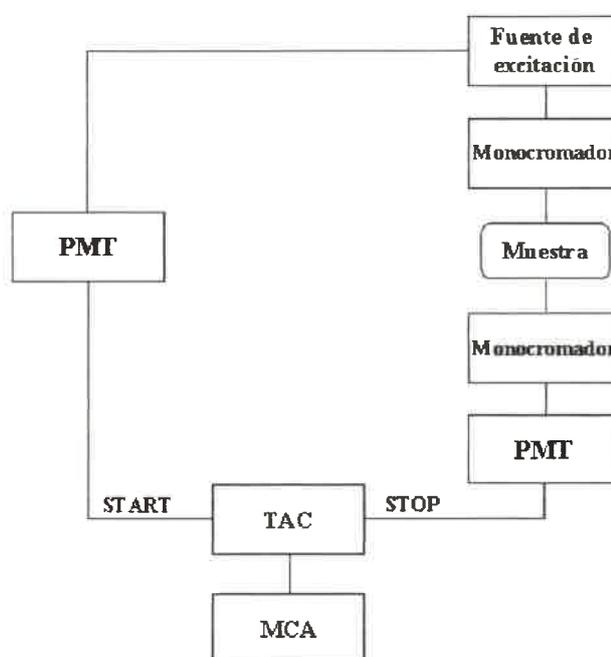


Figura II.2: Representación esquemática del equipo de conteo de fotón único.

II-2-5. Fotólisis de destello láser (láser flash fotólisis)

Los espectros de absorción y decaimientos de especies transitorias fueron determinados utilizando la técnica de láser flash fotólisis [5,6]. Estas especies (tripletes, iones radicales, etc.) son generadas mediante la excitación de la muestra por un pulso intenso de radiación láser. El arreglo experimental utilizado para la aplicación de esta técnica se muestra en la figura II.3.

La fuente de excitación fue un láser de Nd:Yag (Spectron SL 400), utilizando el armónico a 532 nm, con un ancho de pulso de ~ 18 ns.

El haz del láser fue desenfocado a fin de cubrir en su totalidad el paso óptico del haz analizador (10 mm) proveniente de una lámpara de xenón de 150 W.

El sistema de detección comprende un monocromador PTI acoplado a un tubo fotomultiplicador Hamanatsu R666. Entre pulso y pulso de excitación, la muestra es protegida de la radiación de la lámpara analizadora para evitar o minimizar su fotodegradación, intercalando en el camino del haz un obturador (shutter) cuya apertura esta sincronizada con la frecuencia de disparo del láser. La luz transmitida por la muestra es recibida por el monocromador y detectada por el tubo fotomultiplicador en donde, se traduce a un pulso de corriente transitorio. Luego, la señal fue capturada por un osciloscopio digital (HP54504) y transferida a una computadora personal. La señal eléctrica es transformada a valores de absorbancia. En la figura II.4, se muestran los parámetros a tener en cuenta para realizar la transformación.

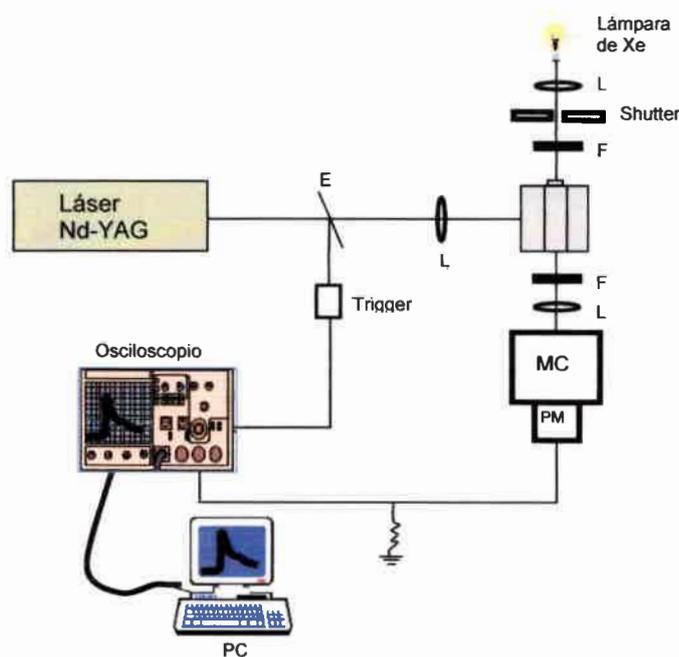


Figura II.3: Esquema equipo láser flash fotólisis utilizado para el estudio de especies transitorias.

Las diferentes situaciones a considerar son:

- a- Obturador cerrado, sin flash de excitación, que corresponde al 0% de transmitancia.
- b- Obturador abierto, sin flash de excitación, correspondiendo al 100% de transmitancia, ya que la señal observada se debe a la transmitancia del haz analizador a través de la muestra.

- c- Obturador abierto, más el pulso del láser, la señal registrada se debe a la variación de absorbancia temporaria proveniente de la muestra.

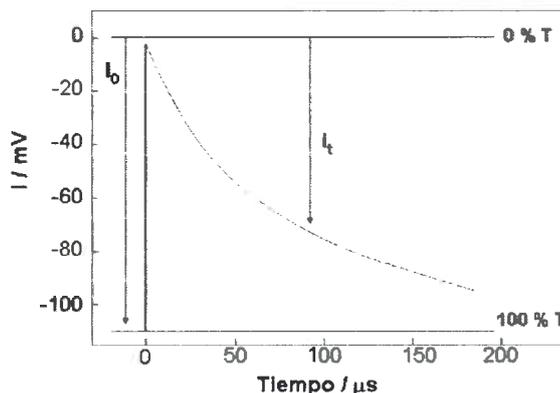


Figura II.4: Representación de una señal transitoria típica obtenida por láser flash fotólisis.

Según la ley de Lambert y Beer, la relación entre la absorbancia y transmitancia a una dada longitud de onda es:

$$A_t = -\log(I_t / I_0) \quad (\text{II.4})$$

Luego, teniendo en cuenta los parámetros experimentales medidos y la ley de Beer, la absorbancia de una especie transitoria en función de la longitud de onda y a un dado tiempo, se puede calcular mediante la siguiente ecuación:

$$A_\lambda = -\log(I_t / I_0) = \epsilon_\lambda b c \quad (\text{II.5})$$

Donde I_t : es la intensidad de luz transmitida (mV)

I_0 : es la intensidad de luz incidente (mV)

ϵ_λ : es el coeficiente de extinción molar ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

b : es el paso óptico del haz analizador a través de la muestra (cm)

c : es la concentración molar de la especie transitoria (M)

Los espectros de absorción de especies transitorias, se obtienen registrando el cambio de absorbancia de las especies a un tiempo fijo, en función de la longitud de

onda. En general, fueron determinados a intervalos de 5-10 nm hasta obtener el espectro completo.

Los tiempos de vida de las especies transitorias fueron determinados por medio de un ajuste monoexponencial del perfil de absorción de la especie de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$A_t = A_0 e^{-t/t^*} \quad (\text{II.6})$$

Donde A_t : absorbancia a un tiempo t posterior al pulso de excitación

A_0 : absorbancia correspondiente a $t = 0$

t^* : tiempo de decaimiento de la especie excitada

El ajuste exponencial de las trazas de decaimiento se realizó mediante un ajuste de cuadrados mínimos no lineales del programa MicroCal Origin 7.0.

II-2-5-1. Determinación de rendimiento cuántico y coeficiente de extinción molar del estado triplete

Los rendimientos cuánticos de triplete (Φ_T) fueron determinados por actinometría relativa usando tetrafenilporfirina de zinc (ZnTPP) como referencia, siendo $7,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y 0,83 los valores del coeficiente de extinción molar a 470 nm y el rendimiento cuántico del estado triplete de ZnTPP, respectivamente [7]. La intensidad de la fuente de excitación se varió empleando filtros, soluciones de KMnO_4 colocadas en una celda a la salida del haz del láser y antes de la celda que contiene la muestra. Se mide el % T del MnO_4^- que será proporcional a la energía incidente en la muestra. El principio de esta técnica se basa en que la concentración del triplete formado en la muestra, cuyo Φ_T se desea conocer, es comparado con la concentración de triplete formado con el mismo número de fotones incidentes en la solución del estándar con Φ_T conocido. En dichas condiciones, la intensidad de luz absorbida por la muestra y el estándar es la misma, por lo tanto, se pueden escribir las siguientes ecuaciones:

$$(\Phi_T)_M = \frac{[M]}{I_a} = \frac{A_M}{\epsilon_M b I_a} \quad (\text{II.7})$$

$$(\Phi_T)_{ZnTPP} = \frac{[ZnTPP]}{I_a} = \frac{A_{ZnTPP}}{\epsilon_{ZnTPP} b I_a} \quad (\text{II.8})$$

donde A_M y A_{ZnTPP} son la absorbancia debida al estado triplete para la muestra y referencia, respectivamente; ϵ es el coeficiente de absorción molar del triplete, b es el paso óptico (1 cm) e I_a es la intensidad de luz absorbida. De acuerdo a la condición planteada, igualando ambas ecuaciones se tiene:

$$\frac{A_{ZnTPP}}{A_M} = \frac{(\Phi_T \cdot \epsilon_T)_{ZnTPP}}{(\Phi_T \cdot \epsilon_T)_M} \quad (\text{II.9})$$

El cociente A_{ZnTPP}/A_M se calcula tomando las pendientes de la región lineal de los gráficos de absorbancia extrapoladas a $t = 0$ en función del % T, como se puede observar en la figura II.5.

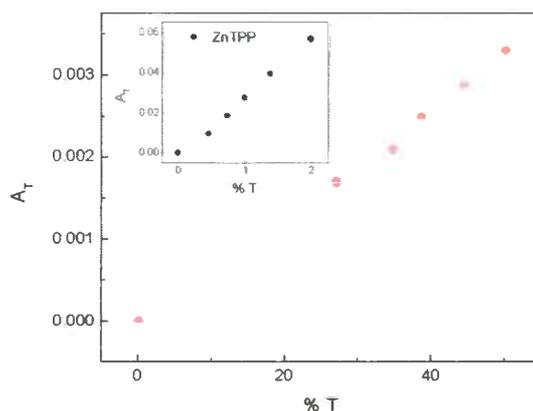


Figura II.5: Actinometría utilizando la absorbancia del estado triplete (A_T) de ZnTPP (470 nm) para la determinación del rendimiento cuántico de triplete a 700 nm de RF en microemulsiones de lecitina $w = 30$. Inserto: Absorbancia del estado triplete de ZnTPP a 470 nm en función del % T.

Los coeficientes de extinción molar del triplete de los colorantes (ϵ_T) fueron determinados por la técnica de depleción total del estado fundamental [8]. Este método supone que a un tiempo t luego de la excitación de la muestra, el estado fundamental es convertido todo en estado triplete. Entonces, en una región espectral donde solo absorbe el estado fundamental (o sea despreciable la absorción del triplete), esto es la zona de depleción, se tiene:

$$\Delta A (\lambda_1) = - \epsilon_F (\lambda_1) C_T b \quad (\text{II.10})$$

a partir de esta ecuación, conociendo el coeficiente de absorción del fundamental, es posible conocer la concentración del estado triplete. Luego, con la absorbancia a la longitud de onda del máximo donde se sabe que solo absorbe el estado triplete, es posible conocer el ϵ_T mediante la ecuación (II.11):

$$\epsilon_T (\lambda_2) = \Delta A (\lambda_2) / C_T b \quad (\text{II.11})$$

II-2-6. Fotólisis de Estado Estacionario

Las experiencias de fotólisis continua se llevaron a cabo con un sistema de iluminación de Photon Technology International (PTI), constituido por una lámpara de xenón que opera a 150 W y un monocromador. En la figura II.6 se muestra el equipo de fotólisis utilizado.

Las velocidades de fotorreacción fueron determinadas por disminución de la absorbancia de la muestra a diferentes tiempos de irradiación.

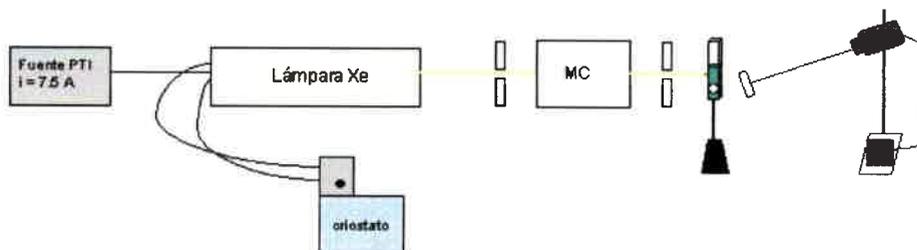


Figura II.6: Arreglo experimental empleado para las experiencias de fotólisis.

II-2-6-1. Actinometría química

El método empleado en la determinación del rendimiento cuántico de fotorreacción fue el de actinometría química [9,10]. Este consiste en comparar la variación de una cantidad mensurable entre una especie cuyo rendimiento cuántico es desconocido y una sustancia con rendimiento cuántico conocido en idénticas condiciones experimentales.

El rendimiento cuántico $\Phi(\lambda)$ de una reacción fotoquímica se define como el número de eventos (Δn) producidos en un dado tiempo, dividido el número de fotones absorbidos (I_a) de una longitud de onda particular en el mismo período de tiempo.

$$\Phi(\lambda) = \frac{\Delta n}{I_a} \quad (\text{II.12})$$

Un actinómetro químico es un sistema químico (fluido, sólido o en un ambiente microheterogéneo) en el que ocurre una reacción inducida por luz (a una cierta longitud de onda, λ) para el cual el rendimiento cuántico, $\Phi(\lambda)$, es exactamente conocido. En un actinómetro químico o fotoquímico, la conversión está directamente relacionada con el número de fotones absorbidos debido a que la acción de la luz produce un cambio químico irreversible o reversible, desaparición o aparición de moléculas, las cuales poseen propiedades espectrales características.

II-2-6-1-1. Propiedades de un actinómetro químico.

Un actinómetro ideal debe cumplir varios requerimientos [10] los cuales se comentan a continuación:

- El sistema fotoquímico debería ser simple y bien conocido. La fotorreacción debe ser reproducible bajo condiciones experimentales bien definidas y fácilmente controlables. El rendimiento cuántico debe ser exactamente conocido en un rango de longitudes de onda. Son deseables un amplio rango espectral y un rendimiento cuántico independiente de la longitud de onda.
- El compuesto químico debe ser estable térmicamente para excluir complicaciones de las reacciones oscuras.

- El método analítico debe ser simple. Es preferible un análisis espectrofotométrico directo.
- El sistema debe presentar gran sensibilidad.
- El material actinométrico debería ser puro, preferiblemente ser obtenido comercialmente.

II-2-6-2. Actinometría mediante fotooxidación via oxígeno singlete sensibilizada

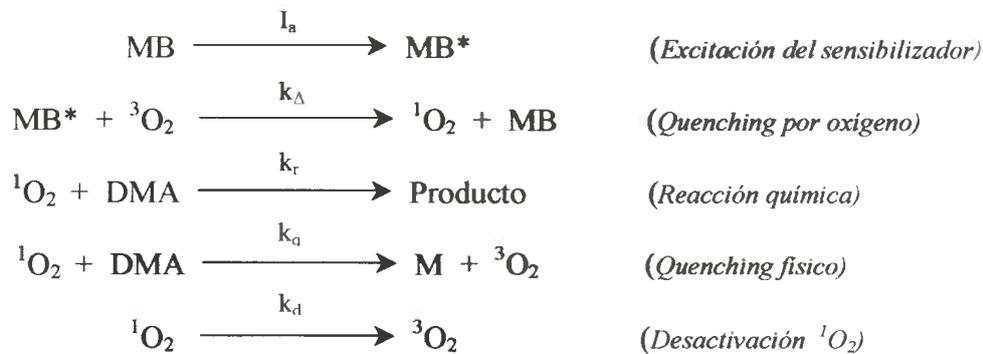
En este trabajo de tesis, se empleó como actinómetro, la oxidación del sustrato, 9,10-dimetilantraceno (DMA) por oxígeno singlete producido por el colorante Azul de Metileno (MB) [11], cuyas características de absorción son similares a la del sistema en estudio.

II-2-6-2-1. Fotosensibilización y determinación de rendimiento cuántico de fotorreacción

La fotosensibilización es uno de los métodos más comúnmente utilizado en los laboratorios para producir oxígeno singlete. Dicha especie es generada con alta eficiencia por transferencia de energía desde el estado singlete o triplete de un sensibilizador. Los sensibilizadores más utilizados en las reacciones fotosensibilizadas son colorantes como: rosa de bengala, eosina, azul de metileno, fluoresceína, etc., pigmentos como clorofila y algunos hidrocarburos aromáticos como antraceno.

Los sensibilizadores más efectivos son aquellos que absorben radiación en el intervalo comprendido entre 380-900 nm. Naturalmente, se requiere que a las longitudes de onda de irradiación el sensibilizador posea una alta absorción en tanto que, la del sustrato fotooxidable, sea nula. Las interacciones entre el estado excitado y fundamental del actinómetro y sensibilizador no deben ocurrir. La reacción entre el sustrato oxidable y oxígeno singlete debe ser solamente de naturaleza química, es decir, que el quenching físico debe ser despreciable.

La reacción de fotosensibilización para producir oxígeno singlete y sus posibles pasos de decaimiento pueden ser representadas por las reacciones en el siguiente esquema:



Esquema II.1

El rendimiento cuántico de reacción de DMA con oxígeno singlete se define como:

$$\Phi_{-DMA} = \frac{v_{-DMA}}{I_a} \quad (\text{II.13})$$

donde v_{-DMA} es la velocidad de desaparición del actinómetro e I_a es la cantidad de luz absorbida.

Teniendo en cuenta el esquema anterior, el rendimiento cuántico de DMA se puede expresar como:

$$\Phi_{-DMA} = \frac{\left(-\frac{\partial [DMA]}{\partial t}\right)}{I_a} = \frac{k_r \times [DMA] \times [{}^1\text{O}_2]}{I_a} \quad (\text{II.14})$$

A partir del rendimiento cuántico de generación de oxígeno singlete por el sensibilizador y planteando estado estacionario para ${}^1\text{O}_2$ se tiene:

$$v_{-DMA} = I_a \times \Phi_{-DMA} = \frac{k_r \times [DMA]}{[DMA] \times (k_r + k_q) + k_d} \times \Phi_\Delta \times I_a \quad (\text{II.15})$$

Asumiendo que la constante de velocidad para el proceso de quenching físico (k_q) es prácticamente cero, se obtiene la siguiente expresión para el rendimiento cuántico de desaparición de DMA:

$$\Phi_{-DMA} = \Phi_{\Delta} \times \frac{k_r \times [DMA]}{k_r [DMA + k_d]} \quad (\text{II.16})$$

A través de esta última ecuación se calcula el rendimiento cuántico del actinómetro donde: Φ_{Δ} es el rendimiento cuántico de generación de oxígeno singlete por el sensibilizador y es constante para el solvente saturado de aire. k_r y k_d son las constantes de velocidad para la reacción del estado fundamental del actinómetro con oxígeno singlete y de desactivación física de oxígeno singlete (ver esquema II.1), respectivamente. Se trabajó a una concentración de DMA $1,2 \times 10^{-4}$ M en metanol. La solución del actinómetro se mantuvo homogéneamente saturada de aire mediante continua agitación, y fue irradiada en idénticas condiciones a las de soluciones de RZ. Los valores de los parámetros necesarios en la ecuación II.16 obtenidos de literatura [12] son los siguientes:

$$k_r = 6,3 \pm 0,4 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$k_d = 1/\tau_0^{^1O_2} = 1 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$$

$$\Phi_{\Delta} = 0,52$$

Por otro lado, para el rendimiento cuántico de reacción (Φ_R) del colorante con la amina se tiene:

$$\Phi_R = \frac{v_{-RZ}}{I_a} \quad (\text{II.17})$$

donde v_{-RZ} es la velocidad de desaparición de RZ e I_a es la cantidad de luz absorbida.

Trabajando para ambas reacciones a iguales condiciones experimentales (temperatura, λ de irradiación, concentración), despejando I_a de la parte izquierda de la

ecuación II.15 y reemplazando en II.17, nos queda la siguiente ecuación a partir de la cual es posible obtener el rendimiento cuántico de la reacción de interés:

$$\Phi_R = \frac{v_{-RZ}}{v_{-DMA}} \times \Phi_{-DMA} \quad (\text{II.18})$$

REFERENCIAS

-
- [1] C. Goddeeris, F. Cuppo, H. Reynaers, W. G. Bouwmanc, G. Van den Mooter, *International Journal of Pharmaceutics*, 312 (2006) 187.
- [2] M. Zulauf and Hans-Friedrich Eicke, *J. Phys. Chem.*, 83 (4) (1979) 480.
- [3] J. R. Lakowicz (Ed), *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Vol I, Plenum Press, New York, 1983.
- [4] D. F. Aeton, *Pure Appl. Chem.*, 60 (7) (1988) 1107.
- [5] B. W. Rossiter, R. C. Baetzold (Eds), *Physical Methods of Chemistry*, Vol. VIII, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1993.
- [6] H. A. Montejano, M. Gervaldo, S. G. Bertolotti, *Dyes Pigm.*, 64 (2005)117.
- [7] J.K. Hurley, N. Sinai, H. Linschitz, *J. Photochem. Photobiol.*, 38 (1983) 9.
- [8] J. Carmichael, L. Hug, *J. Chem. Ref. Data*, 15 (1986) 1.
- [9] J. C. Scaiano, (Ed), *Handbook of Organic Photochemistry V II*. CRC Press 1991.
- [10] H. J. Kuhn, S. E. Braslavsky, R. Schmidt, *Pure Appl. Chem.*, 76 (12) (2004) 2105.
- [11] H. J. Adick, R. Schmidt and H. D. Brauer, *J. Photochem. Photobiol A: Chem.*, 49 (1989) 311.
- [12] G. Günther, S., Else Lemp M., A. L. Zanocco, *Bol. Sec. Chil. Qca.*, 45 (4) (2000) 637.



CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Medio homogéneo y micelas directas

III-1. ESTUDIOS EN MEDIO HOMOGÉNEO

III-1-1. Estudios espectroscópicos

Los espectros de absorción UV-visible y de fluorescencia de los colorantes RF y RZ en solución acuosa se muestran en las figuras III.1 y III.2, respectivamente.

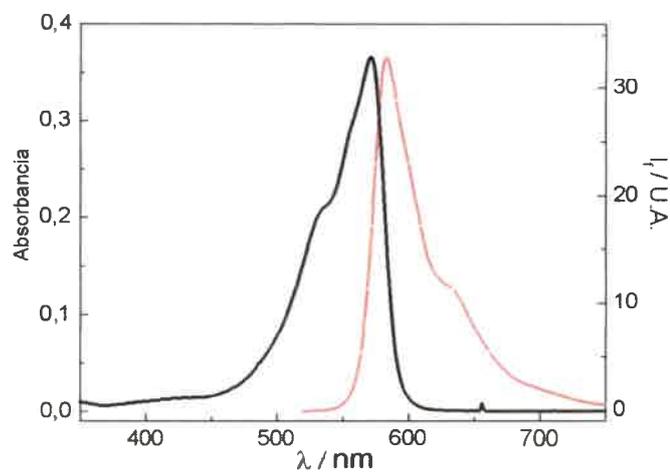


Figura III.1: (—) Espectro de absorción y (—) emisión de fluorescencia de RF ($\lambda_{exc} = 570$) en agua a pH = 8,5.

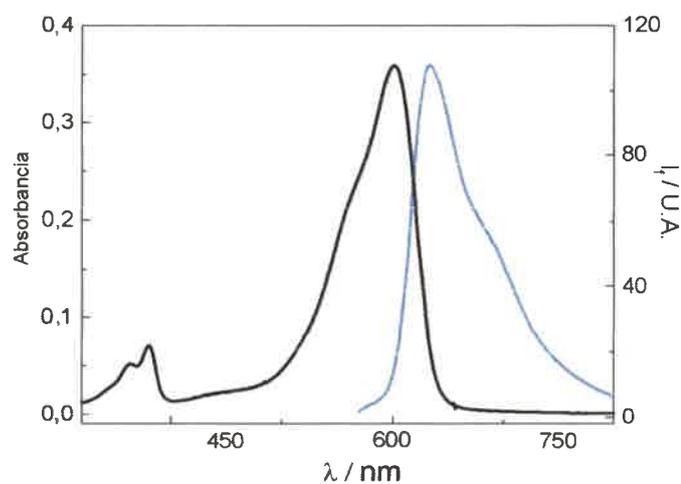


Figura III.2: (—) Espectro de absorción y (—) emisión de fluorescencia de RZ ($\lambda_{exc} = 590$) en agua a pH = 8,5.

El espectro de absorción de RF presenta una banda de absorción intensa centrada a 572 nm con un hombro a 535 nm. El espectro de fluorescencia consiste en una banda intensa con un máximo en 584 nm.

Para RZ el espectro de absorción muestra una banda intensa a 602 nm con un hombro en 555 nm, y una banda débil a 380 nm. La banda más intensa es asignada a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ debido al grupo fenoxazina-3-ona y la banda más débil a la transición $n \rightarrow \pi^*$ del grupo *N*-óxido [1]. El correspondiente espectro de fluorescencia presenta un máximo en 634 nm y un mayor corrimiento de Stokes que para RF. Un corrimiento de Stokes más grande indica que mayor es la diferencia de polaridad entre los estados fundamental y excitado de las moléculas.

III-1-1-1. Determinación de los coeficientes de absorción molar

Los coeficientes de absorción molar (ϵ) de los colorantes fueron determinados en agua pH = 8,5 mediante la Ley de Lambert y Beer [2]. En la figura III.3 se muestran los gráficos de la variación de la absorbancia a la longitud de onda del máximo de absorción, en función de la concentración de los colorantes. Los valores obtenidos fueron de $51.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (a 572 nm) y $42.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (a 602 nm) para RF y RZ, respectivamente. En ambos gráficos, la intensidad de absorción incrementa linealmente con la concentración. Esto indica que no hay formación de agregados de los colorantes en el rango de concentración utilizado.

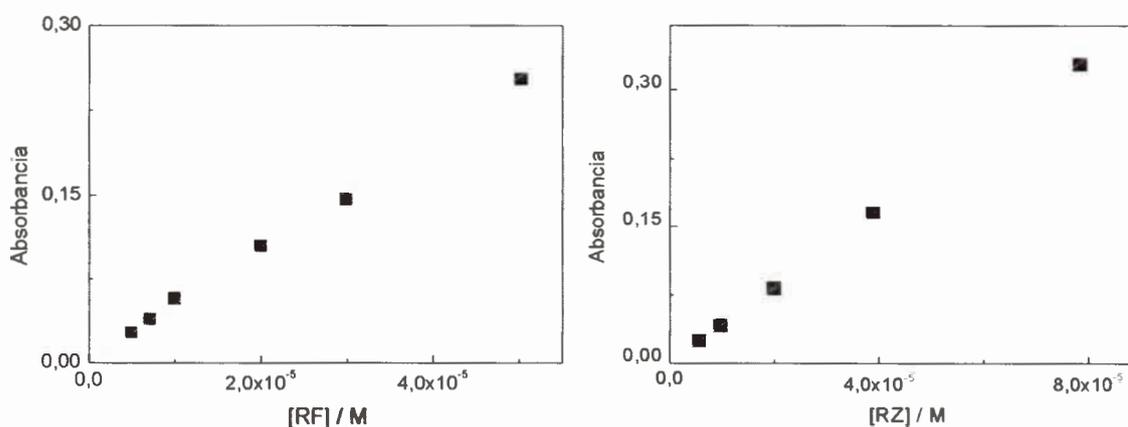


Figura III.3: Ley de Lambert y Beer para RF (a 572 nm) y RZ (a 602 nm) en solución acuosa pH = 8,5, paso óptico 0,1 cm.

III-1-1-2. Efecto del solvente sobre los espectros de absorción y emisión

El espectro de absorción y de emisión de ambos colorantes presentan importantes cambios en la forma y en la posición del máximo con el solvente. En la figura III.4 se muestran los espectros de absorción y fluorescencia de RF en algunos alcoholes y en agua pH = 8,5.

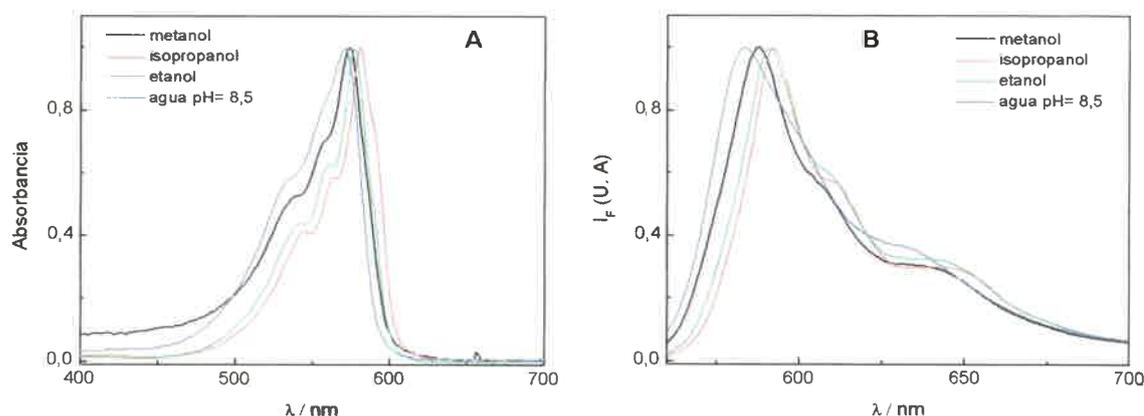


Figura III.4: Espectros de absorción normalizados (A) y espectros de emisión de fluorescencia normalizados (B) de RF en diferentes solventes.

Se puede observar un corrimiento hacia el azul de los espectros de absorción y de emisión con el aumento en la polaridad del solvente. El mismo efecto es observado para el colorante RZ (figura III.5).

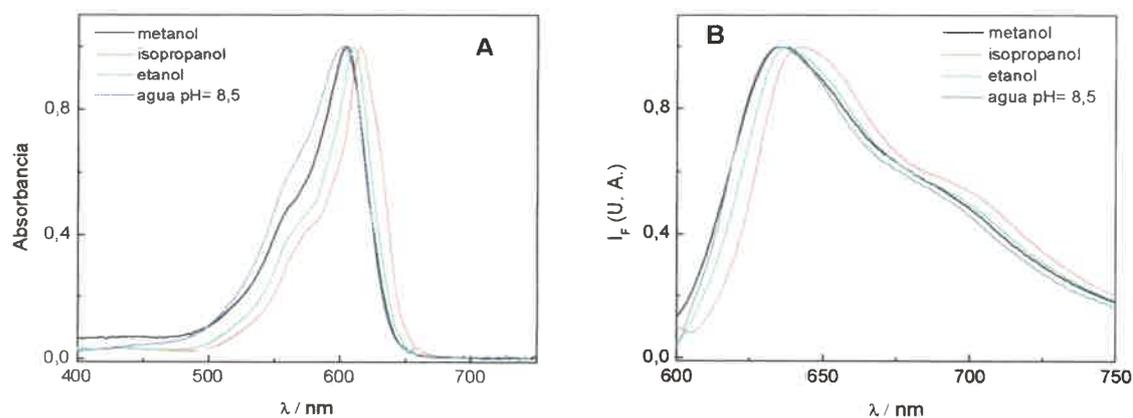


Figura III.5: Espectros de absorción normalizados (A) y espectros de emisión de fluorescencia normalizados (B) de RZ en diferentes solventes.

El efecto observado en los espectros se puede interpretar cualitativamente observando el diagrama de la figura III.6.

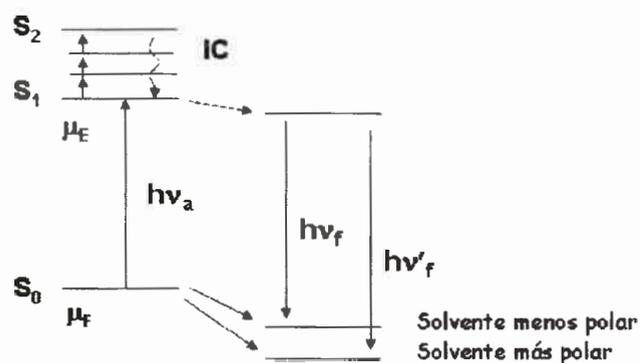


Figura III.6: Diagrama de Jablonski para la fluorescencia de un fluoróforo con la relajación del solvente, $\mu_E < \mu_F$.

El fluoróforo es típicamente excitado a un primer estado singlete S₁, usualmente a un estado excitado vibracional dentro de S₁. Si el fluoróforo es excitado a un segundo estado singlete S₂, rápidamente decae al estado S₁ en el orden de 10⁻¹² s por conversión interna. Después de la excitación, los dipolos del solvente pueden relajarse o reorientarse alrededor de μ_E, modificando la energía del estado excitado. Entonces, si consideramos el caso más típico, en donde el fluoróforo tiene un momento dipolar mayor en el estado excitado (μ_E), que en el fundamental (μ_F), si la polaridad del solvente aumenta, el espectro de emisión muestra corrimientos a mayores longitudes de onda. Si por el contrario, el estado fundamental es relativamente más polar que el correspondiente estado excitado, a medida que el solvente es más polar, el estado fundamental está más estabilizado y entonces la diferencia de energía entre el estado fundamental y el estado excitado se vuelve mayor cuando aumenta la polaridad del solvente, resultando en un corrimiento hipsocrómico. Por lo tanto, para los dos colorantes se tiene que μ_F es mayor que μ_E.

A partir de los espectros mostrados anteriormente, se determinaron las longitudes de onda máximas de absorción y fluorescencia de los colorantes en los diferentes solventes estudiados. Estos resultados son mostrados en la tabla III.1

Tabla III.1: Longitud de onda (nm) de los máximos de absorción y fluorescencia estacionaria para RF y RZ en varios solventes.

Solvente	RF		RZ	
	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Abs}}$	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Fl}}$	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Abs}}$	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Fl}}$
agua pH = 8,5	572	584	602	634
metanol	574	587	604	635
etanol	577	590	610	638
1-propanol	579	592	612	642
isopropanol	580	593	615	643
acetonitrilo	587	594	630	650

Una interpretación sencilla sobre la dependencia de los espectros con el solvente es obtenida a partir de la teoría general de efecto de solvente, la cual describe el corrimiento de Stokes en base a los cambios en el momento dipolar que ocurren luego de la excitación y la energía de un dipolo en diferentes solventes [3]. En la Figura se muestra el corrimiento de Stokes en función del parámetro del solvente de Bakhshiev, definido por la siguiente ecuación [4]:

$$f(\epsilon_r, n) = \left(\frac{\epsilon_r - 1}{\epsilon_r + 2} - \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) \left(\frac{2n^2 + 1}{n^2 + 2} \right) \quad (\text{III.1})$$

la cual considera al solvente como un medio continuo de constante dieléctrica uniforme. Donde ϵ_r y n son la permitividad relativa y el índice de refracción del solvente respectivamente.

Ambos gráficos muestran una tendencia lineal, lo que sugiere ausencia de interacciones específicas con el solvente. Del valor de la pendiente de los gráficos del corrimiento de Stokes ($\Delta\bar{\nu} = \bar{\nu}_{\text{max}}^A - \bar{\nu}_{\text{max}}^F$) en función del parámetro de solvente de Brakhshiev, se puede tener una aproximación del cambio del momento dipolar ($\Delta\mu = \mu_E - \mu_G$), para la transición $S_0 \rightarrow S_1$, siendo las pendientes $1212,6 \text{ cm}^{-1}$ y $747,6 \text{ cm}^{-1}$ para RZ y RF, respectivamente. El corrimiento de Stokes aumenta con el incremento de la

polaridad del solvente, indicando una interacción más fuerte del estado fundamental en solventes más polares.

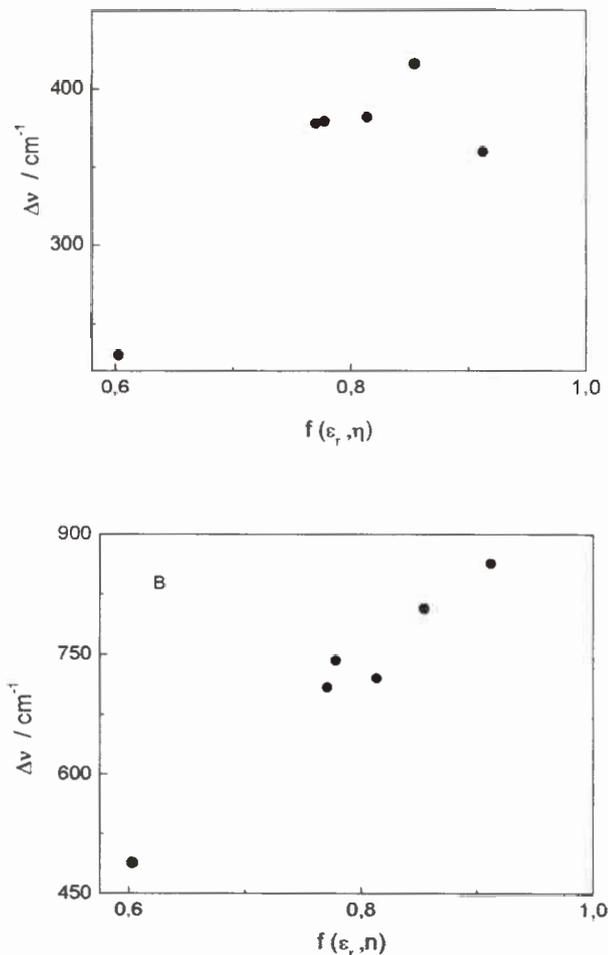


Figura III.7: Corrimiento de Stokes de A) RF y B) RZ en función del parámetro de solvente de Brakhshiev $f(\epsilon_r, \eta)$.

III.-1-1-2-1. Espectros de absorción y emisión de fluorescencia en mezclas de solventes

A fin de poder comprender los resultados en los microagregados de lecitina de soja, se investigó el comportamiento de los colorantes en la mezcla de solventes isoctano-10% 1-propanol. Debido a la baja solubilidad de los colorantes en isoctano, se procedió a preparar una solución concentrada ($\sim 5 \times 10^{-4} \text{ M}$) de estos en 1-propanol y se adicionó unos pocos microlitos a 2,5 ml de isoctano de manera de tener inicialmente

un bajo porcentaje de 1-propanol. A continuación se muestra el efecto de la composición de solvente sobre los espectros de absorción de ambos colorantes.

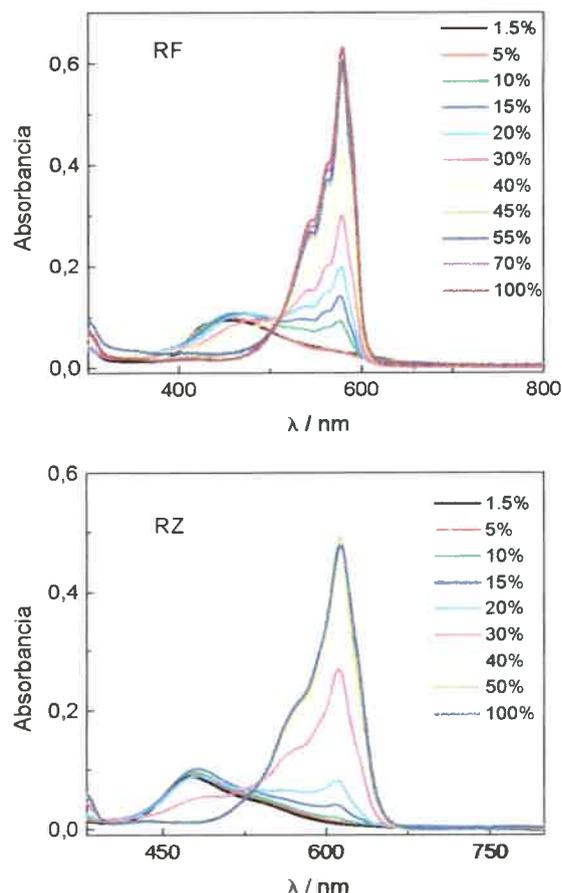


Figura III.8: Espectros de absorción de RF y RZ ($8,0 \times 10^{-6}$ M) en mezclas de isooctano con diferentes agregados de 1-propanol.

Ambos colorantes presentan el mismo comportamiento. A medida que aumenta la cantidad de alcohol el espectro de absorción se corre a mayores longitudes de onda y cambia su forma hasta que la cantidad de 1-propanol es del 40 - 50 %, a partir de allí el espectro es el correspondiente al del colorante en el alcohol puro. Puede observarse que para un 10 % de alcohol (que corresponde a la mezcla de solvente en las microemulsiones) RF presenta una banda ancha a 455 nm y RZ \sim 470 nm y en ambos casos un hombro a mayor longitud de onda (cerca donde absorben los colorantes en 1-propanol puro).

Los espectros de fluorescencia corregidos a igual cantidad de luz absorbida, se muestran en las figuras III.9 y III.10. Ambos colorantes presentan el mismo

comportamiento, a bajo porcentaje de 1-propanol se observa muy poca fluorescencia, recién a partir de un 10% de alcohol para RF y de un 20 % para RZ la fluorescencia se vuelve apreciable. A medida que aumenta la cantidad de alcohol los espectros se corren a mayor longitud de onda. A partir de 40 - 50 % son similares a los en alcohol puro. Esto está de acuerdo con la variación de los rendimientos cuánticos de fluorescencia (ver insertos figuras III.9 y III.10). Los tiempos de vida de fluorescencia aumentan levemente con el incremento del porcentaje de 1-propanol, alcanzando el valor que tienen los colorantes en el alcohol puro, siendo de 4,90 ns y 1,20 ns para RF y RZ respectivamente.

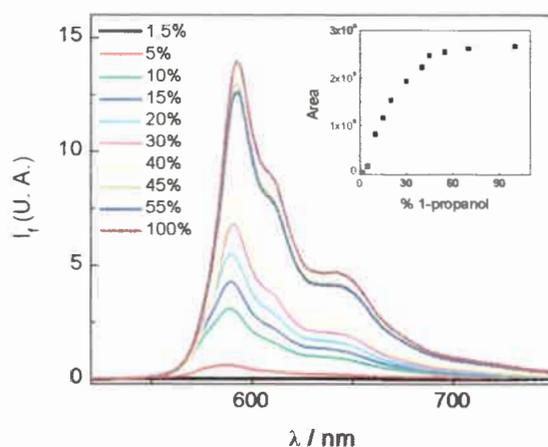


Figura III.9: Espectros de fluorescencia corregidos de RF (8×10^{-6} M) en isooctano con diferentes % de 1-propanol a $\lambda_{exc} = 500$ nm a $T = 25$ °C. **Inserto:** Rendimiento cuántico de fluorescencia en función del % 1-propanol.

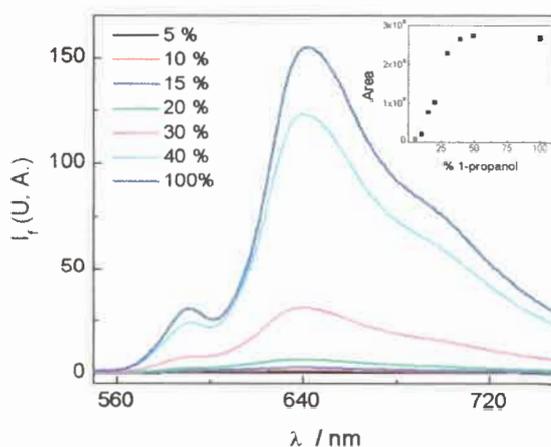


Figura III.10: Espectros de fluorescencia corregidos de RZ ($8,0 \times 10^{-6}$ M) en isooctano con diferentes % de 1-propanol a $\lambda_{exc} = 520$ nm a $T = 25$ °C. **Inserto:** Rendimiento cuántico de fluorescencia en función del % 1-propanol.

III-1-1-3. Efecto del pH

Se encontró que la absorción de estas moléculas depende fuertemente del pH. Debido a la presencia de los dos átomos de oxígeno, los cuales presentan una carga parcial negativa por la deslocalización de los electrones del oxígeno en los anillos aromáticos, ambos colorantes pueden protonarse o deprotonarse dependiendo del pH del medio.

Para ambos colorantes el espectro no se ve afectado por cambios de pH en el intervalo de pH 7,5-11,5. En la figura III.11, se muestra la determinación del espectro UV-visible de RF en solución acuosa a diferentes valores de pH entre 3,3-10,4.

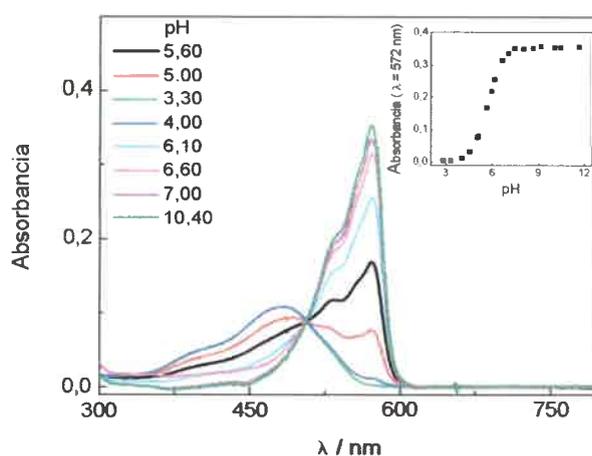


Figura III.11: Espectro de absorción de RF ($5,0 \times 10^{-6}$ M) en agua en función del pH. **Inserto:** Gráfico de absorbancia a $\lambda_{\max} = 572$ nm en función del pH.

Las bandas a 485 y 572 nm corresponden a las formas ácida y básica del colorante, respectivamente. Con el incremento del pH, la banda a 485 nm se corre hacia el rojo con una disminución en la absorbancia. Esto es seguido por la formación de la banda de la forma básica a 572 nm con un claro punto isobéptico a 506 nm, confirmando el equilibrio entre dos especies (la forma ácida y básica de RF). Del inserto de la figura III.11 se obtuvo un valor del pK de 5,7, valor similar al informado previamente en la literatura [1]. Cambios espectrales similares a los encontrados en este trabajo para RF fueron reportados por Flamigni y col. [5]. Dichos autores estudiaron la interacción entre RF y solventes polares apróticos (nitrilos) y solventes polares próticos (alcoholes). Observaron que en soluciones de alcoholes el colorante presenta una banda

con máximo de absorción a 571 nm a 298 K que disminuye con la reducción de la temperatura y otra banda aparece a 480 nm, con un claro punto isobéptico. El mismo efecto se encontró para la emisión de fluorescencia. Explican este comportamiento debido a la formación de enlace de hidrógeno con el solvente, y atribuyen la banda a mayor energía a la especie protonada y el anión como responsable de la banda más al rojo. La protonación resulta en formación de especies neutras las cuales luego pueden ser sometidas a procesos de agregación. También se encontró algo similar para RF en *n*-butil alcohol y *ter*-butil alcohol. En el primer alcohol, RF se encuentra en su forma disociada mientras que en el segundo, se encuentra asociada presentando una banda ancha a aproximadamente 480 nm [6].

En la figura III.12 se muestra el cambio en los espectros de absorción con el pH para RZ. A pH ácido el espectro presenta una banda ancha centrada en 530 nm y un hombro a ~570 nm. A medida que incrementa el pH, la intensidad de absorción del máximo disminuye mientras que la absorción a ~570 nm aumenta. A un pH ~ 6 una única banda está presente con un máximo de absorción a 602 nm correspondiente a la forma deprotonada del colorante. El valor del pK para la reacción ácido-base determinado a partir del inserto de la figura III.8 fue de 5.5, similar al obtenido para RF. Estos valores fueron atribuidos a la protonación de uno de los oxígenos fenólicos [1].

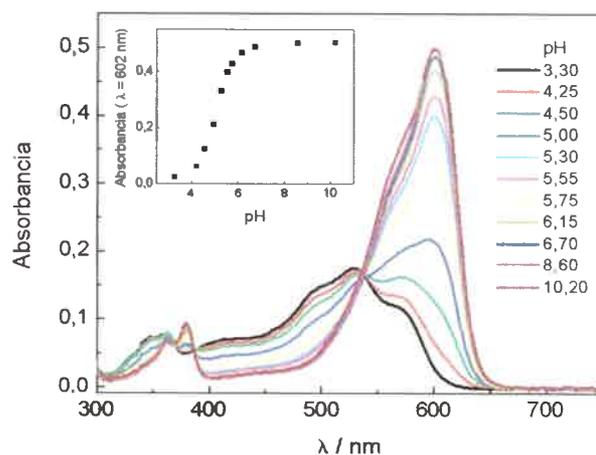


Figura III.12: Espectro de absorción de RZ ($5,0 \times 10^{-6}$ M) en agua en función del pH. **Inserto:** Gráfico de absorbancia a $\lambda_{\text{max}} = 602$ nm en función del pH.

Por tal motivo, todas las mediciones se realizaron a un pH básico (entre 8-10), para asegurarnos de tener una única especie presente, la forma deprotonada de los colorantes.

III-1-1-4. Determinación tiempos de vida de fluorescencia

Se determinaron los tiempos de vida del estado excitado singlete de los dos colorantes, mediante la técnica de conteo de fotón único, en solución equilibrada con aire. Los valores experimentales corresponden a 2,90 ns y 0,71 ns para RF y RZ en solución acuosa a pH = 8,5 respectivamente. También fueron determinados en algunos alcoholes. Los resultados se muestran en la tabla III.2. Se observa una disminución del tiempo de vida de fluorescencia con el aumento en la polaridad del solvente.

Tabla III.2: Tiempos de vida de fluorescencia (τ_F) de RZ y RF en varios solventes.

Solvente	τ_F RZ	τ_F RF
agua pH = 8,5	0,71	2,90
metanol	1,10	4,50
1-propanol	1,25	4,90
isopropanol	1,30	4,98

III-1-1-5. Estado excitado triplete

Se obtuvieron los espectros de absorción de especies transitorias de ambos colorantes y su cinética de decaimiento, mediante la técnica de láser flash fotólisis (ver detalles de la técnica en capítulo II sección II-2-5).

III-1-1-5-1. Resazurina

En la figura III.13, se muestra el espectro de especies transitorias de RZ en solución acuosa a pH = 8,5 a 1 μ s y 80 μ s luego del pulso del láser. La solución fue saturada con gas argón e irradiada a 532 nm. Se observan dos bandas anchas entre 650-

850 nm y alrededor de 400 nm. El espectro a tiempo corto se corresponde con el espectro de absorción triplete-triplete informado en la literatura y puede ser atribuido al estado triplete del colorante [1,7]. Además, es similar a aquel determinado en 1-propanol (figura III.14). La absorción negativa entre 500-620 nm y a 379 nm indica la depleción del estado fundamental. A tiempo largo, la absorción en la región 650-850 nm se reduce apreciablemente, mientras que permanece en la zona de los 400 nm, y una nueva banda puede observarse a los 480 nm. La absorción en estas regiones muestra diferentes intensidades y perfiles de decaimientos. En el inserto de la figura III.13, están representadas las trazas temporales a 400, 480 y 825 nm. La señal a 825 nm decae con una cinética de primer orden con un tiempo de vida de 60 μs . El decaimiento de la señal a 400 nm es similar a aquella a 825 nm, pero permanece una absorción que correspondería a la de otra especie de vida larga. Por otro lado, la señal a 480 nm incrementa con el tiempo a una velocidad similar con la que decaen las especies que absorben a 825 nm. Esto implica que la absorción a 480 nm es causada por las especies formadas por reacción de las especies que absorben a 825 nm. La absorción a 400 nm y 480 nm son atribuidas a las especies semireducida y semioxidada del colorante, generadas por reacción del estado excitado triplete de RZ y una molécula del mismo colorante en el estado fundamental [1]. Este proceso es denominado auto-desactivación y se puede representar por el siguiente mecanismo:

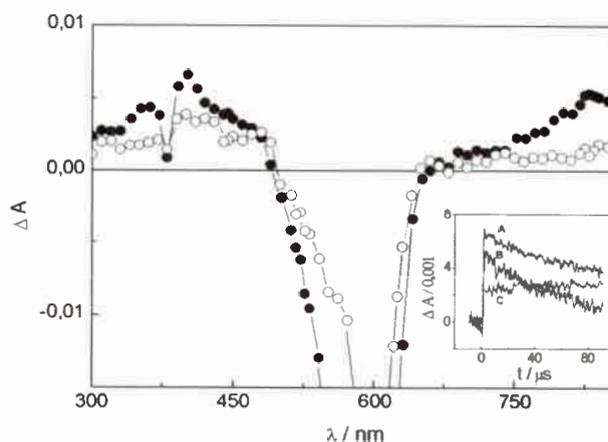


Figura III.13: Espectro de absorción de transitorio de RZ en agua pH = 8,5 a diferentes tiempos: 1 μs (●) y 80 μs (○) después del pulso del láser. **Inserto:** Trazas temporales a: A) 400 nm, B) 825 nm, y C) 480 nm.

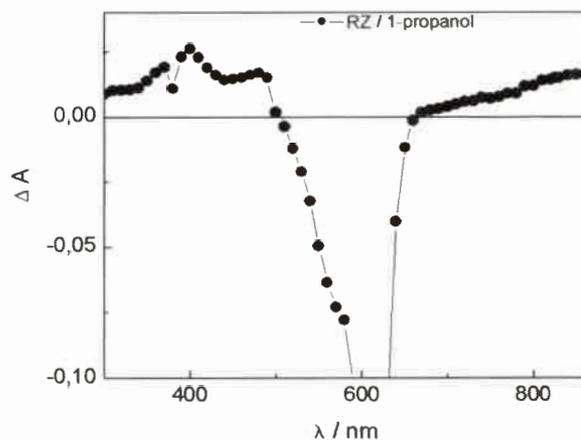


Figura III.14: Espectro de absorción de transitorio de RZ en 1-propanol a 1 μ s después del pulso del láser.

III-1-1-5-2. Resorufina

El espectro de absorción de especies transitorias en agua a pH = 8,5 a diferentes tiempos se muestra en la figura III. 15.

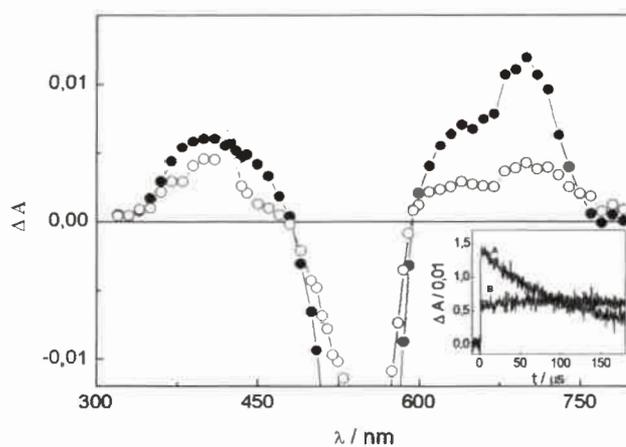


Figura III.15: Espectro de absorción de transitorio de RF en agua pH = 8,5 a diferentes tiempos: 2 μ s (●) y 150 μ s (○) después del pulso del láser. **Inserto:** Trazas temporales a: A) 700 nm, B) 420 nm.

El espectro a tiempo corto muestra dos bandas anchas entre 600-750 nm con una absorción máxima en 700 nm, y otra alrededor de 400 nm. La región de absorción negativa corresponde a la depleción del estado fundamental.

Del inserto de la figura III.15, se puede observar que la señal a 700 nm decae con una cinética de primer orden y un tiempo de vida de 100 μ s. La señal a 420 nm no decae en la misma escala de tiempo que la señal a 700 nm. El espectro se corresponde con el espectro de absorción de transitorio informado en la literatura [1]. En este trabajo, en base a estudios de sensibilización y cinética de los decaimientos, se atribuyó dicho espectro a una combinación de la absorción triplete triplete y blanqueo del estado fundamental. El espectro a tiempo largo, como en el caso de RZ tiene una absorción residual del estado triplete, y además en la región entre 350-450 nm asignada a las formas semireducida y semioxidada de RF. En la figura III.16, se muestra el espectro de transitorio determinado en metanol e isopropanol y puede observarse que son similares a aquel en solución acuosa a tiempo corto.

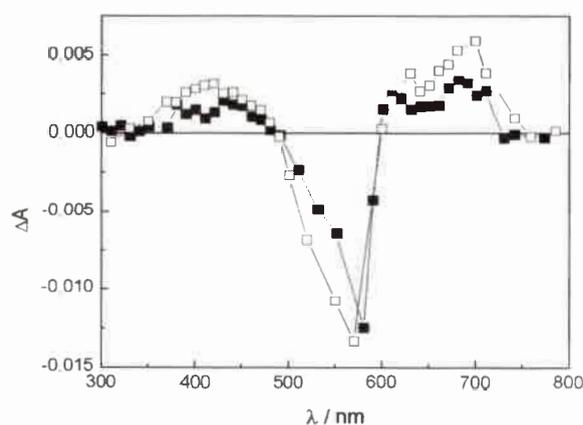


Figura III.16: Espectro de absorción de transitorio de RF en MeOH (□) e isopropanol (■) a 1,5 μ s luego del pulso del laser.

III-2. ESTUDIOS EN MEDIO ORGANIZADO

III-2-1. Micelas directas de CTAC

III-2-1-1. Espectros de absorción y fluorescencia

Los espectros de absorción de los dos colorantes a una concentración fija de aproximadamente $5,0 \times 10^{-6}$ M y variando la concentración de CTAC en medio acuoso a 25°C muestran un comportamiento similar (ver figuras III.17 y III.18). En ambos

casos, con los primeros agregados de surfactante la absorción del colorante disminuye y luego se incrementa produciéndose un corrimiento batocrómico del máximo de la banda de absorción, aproximadamente de 9 nm para la RF y 10 nm para RZ. Además se observa un cambio en la forma de los espectros (estructura fina más pronunciada) a partir de $1,0 \times 10^{-3}$ M de CTAC. Esto puede ser atribuido a una disminución en la polaridad del medio en que se encuentra el colorante, es decir, en la interfase micelar. Luego la absorbancia permanece constante a $[CTAC] > 3,0 \times 10^{-3}$ M. Este cambio observado es coincidente con la concentración micelar crítica de CTAC ($cmc = 1,4 \times 10^{-3}$ M [8]). Si se comparan los espectros de absorción de RF y RZ a $[CTAC]$ por encima de la cmc , con aquellos en solución homogénea se puede ver que son muy similares a los obtenidos en alcoholes y diferentes a los de agua. Los máximos de absorción coinciden prácticamente con los de isopropanol y etanol respectivamente (ver figura III.19). Esto indica que en el medio micelar ambos colorantes están sensando un medio menos polar que agua.

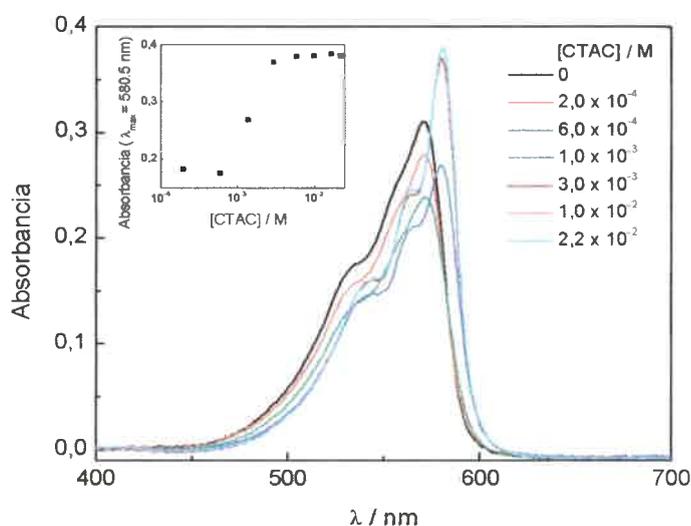


Figura III.17: Espectros de absorción de RF en agua pH = 8,5 en función de la $[CTAC]$ a $T = 25^{\circ}C$.
Inserto: Absorbancia a $\lambda = 580,5$ nm en función de la $[CTAC]$.

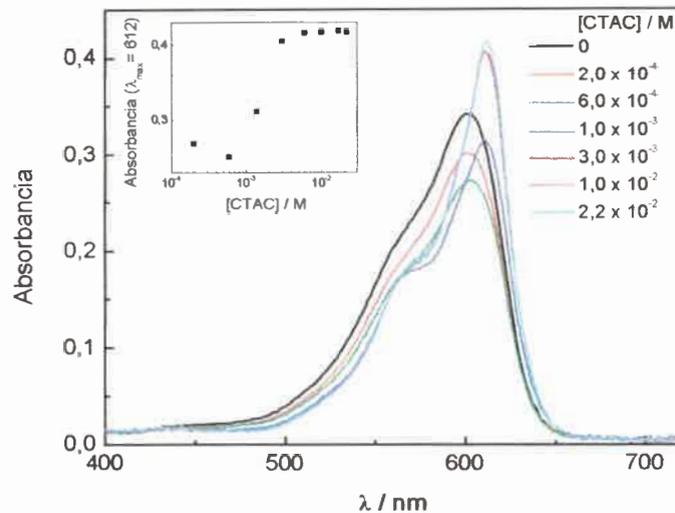


Figura III.18: Espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 a T = 25°C en función de la [CTAC].
Inserto: Absorbancia a $\lambda = 612$ nm en función de la [CTAC].

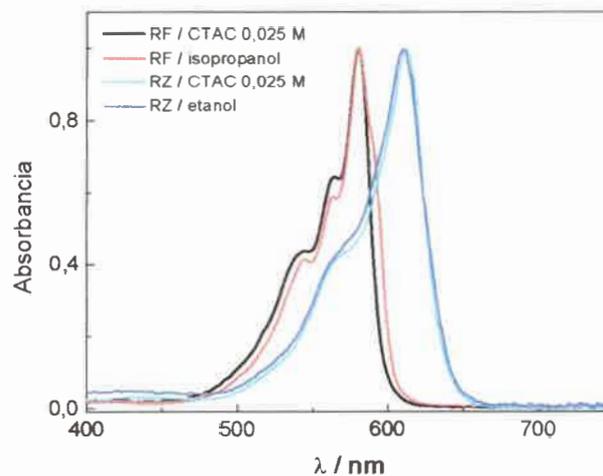


Figura III.19: Espectros de absorción de RZ y RF en CTAC 0,025 M comparado con etanol e isopropanol respectivamente.

Los espectros de fluorescencia muestran el mismo comportamiento. En presencia de bajas concentraciones de CTAC (donde todavía no se llegan a formar las micelas), disminuye la intensidad de fluorescencia y se produce un corrimiento hacia el rojo de aproximadamente 4 nm y 5 nm para RZ y RF respectivamente a partir de $1,0 \times 10^{-3}$ M de CTAC (próximo a la cmc). A concentraciones de CTAC, por encima de la cmc, se observa un aumento de la intensidad de fluorescencia y esta permanece constante a $[CTAC] > 3,0 \times 10^{-3}$ M (Ver figuras III.20 y III.21). Los cambios

espectrales observados son típicos del comportamiento general de los colorantes en presencia de surfactantes de carga opuesta [9,10].

Los gráficos de absorbancia en función de la concentración de surfactante, muestran tres zonas diferenciadas: a baja concentración la absorbancia permanece aproximadamente constante y es atribuido a la formación de agregados pre-micelares, una estrecha zona de transición y luego un plateau a altas concentraciones (inserto figuras III.17 y III.18). La zona de transición corresponde a la formación de agregados micelares y es la usada para definir la cmc. Esto se observa aún mejor en una gráfica semilogarítmica, representando las λ_{\max} de los espectros de fluorescencia en función de la concentración de CTAC (inserto figuras III.20 y III.21). M. H. Gehlen y otros, observaron cambios muy similares en los espectros de absorción con el agregado de surfactante para Naranja de Metilo con CTAC [11].

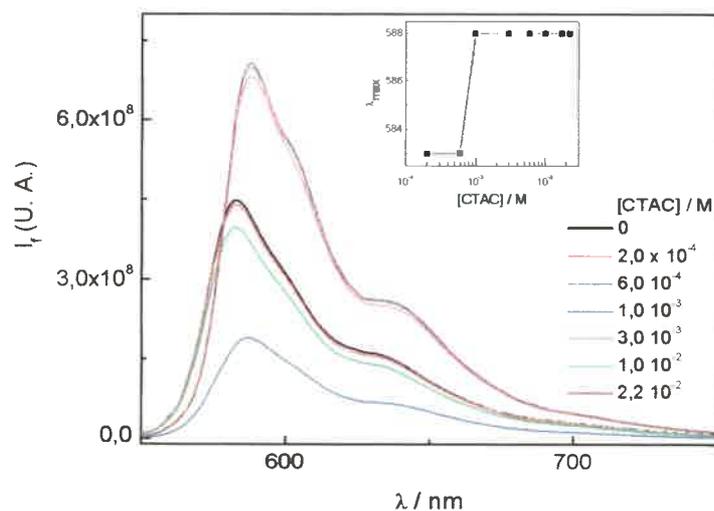


Figura III.20: Espectros de emisión de fluorescencia de RF en agua pH = 8,5 en función de [CTAC].

Inserto: Variación del λ_{\max} en función de [CTAC].

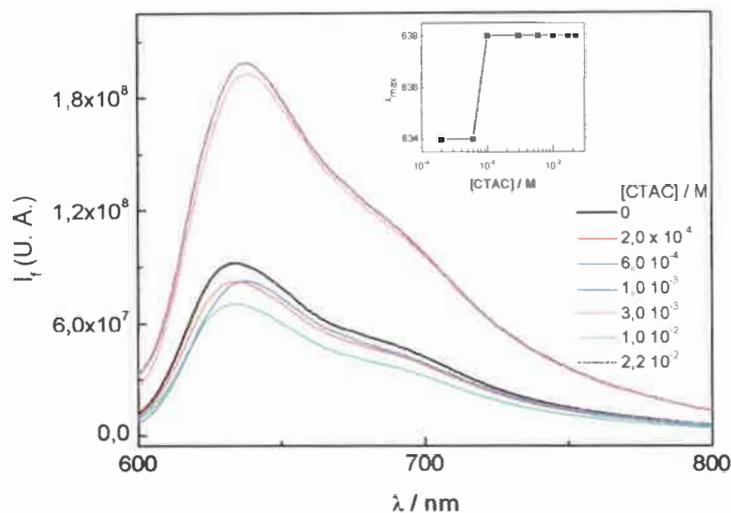


Figura III.21: Espectros de emisión de fluorescencia de RZ en agua pH= 8,5 en función de [CTAC].
Inserto: Variación del λ_{\max} en función de [CTAC].

La concentración micelar crítica en presencia de los dos colorantes se obtuvo del punto de corte con el eje x al aplicar la segunda derivada a los datos correspondientes de los insertos en las figuras III.17 y III.18, siendo de $1,8 \times 10^{-3}$ M cuando la molécula sonda es RF y de $2,0 \times 10^{-3}$ M cuando se utilizó RZ. También se determinaron los valores de cmc por medidas de fluorescencia de los insertos de las figuras III.20 y III.21, resultando ser $9,4 \times 10^{-4}$ M utilizando ambos colorantes como molécula sonda. También se obtuvieron valores similares graficando la intensidad de fluorescencia a la longitud de onda correspondiente al máximo en función de la concentración de CTAC. Los valores hallados se corresponden con el existente en la literatura para CTAC, en solución acuosa a temperatura ambiente [8]. Podemos apreciar que los valores de cmc obtenido por las dos técnicas espectroscópicas son muy similares, y se puede considerar que estaría dentro del error experimental. De todos modos se sabe que el valor de cmc depende de la molécula sonda utilizada para su determinación, como así también del método utilizado y es por esto que debe aclararse siempre de que manera fue determinada.

En el caso de la fluorescencia la disminución observada en la intensidad (datos no mostrados) con los primeros agregados de surfactante, puede ser atribuida a la formación de pares iónicos colorante-detergente, esta disminución correlaciona con una disminución de la absorbancia con estos mismos agregados.

Prosiguiendo con los estudios de fluorescencia, se determinaron los rendimientos cuánticos de fluorescencia usando como referencia violeta de cresilo en metanol. Los resultados se muestran en la tabla III.3. Ambos colorantes mostraron un incremento en presencia de las micelas catiónicas.

Tabla III.3: Rendimientos cuánticos de fluorescencia (Φ_F) de RZ y RF en CTAC 0,025 M y en solución acuosa.

Medio	Φ_F RZ	Φ_F RF
CTAC	$0,25 \pm 0,02$	$0,83 \pm 0,08$
agua pH = 8,5	$0,11 \pm 0,01$	$0,41 \pm 0,04$

III-2-1-2. Medición de los tiempos de vida de fluorescencia

A fin de completar los estudios de fluorescencia se determinaron los decaimientos temporales de la fluorescencia en función de la concentración de CTAC. A todas las concentraciones los perfiles de decaimiento fueron ajustados con una función monoexponencial. Para ambos colorantes los tiempos de vida comenzaron a aumentar cuando la concentración de surfactante se aproximó a la cmc hasta que alcanzaron un valor constante (Figura III.22). Este valor fue de 5,19 ns y 1,08 ns para RF y RZ respectivamente. Ambos son similares a aquellos en solución metanólica (4,5 ns para RF y 1,1 ns para RZ).

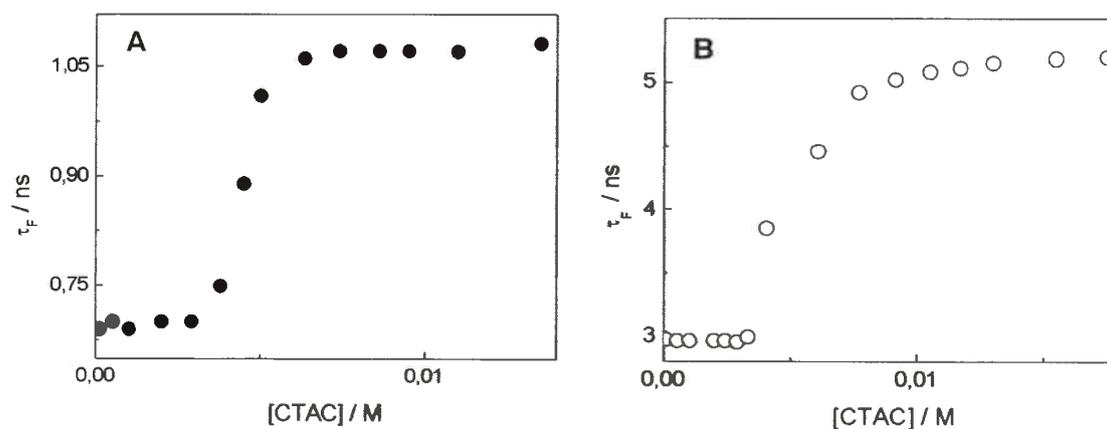


Figura III.22: Tiempos de vida de fluorescencia de los colorantes en agua pH = 8,5 con diferentes agregados de CTAC. A) RZ; B) RF.

Los cambios en el tiempo de vida de fluorescencia con diferentes agregados de CTAC coinciden con los realizados mediante mediciones de fluorescencia. Los valores de cmc obtenidos a partir de la figura III.22, fueron de $1,1 \times 10^{-3}$ M y $3,8 \times 10^{-3}$ M para RZ y RF, respectivamente. Un comportamiento similar fue observado para otras moléculas sondas (fenantreno y trifenileno) en CTAC [12]. Esto demuestra la validez del uso de tiempos de vida de fluorescencia de estas moléculas como un indicador de la formación de micelas.

Todos los resultados obtenidos pueden ser entendidos en términos de la incorporación de los colorantes en las micelas de CTAC. Siendo esto factible debido a la interacción electrostática atractiva por la carga negativa de las moléculas de los colorantes y la carga positiva de la superficie micelar. De este modo, los colorantes sensan un microentorno de polaridad diferente al agua y similar al de soluciones alcohólicas.

III-2-1-3. Estado excitado triplete

En las figuras III.23 y III.24 se muestran los espectros de absorción T-T obtenidos para RZ y RF en CTAC 0,025 M y en agua para su comparación. Se puede observar que para los dos colorantes, prácticamente ambos espectros presentan las mismas bandas, es decir, que la presencia del surfactante afecta escasamente la forma y posición de las bandas. Esto está de acuerdo, con los cambios muy pequeños en el espectro observados al pasar de agua a soluciones metanólicas [7]. Sin embargo, puede verse un efecto opuesto del surfactante sobre la intensidad de absorción. Para RZ la absorción T-T se incrementa en presencia del surfactante, mientras que para RF, dicha absorción disminuye notablemente.

En los insertos de las figuras III.23 y III.24, se muestran los espectros normalizados para apreciar mejor las similitudes. Se puede ver que para RZ los espectros son muy similares en todo el rango de longitudes de onda, a diferencia de lo que ocurre con RF, éstos son iguales sólo en la zona entre 600-750 nm.

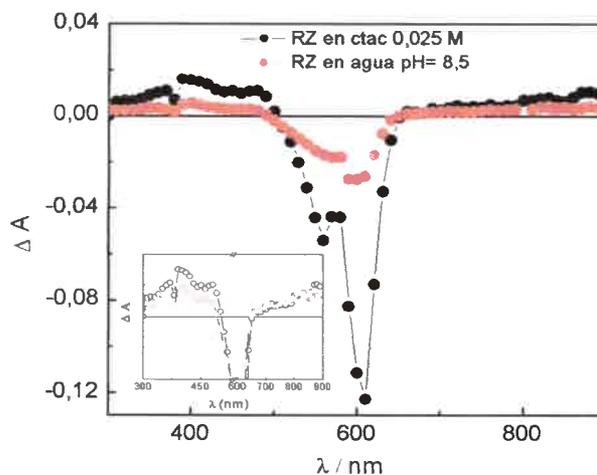


Figura III.23: Espectro de absorción de transitorio de RZ en agua pH = 8,5 y CTAC 0,025 M a T = 25 °C a 5 μs después del pulso del láser. **Inserto:** Espectros normalizados a 825 nm.

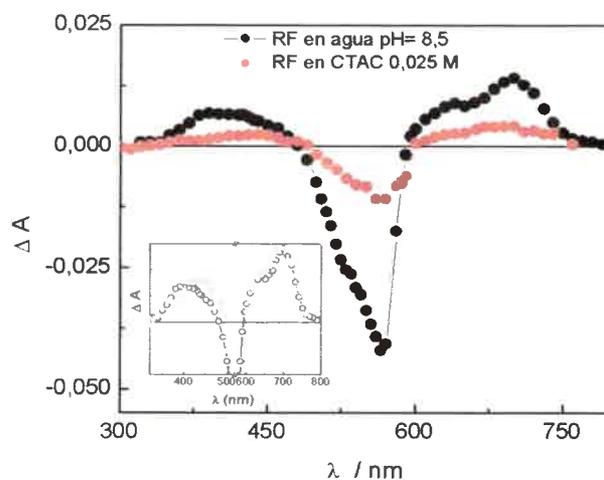


Figura III.24: Espectro de absorción de transitorio de RF en agua pH = 8,5 y CTAC 0,025 M a T = 25 °C a 5 μs después del pulso del láser. **Inserto:** Espectros normalizados a 700 nm.

Esta diferencia en los espectros puede explicarse en base a que en la zona más al rojo del espectro, está bien considerar que la única especie que absorbe es el estado triplete del colorante, en cambio en la primera región espectral absorben tanto el triplete como el estado fundamental al igual que en la región negativa, y además los productos debido a la auto-desactivación del colorante. Por lo tanto, el espectro obtenido es una forma aproximada de lo que sería el estado triplete puro. También se puede observar de ambas figuras, un pequeño corrimiento del espectro en CTAC hacia el rojo con respecto

al de agua, esto puede ser por efecto de solvente como se ha observado en absorción y fluorescencia.

Los cambios de intensidad podrían deberse a cambios en los coeficientes de absorción molar del estado triplete (ϵ_T) o el rendimiento cuántico de cruce entre sistemas (Φ_T). Para aclarar este aspecto se procedió a la determinación de estas cantidades. Para tales determinaciones, las soluciones de los colorantes en el medio micelar y en agua fueron ajustadas a la misma absorbancia a $\lambda = 532$ nm.

Los ϵ_T fueron determinados por la técnica de depleción del estado fundamental (ver sección II-2-5-1). Para los dos colorantes, la absorción negativa fue bastante coincidente con el espectro de absorción del estado fundamental (ver ejemplo figura III.25). Esto es consistente con la ausencia de formación de algún fotoproducto bajo las condiciones experimentales de láser empleadas, y permite la aplicación del método de depleción del estado fundamental para conocer el coeficiente de absorción del estado triplete.

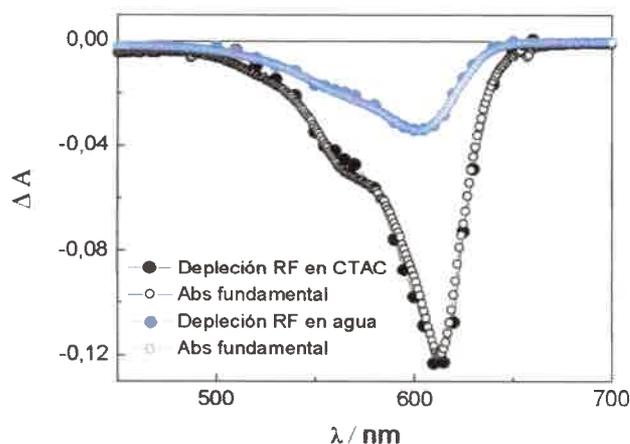


Figura III.25: Depleción del estado fundamental de RZ en agua pH = 8,5 y en CTAC 0,025 M a T = 25 °C a 5 μ s del pulso del láser. Comparación con el espectro de absorción del estado fundamental.

Los coeficientes de absorción del estado triplete de RF y RZ determinados en agua y CTAC se presentan en las tablas III.4 y III.5, respectivamente.

En la figura III.26 se muestra el espectro normalizado de RF a una longitud de onda correspondiente a la primera región espectral ($\lambda = 380$ nm). Se observa claramente una mayor absorción de RF en CTAC que en agua en la zona más al rojo del espectro, lo que estaría de acuerdo con los coeficientes de absorción molar obtenidos.

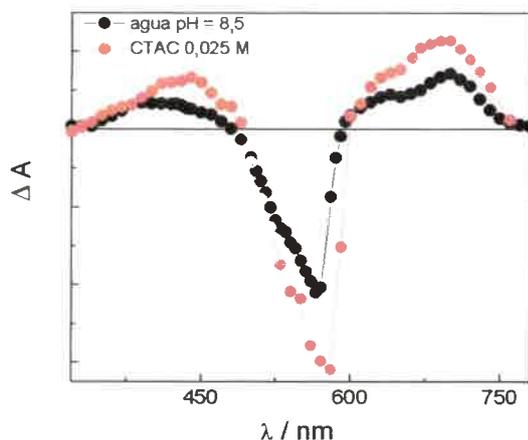


Figura III.26: Espectro de absorción de triplete de RF en agua pH = 8,5 y CTAC 0,025 M a T = 25 °C a 5 μ s después del pulso del láser. Normalizados en 380 nm.

Para RZ, cuando se normalizan los espectros en 390 nm se observa que la absorción en la región entre 700-900 nm en CTAC es algo mayor que en agua, estando de acuerdo con los valores obtenidos del ϵ_T (ver figura III.27).

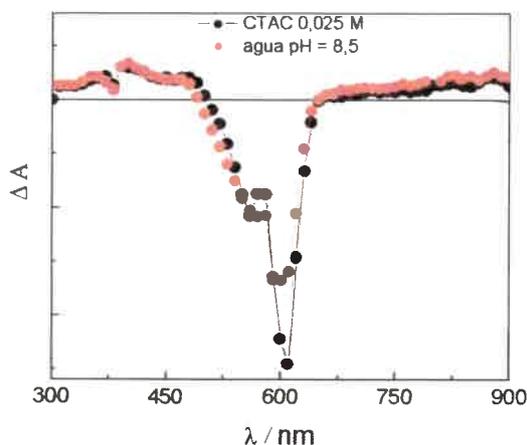


Figura III.27: Espectro de absorción de triplete de RZ en agua pH = 8,5 y CTAC 0,025 M a T = 25 °C a 5 μ s después del pulso del láser. Normalizados en 390 nm.

El rendimiento cuántico de formación del estado triplete se determinó mediante actinometría relativa (ver sección II-2-5-1). Se empleó como solución estándar ZnTPP en benceno de ϵ_T y Φ_T bien conocido. Se procedió a atenuar la energía del láser con una solución de KMnO_4 colocado en una celda a la salida del haz del láser y antes de la

celda que contiene la muestra. Se mide el % T del permanganato que será proporcional a la energía incidente en la muestra.

De acuerdo a la ecuación II.9 (Capítulo II) el cociente A_{ZnTPP} / A_M se calcula tomando las pendientes de la región lineal de los gráficos de absorbancia extrapoladas a $t = 0$ (inmediatamente luego de la excitación) en función del % T, como se puede observar a modo de ejemplo en la figura III.28 para RF.

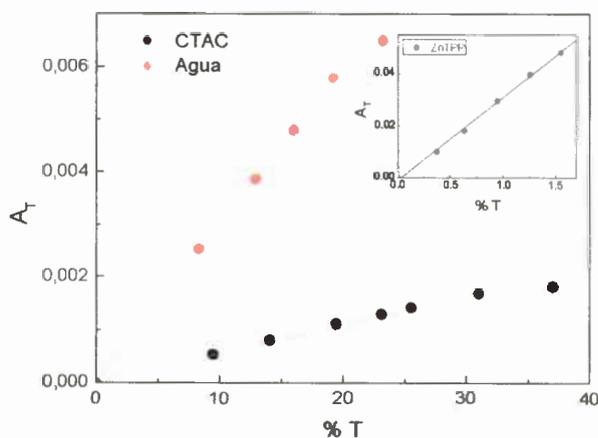


Figura III.28: Actinometría utilizando la absorbancia del estado triplete de ZnTPP (470 nm) para la determinación del rendimiento cuántico de triplete a 700 nm de RF en solución acuosa y en micelas de CTAC. Inserto: Absorbancia del estado triplete de ZnTPP a 470 nm en función del % T.

Con el producto ($\Phi_T \epsilon_T$) obtenido por actinometría y el ϵ_T determinado por depleción del estado fundamental, los rendimientos cuánticos de formación de triplete fueron obtenidos. Los resultados para ambos colorantes se muestran en las tablas III.4 y III.5.

La disminución observada del Φ_T de RF en CTAC con respecto al valor en agua está de acuerdo con el aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia obtenido (ver tabla III.4).

Para RZ, los valores de los Φ_T obtenidos en solución acuosa y en CTAC fueron muy similares (tabla III.5) y la diferencia está dentro del error experimental que es de aproximadamente un 20%. Si bien en este caso también el rendimiento cuántico de fluorescencia aumenta el doble en CTAC como ocurre con RF, los valores experimentales son mucho más chicos y por lo tanto el error que es grande influye más. Si recordamos que la suma de los rendimientos cuánticos de todos los procesos



cinéticos involucrados es igual a la unidad, para RZ se tiene que el rendimiento cuántico para el proceso de decaimiento no radiativo es muy grande con respecto a la fluorescencia y a la formación de triplete. Por lo tanto el rendimiento cuántico de formación de triplete no cambia mucho, debido a que el rendimiento cuántico para el proceso no radiativo es el que más pesa.

Tabla III.4: Parámetros fotofísicos de resorufina en agua pH = 8,5 y CTAC.

	RF en agua	RF en CTAC
Absorción λ_{\max} / nm (ϵ_R [$M^{-1} cm^{-1}$])	572 (51000 \pm 2500)	580,5 (64000 \pm 3200)
Fluorescencia λ_{\max} / nm	584	588
Φ_F	0,41 \pm 0,04	0,83 \pm 0,08
τ_F / ns	2,90	5,19
Triplete λ_{\max} / nm (ϵ_T ([$M^{-1} cm^{-1}$])	700 (17000 \pm 1000)	700 (26000 \pm 1200)
Φ_T	0,04 \pm 0,01	0,004 \pm 0,001
τ_T (μs)	~100	~120

Tabla III.5: Parámetros fotofísicos de resazurina en agua pH = 8,5 y CTAC.

	RZ en agua	RZ en CTAC
Absorción λ_{\max} / nm (ϵ_g [$M^{-1} cm^{-1}$])	602 (42000 \pm 2100)	612 (50000 \pm 2500)
Fluorescencia λ_{\max} / nm	634	638
Φ_F	0,11 \pm 0,01	0,25 \pm 0,02
τ_F / ns	0,71	1,08
Triplete λ_{\max} / nm (ϵ_T ([$M^{-1} cm^{-1}$]))	825 (4300 \pm 300)	825 (3200 \pm 200)
Φ_T	0,08 \pm 0,015	0,20 \pm 0,05
τ_T (μs)	\sim 40 μs	\sim 50 μs

III-2-2. Micelas directas de SDS

Se procedió a realizar los mismos estudios de absorción y fluorescencia con el surfactante aniónico SDS. A diferencia de los estudios anteriores, no se encontraron cambios significativos en los espectros de absorción y fluorescencia con el agregado de SDS ni antes ni después de la región micelar ($cmc = 8,0 \times 10^{-3} M$) [8]. En la figura III.29, se muestra para RZ los espectros de absorción con el aumento en la concentración de surfactante. Se observa al igual que en el caso anterior, una pequeña disminución de la absorbancia pero sin corrimiento de los espectros. Estos resultados sugieren la ausencia de interacción molecular entre los colorantes con el surfactante en el estado fundamental.

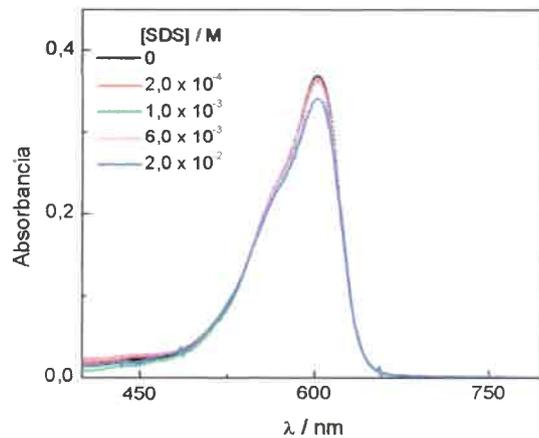


Figura III.29: Espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 con diferentes agregados de SDS.

En los espectros de fluorescencia corregidos por igual intensidad de luz absorbida (figura III.30) se observa una pequeña disminución de la intensidad de fluorescencia con el agregado de SDS.

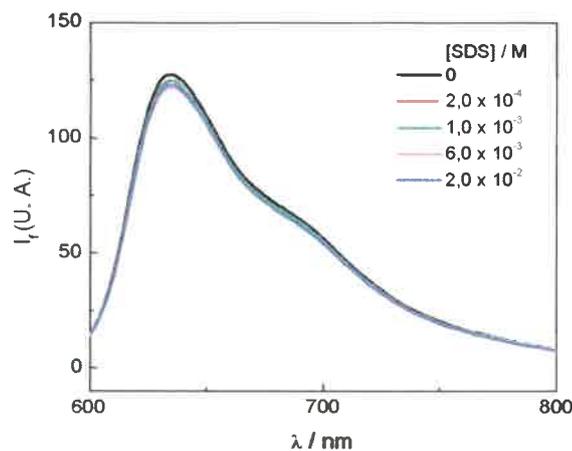


Figura III.30: Espectros de emisión de RZ en agua pH = 8,5 con diferentes agregados de SDS.

En este caso, habría una repulsión electrostática entre cargas de igual signo entre el surfactante y el colorante, por lo que podría pensarse que los colorantes comicelizan con el surfactante o bien se quedan en la fase acuosa. Esto explicaría que no haya cambios en los máximos de los espectros en las figuras III.29 y III.30. Un efecto similar fue observado para el colorante naranja de metilo con SDS [11].

En la figura III.31 se muestra que el espectro de RZ en SDS coincide mejor con el de este en agua que en metanol (solvente menos polar), por lo que se descartaría la posibilidad de que comicelice, ya que no se observa que el colorante este en un entorno menos polar.

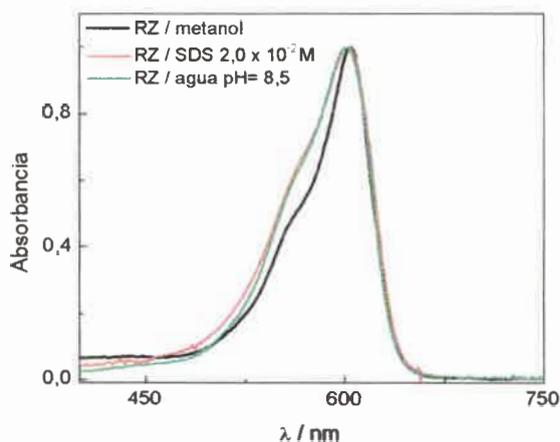


Figura III.31: Espectros de absorción de RZ en SDS, metanol y agua pH = 8.5.

Los tiempos de vida de fluorescencia determinados en las micelas de SDS de ambos colorantes son iguales a los de éstos en agua pura. Con lo que puede concluirse que en SDS las moléculas de colorante no interaccionan con el surfactante.

REFERENCIAS

-
- [1] C. Bueno, M. L. Villegas, S. G. Bertolotti, C. M. Previtali and, M. V. Encinas, *Photochem. Photobiol.*, 76 (4) (2002) 385.
- [2] B. W. Rossiter, R. C. Baetzold (Eds), *Physical Methods of Chemistry*, Vol VIII, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1993.
- [3] J. L. Lakowicz (Ed.), *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Vol I, Plenum Press, New York, 1983.
- [4] N. G. Bakhshiev, *Opt. Spektrosk.*, 16 (1964) 821.
- [5] L. Flamigni, E. Venuti, N. Camaioni, and Francesco Barigelletti, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*, 85 (12), (1989) 1935.
- [6] J. P. Rasimas, G. J. Blanchard. *J. Phys. Chem.*, 100 (1996) 11526.
- [7] H. A. Montejano, M. Gervaldo, S. G. Bertolotti, *Dyes Pigm.*, 64 (2005) 117.
- [8] K. Kalyanasundaram, *Photochemistry in microheterogeneous systems*. Academic Press, Inc. (1987).
- [9] E. W. Anacker, *J. Colloid Interface Sci.*, 164 (1994) 54.
- [10] M. G. Neumann and M. H. Gehlen, *J. Colloid Interface Sci.*, 135 (1990) 209.
- [11] M. H. Gehlen, M. Ferreira, M. G. Neumann, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 87 (1995) 55.
- [12] K. Nakashima, I. Tanaka, *Langmuir*, 9 (1993) 90.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Micelas inversas y microemulsiones

IV-1. Micelas inversas de AOT

IV-1-1. Propiedades fotofísicas de RF y RZ en micelas inversas de AOT / n-heptano

Se comenzó el estudio realizando los espectros de absorción de los colorantes en micelas inversas de AOT / n-heptano. Para ello se preparó una solución de AOT en n-heptano 0,2 M como se indicó en la sección II.2, y una solución concentrada del colorante en agua a pH = 8,5. Se adicionaron unos pocos microlitros de esta solución a la celda de absorción de paso óptico 1 cm conteniendo un volumen exactamente medido (2,5 ml) de la solución del surfactante. Suponiendo una distribución de tamaño homogénea de las micelas inversas y como la concentración de AOT empleada es mucho mayor que la cmc (5×10^{-4} - $2,5 \times 10^{-3}$ M) [1] puede considerarse que todas las moléculas de AOT se encuentran formando micelas inversas. Teniendo en cuenta que para un amplio rango de w y a T = 25°C el número de agregación varía entre $108 \leq N_{ag} \leq 520$ [2], se calculó la concentración de micelas, según la ecuación I.1 (expuesta en capítulo I), siendo de $2,0 \times 10^{-3}$ M \leq [micela] $\leq 4,0 \times 10^{-4}$ M. Además, siendo la concentración de colorante $\leq 6,0 \times 10^{-6}$ M y suponiéndolo todo micelado se obtuvo $n < 0,1$ para el número promedio de moléculas de colorante por micela (n) (ver ecuación I.2). Por lo tanto, se puede descartar la formación de agregados de los colorantes.

IV-1-1-1. Absorción UV-Visible

➤ RESORUFINA

En la figura IV.1 se muestra el espectro de absorción de RF en las micelas inversas de AOT / n-heptano a distinto w, adicionando agua a pH = 8,5. Se observa una banda ancha totalmente diferente a la de la molécula en agua pura, con un máximo en 470 nm a w = 4,4, la cual se corre hacia el rojo a 478 nm cuando w = 40. A este w aparece una pequeña banda en la zona donde absorbe la molécula en agua pura ($\lambda = 572$ nm). El pH del agua regulado externamente, no necesariamente seguirá teniendo el mismo valor una vez que el agua es adicionada en la micela inversa. En la literatura se encontraron varios trabajos sobre la determinación del pH de la laguna acuosa en las

micelas inversas de AOT. En los mismos, se hace hincapié sobre la acción tipo buffer del AOT, y que el pH aparente en la laguna acuosa de estas micelas es diferente de aquel de la solución adicionada. [3,4]. Además, se ha hallado que el pH de una solución de una molécula sonda neutra introducida en la micela sensa un pH más ácido [5].

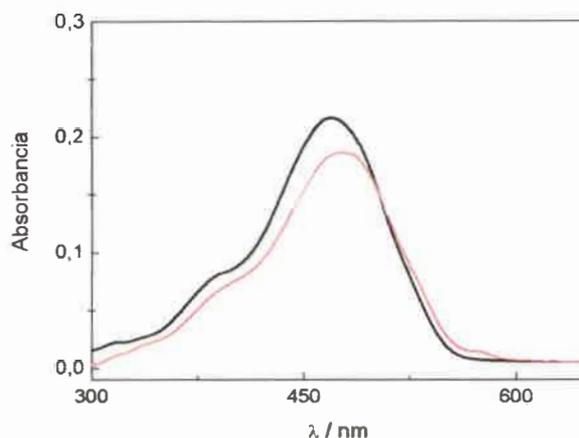


Figura IV.1: Espectros de absorción de RF en AOT / n-heptano 0,2 M a $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a: (—) $w = 4,4$ y (—) $w = 40$ con adición de agua pH = 8,5.

Se procedió a realizar la misma experiencia, pero adicionando agua a pH = 12. Se observó que la banda a 470 nm disminuye, a $w = 12,8$ se corre hacia el rojo unos 5 nm con la aparición de una pequeña banda en la zona donde absorbe la forma básica del colorante. A valores más altos de w , desaparece la banda a 470 nm y aparece la banda a 572 nm correspondiente a la forma básica (deprotonada) de RF (ver figura IV.2). Esto podría ser explicado suponiendo que el colorante se encuentra inicialmente comicelizando en la interfase. A bajo w , las moléculas de agua están completamente enlazadas con los grupos cabeza polares del AOT y debido a la carga negativa de éstos un pH aparente más bajo es sensado en la región interfacial [6]. A medida que aumenta w , donde se sabe que existe verdaderamente una laguna acuosa ($w \geq 10$), la molécula de colorante con carga negativa tiende a pasar a la fase acuosa debido a la repulsión electrostática entre esta y los grupo cabeza polares con carga negativa del AOT.

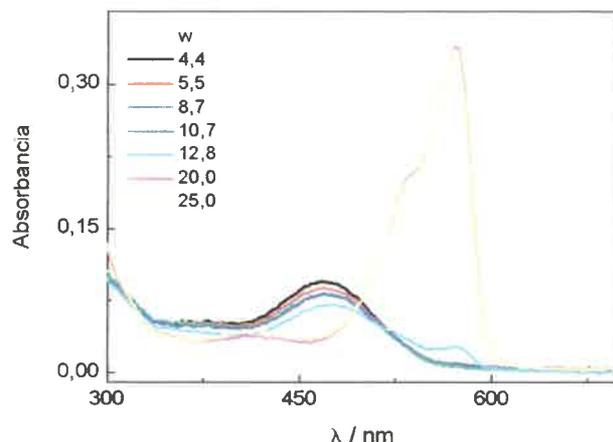


Figura IV.2: Espectros de absorción de RF en AOT / n-heptano 0,2 M a $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, a distintos w con adición de agua $\text{pH} = 12$.

En la figura IV.3, se muestra el espectro de la forma ácida de RF. Como puede verse, el espectro del colorante a w bajo y el de su forma protonada absorben en la misma zona. A pesar de que ambos espectros no son del todo coincidentes, puede sugerirse que la banda a w bajo centrada a 470 nm sea del colorante protonado. Además en la misma figura se puede observar que la banda del colorante a $\text{pH} = 8,5$ es muy similar a la de este a w alto, confirmando de este modo que RF a valores de w altos reside en la fase acuosa de la micela inversa.

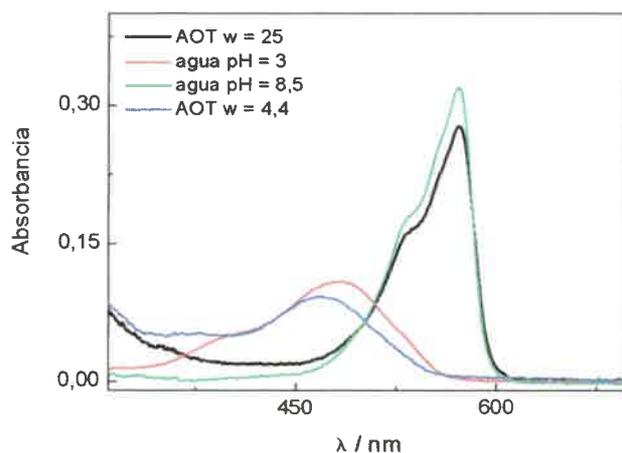


Figura IV.3: Espectros de absorción de RF en AOT / n-heptano 0,2 M a $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, a w distintos con adición de agua $\text{pH} = 12$ y espectros de absorción de RF en agua a pH básico y ácido.

De acuerdo a los resultados anteriores se puede ver que el colorante es fuertemente afectado por el cambio del pH, debido a esto se estudió el efecto de pH en medio micelar utilizando AOT / n-heptano 0,2 M y $w = 20$. Se obtuvo una curva de titulación corrida en dos unidades de pH con respecto a la del agua pura. De estos resultados (figura IV.4) se obtuvo un valor de pK aparente de 7,5. Esto significa que el colorante cuando está en el medio micelar sensa un cambio de pH respecto al agua pura.

Cambios espectrales similares por variación del pH fueron observados para el colorante piranina localizada mayormente en la fase acuosa de las micelas de AOT [3]. En ese trabajo se concluye que un número considerable de los grupos sulfonatos de AOT localizados en la interfase son responsables de la acción buffer observada.

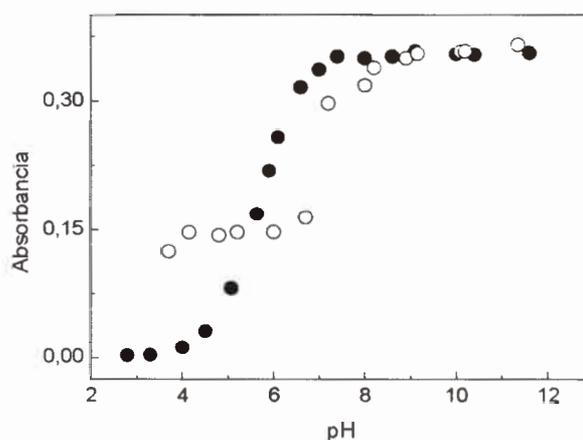


Figura IV.4: Gráfico de absorbanza de RF en función del pH del agua adicionada a la micela; (●) $\lambda_{\text{max}} = 572$ nm en solución acuosa; (○) $\lambda_{\text{max}} = 572$ nm en micelas inversas de AOT / n-heptano 0,2 M a $w = 20$.

Resumiendo, se observa que las propiedades aparentes ácido-base de RF son bastante diferentes en micelas inversas de AOT. Mientras que una solución de RF en agua ajustada a $\text{pH} = 8,5$ las moléculas se encuentran deprotonadas, cuando esta misma solución es adicionada en micelas de AOT el pH que sensan es distinto que el del agua pura y no es detectada la forma deprotonada del colorante. Esto aparece debido a que el pK de RF es distinto y mayor en el medio micelar (como puede verse en la figura IV.4). Esto es similar a lo observado por Menger y Saito [7], en las propiedades ácido-base del p-nitro fenol (PNP). Informaron que cuando el PNP es disuelto en agua $\text{pH} = 11,5$, casi todas las moléculas están en su forma aniónica y cuando se adiciona en microemulsiones de AOT no se detecta el anión fenolato, hasta que el pH de la solución

agregada excede de 11,5. Por lo que concluyen que el pK_a en AOT es mayor que en agua.

➤ RESAZURINA

En la figura IV.5, se muestra el espectro de absorción de RZ a diferentes w , adicionando agua a $pH = 12$. A bajo contenido acuoso RZ presenta una banda ancha estructurada centrada en 500 nm aproximadamente. A partir de $w = 10$ el espectro cambia, la parte de la banda más al rojo incrementa y se corre a mayor longitud de onda a medida que aumenta w con un máximo a 603 nm. A altos valores de w , el espectro se corresponde con el del colorante deprotonado en agua.

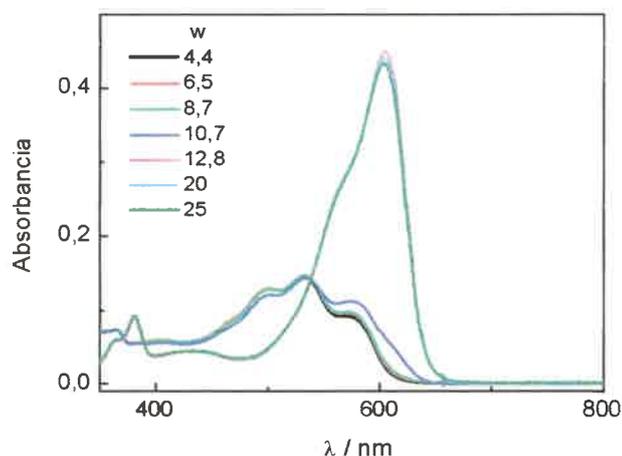


Figura IV.5: Espectros de absorción de RZ en AOT / n-heptano 0,2 M a $T = 25$ °C a distintos w con adición de agua $pH = 12$.

Al igual que para RF, este comportamiento puede explicarse suponiendo que el colorante se encuentra comicelizando en la interfase orientado hacia el lado del agua y a medida que aumenta w tiende a pasar a la laguna acuosa por repulsión electrostática. En la figura IV.6, se observa que el espectro a bajo w es similar al del colorante en medio ácido. Esto sugiere que está sensando un medio más ácido lo que está de acuerdo con el efecto tipo buffer observado [3,4]. Así el espectro a bajo w puede asignarse a la forma neutra del colorante.

Por problemas de solubilidad, al igual que para RF, no fue posible determinar el espectro de absorción de RZ en n-heptano para comparación.

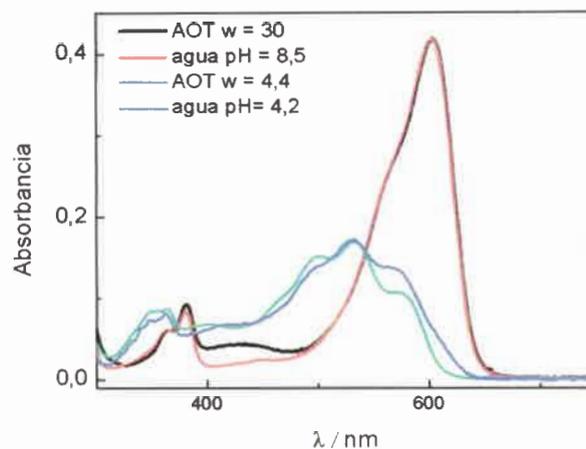


Figura IV.6: Espectros de absorción RZ en AOT / n-heptano 0,2 M a $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a w distintos con adición de agua $\text{pH} = 12$ y espectros de absorción de RZ en agua a pH básico y ácido.

Observando los espectros de absorción de ambos colorantes, puede concluirse que RF está más fuertemente unida en la interfase, ya que a $w = 12,8$ ésta presenta una absorción corrida al azul, mientras que al mismo w , RZ está prácticamente en un medio similar a agua pura.

Similar comportamiento fue reportado en la literatura para otros sistemas. Politi y col. [4] estudiaron la deprotonación del estado excitado de una molécula cargada negativamente piranina, en microemulsiones de AOT. Ellos observaron que cuando el tamaño del pool acuoso es grande las propiedades son similares que en solución acuosa, mientras que cuando el pool es pequeño ($w < 7$) el proceso de transferencia de protón es bastante diferente. Ellos sugieren que en el pool acuoso grande, debido a la repulsión electrostática entre las cabezas de AOT negativos y la molécula cargada negativamente, permanece en el pool acuoso y experimenta un microentorno similar al agua pura. Pero en el pool pequeño, el pH local es diferente cerca de los grupos cabeza polar de AOT haciendo que el comportamiento de la reacción de transferencia de protón sea muy diferente. Okasaki y Toriyama [8] estudiaron la localización de ácidos orgánicos a diferentes pH en micelas inversas de AOT. Muestran que a bajo pH , cuando la molécula

permanece en su forma neutra está cerca de la interfase, mientras que a pH altos cuando la molécula esta ionizada, es expulsada de la interfase hacia el pool acuoso.

IV-1-1-2. Fluorescencia estacionaria y resuelta en el tiempo

➤ RESORUFINA

Los espectros de fluorescencia se realizaron excitando primero en la banda más al azul a $\lambda_{exc} = 470$ nm. Los espectros en función de w se muestran en la figura IV.7. A valores bajos de w el espectro de emisión muestra un máximo a 558 nm y un hombro a 583 nm. Con el incremento de w la banda a 558 nm disminuye mientras que la banda a 583 nm aumenta y a $w \geq 20$ la banda a 558 nm desaparece totalmente y la banda a 583 nm se corre 2 nm hacia el rojo con un gran aumento de la intensidad. La forma del espectro a $w \geq 20$ es muy similar al del colorante en agua pura (excitado a 550 nm) en donde el máximo de emisión está a 583 nm (ver figura IV.8).

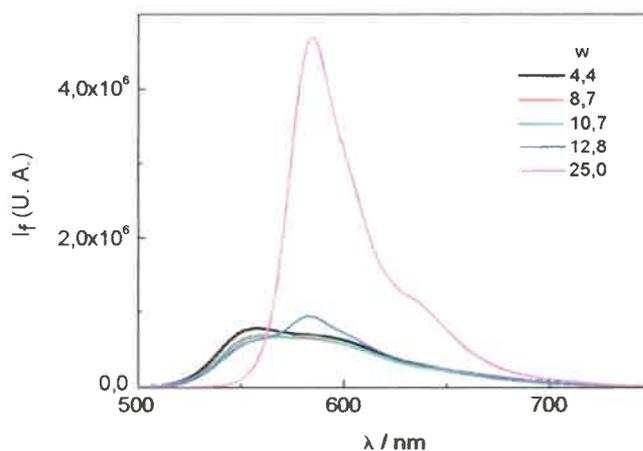


Figura IV.7: Espectros de emisión de fluorescencia de RF en AOT / n-heptano a $\lambda_{exc} = 470$ nm y $T = 25$ °C con diferentes agregados de agua a pH = 12. (No corregidos por cambios en absorbancia).

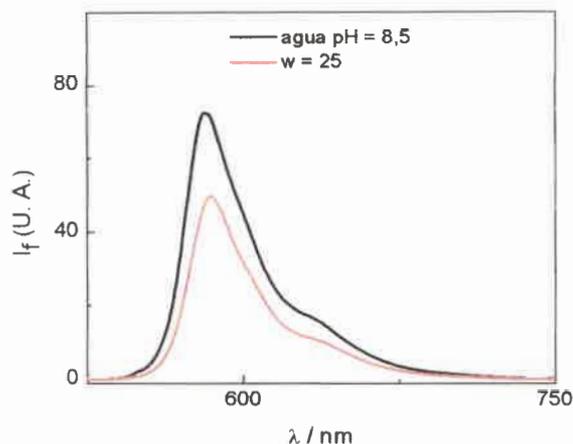


Figura IV.8: Espectros de emisión de fluorescencia de RF en AOT / n-heptano $w = 25$ y en agua $\text{pH} = 8,5$ a $\lambda_{\text{exc}} = 550 \text{ nm}$ y $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

En la figura IV.9 se muestran los espectros de emisión corregidos a igual cantidad de luz absorbida, en función de w excitando en la banda a $\lambda_{\text{exc}} = 550 \text{ nm}$. En este caso se observa a w bajos muy poca fluorescencia y con el agregado de agua un aumento pronunciado en la intensidad de fluorescencia. Aquí se puede ver que los espectros a partir de $w \geq 10$ son similares a los de RF en agua pura.

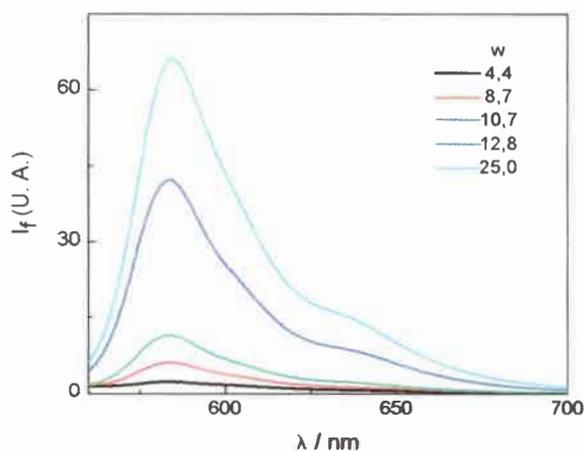


Figura IV.9: Espectros de emisión de fluorescencia de RF en AOT / n-heptano a $\lambda_{\text{exc}} = 550 \text{ nm}$ y $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ en función de w con agua $\text{pH} = 12$.

En la figura IV.10 se graficó la intensidad de fluorescencia en función de w obteniéndose una curva de tipo sigmoidal. Este comportamiento es atribuido a que el

colorante está ubicado en diferentes microentornos en la micela inversa, es decir, a valores bajos de w RF se localiza en la interfase co-micelizando y cuando la cantidad de agua es mayor se ubica en la laguna acuosa.

A fin de caracterizar mejor al sistema se midieron los tiempos de vida de fluorescencia en la micela de AOT con diferentes agregados de agua $\text{pH} = 12$.

Una curva de decaimiento de fluorescencia típico del colorante en AOT se muestra en la figura IV.11. Los datos del decaimiento fueron ajustados con una función biexponencial de la forma $A + B_1 \exp(-t / \tau_1) + B_2 \exp(-t / \tau_2)$ para obtener el mejor χ^2 y distribución de residuos. En la tabla 1 están resumidos los datos de tiempos de vida de fluorescencia. Se observa de la tabla un tiempo de vida muy corto ($\sim 0,70$ ns) y otro más largo de ($\sim 2,94$ ns) el que prácticamente coincide con el de RF en agua (2,90 ns). El tiempo de vida más corto se puede atribuir a la RF en la interfase micelar y al tiempo de vida más largo a la RF en la laguna acuosa.

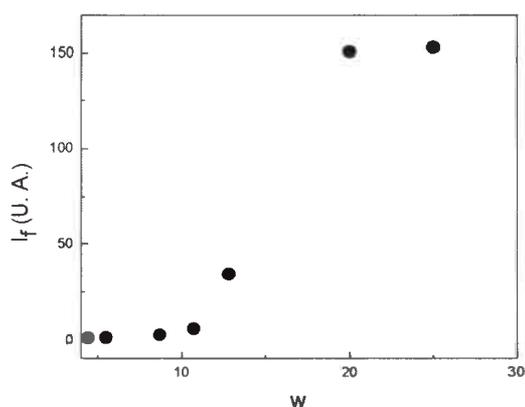


Figura IV.10: Intensidad de fluorescencia de RF en AOT / n-heptano a $\lambda = 583$ nm en función de w ($\lambda_{\text{exc}} = 550$ nm).

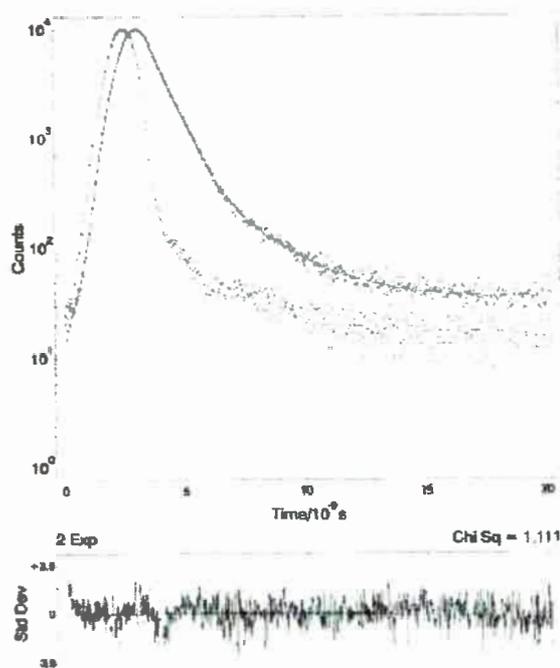


Figura IV.11: Perfil del decaimiento de fluorescencia de RF en AOT / n-heptano a $w = 6$. Curva sólida representa el mejor ajuste de los puntos experimentales. Los puntos no conectados representan la respuesta al diodo. Excitación con LED 500 nm y $\lambda_{emis} = 580$ nm.

Tabla IV.1: Tiempo de vida de RF en AOT / n-heptano a $T = 25$ °C, LED 500 nm y $\lambda_{emis} = 580$ nm.

w	τ_1 (ns)	B_1	τ_2 (ns)	B_2
6	0.76	0.0456	2.37	0.0011
10	0.71	0.0482	2.73	0.0011
20	0.66	0.045	2.99	0.0038
25	---	---	2.97	0.0485
30	---	---	2.94	0.0509

A fin de observar si el colorante presenta varias localizaciones en el medio micelar, se investigó la distribución de tiempos de vida. Los valores de tiempos de vida

de RF en AOT a $w = 25$ y 30 informados en tabla IV.1 corresponden a los datos obtenidos al efectuar un análisis de distribución. Los resultados del análisis se muestran a continuación junto con los de agua para comparación:

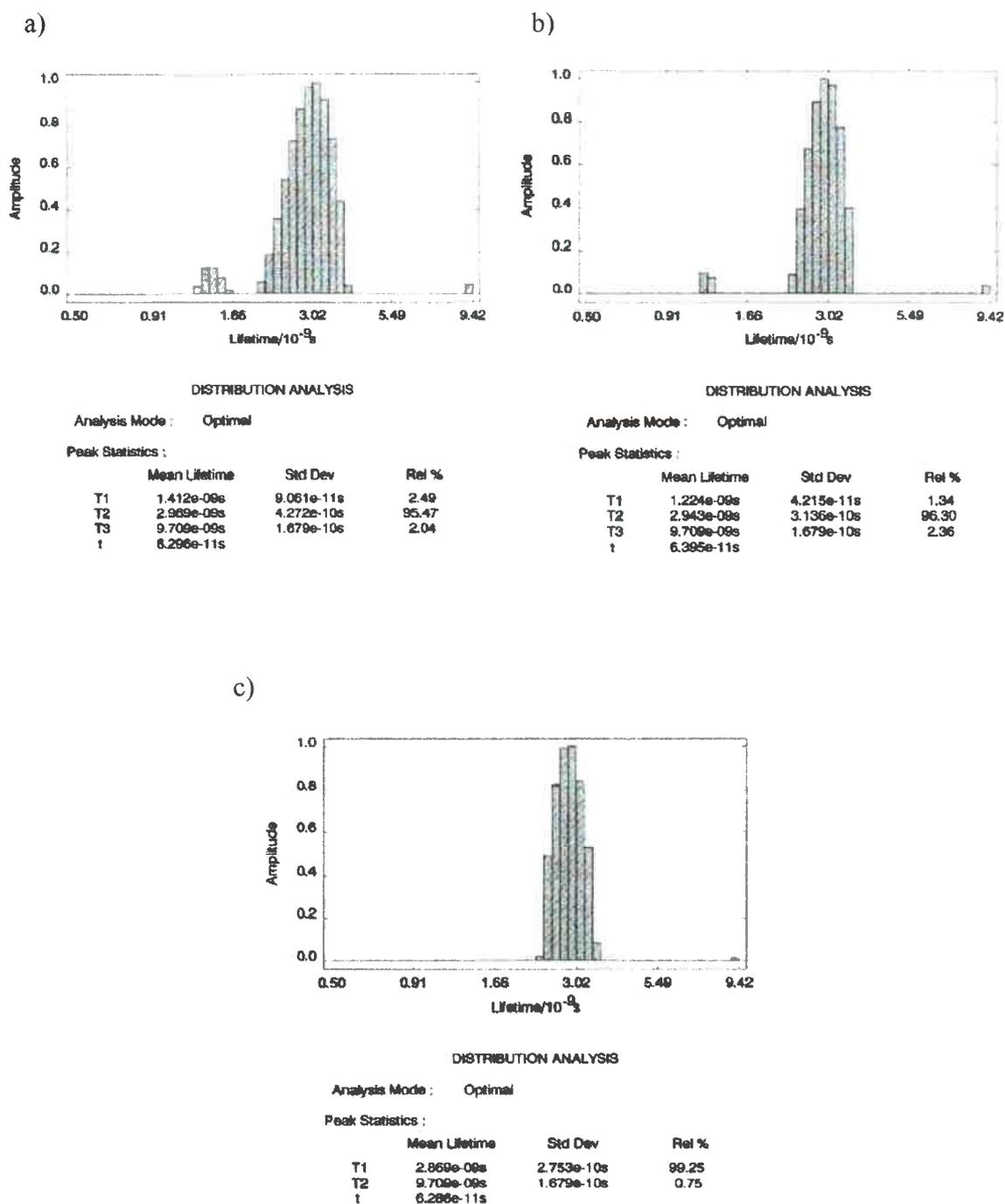


Figura IV.12: Distribución de tiempos de vida de fluorescencia de RF en AOT/n-heptano a) $w = 25$, b) $w = 30$ y c) agua pH = 8,5.

En el medio micelar aparecen tres tiempos de vida, el tiempo de vida de 9,7 ns puede ser atribuido a alguna impureza ya que también está presente en agua pura.

Se puede ver que a medida que aumenta w la distribución se hace más angosta y parecida a la del agua. El tiempo de vida de fluorescencia de RF en AOT es dependiente del w y por lo tanto del tamaño de la laguna acuosa. Esto sugiere que la molécula con carga negativa y las cabezas polares negativas del AOT se repelen y por lo tanto el colorante permanece en la fase acuosa cuando w es lo suficientemente grande. Siendo esto consistente con las medidas de fluorescencia estacionaria.

Además, se determinó el rendimiento cuántico de fluorescencia a $w = 20$ siendo de 0,39, muy similar a agua pura (tabla III.3).

➤ RESAZURINA

Para RZ, los espectros de fluorescencia muestran un comportamiento similar al obtenido en absorción, con la variación de w . En la figura IV.13, se observa que a bajo w el espectro presenta una banda ancha y a medida que se adiciona agua aumenta la intensidad de fluorescencia y la banda presenta un máximo a 640 nm.

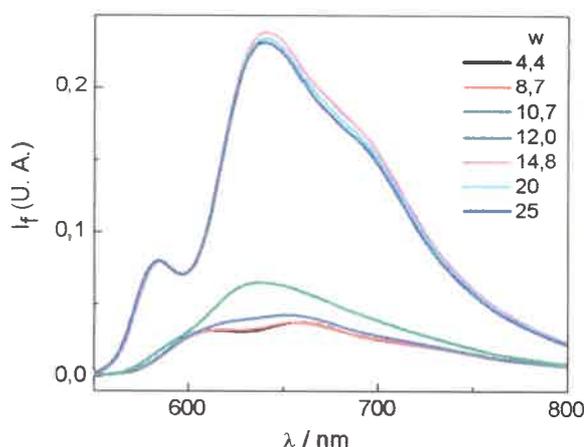


Figura IV.13: Espectros de fluorescencia de RZ en AOT / n-heptano a $\lambda_{exc} = 535$ nm y $T = 25$ °C con diferentes agregados de agua a pH = 12. (No corregidos por cambios en absorbancia).

Cuando se excitó a 590 nm, la intensidad de fluorescencia también aumenta con el incremento de w pero el espectro de emisión es idéntico al del colorante deprotonado en agua a alto w , con un máximo de emisión a 635 nm (figuras IV.14 y IV.15).

En la figura IV.16, se muestra la intensidad de fluorescencia del máximo de emisión en función de w obteniéndose una curva del tipo sigmoïdal. Este tipo de comportamiento nos revela que el colorante está ubicado en diferentes sitios o microentornos en la micela inversa.

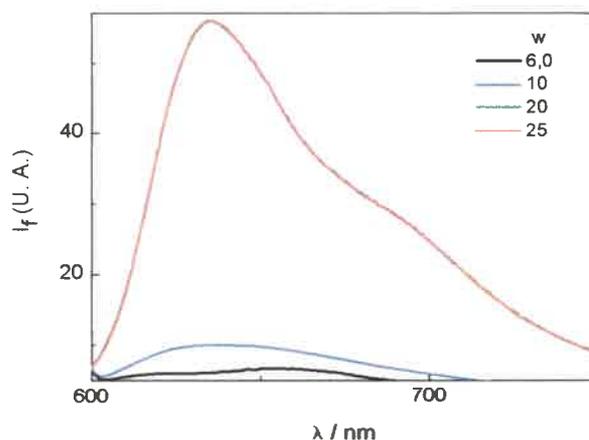


Figura IV.14: Espectros de fluorescencia de RZ en AOT / n-heptano a $\lambda_{exc} = 590$ nm y $T = 25$ °C con diferentes agregados de agua a pH = 12. (No corregidos por cambios en absorbancia).

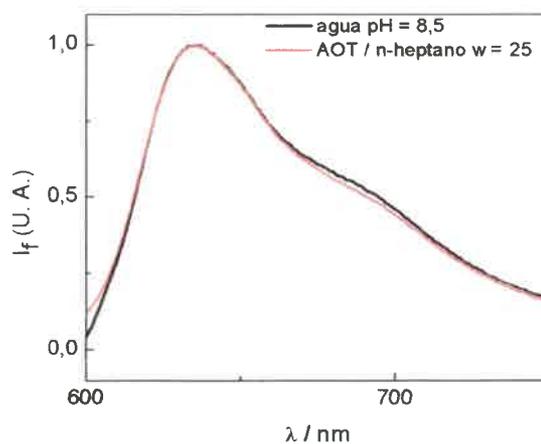


Figura IV.15: Espectros de fluorescencia de RZ en agua pH = 8,5 y en AOT $w = 25$ a $T = 25$ °C.

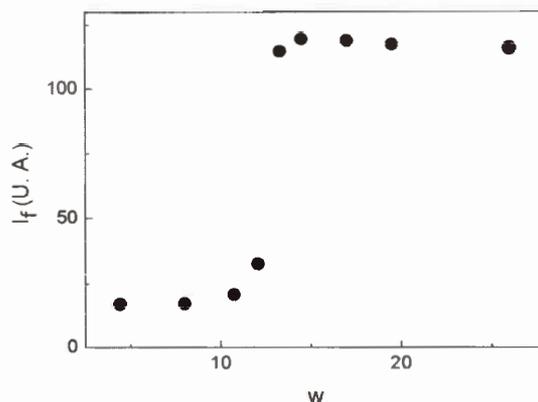


Figura IV.16: Intensidad de fluorescencia de RZ en AOT / n-heptano a $\lambda = 640$ nm en función de w.

Se determinaron los tiempos de vida de fluorescencia de RZ usando para excitación un LED de 600 nm y observando la emisión a 630 nm. El decaimiento se ajustó con una función monoexponencial, siendo de 0,74 ns a w alto. Este valor de tiempo de vida muestra que RZ está en un microentorno de polaridad similar al agua ($\tau_F = 0,71$ ns). El tiempo de vida a $w < 10$ no se pudo determinar por baja absorción del colorante (ver figura IV.13) y solo se observa scattering ($\tau < 0,3$ ns).

Por esta técnica no se estaría detectando el comportamiento supuesto anteriormente que el colorante estaría situado en diferentes microentornos.

Además, se determinó el rendimiento cuántico de fluorescencia a $w = 20$ siendo de 0,11 prácticamente igual que en agua pura (tabla III.5).

IV-1-1-3. Absorción del estado excitado triplete de RF y RZ en micelas inversas de AOT / n-heptano

La figura IV.17 muestra los espectros de absorción de las especies transitorias de RF y RZ en micelas de AOT / n-heptano 0,2 M a $w = 20$. Se observa que para ambos colorantes dichos espectros son iguales al de éstos en agua a pH = 8,5. Los espectros en la región entre 600-850 nm presentan una banda de absorción con máximos a 825 nm y 700 nm para RZ y RF respectivamente, que corresponden a la absorción del estado excitado triplete [9,10]. Esto era de esperar, ya que los colorantes a w alto están en la laguna acuosa, revelado por el estudio realizado de absorción, fluorescencia y tiempo de vida de fluorescencia.

Los rendimientos cuánticos de triplete no fueron determinados ya que por la gran similitud en los parámetros fotofísicos con los de agua, no se esperan cambios significativos.

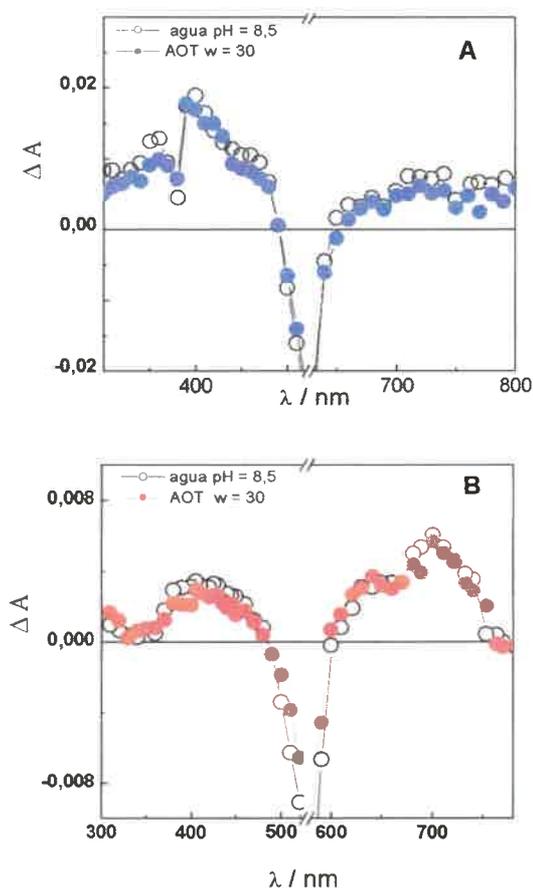


Figura IV.17: Espectro de absorción de transitorio en AOT 0,2 M w = 30 a $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a 2 μs del pulso del laser, A) RZ, B) RF.

IV-2. Micelas inversas de BHDC

IV-2-1. Propiedades fotofísicas de RF y RZ en micelas inversas de BHDC / benceno

Se procedió a realizar experiencias similares a las presentadas con AOT utilizando el surfactante catiónico BHDC en benceno.

Se calculó igual que en el caso anterior, la concentración de micelas sabiendo que el N_{ag} varía aproximadamente entre 260-600 [2] para el intervalo de w usado y una solución de BHDC / benceno de concentración 0,1 M. De esta forma, con una

concentración de colorante micelado $\leq 6,0 \times 10^{-6}$ M el número de ocupación también resultó ser aproximadamente 0,01 descartando así que los efectos observados en presencia de este surfactante sean debido a agregación del colorante.

IV-2-1-1. Absorción UV-Visible

➤ RESORUFINA

Los espectros de absorción de RF en micelas inversas de BHDC / benceno variando w se muestran en la figura IV.18. Se observan a w bajo dos bandas una débil a 470 nm y otra más intensa con un máximo a 588 nm con estructura fina. A medida que aumenta w la primera banda disminuye y la de 588 nm aumenta con un punto isobéptico a 497 nm, lo que da idea de una interacción en el estado fundamental del colorante con el BHDC. A partir de $w = 8$ ya no cambia el espectro y se asemeja a la forma aniónica del colorante en agua. Además se puede observar que la banda está corrida hacia el rojo con respecto a agua pura ($\lambda_{\max} = 572$ nm) descartando que RF este incorporada en la laguna acuosa, a diferencia de lo que se vió para AOT.

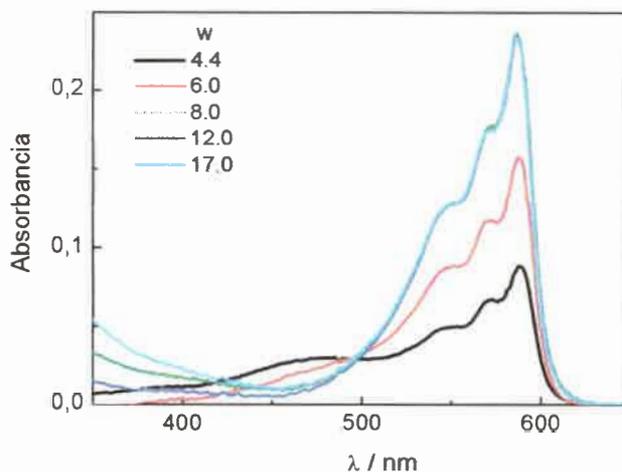


Figura IV.18: Absorción de RF en BHDC / benceno 0,1 M en función w con agua pH = 12 a T = 32 °C.

En medio homogéneo, se obtuvo que un incremento en la polaridad del solvente se manifiesta en corrimientos hacia el azul de los espectros de absorción y

fluorescencia. Por lo que, el corrimiento hacia el rojo a w alto, sugiere una disminución en la polaridad del microentorno en que se encuentra el colorante.

Igual que para AOT se estudió el efecto de pH en medio micelar utilizando BHDC / benceno 0,1 M y $w = 10$. Se obtuvo un comportamiento similar, mostrando corrimientos en la curva de titulación mayores a los observados respecto a AOT / *n*-heptano, aproximadamente en cuatro unidades de pH con respecto a la de agua pura.

Con el objeto de comprender el comportamiento del colorante en este sistema, se realizaron los espectros de absorción de RF en benceno y en agua a pH ácido y básico (ver figura IV.19). Es de notar que la banda a menor longitud de onda es similar tanto al espectro de la forma ácida de RF como en benceno. La banda a 470 nm, puede ser asignada al colorante situado en la interfase, por la interacción electrostática atractiva con los grupos cabeza polar positiva del surfactante, pero del lado del benceno. Debido a la baja solubilidad de RF en benceno, deducimos que el colorante se encuentra asociado en este solvente.

La presencia del punto isobéptico en la figura IV.18 sugiere un equilibrio entre dos especies, una presente a bajo w , probablemente el colorante ubicado en la interfase orientado hacia la fase orgánica (benceno) y la otra a w alto asignado al colorante incorporado en la interfase, pero orientado hacia la laguna acuosa.

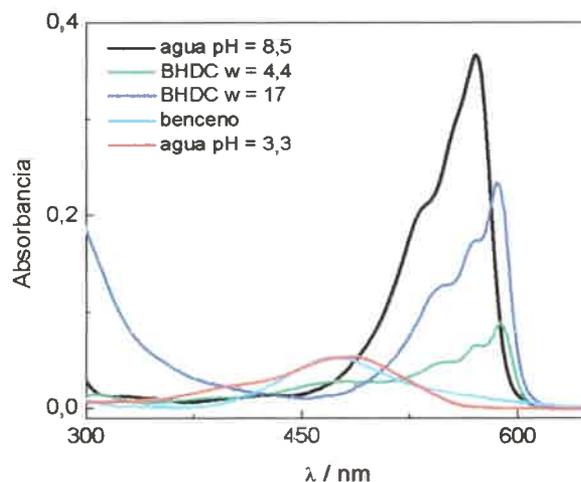


Figura IV.19: Absorción de RF en BHDC / benceno 0,1 M a $T = 32\text{ }^{\circ}\text{C}$ a diferente w con agua pH = 12, en benceno y en agua a pH ácido y básico.

➤ RESAZURINA

El espectro de absorción de RZ es muy poco sensible al cambio de w , el espectro presenta una banda centrada en 623 nm a bajo w (figura IV.20) y con el agregado de agua aumenta y luego permanece inalterado.

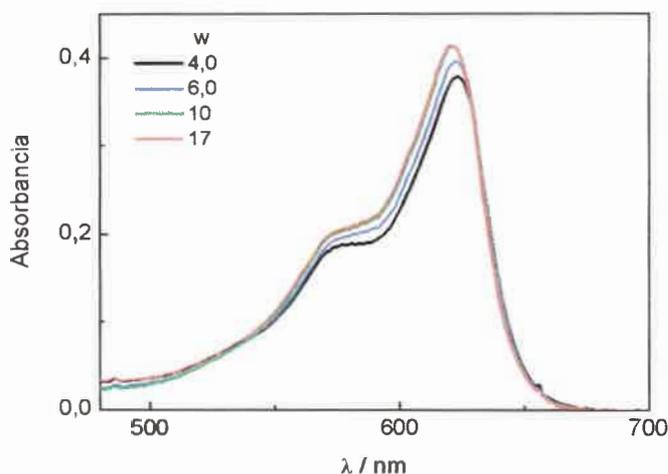


Figura IV.20: Espectros de absorción de RZ en BHDC / benceno 0,1 M en función w con agua pH = 12 a T = 32 °C.

En la figura IV.21 se muestran los espectros de RZ a w alto, junto con el de agua pura a pH básico ($\lambda_{\max} = 602$ nm) para comparación. Se puede observar en BHDC un corrimiento hacia el rojo de 20 nm aproximadamente. Se puede suponer que en este caso, la molécula de colorante con carga negativa permanece firmemente interaccionando en la interfase positiva, y el grupo *N*-óxido favorece a que la molécula se oriente hacia la región más polar de la interfase.

Para comprender mejor el comportamiento de RZ en este sistema, se tomaron los espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 con el agregado de una solución estándar de BHDC 0,01 M en agua ajustada al mismo pH. Se puede suponer que BHDC en agua forma micelas directas aunque estas no han sido caracterizadas.

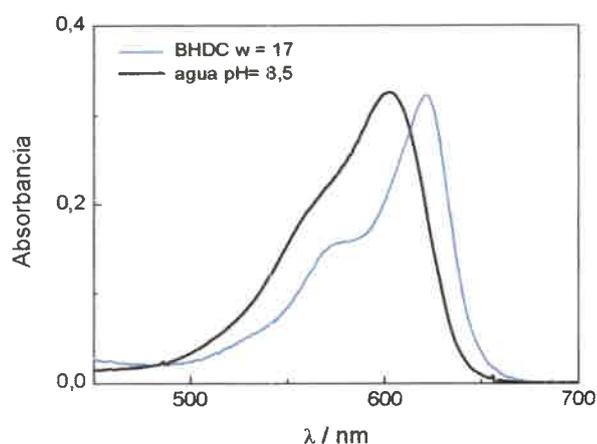


Figura IV.21: Espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 y en BHDC / benceno 0,1 M w = 17.

Como puede observarse en la figura IV.22, a medida que aumenta la concentración de BHDC la banda a 602 nm disminuye y se corre a mayor longitud de onda (a 617 nm), cuyo espectro es similar al de RZ en medio micelar de BHDC / benceno 0,1 M mostrados en la figura IV.20. Este corrimiento se puede deber a que el colorante se incorpora en la micela en la zona interfacial. Esto permitiría confirmar que la banda observada a 623 nm en el sistema micelar inverso (figura IV.20) corresponde al colorante en la interfase micelar.

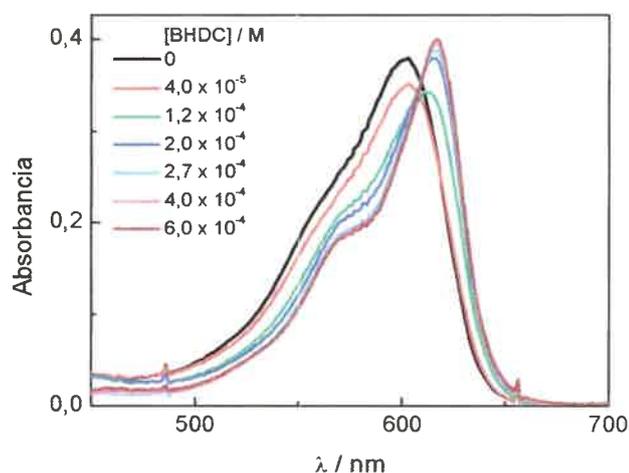


Figura IV.22: Espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 con distintos agregados de BHDC / agua pH = 8,5 a T = 32 °C.

IV-2-1-2. Fluorescencia estacionaria y resuelta en el tiempo

➤ RESORUFINA

Los espectros de fluorescencia con el agregado de agua pH = 12 corregidos a igual cantidad de luz absorbida a 588 nm, se muestran en la figura IV.23. Se observa que cuando w aumenta de 6 a 8 se produce una disminución en la intensidad de fluorescencia ($\lambda_{\text{max}} = 592$ nm) la que luego se vuelve independiente del aumento de w .

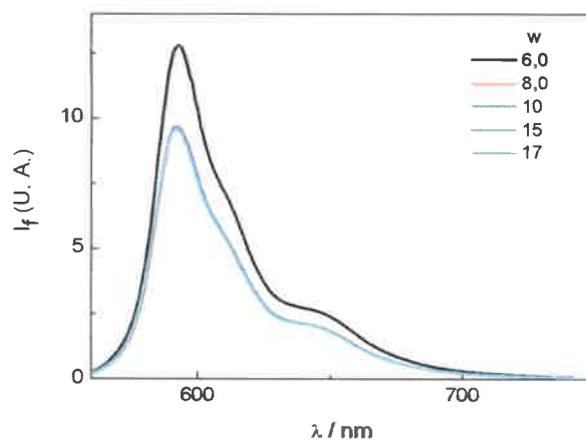


Figura IV.23: Espectros de emisión de fluorescencia corregidos de RF en BHDC / benceno en función de w con agua pH = 12 a $\lambda_{\text{exc}} = 588$ nm y $T = 32$ °C.

En la figura IV.24 se procedió a graficar la intensidad de fluorescencia a 592 nm en función de la variación de w .

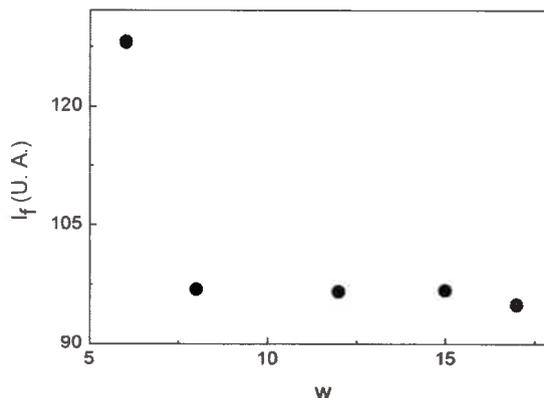


Figura IV.24: Intensidad de fluorescencia de RF en BHDC / benceno a $\lambda = 592$ nm en función de w .

De esta figura se puede observar un cambio brusco en la intensidad de fluorescencia al ir de $w = 6$ a $w = 8$, y a partir de este la intensidad se mantiene constante independiente de w . Esto es similar al efecto de w sobre el espectro de absorción.

Se graficaron los espectros de emisión del colorante en BHDC a $w = 17$ y en agua $\text{pH} = 8,5$ para comparación. Se puede ver que son distintos, en agua el máximo de emisión está a 583 nm y en BHDC / benceno a 592 nm . Este corrimiento hacia el rojo del espectro en el medio micelar infiere que el colorante se encuentra en un medio de distinta polaridad que el agua (figura IV.25). El espectro en el medio micelar es similar a aquel en 1-propanol ($\lambda_{\text{max}} = 592 \text{ nm}$, tabla III.1). Por lo que, de acuerdo al efecto de polaridad obtenido en medio homogéneo, se infiere que el colorante sensa un medio de menor polaridad que agua.

En la figura IV.26 se determinaron los espectros de emisión y de excitación a $w = 17$, junto con el espectro de absorción de RF en agua a $\text{pH} = 8,5$. Se puede ver que el espectro de absorción de RF en agua es diferente del espectro de excitación de éste en BHDC a w alto. Por lo que se puede inferir que RF a w alto no se encuentra situada en el pool acuoso, de acuerdo a lo concluido por los espectros de absorción. Parecería ser que a $w = 6$ el colorante esta comicelizando en la interfase entre el BHDC y benceno y que a partir de $w = 8$ estaría incluido completamente en la interfase micelar.

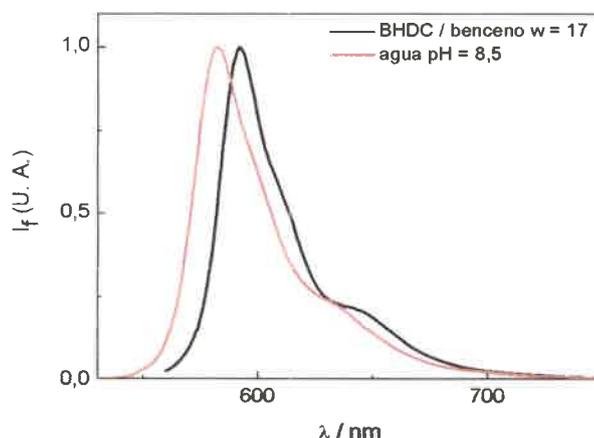


Figura IV.25: Espectros de emisión de fluorescencia de RF en agua a $\text{pH} = 8,5$ y en micelas inversas de BHDC / benceno $w = 17$ a $\lambda_{\text{exc}} = 588$ y $T = 32 \text{ }^\circ\text{C}$.

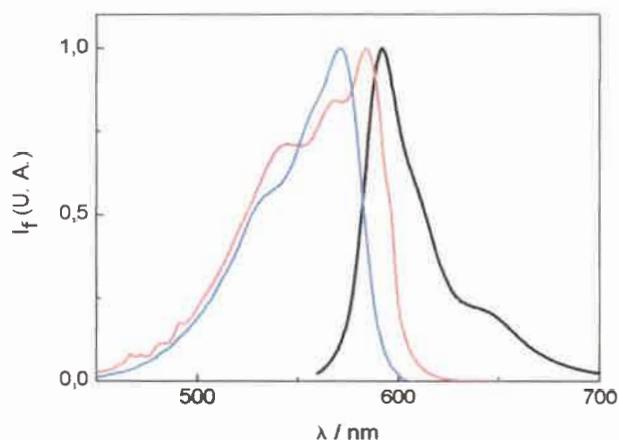


Figura IV.26: Espectro de emisión de fluorescencia de RF en BHDC / benceno $w = 17$ (—) $\lambda_{\text{exc}} = 550$ y espectro de excitación (—) $\lambda_{\text{emis}} = 595$, junto con el espectro de absorción en agua $\text{pH} = 8,5$ (—).

Por último, con el propósito de caracterizar mejor el sistema, se midieron los tiempos de vida de fluorescencia con la misma técnica usada para AOT / n-heptano. En la tabla IV.2 están resumidos los datos de tiempos de vida de fluorescencia. Los decaimientos para los distintos w , fueron ajustados por una función monoexponencial, esto indica que el colorante ve un único microentorno (o más de uno pero con similar cinética de decaimiento). En la figura IV.27 se presenta como ejemplo el decaimiento de RF en la micela de BHDC / benceno $w = 6$.

Tabla IV.2: Tiempo de vida de RF en BHDC / benceno a $T = 32$ °C, LED 500 nm y $\lambda_{\text{emis}} = 600$ nm.

w	τ_F (ns)
6	4,52
8	4,41
12	4,32
17	4,33

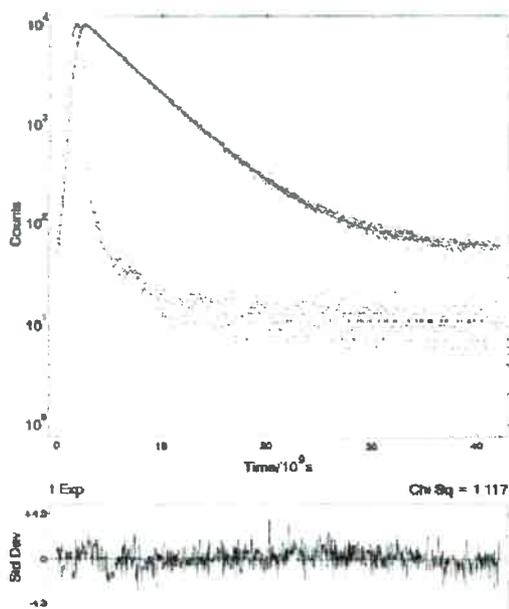


Figura IV.27: Perfil del decaimiento de fluorescencia de RF en BHDC / benceno a $w = 6$. Curva sólida representa el mejor ajuste de los puntos experimentales. Los puntos no conectados representan la respuesta al diodo. Excitación con LED 500 nm y $\lambda_{emis} = 600$ nm.

Esto significa que por esta técnica no estaríamos detectando el comportamiento a $w = 6$ atribuido al colorante repartido entre el solvente orgánico y la interfase. Este tiempo obtenido de 4,33 ns es bastante cercano al de RF en metanol o isopropanol, y marcadamente distinto que en agua. Este comportamiento revela que el colorante sensa un microentorno de polaridad similar al alcohol.

El rendimiento cuántico de fluorescencia fue determinado mediante actinometría relativa (sección II-2-4-1). Se obtuvo un valor de 0,75 a $w = 17$.

En conclusión, el comportamiento fotofísico de RF en el medio micelar inverso de BHDC puede interpretarse por la localización del colorante en la interfase a cualquier contenido de agua.

➤ RESAZURINA

En la figura IV.28, se muestran los espectros de fluorescencia en micelas inversas de BHDC corregidos a igual cantidad de luz absorbida a la longitud de onda del máximo de absorción ($\lambda = 623$ nm). La intensidad de fluorescencia disminuye con el aumento de w presentando un máximo de emisión a 643 nm a bajo w y se corre hacia el

azul con un máximo a 642 nm a $w = 21$, siendo similares al que se obtiene en los alcoholes como isopropanol o 1-propanol (ver tabla III.1). En la figura IV.29 se muestra la variación de la intensidad de fluorescencia del máximo de emisión en función de w . Cabe aclarar que los espectros en la figura IV.28 no se muestran completos debido al scattering cerca de la excitación.

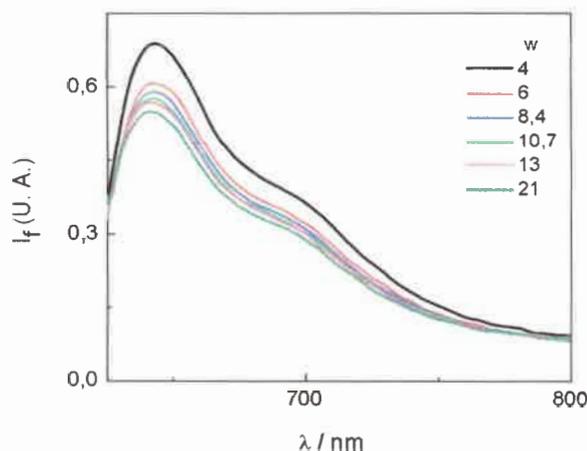


Figura IV.28: Espectros de fluorescencia de RZ en BHDC / benceno 0,1 M en función de w con agua pH = 12 a $T = 32$ °C. Corregidos a igual cantidad de luz absorbida.

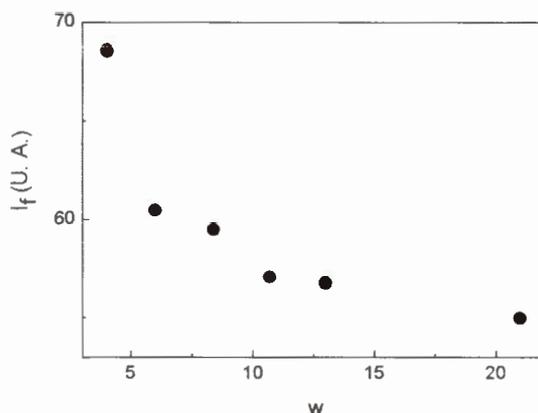


Figura IV.29: Intensidad de fluorescencia a $\lambda = 642$ nm en función de w .

Para caracterizar mejor el sistema, se midieron los tiempos de vida de fluorescencia. Los datos de los decaimientos fueron también ajustados con una función monoexponencial obteniéndose para todo el rango de w el mejor ajuste (χ^2) y distribución de residuos que con una multiexponencial. Esto indica que el colorante esta

sensando un único microentorno. En la tabla IV.3 se encuentran resumidos los datos obtenidos.

Tabla IV.3: Tiempo de vida de RZ en BHDC / benceno a $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, LED 600 nm y $\lambda_{\text{emis}} = 640\text{ nm}$.

w	τ_F (ns)
4	1,55
6	1,50
10	1,42
15	1,41
17	1,38

El tiempo de vida disminuye ligeramente con w, y a w alto es similar al de RZ en isopropanol ($\tau_F = 1,35\text{ ns}$), es decir, que está sensando un microentorno de diferente polaridad que el agua ($\tau_F = 0,71\text{ ns}$). Esto demuestra que el colorante no migra hacia la laguna acuosa como ocurre en las micelas de AOT a altos w, por lo que permanece en la interfase micelar donde sensa una polaridad similar al isopropanol.

El rendimiento cuántico de fluorescencia en las micelas inversas de BHDC fue determinado. Se obtuvo un valor de 0,14 a $w = 17$, mayor que en agua pura. Este hecho junto con los espectros de absorción y emisión a alto w demuestra que, al igual que RF, no migra hacia la fase acuosa a alto w.

IV-2-1-3. Absorción del estado excitado triplete de RF y RZ en micelas inversas de BHDC / benceno

Los espectros de absorción de especies transitorias obtenidos por láser flash fotólisis para los dos colorantes en micelas inversas de BHDC se muestran en las figuras IV.30 y IV.31. Ellos pueden ser asignados como el estado triplete de los

colorantes por comparación con los espectros en medio homogéneo. Las soluciones de los colorantes en agua y en el medio micelar se ajustaron a igual absorbancia a 532 nm.

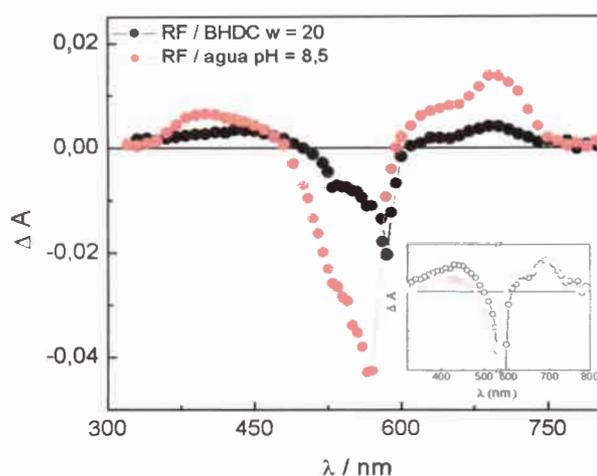


Figura IV.30: Espectro de absorción de transitorio de RF en agua pH = 8,5 y BHDC 0.1 M w = 20 a T = 32 °C a 2 μ s después del pulso del láser. **Inserto:** Espectros normalizados a 700 nm.

El comportamiento mostrado de ambos colorantes es similar al obtenido en CTAC. Los espectros del estado triplete de RF y RZ en agua son similares a aquel en el medio micelar inverso. Salvo en la primera parte del espectro donde pueden observarse algunas diferencias (esto puede verse mejor en los insertos de las figuras IV.30 y IV.31), pero como se explicó anteriormente esto puede deberse a que esta zona representa la absorción aproximada, no real del estado triplete.

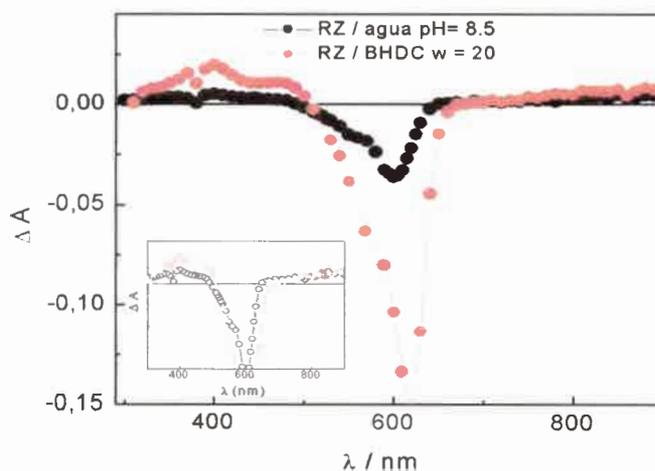


Figura IV.31: Espectro de absorción de transitorio de RZ en agua pH = 8,5 y BHDC 0,1M w = 20 a T = 32 °C a 2 μ s después del pulso del láser. **Inserto:** Espectros normalizados a 825 nm.

También se observa de ambas figuras, un pequeño corrimiento del espectro en BHDC hacia el rojo con respecto al de agua, que puede ser atribuido a la localización del colorante en la interfase.

Se encontró un comportamiento diferente para RF comparado con RZ. Así, la absorción T-T de RF en el medio micelar está notablemente disminuida con respecto al de agua en tanto que para RZ aparece como ligeramente aumentada. Para interpretar estos resultados se determinaron los coeficientes de absorción molar del triplete y los rendimientos cuánticos de cruce entre sistemas, por los métodos explicados anteriormente.

Los coeficientes de absorción molar determinados a 700 nm son $17000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y $11500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ en agua y BHDC respectivamente. En la figura IV.32 se muestra el espectro normalizado a una longitud de onda correspondiente a la primera región espectral. Se observa una mayor absorción de RF en agua que en BHDC lo que estaría de acuerdo con los coeficientes de absorción obtenidos.

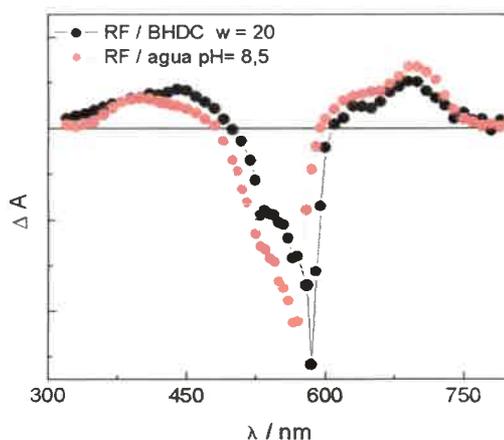


Figura IV.32: Espectro de absorción de triplete de RF en agua pH = 8,5 y BHDC 0,1 M a $T = 32 \text{ }^\circ\text{C}$ a 2 μs después del pulso del láser. Normalizados en 380 nm.

Los resultados para ambos colorantes están resumidos en las tablas IV.4 y IV.5. La disminución observada del rendimiento cuántico de triplete (Φ_T) en el medio micelar con respecto al valor en agua está de acuerdo con el aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia obtenido.

El tiempo de vida del triplete en BHDC fue de 300 μs aproximadamente. Esto estaría de acuerdo con el efecto protector que ejercen las micelas cuando interaccionan con un soluto.

En la figura IV.33 se observan los espectros de triplete de RZ normalizados en 400 nm. La absorción en la región entre 700-900 nm en agua es mayor que en BHDC, estando de acuerdo con los valores obtenidos del ϵ_T .

Puede verse en la tabla IV.5 que los valores de Φ_T en agua y en BHDC son muy similares y la diferencia está dentro del error experimental antes mencionado. Esto sería consistente con los rendimientos cuánticos de fluorescencia obtenidos. El tiempo de vida del triplete en BHDC fue de 80 μs aproximadamente (el doble que en agua).

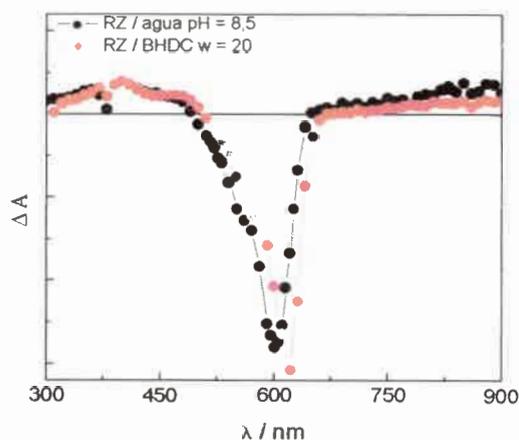


Figura IV.33: Espectro de absorción de triplete de RZ en agua pH = 8,5 y BHDC 0,1 M a T = 32 °C, a 2 μs después del pulso del láser. Normalizados en 400 nm.

Tabla IV.4: Parámetros fotofísicos de resorufina en micelas inversas y agua para comparación.

	RF en agua	RF en BHDC	RF en AOT
Absorción λ_{\max} / nm (ϵ_g [$M^{-1} cm^{-1}$])	572 (51000 \pm 2500)	588 (59000 \pm 2900)	572 (58500 \pm 2900)
Fluorescencia λ_{\max} / nm	584	592	584
Φ_F	0,41 \pm 0,04	0,75 \pm 0,07	0,39 \pm 0,04
τ_F / ns	2,90	4,33	2,94
Triplete λ_{\max} / nm (ϵ_T [$M^{-1} cm^{-1}$])	700 (17000 \pm 1000)	700 (11500 \pm 800)	700 (19000 \pm 1200)
Φ_T	0,04 \pm 0,01	0,02 \pm 0,004	----
τ_T (μs)	~100	~300	~90

Tabla IV.5: Parámetros fotofísicos de resazurina en micelas inversas y agua para comparación.

	RZ en agua	RZ en BHDC	RZ en AOT
Absorción λ_{\max} / nm (ϵ_g [$M^{-1} cm^{-1}$])	602 (42000 \pm 2100)	623 (53000 \pm 2600)	603 (42500 \pm 2500)
Fluorescencia λ_{\max} / nm	634	642	635
Φ_F	0,11 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01
τ_F / ns	0,71	1,38	0,74
Triplete λ_{\max} / nm (ϵ_T [$M^{-1} cm^{-1}$])	825 (4300 \pm 300)	825 (2300 \pm 200)	825 (4700 \pm 300)
Φ_T	0,08 \pm 0,015	0,11 \pm 0,02	----
τ_T (μs)	~40	~80	~40

IV-3. Microemulsiones de lecitina de soja

Los agregados de lecitina han sido estudiados por varios grupos y varias estructuras han sido reportadas [11,12]. La adición de agua a las microemulsiones de lecitina de soja en presencia de alcoholes de cadena corta como propanol, estabiliza la microemulsión, favoreciendo la formación de micelas esféricas. En este trabajo se presenta el estudio fotofísico de RF y RZ en las microemulsiones de lecitina de soja formadas en el sistema ternario, isooctano / 10% 1-propanol / agua. En algunas experiencias la concentración de lecitina fue dejada constante a 0,05 M. Se emplearon estas condiciones ya que con las mismas y de acuerdo a un diagrama de fase ternario, se obtienen microagregados del tipo de micelas inversas esféricas según lo reportado en la literatura [12]. Esto ha sido corroborado por la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS) (ver detalles en capítulo II).

IV-3-1. Propiedades fotofísicas de RF y RZ en microemulsiones de lecitina de soja / isooctano- 10% 1-propanol

IV-3-1-1. Espectros de absorción y emisión de fluorescencia en microemulsiones

IV-3-1-1-1. *Efecto variación de la concentración de lecitina*

➤ RESORUFINA

Se determinaron los espectros de absorción y fluorescencia de RF en la mezcla isooctano-10% 1-propanol variando la concentración de lecitina.

Se observó que RF manifiesta pocos cambios tanto en fluorescencia como en absorción con la concentración de lecitina. En la figura IV.34, se puede ver que el espectro de absorción presenta dos bandas, una ancha con máximo a 470 nm y una débil con máximo a 578 nm la que coincide con la absorción del colorante en 1-propanol. Por debajo de 0,025 M de lecitina el espectro de absorción no se modifica, a partir de esta concentración la absorción de ambas bandas aumenta levemente y se puede apreciar que la banda a 470 nm cambia de forma, presentando un máximo a 475 nm.

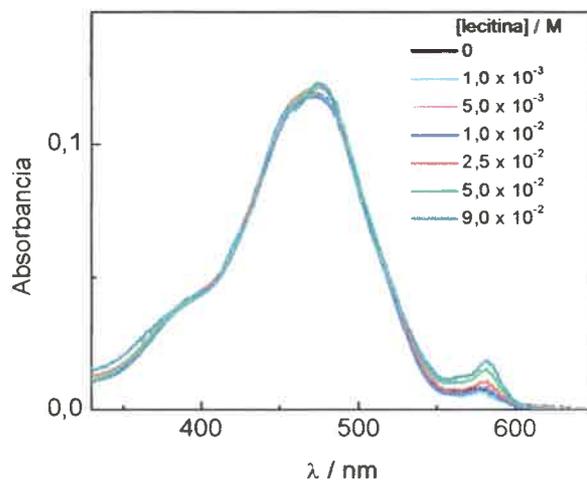


Figura IV.34: Espectros de absorción de RF en isooctano-10% 1-propanol en función de la concentración de lecitina a $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Los espectros de fluorescencia en función del agregado de lecitina se muestran en la figura IV.35. Se observa que la intensidad de fluorescencia disminuye con el aumento de la concentración de lecitina. Este efecto de quenching puede ser debido a alguna impureza de la lecitina.

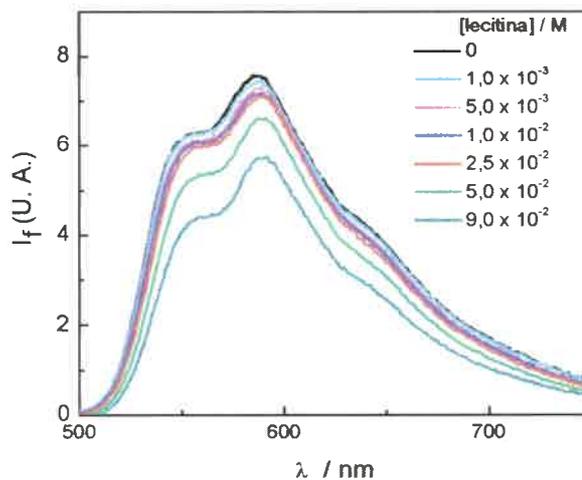


Figura IV.35: Espectros de fluorescencia de RF en isooctano-10% 1-propanol en función de la concentración de lecitina a $\lambda_{\text{exc}} = 470\text{ nm}$ y $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

➤ RESAZURINA

En la figura IV.36, se muestra el espectro de absorción de RZ en la mezcla isooctano-10% alcohol con el agregado de lecitina. A diferencia de lo visto para RF, los espectros de absorción de RZ son estructurados y aumentan significativamente con el incremento de lecitina. En el inserto se muestra el espectro de absorción en el alcohol puro, junto con el espectro que resulta de restar la absorción del colorante en la mezcla de solventes más lecitina 0,05 M y la absorción de este en la mezcla de solventes. Se puede ver que ambos espectros son similares.

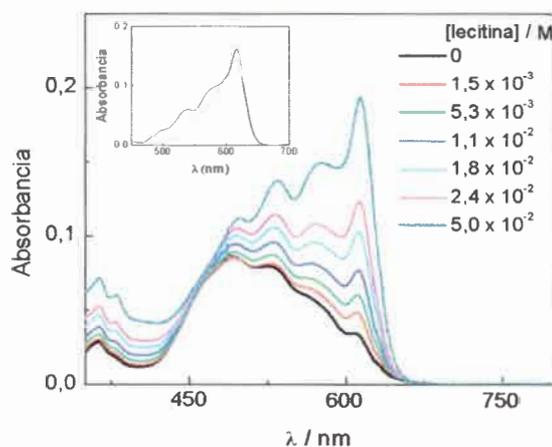


Figura IV.36: Espectros de absorción de RZ en isooctano-10% 1-propanol en función de la concentración de lecitina a $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$. **Inserto:** (—) espectro de absorción de RZ en 1-propanol y (---) espectro diferencia entre RZ / lecitina 0,05 M y RZ / isooctano-10% 1-propanol.

Para interpretar la forma de los espectros, se procedió a realizar la misma experiencia, pero partiendo de una solución del colorante en isooctano con una cantidad mínima de alcohol, debido a la baja solubilidad del colorante en el solvente orgánico (figura IV.37). De la figura se observa una banda ancha con máximo en 485 nm y un hombro a 610 nm aproximadamente (similar a la absorción de RZ en 1-propanol), perteneciente al colorante en isooctano-1,5% 1-propanol. Con el agregado de lecitina, la intensidad de la banda a 485 nm disminuye y aumenta la de mayor longitud de onda. A $4,0 \times 10^{-2}\text{ M}$, la banda más al rojo se corre a 623 nm con posteriores agregados de lecitina, y la absorción a 485 nm incrementa levemente presentando una estructura fina similar a la observada en la figura IV.36. Este corrimiento es igual al observado en

BHDC (figura IV.20), por lo que se infiere que el colorante se incorpora en la micela. Entonces, se puede atribuir la banda observada a 623 nm al colorante en la interfase micelar. Mientras que la banda al azul puede ser atribuida al colorante también en la interfase, pero orientado hacia el solvente orgánico.

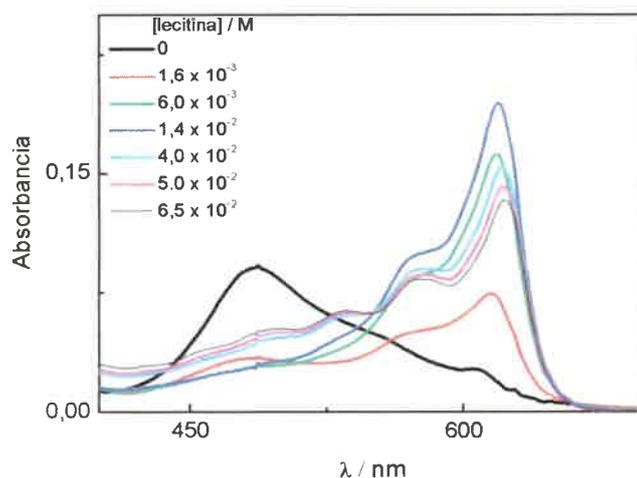


Figura IV.37: Espectros de absorción de RZ en isooctano-1,5% 1-propanol en función de la concentración de lecitina a T = 25 °C.

En la figura IV.38 se muestran los espectros de fluorescencia de RZ con el agregado de lecitina a dos longitudes de onda de excitación 610 nm y 525 nm. Cuando se excita a 610 nm se observa primero un aumento de la intensidad de fluorescencia y luego, a partir de 0,011 M de lecitina, la intensidad disminuye con un corrimiento hacia el rojo de la banda de emisión, con $\lambda_{\max} = 640$ nm (igual que en el alcohol). Con la excitación a 525 nm hay un aumento de la intensidad de fluorescencia con el aumento de la concentración de lecitina. Los espectros de emisión no tienen la misma forma a las dos longitudes de onda de excitación, lo cual sugiere la presencia de dos especies distintas.

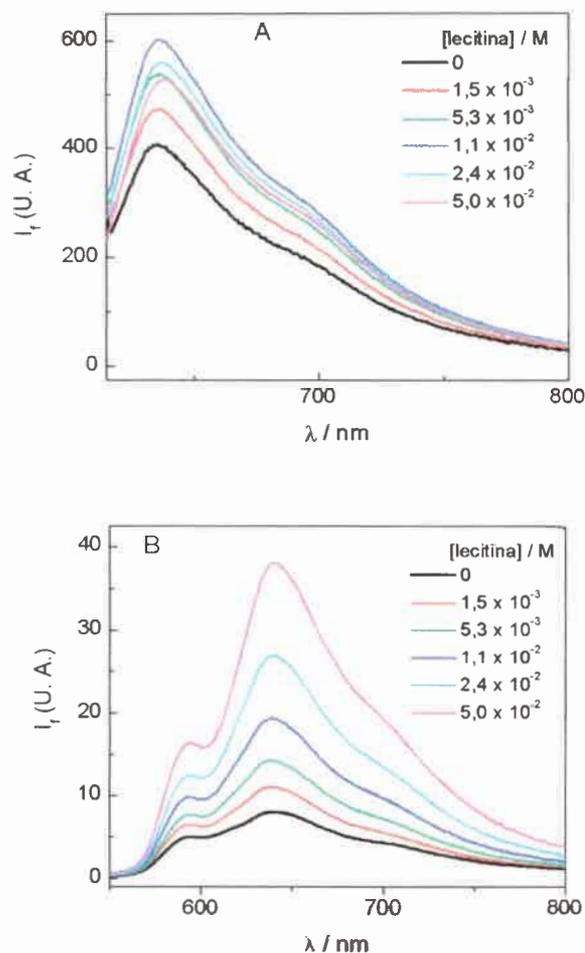


Figura IV.38: Espectros de fluorescencia de RZ en isooctano-10% 1-propanol en función de la concentración de lecitina, corregidos a igual cantidad de luz absorbida A) $\lambda_{\text{exc}} = 610$ nm, B) $\lambda_{\text{exc}} = 525$ nm a $T = 25$ °C.

En base a estos resultados, se puede inferir que RZ a medida que aumenta la cantidad de surfactante se localiza en la interfase comicelizando con el surfactante y el alcohol, siendo consistente con lo observado por absorción.

IV-3-1-1-2. *Influencia del contenido de agua de la microemulsiones.*

IV-3-1-1-2-1. Absorción UV-visible y emisión de fluorescencia.

➤ RESORUFINA

En la figura IV.39 se muestra el espectro de absorción de RF variando la cantidad de agua adicionada. Además, se determinaron los espectros de fluorescencia a las dos longitudes de onda correspondientes al máximo de las bandas de absorción con la variación de w . (Figuras IV.40 y IV.41).

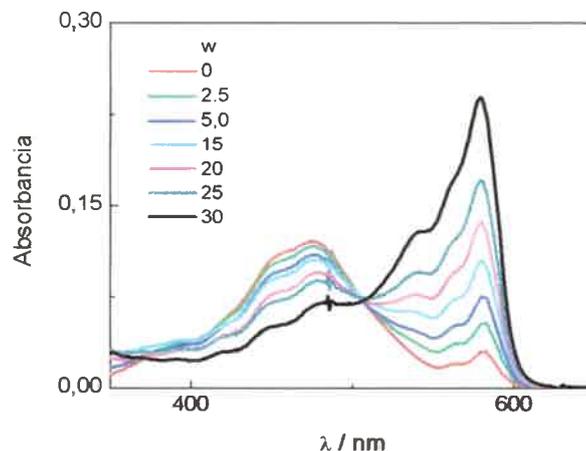


Figura IV.39: Absorción de RF en lecitina / isoocetano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua $\text{pH} = 12$ a $T = 25^\circ\text{C}$.

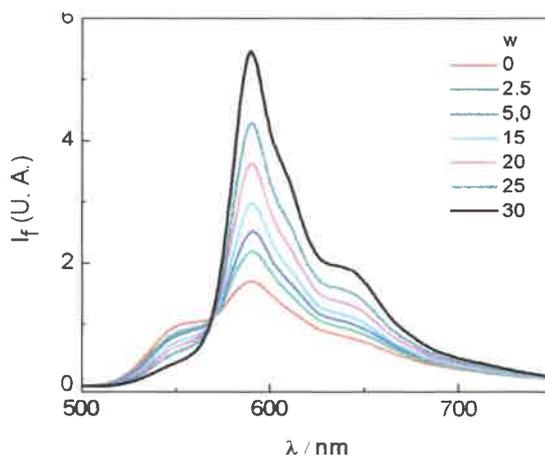


Figura IV.40: Espectros de fluorescencia de RF en lecitina / isoocetano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua $\text{pH} = 12$, $\lambda_{\text{exc}} = 475 \text{ nm}$ a $T = 25^\circ\text{C}$.

Con el incremento en la cantidad de agua en la microemulsión, tanto en absorción como en fluorescencia ($\lambda_{\text{exc}} = 475 \text{ nm}$), aparece un punto isosbético / isoemisivo indicando la presencia de dos especies en equilibrio. Esto demuestra, que

existe una interacción del colorante en el estado fundamental y en el estado excitado con el surfactante. Los tiempos de vida de fluorescencia aumentan levemente aproximándose al valor en 1-propanol (4,9 ns) aún con altos contenidos de agua (ver tabla IV.6). Esto indicaría que en las microemulsiones el colorante está ubicado en la interfase cerca del alcohol que comiceliza con la lecitina.

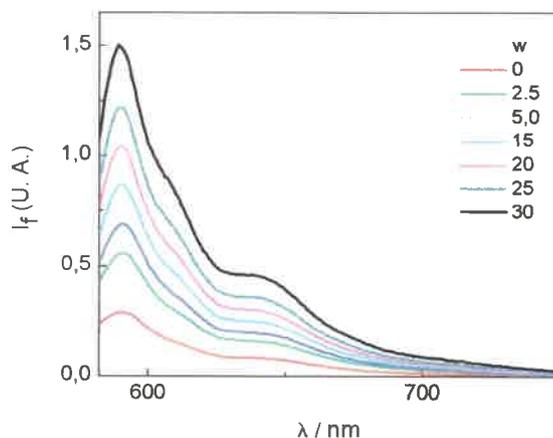


Figura IV.41: Espectros de fluorescencia de RF en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua $\text{pH} = 12$, $\lambda_{\text{exc}} = 579 \text{ nm}$ a $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabla IV.6: Tiempo de vida de RF en microemulsiones de lecitina a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, LED 500 nm y $\lambda_{\text{emis}} = 590 \text{ nm}$.

w	τ_F (ns)
5	4,70
10	4,79
20	4,80
30	4,83

➤ RESAZURINA

En la figura IV.42, se muestran los espectros de absorción de RZ con el incremento en el contenido acuoso. A $w = 2,5$ el espectro se corresponde con el del colorante en 1-propanol ($\lambda_{\max} = 612$ nm). A altos w se observa un aumento en la absorbancia sin presentar cambios en la forma de los espectros.

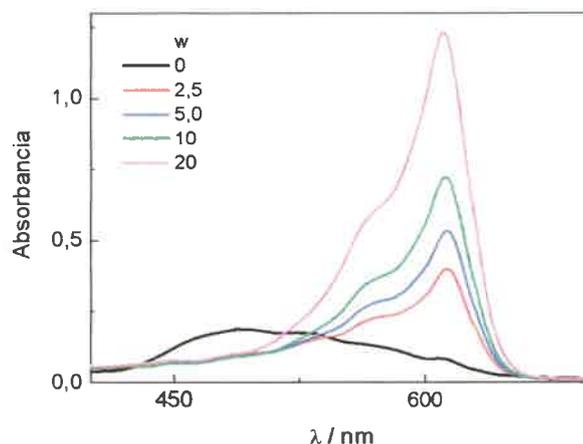


Figura IV.42: Espectros de absorción de RZ en lecitina / isoocetano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua pH = 12 a $T = 25$ °C.

En la figura IV.43, se observan los espectros de fluorescencia corregidos a igual cantidad de luz absorbida a $\lambda_{\text{exc}} = 612$ nm, donde a $w = 2,5$ la intensidad de fluorescencia aumenta y la banda se corre a mayor longitud de onda. A medida que aumenta el tamaño de la laguna acuosa de la microemulsión, la intensidad de fluorescencia disminuye. A $w = 30$ el $\lambda_{\max} = 643$ nm, similar al del colorante en el alcohol puro. A $\lambda_{\text{exc}} = 535$ nm los espectros de emisión (también corregidos a igual cantidad de luz absorbida) son consistentes con lo visto en absorción (figura IV.44). A medida que aumenta w , la fluorescencia aumenta y a $w = 20$ el espectro se corre hacia el rojo con un máximo a 644 nm. La banda más débil vista a 590 nm a $w = 0$, presenta un efecto similar con el agregado de agua. Esta puede ser atribuida a la formación de algún agregado del colorante.

Los tiempos de vida de fluorescencia aumentan levemente aproximándose al valor en 1-propanol (1,20 ns) aún con altos contenidos de agua. Esto indicaría que RZ sensa en las microemulsiones un microentorno similar al alcohol. De este modo,

podemos corroborar que el colorante está ubicado en la interfase cerca del alcohol que comiceliza con la lecitina.

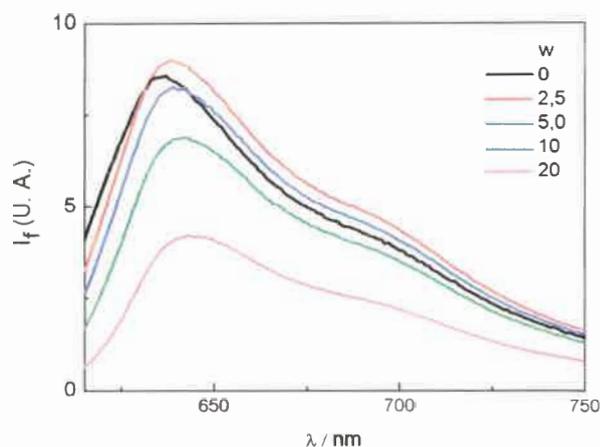


Figura IV.43: Espectros de fluorescencia de RZ en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua $\text{pH} = 12$, corregidos a igual cantidad de luz absorbida, $\lambda_{\text{exc}} = 612 \text{ nm}$ a $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

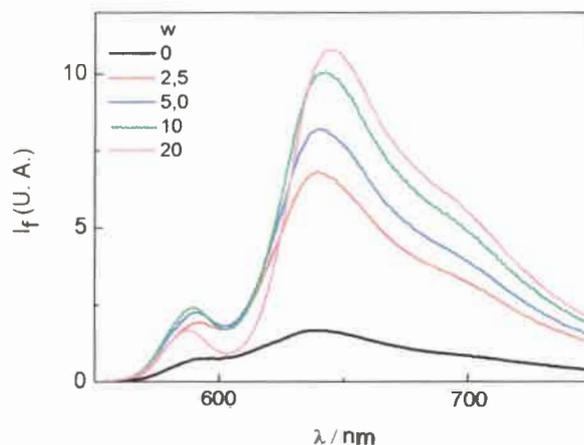


Figura IV.44: Espectros de fluorescencia de RZ en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M en función de w con agua $\text{pH} = 12$, corregidos a igual cantidad de luz absorbida, $\lambda_{\text{exc}} = 535 \text{ nm}$ a $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Debido a los antecedentes citados [4,5], se puede inferir que las bandas anchas encontradas en este trabajo, en los solventes isooctano con bajo porcentaje de propanol y benceno son debidas a la forma asociada del colorante, ya sea consigo mismo o con iones Na^+ . En las microemulsiones de lecitina a bajo w , también se atribuye la banda a menor longitud de onda a los colorantes asociados en la interfase micelar, y a medida

que aumenta el agua, se acomodan interaccionando con el propanol mostrando el espectro típico de la forma disociada en el alcohol.

De acuerdo a los resultados obtenidos las propiedades espectrales de ambos colorantes en las microemulsiones de lecitina son similares a las observadas en las micelas inversas de BHDC y diferentes a las obtenidas en AOT. A pesar de ser lecitina un surfactante zwitteriónico, se puede observar que la interacción más importante es con los grupos amonios cuaternarios, que son los más expuestos en la interfase.

IV-3-1-2. Absorción del estado excitado triplete de RF y RZ en las microemulsiones de lecitina

Para completar los estudios sobre la fotofísica de los colorantes en las microemulsiones se procedió a la caracterización de las especies transitorias, para lo cual se realizaron los espectros de absorción de transitorios mediante laser flash fotólisis, utilizando una concentración de surfactante de 0,05 M, y comparándolos con aquellos en solución acuosa, como se realizó con los otros sistemas organizados. Para corroborar la estabilidad fotoquímica de las muestra, se tomaron espectros de absorción al comienzo y final de la exposición a los pulsos del láser.

A continuación se muestran los espectros de absorción de transitorios recogidos a diferentes tiempos después del pulso del láser ($\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$) para ambos colorantes.

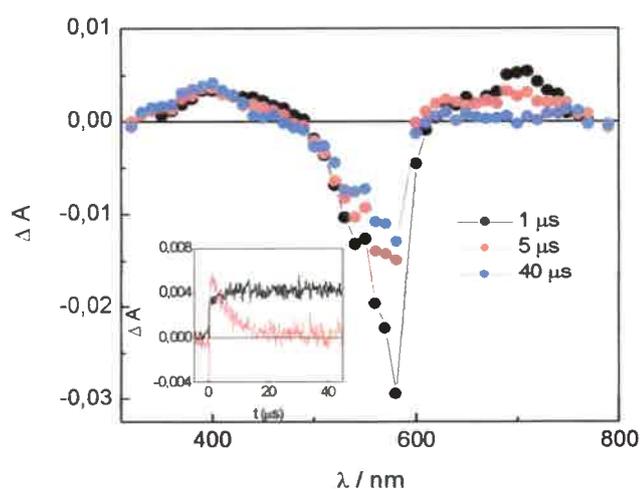


Figura IV.45: Espectro de absorción de transitorio de RF en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0,05 M a $w = 30$ y $T = 25 \text{ °C}$ a: (●) 1 μs , (●) 5 μs y (●) 40 μs . luego del pulso del láser. **Inserto:** Trazas temporales a (—) 400 nm y (—) 700 nm.

Para RF el espectro en lecitina a tiempo corto (figura IV.45), muestra dos bandas anchas entre 620-750 nm y alrededor de 400 nm, además una región de absorción negativa que corresponde a la depleción del estado fundamental. A tiempo más largos, la absorción en la región 620-750 nm disminuye hasta hacerse prácticamente cero, mientras que en la región de los 400 nm la absorción aumenta levemente.

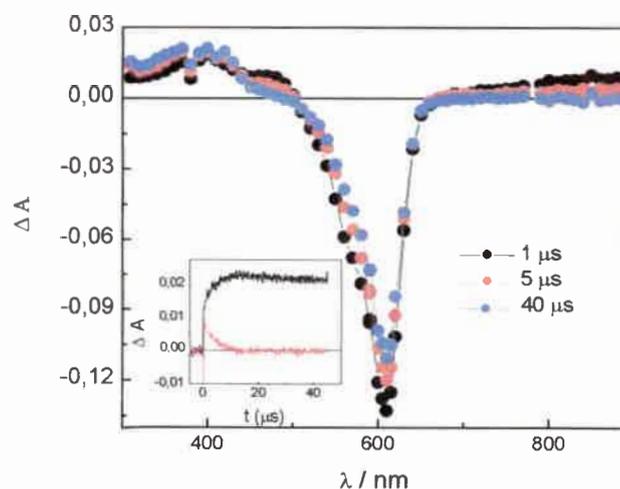


Figura IV.46: Espectro de absorción de transitorio de RZ en lecitina / isooctano-10% 1-propanol 0.05 M a $w = 30$ a $T = 25$ °C a: ●) 1 μ s. ●) 5 μ s y ●) 40 μ s, luego del pulso del láser. **Inserto:** Trazas temporales a (—) 370 nm y (—) 825 nm.

La absorción en estas regiones muestra diferente intensidad y perfiles de decaimientos. En el inserto se puede ver que la señal a 700 nm decae con una cinética de primer orden. Por otro lado, la señal a 400 nm incrementa con el tiempo casi a la misma velocidad a la que decaen las especies que absorben a 700 nm y posteriormente permanece constante. Esto significa que la absorción a 400 nm es generada por las especies que absorben a 700 nm. Por lo que se atribuye la absorción a 400 nm a los radicales formados por auto-desactivación.

Para RZ, el espectro muestra dos bandas anchas entre 700-850 nm y alrededor de 400 nm, una absorción negativa entre 500-650 nm y a 379 nm que indican la depleción del estado fundamental (figura IV.46). En el inserto, se observa que la señal a 825 nm decae también con una cinética de primer orden. La señal a 370 nm presenta una absorción de vida larga, la cual incrementa a la misma velocidad a la que decaen las especies a 825 nm.

Para ambos colorantes, los espectros son similares a los obtenidos en los alcoholes como metanol e isopropanol, así como en los demás sistemas micelares utilizados, y puede ser atribuido al estado triplete de los colorantes. En las figuras IV.47 y IV.48, se muestran los espectros de absorción de transitorios para ambos colorantes en las microemulsiones de lecitina de soja y en solución acuosa para comparación.

El espectro a tiempo largo, para ambos colorantes presenta una pequeña absorción residual del estado triplete, y además en la región entre 350-450 nm asignada a las formas semireducida y semioxidada de los colorantes.

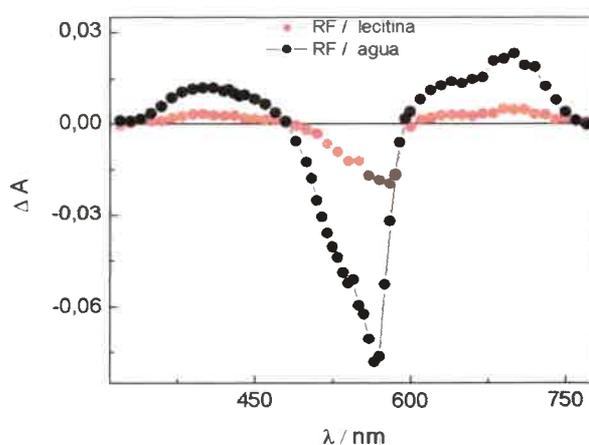


Figura IV.47: Espectro de absorción de transitorio de RF en agua pH = 8,5 y lecitina 0,05 M a w = 30, T = 25 °C a 1 μ s después del pulso del láser.

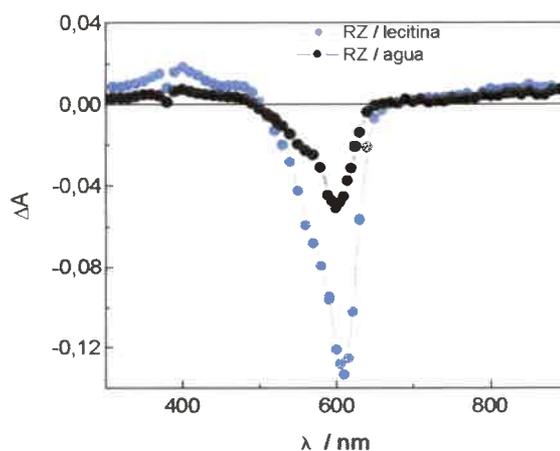


Figura IV.48: Espectro de absorción de transitorio de RZ en agua pH = 8,5 y lecitina 0,05 M a w = 30, T = 25 °C a 1 μ s después del pulso del láser.

Se puede ver que los espectros de transitorios de ambos colorantes en microemulsiones y solución acuosa son bastante similares. Se observa un pequeño corrimiento hacia el rojo en las microemulsiones, el cual se puede atribuir a un efecto de solvente como se ha observado en absorción y fluorescencia.

Al comparar la absorción T-T en agua y en lecitina, se encontró que los colorantes tienen un comportamiento diferente entre sí, como fue encontrado en micelas directas de CTAC y micelas inversas de BHDC. La absorción T-T de RF en la microemulsión está bastante disminuida con respecto a la de agua (figura IV.47), mientras que para RZ, la absorción es mayor que en el medio acuoso (figura IV.48). Para entender si este comportamiento es debido a cambios en los coeficientes de absorción o a rendimientos cuánticos se procedió a determinar los coeficientes de absorción molar del estado triplete (ϵ_T) y los rendimientos cuánticos de cruce entre sistemas (Φ_T) por las técnicas explicadas en sección II-2-5-1.

Para determinar los ϵ_T , las soluciones de los colorantes en el medio micelar y en agua fueron ajustadas a la misma absorbancia 532 nm. Para los dos colorantes, tanto en las microemulsiones como en agua, la absorción negativa fue bastante coincidente con el espectro de absorción del estado fundamental (en las figuras IV.49 y IV.50 se muestran dichas absorciones para los colorantes en lecitina). Esto es consistente con la ausencia de formación de algún fotoproducto bajo las condiciones experimentales de láser empleadas, y permite la aplicación del método de depleción del estado fundamental para conocer el coeficiente de absorción del estado triplete.

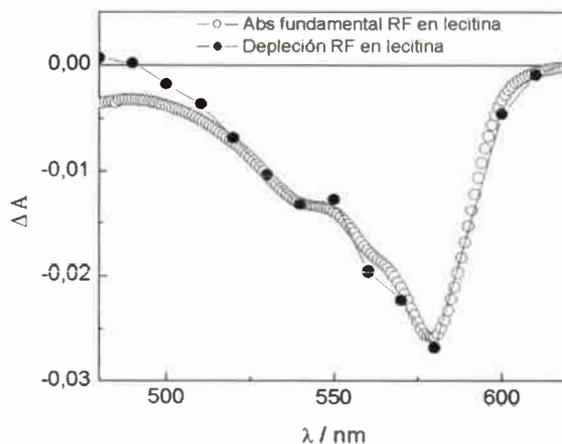


Figura IV.49: Depleción del estado fundamental de RF en lecitina 0,05 M a $w = 30$, $T = 25$ °C a $1 \mu s$ del pulso del láser. Comparación con el espectro de absorción del estado fundamental.

En la figura IV.51 se muestra el espectro de triplete de RF normalizado a una longitud de onda correspondiente a la primera región espectral. Se observa apenas una mayor absorción de RF en agua que en lecitina, lo que estaría de acuerdo con los coeficientes de absorción molar obtenidos (ver tabla IV.7).

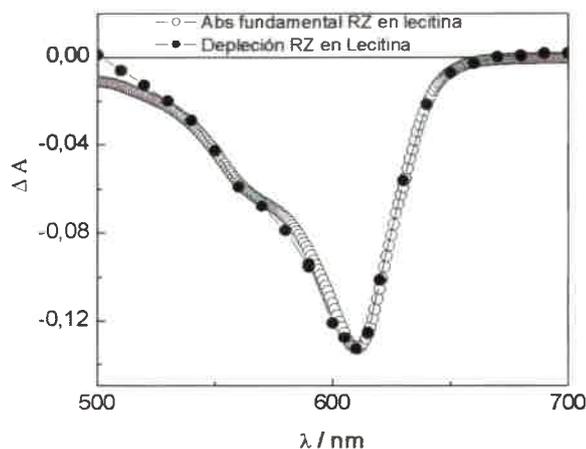


Figura IV.50: Depleción del estado fundamental de RZ en lecitina 0,05 M a $w = 30$, $T = 25\text{ °C}$ a $1\ \mu\text{s}$ del pulso del láser. Comparación con el espectro de absorción del estado fundamental.

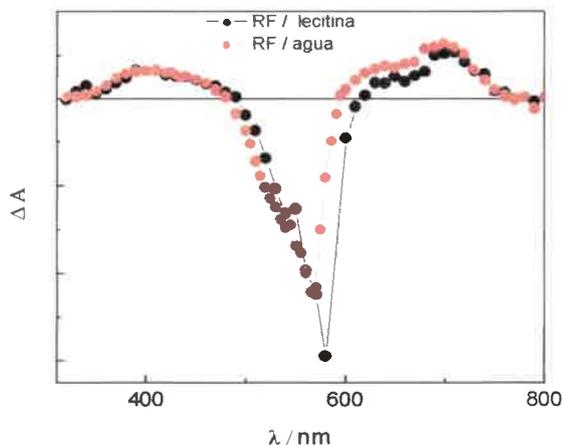


Figura IV.51: Espectro de absorción de triplete de RF en agua $\text{pH} = 8,5$ y lecitina 0,05 M a $w = 30$, $T = 25\text{ °C}$ a $1\ \mu\text{s}$ después del pulso del láser. Normalizados en 400 nm.

Para la determinación de los Φ_T , los gráficos de la absorbancia del triplete de los colorantes y referencia en función del %T fueron lineales, por lo tanto, tomando las pendientes de las rectas se obtiene el producto ($\Phi_T \epsilon_T$) y, como el ϵ_T fue determinado por

depleción del estado fundamental, fue posible obtener los rendimientos cuánticos para RF y RZ en lecitina. Los resultados se muestran en las tablas IV.7 y IV.8.

Para RF, el rendimiento cuántico es menor en las microemulsiones que en agua. Esta disminución está de acuerdo con el aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia.

En la figura IV.52 se muestra el espectro de triplete para RZ normalizado en 380 nm. Se observa que la absorción en la región entre 700-900 nm en agua es algo mayor que en lecitina, estando de acuerdo con los valores obtenidos del ϵ_T (ver tabla IV.8).

Se obtuvo un rendimiento cuántico de triplete de 0,22 para RZ en lecitina, mientras que en solución acuosa fue de 0,08 (tabla IV.8). Si bien en este caso también el rendimiento cuántico de fluorescencia aumenta en lecitina como ocurre con RF, los valores experimentales obtenidos de los rendimientos cuánticos de fluorescencia son mucho más chicos y, por lo tanto, el error (aproximadamente un 10%) influye aún más. Nuevamente como la suma de los rendimientos cuánticos de todos los procesos cinéticos involucrados es igual a la unidad, para RZ se tiene que el rendimiento cuántico del proceso de decaimiento no radiativo es muy grande con respecto a la fluorescencia y a la formación de triplete. Por lo tanto, el rendimiento cuántico de formación de triplete no cambia mucho, debido a que el rendimiento cuántico para el proceso no radiativo es el que más peso tiene. Se realizaron experiencias de quenching por lecitina encontrando una constante de quenching baja de $\sim 8,5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y $1,0 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para RZ y RF respectivamente.

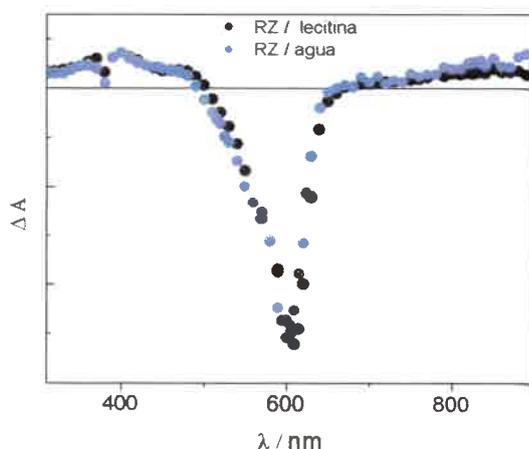


Figura IV.52: Espectro de absorción de triplete de RZ en agua pH = 8,5 y lecitina 0,05 M a $w = 30$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ a 1 μs después del pulso del láser. Normalizados en 380 nm.

Tabla IV.7: Parámetros fotofísicos de resorufina en las microemulsiones de lecitina a alto w y en agua para comparación.

	RF en agua	RF en lecitina
Absorción λ_{max} / nm (ϵ_g [$M^{-1} cm^{-1}$])	572 (51000 \pm 2500)	579 (82400 \pm 4100)
Fluorescencia λ_{max} / nm	584	590
Φ_F	0,41 \pm 0,04	0,57 \pm 0,05
τ_F / ns	2,90	4,83
Triplete λ_{max} / nm (ϵ_T [$M^{-1} cm^{-1}$])	700 (17000 \pm 1000)	700 (14600 \pm 800)
Φ_T	0,04 \pm 0,01	0,010 \pm 0,005
τ_T / μs	\sim 100	\sim 10

Tabla IV.8: Parámetros fotofísicos de resazurina en las microemulsiones de lecitina a alto w y en agua para comparación.

	RZ en agua	RZ en lecitina
Absorción λ_{max} / nm (ϵ_g [$M^{-1} cm^{-1}$])	602 (42000 \pm 2100)	612 (53000 \pm 2600)
Fluorescencia λ_{max} / nm	634	643
Φ_F	0,11 \pm 0,01	0,20 \pm 0,02
τ_F / ns	0,71	1,20
Triplete λ_{max} / nm (ϵ_T [$M^{-1} cm^{-1}$])	825 (4300 \pm 300)	825 (2900 \pm 200)
Φ_T	0,08 \pm 0,015	0,22 \pm 0,04
τ_T / μs	\sim 40 μs	\sim 5 μs

En base a estos resultados, podemos concluir que las propiedades espectrales de los colorantes en las micremulsiones de lecitina se asemejan a aquellas obtenidas en las micelas inversas de BHDC. Esto sugiere que la interacción electrostática atractiva debido los grupos amonio cuaternarios, es el que predomina frente a posibles interacciones repulsivas con los grupos fosfatos. Además, las propiedades fotofísicas son similares a aquellas en 1-propanol, confirmando que ambos colorantes residen en la interfase de la microemulsión, donde el alcohol comiceliza con la lecitina.

REFERENCIAS

-
- [1] O. A. El Seoud, *Reversed micelles and water-in-oil microemulsions: formation and some relevant properties*, in: W. L. Hinze (Ed.), *Organized Assemblies in Chemical Analysis*, Vol. , JAI Press Inc, London, 1994.
- [2] D. Grand, A. Dokutchaeu, *J. Phys. Chem. B*, 101 (1997) 3181.
- [3] M. da Graça Miguel, H. D. Burrows, M. A. Escaroupa Pereira, A. P. Varela, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 176 (2001) 85.
- [4] M. J. Politi, O. Brandt, J. H. Fendler, *J. Phys. Chem.*, 89 (1985) 2345.
- [5] M. Hasegawa, *Langmuir*, 17 (2001) 1426.
- [6] B. Baruah, J. M. Roden, M. Sedgwick, N. M. Correa, D. C. Crans, N. E. Levinger. *J. Am. Chem. Soc.*, 128 (39) (2006) 12758.
- [7] F. M. Menger, G. J. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 100 (1978) 4376.
- [8] M. Okazaki, K. Tiroyama, *J. Phys. Chem.*, 93 (1989) 5027.
- [9] C. Bueno, M. L. Villegas, S. G. Bertolotti, C. M. Previtali and, M. V. Encinas, *J. Photochem. and Photobiol.*, 76 (4) (2002) 385.
- [10] H. A. Montejano, M. Gervaldo, S. G. Bertolotti, *Dyes Pigm.*, 64 (2005) 117.
- [11] M. A. Polizelli, V. R. Nicoletti Telis, L. Q. Amaral, E. Feitosa. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 281 (2006) 230.
- [12] R. Angelico, A. Ceglie, G. Colafemmina, F. Delfino, U. Olsson and G. Palazzo. *Langmuir*, 20 (2004) 619.



CAPÍTULO V

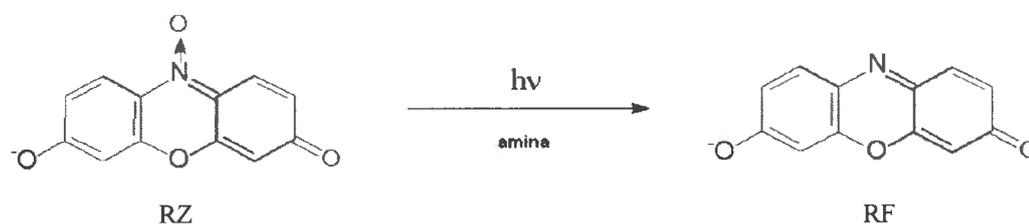
RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Reacción Fotoquímica

V-1. Fotorreacción de RZ

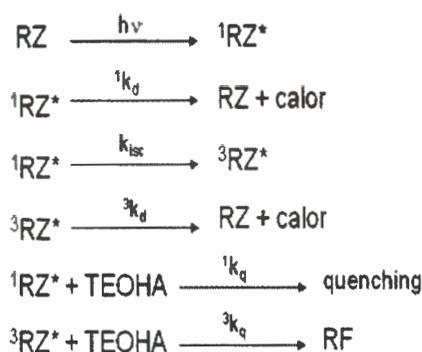
Al igual que para muchos otros colorantes [1,2], RZ y RF pueden actuar como eficientes aceptores de electrones frente a dadores como las aminas. Tanto el estado excitado singlete como triplete, es desactivado eficientemente en presencia de ciertas aminas alifáticas [3]. Pero sólo RZ da fotorreacción, (o el rendimiento cuántico es mucho menor con RF). Dicha reacción es solamente eficiente con aminas terciarias alifáticas y no ocurre en la oscuridad o cuando el colorante es irradiado sólo [3,4].

En este trabajo, para ver el efecto de los medios organizados sobre la fotodesoxigenación de RZ, se procedió al estudio de la reacción fotoquímica de RZ con la amina terciaria trietanol amina (TEOHA) en solución homogénea empleando los solventes metanol y agua, y en micelas directas de CTAC, SDS y microemulsiones de lecitina. Las soluciones de la muestra desoxigenadas fueron irradiadas a 620 nm en presencia de la amina, observándose un cambio de color de azul a rosa. La reacción que ocurre es la siguiente:



Esquema V.1

El mecanismo de fotorreducción aparentemente procede sólo por la ruptura del enlace N-O, sin producción de dihidroresorufina (solución incolora), como ha sido encontrado en reducciones electroquímicas [5]. La ruptura es precedida por la reacción de transferencia de electrones entre RZ y la amina. El mecanismo propuesto se muestra en el esquema V.2, en el cual una vez formado el estado excitado singlete mediante la absorción de luz, y a partir de este el estado triplete, ambos pueden ser desactivados o quencheados por la amina.



Esquema V.2

Existen evidencias que demuestran que el quenching entre el estado excitado del colorante y la amina ocurre a través de un proceso de transferencia de electrones. En primer lugar, la pérdida de oxígeno es un proceso de reducción, por lo que es lógico que se inicie mediante la captura de un electrón por parte del colorante. Además, se sabe que las aminas terciarias son mejor dadoras de electrones que las primarias y secundarias (debido al efecto donador de electrón de los grupos alquílicos que estabilizan el catión amino), y como fue mencionado anteriormente con estas últimas no se observó reacción. Por último, mediante láser flash fotólisis se ha visto que la desactivación del triplete por la amina produce la forma semirreducida del colorante [3]. Siendo esta una evidencia fundamental debido a que esta especie sería un intermediario de la reacción.

Se comenzó el estudio de fotorreacción de RZ en solución homogénea. En la figura V.1, se muestran los espectros de absorción del colorante en agua con TEOHA $5,25 \times 10^{-4}$ M a diferentes tiempos de irradiación. El espectro de absorción presenta una banda con máximo a 602 nm, a medida que aumenta el tiempo de irradiación esta disminuye y aparece una nueva banda a 572 nm y se observa claramente un punto isobéptico a 581 nm. El espectro final a 572 nm se corresponde con el de RF en el mismo medio. El mismo cambio en los espectros se observó cuando la reacción se llevó a cabo en metanol.

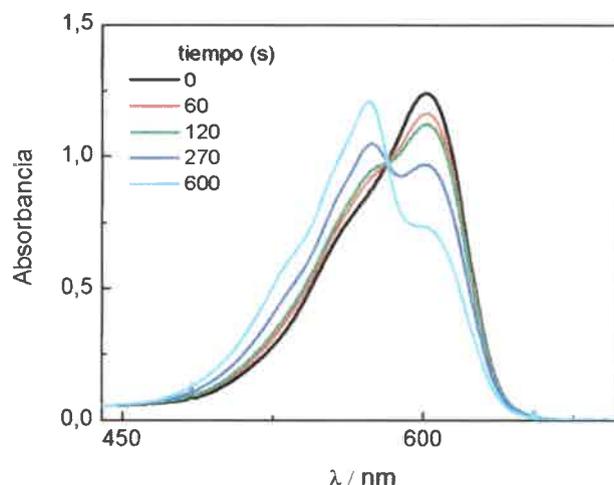


Figura V.1: Efecto de la irradiación ($\lambda = 620$ nm) sobre los espectros de absorción de RZ en agua pH = 8,5 en presencia de TEOHA $5,25 \times 10^{-4}$ M, T = 20 °C.

V-1-1. Efecto del medio micelar

Se determinaron los espectros de absorción de RZ con TEOHA en micelas directas de CTAC y SDS, y en microemulsiones de lecitina a diferentes tiempos de irradiación. Cuando RZ es introducido en el medio micelar, se puede apreciar un cambio en los espectros similar al presentado en agua. En CTAC, la banda del colorante, con un máximo a 612 nm, desaparece y una nueva banda aparece con un máximo a 580 nm, y un punto isosbético bien definido es observado a 591 nm. El espectro final a 580 nm se corresponde nuevamente con el del colorante desoxigenado RF (Figura V.2).

En SDS, se observa nuevamente la misma variación en los espectros, pero en este caso menor es la formación del fotoproducto RF (figura V.3). Comparando los espectros en los diferentes medios, el cambio observado sigue el siguiente orden: CTAC > agua > SDS.

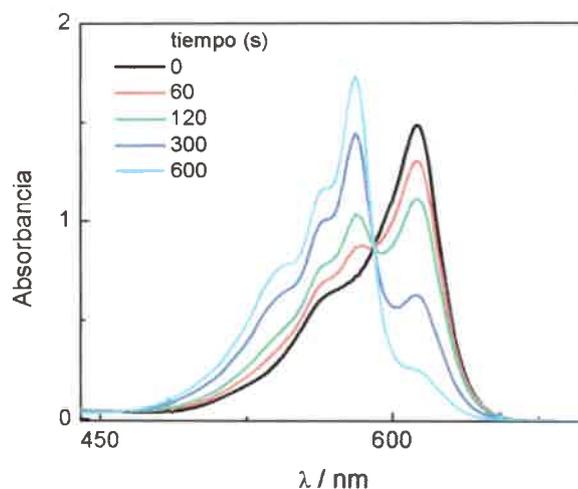


Figura V.2: Efecto de la irradiación ($\lambda = 620$ nm) sobre los espectros de absorción RZ en CTAC 0,025 M en presencia de TEOHA $5,25 \times 10^{-4}$ M, $T = 20$ °C.

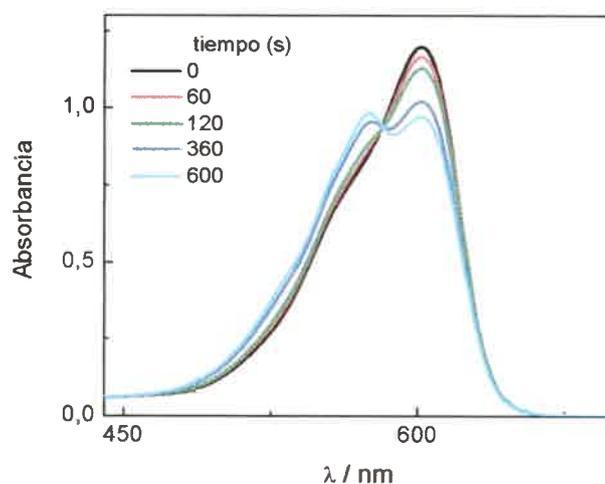


Figura V.3: Efecto de la irradiación ($\lambda = 620$ nm) sobre los espectros de absorción RZ en SDS 0,02 M en presencia de TEOHA $5,25 \times 10^{-4}$ M, $T = 20$ °C.

Los resultados obtenidos pueden interpretarse en base a la localización de ambos reactantes. En CTAC, se obtuvo que RZ se localiza en la interfase micelar. Los resultados aquí obtenidos infieren que TEOHA se encontraría principalmente en el mismo volumen micelar. De este modo, habría un incremento de su concentración local, lo que explicaría que la reacción ocurra más favorablemente. El efecto observado en SDS, podría ser explicado en términos de la partición de la amina entre la fase acuosa y

la micelar. Así la concentración efectiva en el agua, donde está situado el colorante, resultaría ser menor que la analítica, y por lo tanto hay menor reacción.

En la figura V.4, se observa que la disminución en la absorción de RZ en las microemulsiones de lecitina a igual concentración de amina, es menor que en CTAC y similar a agua. Esta disminución observada con respecto a CTAC, puede atribuirse a la la partición de los reactantes en los diferentes microentornos. El mayor efecto en lecitina con respecto a SDS, no es tan obvia. Si bien en ambos sistemas es probable que exista reparto de la amina, en lecitina aparentemente la amina se sitúa mayormente en la interfase micelar donde se localiza el colorante.

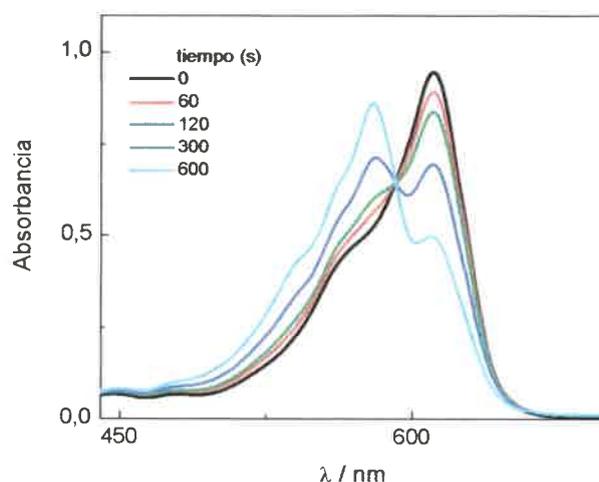


Figura V.4: Efecto de la irradiación ($\lambda = 620$ nm) sobre los espectros de absorción RZ en lecitina 0,05 M $w = 30$, en presencia de TEOHA $5,25 \times 10^{-4}$ M, $T = 20$ °C.

V-1-2. Efecto de la concentración de amina sobre la velocidad de fotorreacción

Se determinaron las velocidades de fotorreacción mediante gráficos de la disminución de la concentración de RZ en función del tiempo de irradiación y en presencia de diferentes concentraciones de amina. En las figuras V.5-V.9 se muestra el cambio de la absorbancia de RZ a diferente concentración de amina, en función del tiempo de irradiación.

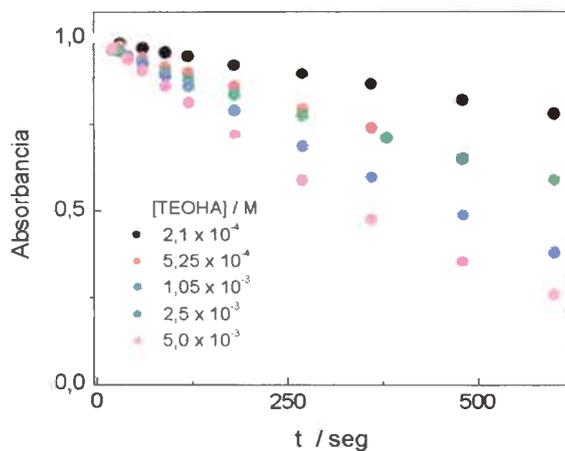


Figura V.5: Absorbancia de RZ en agua normalizadas en función del tiempo de irradiación ($\lambda = 620$ nm) a diferentes concentración de TEOHA. T = 20 °C.

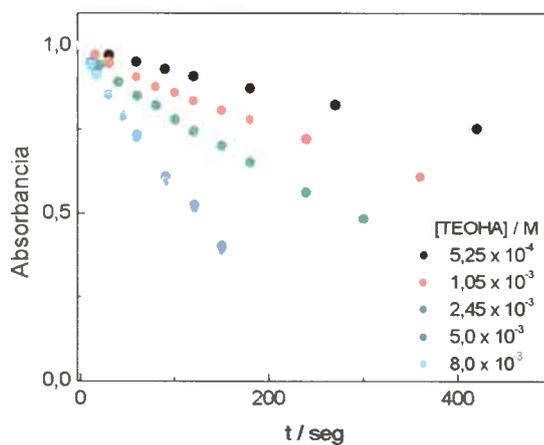


Figura V.6: Absorbancia de RZ en metanol normalizadas en función del tiempo de irradiación ($\lambda = 620$ nm) a diferentes concentración de TEOHA. T = 20 °C.

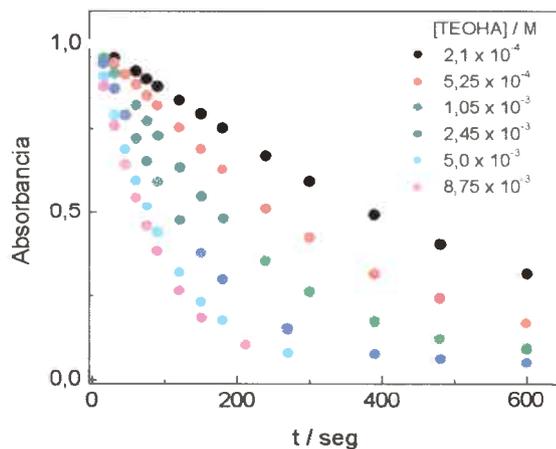


Figura V.7: Absorbancia de RZ en CTAC 0,025 M normalizadas en función del tiempo de irradiación ($\lambda = 620$ nm) a diferentes concentración de TEOHA. T = 20 °C.

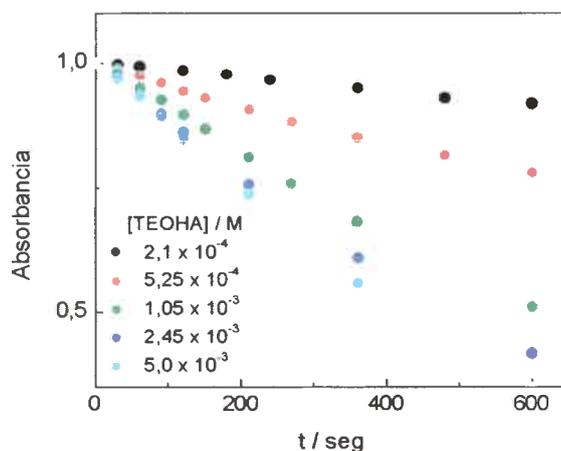


Figura V.8: Absorbancia de RZ en SDS 0,02 M normalizadas en función del tiempo de irradiación ($\lambda = 620$ nm) a diferentes concentración de TEOHA. $T = 20$ °C.

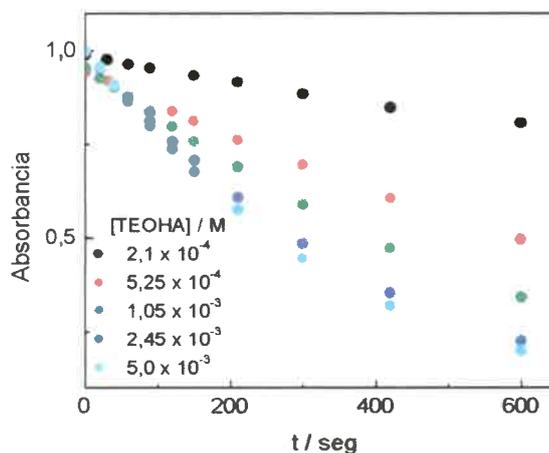


Figura V.9: Absorbancia de RZ en lecitina 0,05 M normalizadas en función del tiempo de irradiación ($\lambda = 620$ nm) a diferentes concentración de TEOHA. $T = 20$ °C.

En todos los casos, se observa que la velocidad de fotorreacción depende de la concentración de amina. A medida que aumenta la concentración de amina, la velocidad de reacción aumenta. Las velocidades iniciales de desaparición de RZ alcanzan un valor máximo a una dada concentración de TEOHA, a partir de la cual, no se observan cambios en la concentración con el tiempo de irradiación (ver figura V.10).

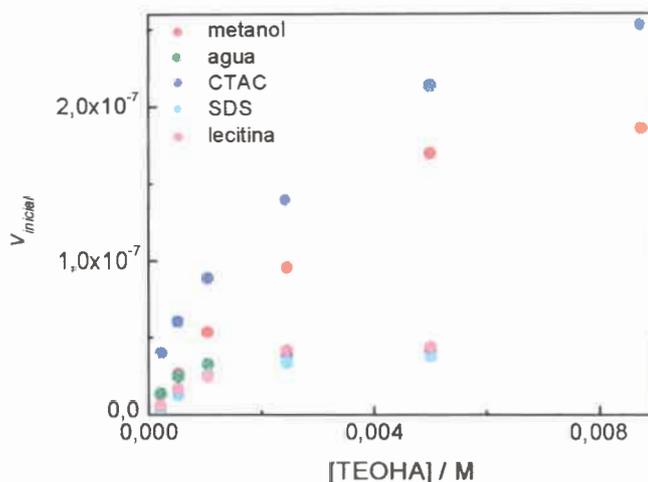


Figura V.10: Velocidad inicial de RZ en los diferentes medios en función de la concentración de TEOHA.

V-1-3. Determinación del rendimiento cuántico de fotorreacción

Los rendimientos cuánticos de fotorreacción se determinaron mediante actinometría empleando como actinómetro la reacción de fotooxidación de DMA vía oxígeno singlete sensibilizada (ver detalles en capítulo II). La solución del actinómetro fue preparada a la misma absorbancia que la solución de la muestra a la λ de irradiación. Para el actinómetro, se observó la disminución de la banda de absorción del DMA en 397 nm (figura IV.11).

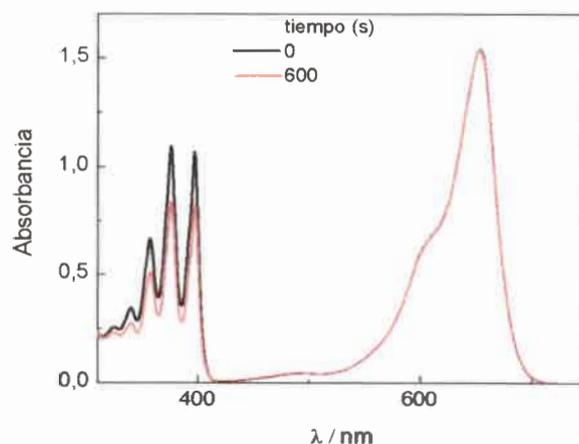


Figura V.11: Efecto de la irradiación ($\lambda = 620$ nm) sobre los espectros de absorción de DMA + MB en metanol T = 20 °C.

Primeramente se procedió a determinar el cambio en la absorbancia del actinómetro con el tiempo de irradiación. Luego, para convertir los valores de absorbancia a concentraciones molares, fue necesario determinar el coeficiente de absorción molar de DMA en metanol. A través de la Ley de Lambert y Beer, se obtuvo un valor de $\epsilon = 8000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 397 nm. Así el rendimiento cuántico de desaparición del actinómetro se calculó mediante la ecuación II.16 (Cap. II sección, II-2-6-2-1), para una concentración de DMA $1,2 \times 10^{-4} \text{ M}$, el $\phi_{-DMA} = 0,036$. Luego conociendo las velocidades de reacción del actinómetro y de fotorreducción de RZ, se obtuvieron los rendimientos cuánticos de reacción mediante la ecuación II.18 (ver sección II-2-6-2-1).

En las figuras V.12-V.14, se muestra el efecto sobre el rendimiento cuántico de desaparición de RZ con la concentración de amina, en CTAC, lecitina y agua. Se puede ver que éste aumenta con la concentración de TEOHA, y alcanza un valor máximo a aproximadamente a 5 mM en agua y lecitina, y 8 mM en CTAC. Cabe aclarar que estos son valores aproximados, sobre todo en los medios micelares, debido a que no se alcanzó el plateau.

En la tabla V.1, se exponen los valores de los rendimientos cuánticos determinados.

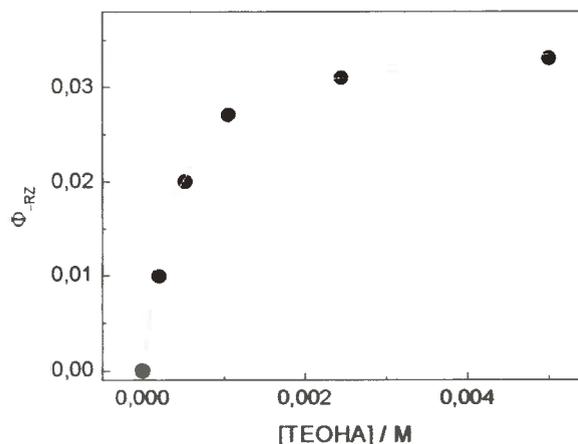


Figura V.12: Efecto de [TEOHA] sobre el rendimiento cuántico de fotorreacción de RZ en agua. $T = 20$ °C. (-) Ajuste de cuadrados mínimos no lineales de la ecuación V.3.

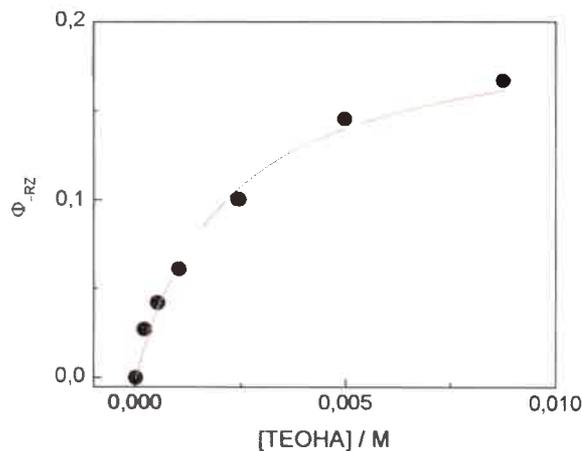


Figura V.13: Efecto de [TEOHA] sobre el rendimiento cuántico de fotorreacción de RZ en CTAC 0,025 M, T = 20 °C. (—) Ajuste de cuadrados mínimos no lineales de la ecuación V.3.

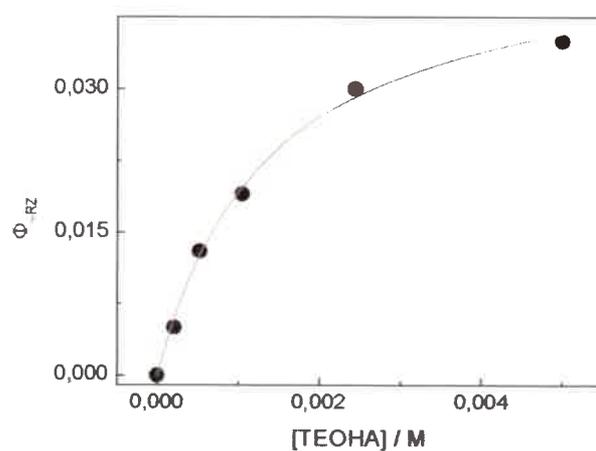


Figura V.14: Efecto de [TEOHA] sobre el rendimiento cuántico de fotorreacción de RZ en lecitina 0,05 M a w = 30, T = 20 °C. (—) Ajuste de cuadrados mínimos no lineales de la ecuación V.3.

Los valores de Φ_{-RZ} calculados, son del mismo orden al obtenido para RZ en solución acuosa con TEOHA determinado utilizando otro actinómetro [3].

Tabla V.1: Rendimientos cuánticos de reacción (Φ_{RZ}) de RZ con TEOHA.

[TEOHA] / M	Φ_{RZ} en agua	Φ_{RZ} en MeOH	Φ_{RZ} en CTAC	Φ_{RZ} en SDS	Φ_{RZ} en lecitina
$2,1 \times 10^{-4}$	0,01	---	0,026	0,003	0,005
$5,25 \times 10^{-4}$	0,02	0,021	0,041	0,01	0,013
$1,05 \times 10^{-3}$	0,027	0,043	0,061	0,02	0,019
$2,45 \times 10^{-3}$	0,031	0,076	0,095	0,025	0,032
5×10^{-3}	0,033	0,135	0,145	0,027	0,034
$8,75 \times 10^{-3}$	---	0,145	0,17	---	---

En base a la dependencia de Φ_{RZ} con la concentración de amina se trató de correlacionar los resultados con los parámetros fotofísicos y los procesos fotoquímicos primarios. Esto se llevó a cabo en CTAC que es el medio donde se obtuvo una mayor velocidad de reacción, y en lecitina y agua para comparación. Se puede inferir, que debido a la baja concentración utilizada de TEOHA ($< 0,01$ M) y teniendo en cuenta que el tiempo de vida del estado singlete de RZ es tan corto ($\tau_F = 0,71$ ns, 1,08 ns y 1,20 ns en agua, CTAC y lecitina $w = 30$), que el triplete del colorante es el que está involucrado en la fotorreacción. Para ello, se procedió a determinar la fracción de triplete que es desactivado por TEOHA en las micelas catiónicas y en solución acuosa, mediante la siguiente ecuación:

$$f = \frac{k_q^T [TEOHA]}{k_q^T [TEOHA] + k_d^T} \quad (V.1)$$

Donde k_q^T es la constante bimolecular de desactivación del estado triplete por la amina y fueron determinados experimentalmente a través de los decaimientos de primer orden obtenidos en presencia de amina (k_{obs}) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$k_{obs} = k_d^T + k_q^T [TEOHA] \quad (V.2)$$

Donde k_d^T es la constante de velocidad de decaimiento en ausencia de amina, es decir, inversa al tiempo de vida del triplete. Los valores de k_q^T obtenidos a partir de la

pendiente de la figura V.15 son: $6,2 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $9,6 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ y $1,83 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ en agua, CTAC y lecitina.

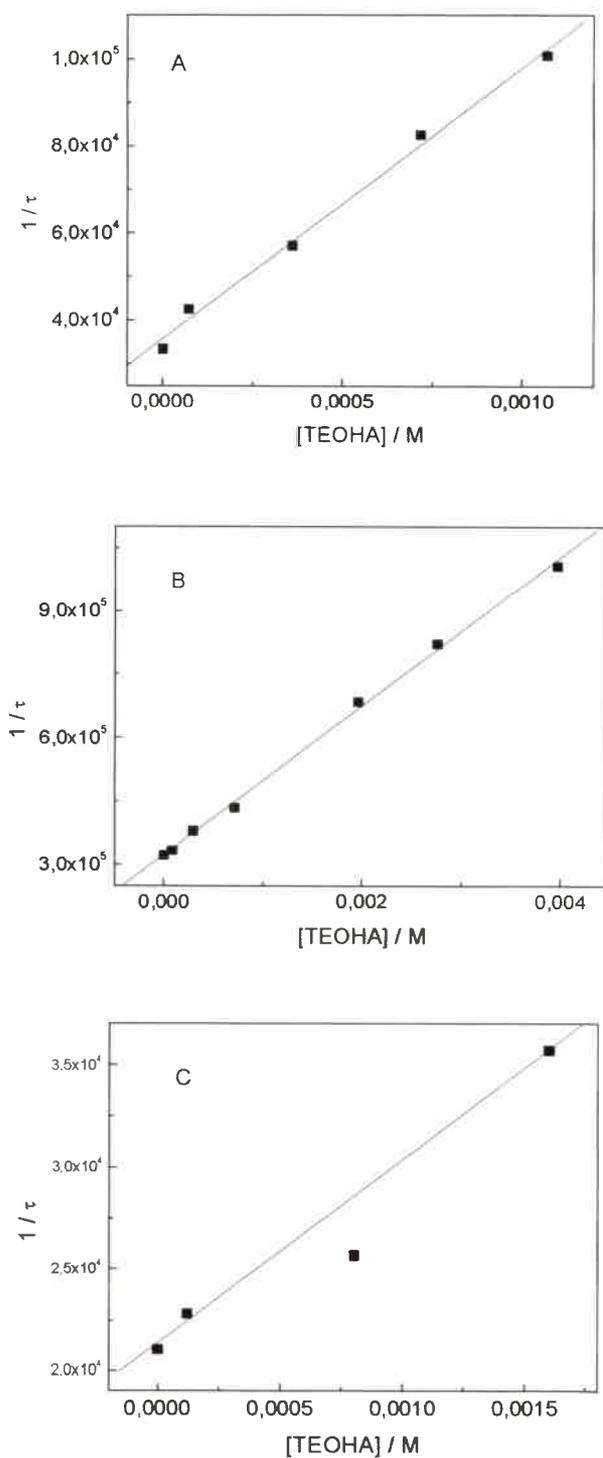
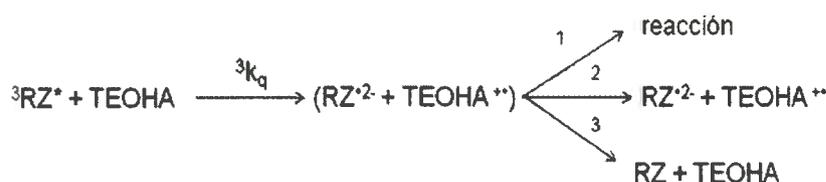


Figura V.15: Gráfico de la desactivación del triplete de RZ por TEOHA a $\lambda = 825 \text{ nm}$ en, A) agua, B) lecitina y C) CTAC.

En la tabla V.2 se muestran los valores de la fracción de quenching obtenidos. Luego, si la reacción procede sólo del estado triplete, el rendimiento cuántico de reacción puede ser calculado de la siguiente ecuación:

$$\phi_{-RZ} = \phi_T \frac{k_q^T [TEOHA]}{k_q^T [TEOHA] + k_d^T} \eta \quad (V.3)$$

donde η representa la fracción de tripletes que conducen a la fotorreacción. Un buen ajuste mediante la ecuación V.3 se muestra en las figuras V.12-V.14. Del mismo se obtuvo que $\eta = 0,45$ en agua y $0,20$ en lecitina, mientras que en CTAC es $\sim 1,0$ (Tabla V.2). Lo que significa que en CTAC, todo el triplete interceptado por TEOHA conduce a fotorreacción. Por lo tanto, se puede escribir el siguiente mecanismo de transferencia de electrón desde el estado triplete:



Esquema V.3

En el cual, luego de la transferencia del electrón, ocurre la reacción que da como producto RF (1), la que competiría con la disociación en los radicales libres (2) y con la desactivación natural de ambas moléculas (3).

Comparando los Φ_{-RZ} obtenidos en lecitina y agua de la tabla V.2, vemos que son muy similares pero sin embargo se tiene que η en agua es el doble. Esto se puede explicar teniendo en cuenta que según la ecuación V.3 el rendimiento cuántico de reacción es: $\Phi_{-RZ} = \Phi_T \times f \times \eta$, como el Φ_T es el doble en lecitina que en agua (ver tabla IV.8) y f es similar, los valores de los rendimientos cuánticos se compensan y por lo tanto obtenemos prácticamente el mismo Φ_{-RZ} en ambos medios. Observando el esquema V.3, el paso (1) que estaría dado por el valor de η , es el menos importante cuando el medio es agua o lecitina, ocurriendo con una eficiencia de aproximadamente un 45 % y 20 %, respectivamente. En cambio en CTAC la reacción ocurre con una

eficiencia de aproximadamente un 100 %. Además del esquema V.3 se infiere que el paso (2) sería menor en lecitina que en agua y el que más estaría sucediendo es la vuelta al estado fundamental sin que ocurra reacción paso (3).

Tabla V.2: Rendimiento cuántico de reacción (ϕ_{RZ}), fracción de quenching (f) y eficiencia de reacción (η) para RZ en agua, CTAC y lecitina $w = 30$.

[TEOHA] / M	agua			CTAC			lecitina		
	ϕ_{RZ}	f	η	ϕ_{RZ}	f	η	ϕ_{RZ}	f	η
$2,10 \times 10^{-4}$	0,01	0,34	0,37	0,026	0,092	1,41	0,005	0,13	0,17
$5,25 \times 10^{-4}$	0,02	0,57	0,44	0,041	0,20	1,0	0,013	0,28	0,21
$1,05 \times 10^{-3}$	0,027	0,72	0,47	0,061	0,34	0,90	0,019	0,43	0,20
$2,45 \times 10^{-3}$	0,031	0,86	0,45	0,095	0,54	1,0	0,032	0,64	0,23
$5,0 \times 10^{-3}$	0,033	0,93	0,45	0,145	0,71	0,98	0,035	0,80	0,20
$8,75 \times 10^{-3}$	---	---	---	0,165	0,81	1,02	---	---	---

En resumen, se pudo observar que la velocidad de fotorreacción se ve afectada por el medio. En CTAC la velocidad de reacción está bastante aumentada, y ha sido explicada fundamentalmente debido a que los sistemas micelares solubilizan ambos reactivos en el mismo volumen micelar. Siendo esto además soportado por el valor de η cercano a la unidad. Además, se pudo corroborar que la fotorreducción de RZ por TEOHA, involucra principalmente la interacción del estado triplete del colorante con la amina. Revelado por el alto valor de f a la concentración donde la velocidad de reacción alcanza aproximadamente su máximo valor.



REFERENCIAS

-
- [1] Sanjukta Nad and Haridas Pal, *J. Chem. Phys.*, 116 (4) (2002) 1658.
- [2] A. K. Chibisov, *Prog. Reaction Kinetics*, 13 (1984) 1.
- [3] C. Bueno, M. L. Villegas, S. G. Bertolotti, C. M. Previtali, M. G. Neumann, M. V. Encinas. *J. Photochem. Photobiol.* 76 (4) (2002) 385.
- [4] M.G. Neumann, C.C. Schmitt, C. M. Previtali, S. G. Bertolotti, *Dyes Pigm.*, 32, (1996) 93.
- [5] E. Ruzicka, J. Adánek, J. Andree. *Mh. Chem.*, 97 (1966) 1558.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

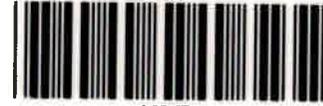
VI. CONCLUSIONES GENERALES

De acuerdo con los resultados obtenidos se pudo ver que la fotofísica de los colorantes se ve modificada dependiendo del medio en que se encuentren.

- 1) Ambos colorantes interaccionan con las micelas catiónicas de CTAC. Tanto los espectros de absorción como los de emisión presentaron un corrimiento importante hacia el rojo mostrando un espectro similar al obtenido en etanol o isopropanol, indicando que ambos colorantes están localizados en la interfase micelar.
- 2) En micelas aniónicas de SDS no se observaron cambios en los espectros con respecto a los mismos en agua pura, lo que sugiere ausencia de asociación de los colorantes con estas micelas. Los colorantes permanecen localizados en la fase acuosa por repulsión electrostática con las cabezas polares del surfactante.
- 3) En los sistemas micelares inversos, las propiedades espectrales dependen de la carga del surfactante y del contenido acuoso. En las micelas inversas de AOT, a bajo contenido acuoso, ambos colorantes están localizados en la interfase y, cuando se incrementa el contenido acuoso (alto $w = [\text{agua}] / [\text{surfactante}]$), las propiedades espectrales se vuelven similares a aquellas en agua pura. Por otro lado, cuando se utilizó el surfactante catiónico BHDC, los colorantes están localizados en la interfase micelar debido a las interacciones electrostáticas atractivas. En el caso de RF, a bajo contenido acuoso, sensa un medio de polaridad similar a benceno. Cuando incrementa el contenido acuoso, este permanece en la interfase pero en un microentorno de mayor polaridad. En cambio, RZ sensa en la interfase un microentorno que es independiente del contenido acuoso.
- 4) En las microemulsiones de lecitina de soja, RF se encuentra distribuida entre la fase orgánica y la interfase micelar, revelado por la presencia de un punto isobéptico e isoemisivo en los espectros con la variación de w . RZ presenta los espectros de absorción y emisión corridos hacia el rojo con el agregado de agua, siendo similares los en el alcohol. Los tiempos de vida de fluorescencia revelan que a medida que aumenta w el colorante siente un microentorno de polaridad similar al 1-propanol, por lo que estaría ubicado en la interfase cerca del alcohol.

- 5) El estado triplete de ambos colorantes fue caracterizado encontrando un comportamiento similar en los distintos medios organizados. Para RF en CTAC y en microemulsiones de lecitina, se obtuvo que el rendimiento cuántico de triplete disminuye, lo que está de acuerdo con el aumento en el rendimiento cuántico de fluorescencia.
- 6) La fotorreducción de RZ por TEOHA procede hacia la formación de RF en soluciones desoxigenadas. La reacción ocurre desde el estado triplete de RZ, por un mecanismo de transferencia de electrones. Las reacciones de transferencia de electrones son favorecidas en medios polares como el agua. Las micelas son un buen recurso para solubilizar un dado soluto y quencher en un medio ya sea hidrofóbico o hidrofílico, y que estos permanezcan en diferentes sitios en el mismo compartimento o en diferentes microentornos. Es decir, que los sistemas micelares pueden ayudar a que ambas moléculas estén muy próximas y producir una transferencia de electrones eficiente. De acuerdo a los resultados, se obtuvo que el rendimiento cuántico de fotorreacción es mayor en el medio micelar catiónico que en solución acuosa. Esto es atribuido a un aumento de la concentración local de la amina, en el mismo volumen micelar que el colorante. Se pudo observar claramente, del gráfico de $v_{inicial}$ en función de la concentración de amina, que la reacción ocurre más eficientemente en micelas directas de CTAC que en microemulsiones de lecitina de soja. Las microemulsiones ofrecen más sitios de solubilización para los sustratos. Por lo que habría un reparto de la amina siendo menor su concentración local donde está el colorante. Además como la interfase micelar es zwitteriónica, no se puede descartar alguna interacción de los grupos fosfatos con ambas moléculas.

U.N.R.C.
Biblioteca Central



66067

66067