

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO Informe Científico¹

PERIODO²: 2013-2014

Legajo N°:

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: MARTIRE

NOMBRES: Daniel Osvaldo

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: t CP: Tel:

Dirección electrónica (donde desea recibir información): dmartire@inifta.unlp.edu.ar

2. TEMA DE INVESTIGACION

Estudios fotoquímicos de interés ambiental y biológico en sistemas homogéneos, micro y nanoheterogéneos. Caracterización de sustancias húmicas y desarrollo de procesos de fotosensibilización para la degradación de contaminantes.

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Adjunto C/Director Fecha: 01/06/1992

ACTUAL: Categoría: Principal desde fecha: 23/11/2009

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: INIFTA

Facultad: Facultad de Ciencias Exactas (UNLP)

Departamento: Química

Cátedra:

Otros:

Dirección: Calle: Diagonal 113 N°: S/N

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 0221-4257430

Cargo que ocupa: Investigador

5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

Apellido y Nombres:

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: CP: Tel:

Dirección electrónica:

¹ Art. 11; Inc. "e" ; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2008 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2006 al 31-12-2007, para las presentaciones bianuales.

.....
Firma del Director (si corresponde)

.....
Firma del Investigador

6. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

1) Se investigaron los siguientes sistemas de interés ambiental:

a) Como parte del trabajo posdoctoral de Juan Pablo Escalada se sintetizaron y caracterizaron nanopartículas de sílice modificadas con los contaminantes diclorofen y bromoxinil. Se determinaron los rendimientos cuánticos de fotodegradación de los contaminantes mediante fotólisis directa y se midieron las constantes de quenching de los estados excitados singlete y triplete de riboflavina y de oxígeno singlete por las nanopartículas. Además para el contaminante bromoxinil se investigó su mecanismo de fotodegradación en solución. Estos datos se emplearon para simular la contribución de las distintas vías de fotodegradación de los contaminantes adsorbidos en material particulado presente en aguas naturales. De estos trabajos surgieron las publicaciones número 8 y 10.

b) Se prepararon y caracterizaron nanopartículas magnéticas modificadas con sustancias aisladas de residuos domiciliarios. Estos materiales se emplearon como nanoadsorbentes de bajo costo para la remoción del colorante violeta de cristal. De este trabajo surgió la publicación número 12.

c) Se investigó el efecto de sustancias aisladas de residuos domiciliarios sobre la degradación fotoquímica de algunos contaminantes emergentes. Ver trabajo publicado número 7.

d) Se completó la caracterización de sustancias húmicas aisladas de sedimentos marinos mediante diversas técnicas: FTIR, matrices de excitación-emisión de fluorescencia, espectroscopía UV-visible y análisis de carbono orgánico total. Se investigó el efecto de estas sustancias húmicas sobre el crecimiento de diatomeas. De este trabajo (parte de la tesis doctoral de Marcela Martin) surgió la publicación número 11.

e) Siguiendo con la línea de investigación relacionada con la eliminación de mercurio de aguas, se prepararon nanopartículas de magnetita recubiertas con ácidos fúlvicos y estas se emplearon en experimentos fotoquímicos para reducir $HgCl_2$ a Hg_2Cl_2 (producto insoluble que puede separarse fácilmente por filtración).

2) Continuando con a la línea de investigación de generación y quenching de oxígeno singlete en sistemas de interés biológico se hicieron los siguientes avances:

a) Se completaron ensayos realizados en el marco de la tesis doctoral de Gabriela Bosio en sistemas modelo (liposomas). En particular, se prepararon y caracterizaron liposomas de fosfatidilcolina, se investigó la interacción de la proteína BSA (albúmina de suero bovino) con beta caroteno en solución y se estudió el quenching de oxígeno singlete por beta caroteno en liposomas en ausencia y presencia de BSA.

b) Se prepararon y caracterizaron nanopartículas de plata recubiertas de pectina y se estudió el efecto de estas partículas sobre la fotofísica de riboflavina (vitamina B2).

7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

7.1 PUBLICACIONES. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda*

publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.

1) Carlos, L., Einschlag, F.S.G., González, M.C. and Mártire, D.O. (2013) Applications of Magnetite Nanoparticles for Heavy Metal Removal from Wastewater. In "Waste Water - Treatment Technologies and Recent Analytical Developments", book edited by Fernando Sebastian García Einschlag and Luciano Carlos, ISBN 978-953-51-0882-5. Capítulo 3, pp. 63-77. Publisher: In Tech. Figuraba en prensa en el informe anterior.

Abstract: We here present recent developments on the use of magnetite nanoparticles (NPs) and magnetite-containing composite nanomaterials for the removal of heavy metals from waters.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Participé activamente en la redacción de este capítulo de libro. Se resumen los resultados recientes de literatura relacionados con el empleo de nanopartículas magnéticas para la remoción de metales de aguas contaminadas.

2) Application of soluble bio-organic substances (SBO) as photocatalysts for wastewater treatment: Sensitizing effect and photo-Fenton-like process. J. Gomis, R.F. Vercher, A.M. Amat, D.O. Mártire, M.C. González, A. Bianco Prevot, E. Montoneri, A. Arques, L. Carlos, Catalysis Today, 209, 2013, 176– 180. Figuraba en prensa en el informe anterior.

Abstract: Soluble bio-organic substances (SBO) isolated from urban biorefuses have been investigated in photo-catalytic processes for wastewater treatment using a cationic dye, namely crystal violet (CV) as target compound. The SBO have been found to enhance the photobleaching of CV solutions with an optimal SBO concentration of ca. 20 mg L⁻¹. Mechanistic investigation based on chemical probes and changes in the absorption spectrum of CV in the presence of SBO seems to indicate that a complex formed between sensitizer and substrate plays a major role in the process. SBO have also been tested for the implementation of photo-Fenton processes at circumneutral media: the observed pseudo first order rate constants for CV decoloration was higher for UV/SBO/Fe(II)/H₂O₂ (5.5 × 10⁻³ min⁻¹) than for UV/Fe(II)/H₂O₂ (1.5 × 10⁻³ min⁻¹). A modified mechanism, in which HO• are less relevant than at the acidic medium, is in agreement with results of experiments carried out with chemical probes.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Participé activamente en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. La importancia de este trabajo radica en su propuesta del uso de sustancias derivadas de residuos domiciliarios como fotocatalizadores para el tratamiento de aguas contaminadas.

3) Evaluation of the Hg²⁺ binding potential of fulvic acids from Fluorescence Excitation-Emission Matrices. Andrea M. Berkovic, Fernando S. García Einschlag, Mónica C. Gonzalez, Reinaldo Pis Diez, and Daniel O. Mártire, Photochemical & Photobiological Sciences 2013, 12, 384-392. Figuraba en prensa en el informe anterior.

Abstract: The effect of Hg²⁺ on the fluorescence intensity of three fulvic acids (Pahokee Peat, Pony Lake and Suwannee River) was studied. The fluorescence intensity decreased in the presence of added Hg²⁺, while the fluorescence lifetimes were independent of the concentration of Hg²⁺ in solution. These results are indicative of ground-states association between the fulvic acids and Hg²⁺ with formation of stable nonfluorescent complexes (static quenching process). The analysis of the excitation–emission matrices with the Singular Value Decomposition (SVD) and Multivariate Curve Resolution – Alternating Least Squares (MCR-ALS) methods provided additional valuable information regarding the binding properties between Hg²⁺ ions and specific fluorescence components of the fulvic acids. The three fulvic acids were shown to contain the same three groups of fluorophores characterized by excitation/emission pairs in the following regions: (320–330 nm/425–450 nm), (370–375 nm/465–500 nm), (290–295 nm/370–395 nm). These pairs are almost not affected by the change of pH from 2.0 to 7.0. Ryan–Weber and modified Stern–Volmer methods were used to analyze the static fluorescence quenching of the individual components. Similar conditional stability constants of Hg²⁺ binding for the three components were found by both methods. The obtained log K values are in the range of 4.4 to 5.4.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Este trabajo surgió a partir de la tesis doctoral de Andrea Berkovic. Participé activamente en la planificación de los experimentos, en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. Los datos obtenidos son importantes, ya que permiten obtener información sobre la interacción de iones Hg²⁺ presentes como contaminantes en aguas naturales y las sustancias húmicas (principales componentes de la materia orgánica disuelta).

4) Chloride anion effect on the advanced oxidation processes of methidathion and dimethoate: role of Cl₂^{•-} radical. P. Caregnato, J.A. Rosso, J.M. Soler, A. Arques, D.O. Mártire, and M.C. Gonzalez, Water Research 2013, 47, 351-362. Figuraba en prensa en el informe anterior.

Abstract: The reaction of phosphor-containing pesticides such as methidathion (MT) and dimethoate (DM) with dichloride radical anions (Cl₂^{•-}) was investigated. The second order rate constants were determined for the reaction of Cl₂^{•-} with MT and DM. A reaction mechanism involving an initial charge transfer from the sulfide groups of the insecticides to Cl₂^{•-} is proposed and supported by the identified transient intermediates and reaction products. The formation of chlorinated byproducts was determined. The unexpected consequences of an efficient Cl₂^{•-} reactivity towards MT and DM on the degradation capacity by Advanced Oxidation Procedures applied to polluted waters containing the insecticides and chloride anions is discussed.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Participé activamente en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. Este trabajo aporta información cinética y mecanística sobre la interacción de especies

formadas durante los tratamientos oxidativos avanzados de aguas que contienen iones cloruro y contaminantes orgánicos.

5) Antioxidant β -Carotene does not Quench Singlet Oxygen in Mammalian Cells. G. Bosio, T. Breitenbach, J. Parisi, M. Reigosa, F. Blaikie, B. Pedersen, E. Silva, D.O. Mártire, P. Ogilby. J. Am. Chem. Soc. 2013, 135, 272–279. Figuraba en prensa en el informe anterior.

Abstract: Carotenoids, and β -carotene in particular, are important natural antioxidants. Singlet oxygen, the lowest excited state of molecular oxygen, is an intermediate often involved in natural oxidation reactions. The fact that β -carotene efficiently quenches singlet oxygen in solution-phase systems is invariably invoked when explaining the biological antioxidative properties of β -carotene. We recently developed unique microscope-based time-resolved spectroscopic methods that allow us to directly examine singlet oxygen in mammalian cells. We now demonstrate that intracellular singlet oxygen, produced in a photosensitized process, is in fact not efficiently deactivated by β -carotene. This observation requires a re-evaluation of β -carotene's role as an antioxidant in mammalian systems and now underscores the importance of mechanisms by which β -carotene inhibits radical reactions.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Este trabajo es parte de la tesis doctoral de Gabriela Bosio. Participé activamente en la planificación de los experimentos, en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. Los datos obtenidos son muy importantes, ya que (contrariamente a lo esperado) muestran que el beta caroteno no reacciona con oxígeno singlete en células mamíferas. El poder antioxidante del carotenoide en células mamíferas se debe a su reacción con otras especies reactivas, tal como se demuestra en la tesis de Bosio.

6) One-electron oxidation of antioxidants. A kinetic-thermodynamic correlation. L.S. Villata, M.C. Gonzalez and D.O. Mártire. Redox Report 2013, 18, 205-209. Figuraba como enviado en el informe anterior.

Abstract:

The values of the bimolecular rate constants for the reactions of ABTS radical cation with epicatechin [(69.2 \pm 0.4) s⁻¹ M⁻¹], epigallocatechingallate [(13.2 \pm 0.2) s⁻¹ M⁻¹] and Trolox [(4.8 \pm 0.2) s⁻¹ M⁻¹] are obtained by spectrophotometric measurements. A correlation between the Gibbs energy ΔG_0 for the one-electron charge transfer reactions from several antioxidants to radical species with the rate constants of these reactions is proposed. This correlation can be used to predict rate constants of reactions of known ΔG_0 values.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Participé activamente en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. Los resultados obtenidos muestran una correlación entre las constantes de velocidad para la oxidación de muy diversos antioxidantes y las correspondientes variaciones de energía libre de reacción. Esta correlación permite la estimación de constantes de velocidad de reacción a partir de datos termodinámicos.

7) Waste sourced bio-based substances for solar-driven wastewater remediation: photodegradation of emerging pollutants. J. Gomis, A. Bianco-Prevot, E. Montoneri,

M.C. Gonzalez, A.M. Amat, D.O. Mártire, A. Arques, L. Carlos, Chemical Engineering Journal 2014, 235, 236–243.

Abstract: The effect of soluble bio-based organic substances (SBO) isolated from urban wastes on photochemical wastewater treatments was investigated using a mixture of six emerging pollutants (EPs), namely acetaminophen, caffeine, acetamiprid, clofibric acid, carbamazepine and amoxicillin. Solar simulated experiments showed that although SBO were able to enhance the indirect photolysis of the EPs, they could not compensate for the light screening effect produced by these coloured materials. In contrast, SBO were able to enhance photo-Fenton at slightly acidic conditions (pH = 5.2), most probably increasing iron availability. In the later case, the order of reactivity (amoxicillin \geq carbamazepine \geq clofibric acid > caffeine > acetaminophen > acetamiprid) was similar to that of the rate constants determined for all six EPs with $\cdot\text{OH}$. Finally, experiments performed at pilot plant scale with real sunlight at pH = 5.2 and SBO showed that 5 of the EPs were removed in only 25 min and only acetamiprid was more resistant to the process. The overall results show not only how we can use waste to clean out wastes, but also contribute to the studies which show how wastes can become a source of revenue through the industrial exploitation of their chemical value.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Participé activamente en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. La importancia de este trabajo radica en su propuesta del uso de sustancias derivadas de residuos domiciliarios como aditivos para mejorar los tratamientos de aguas contaminadas.

8) The effect of dichlorophen binding to silica nanoparticles on its photosensitized degradation in water. Juan P. Escalada, Valeria B. Arce, Gabriela V. Porcal, M. Alicia Biasutti, Susana Criado, Norman A. García and Daniel O. Mártire, Water Research 2014, 50, 229-236.

Abstract: The production of dichlorophen (2,20-methylenebis(4-chlorophenol), DCP) and its use as an anthelmintic and in pesticide products result in its direct release to the environment. To the purpose of modelling the possible photodegradation routes of DCP sorbed on sediments or suspended particles, the synthesis and characterization of silica nanoparticles modified with DCP (NPeDCP) is reported. The reactivity of NPeDCP with the excited states of riboflavin, a sensitizer usually present in natural waters, and with singlet oxygen were investigated. Comparison of the kinetic results obtained here to those previously reported for irradiated aqueous solutions of DCP allowed the discussion of the effect of adsorption of the pesticide on its photodegradation.

We show with the aid of computer simulations that in natural waters the relevance of the different photodegradation routes dichlorophen is very much affected by attachment to sediments.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Participé activamente en la planificación de los experimentos, en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. En este trabajo se investiga la fotodegradación del contaminante diclorofen adsorbido sobre sílice como modelo de material particulado presente en aguas naturales. Se concluye que las contribuciones de las distintas vías de fotodegradación son muy diferentes a las correspondientes al contaminante disuelto en solución. Estos resultados deben considerarse cuando se realicen modelados de aguas naturales contaminadas.

9) Properties of singlet and triplet excited states of hemicyanine dyes. Daniel O. Mártire, Walter Massad, Hernán Montejano, Mónica C. González, Paula Caregnato, Laura S. Villata, Norman A. García, Chemical Papers 2014, 68, 1137-1140. Figuraba como enviado en el informe anterior.

Abstract:

The fluorescence emission spectra and fluorescence quantum yields of the hemicyanines LDS 698, LDS 722 and LDS 730 were measured in different media. We were unable to detect the presence of any transient species in LFP experiments performed with Ar-saturated solutions of the dyes in methanol. However, in the presence of 0.08 M potassium iodide the absorption of the triplet states was clearly observed. Oxygen consumption measurements in the absence and presence of a chemical trap (furfuryl alcohol) in MeOH: H₂O 1:1 (V / V) solutions of the dyes containing KI confirmed the generation of singlet molecular oxygen.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Participé activamente en la planificación de los experimentos, en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. Los resultados obtenidos son importantes ya que las hemicianinas son colorantes láser y es necesario conocer el efecto del medio sobre la fotofísica de los mismos y sobre sus posibles vías de fotodegradación.

10) Photodegradation Routes of the Herbicide Bromoxynil in Solution and Sorbed on Silica Nanoparticles. Juan P. Escalada, Valeria B. Arce, Luciano Carlos, Gabriela V. Porcal, M. Alicia Biasutti, Susana Criado, Norman A. García and Daniel O. Mártire, Environmental Science: Processes and Impacts 2014, 16, 858-865.

Astract: Some organic contaminants dissolved in natural waters tend to adsorb on suspended particles and sediments. In order to mimic the photodegradation routes in natural waters of bromoxynil (BXN) adsorbed on silica, we here prepare and characterize silica nanoparticles modified with BXN (NP-BXN).

We measure the direct photolysis quantum yield of aqueous BXN at 307 nm (0.064 ± 0.001) and detect the formation of bromide ions as a reaction product. Under similar conditions the photolysis quantum yield of BXN bonded to NP-BXN is much lower (0.0021 ± 0.0004) and does not lead to formation of bromide ions. The rate constant of the reaction of NP-BXN with the excited triplet states of riboflavin, a molecule employed as a proxy of chromophore dissolved organic matter (DOM) was measured in laser flash-photolysis experiments. The rate constants for the overall (k_t) and chemical interaction (k_r) of singlet oxygen with NP-BXN were also measured. Kinetic computer simulations show that the relevance of the direct and indirect (through reactions with reactive species generated in photoinduced processes) photodegradation routes of BXN is very much affected by sorption on silica. Immobilization of the herbicide on the particles, on one hand, affects the photolysis mechanism and lowers its photolysis quantum yield. On the other hand, the results obtained in aqueous suspensions indicate that immobilization also lowers the rate of collisional encounter, which affects the quenching rate constants of excited triplet states and singlet oxygen with the herbicide.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Participé activamente en la planificación de los experimentos, en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. Mediante datos obtenidos por muy diversas técnicas y simulaciones cinéticas, es posible predecir cómo se ven

afectadas las vías de fotodegradación en aguas naturales del contaminante bromoxinil cuando este se halla adsorbido sobre material particulado.

11) Characterization of a humic acid extracted from marine sediment and its influence on the growth of marine diatoms. M.V. Martin, C. Gebühr, D.O. Mártire and K.H. Wiltshire, *Journal of The Marine Biological Association of the United Kingdom* 2014, 94, 895-906.

Abstract: Due to the input of humic substances from freshwater run-off into the marine habitat, the influences of such substances on marine organisms should not be neglected. We here investigate the effect of a humic acid (HA) extract from the North Sea, characterized by spectroscopic techniques and carboxylic and phenolic group content, on the growth of different algae. Two benthic pennate diatoms isolated from the Baltic Sea, *Navicula ramosissima* (C. Agardh) Cleve, 1895 and *Entomoneis paludosa* (W. Smith) Reimer, 1975, as well as two tychopelagic centric diatoms isolated from the North Sea, *Melosira nummuloides* C. Agardh, 1824 and *Paralia sulcata* (Ehrenberg) Cleve, 1873, were employed. The concentrations of pigments (fucoxanthin, diadinoxanthin, chlorophyll-a and b-carotene) and nutrients were also measured. Adding low concentrations of naturally humic substances (5.5 mg of C l21) to the algae cultures resulted in enhanced growth rates compared to the control experiments, possibly due to the increase in the bioavailability of trace metals or other nutrients.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Este trabajo surge de la tesis doctoral de Marcela Martin. Participé activamente en la planificación de los experimentos, en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. La importancia de este trabajo es ecológica y se basa en que muestra el efecto positivo de los ácidos húmicos en bajas concentraciones sobre el crecimiento de algas.

12) Novel magnetite nanoparticles coated with waste sourced bio-based substances as sustainable and renewable adsorbing materials Magnacca, G.; Allera, A.; Montoneri, E.; Celi, L.; Benito, D.; Gagliardi, L.; Gonzalez, M.; Mártire, D.; Carlos, L., *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 2014, 2, 1518-1524.

Abstract: This study examines the possibility of using a biobased product isolated from urban solid wastes as a material for environmental technological applications. To this end, Fe₃O₄ nanoparticles (NPs) coated with different amounts of soluble biobased products (SBO) were synthesized as a low-cost nanoadsorbent for the removal of pollutants in wastewater. Particles of 10 nm diameter with an Fe₃O₄ core and SBO shell were obtained. The concentration of SBO employed in the synthesis had no effect on the size and structure of the NPs but ruled the pHPZC and aggregation of the nanoparticles in water. The cationic dye crystal violet (CV) was used as a model pollutant to test the adsorption capacity of the nanoparticles. The results indicated that both the medium pH and NP dosage were significant parameters to enhance the removal of CV. The results contribute to the studies that show how wastes can become a source of revenue through the industrial exploitation of their chemical value.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Participé activamente en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. La importancia de este trabajo radica en su propuesta del uso de sustancias derivadas

de residuos domiciliarios para preparar nanoadsorbentes magnéticos que pueden usarse en los tratamientos de aguas contaminadas.

13) A Combined Experimental and Computational Investigation of the Fluorescence Quenching of Riboflavin by Cinnamic Alcohol Chemisorbed on Silica Nanoparticles. Valeria B. Arce, Juliana Scotto, Patricia E. Allegretti, Mauricio A. Melo Jr., Claudio Airoidi, María Laura Salum, Rosa Erra-Balsells, Reinaldo Pis Diez and Daniel O. Mártire, J. Phys. Chem. C 2014, 118, 15348–15355.

Abstract: Riboflavin (vitamin B2) is usually present in water courses, lakes and seas, and acts as a photosensitizer in the photooxidation of a range of contaminants. However, little is known about the interaction of this compound with aromatics sorbed on silica sediments or on suspended silica particles. This article describes the modification and characterization of silica nanoparticles by condensation of the silanol groups of the particles with E-cinnamic alcohol. The reaction was confirmed by FTIR, solid-state ^{13}C and ^{29}Si Cross-Polarization MAS (CPMAS) NMR, reduction of the specific surface area measured by BET, thermal analysis, and fluorescence spectroscopy. Toxicity to the marine bacteria *Vibrio fischeri* of the modified particles was also measured.

Riboflavin fluorescence was quenched in aqueous medium in the presence of dissolved E-cinnamic alcohol or in suspensions of the modified particles. The results are interpreted in terms of formation of 1:1 complexes between the ground-states of riboflavin and the free or adsorbed cinnamic alcohol. DFT calculations in aqueous medium support the existence of the complex and explain the observed quenching of riboflavin fluorescence upon addition of cinnamic alcohol without affecting the emission maximum of riboflavin.

Tipo de participación personal e importancia de la contribución: Participé activamente en la planificación de los experimentos, en la discusión de los resultados y en la redacción del manuscrito. Este trabajo muestra la complejación de la riboflavina (vitamina B2) presente en aguas naturales con el alcohol cinámico (componente presente en las formulaciones de cosméticos y productos de cuidado personal), cuando el alcohol está disuelto en solución o adsorbido sobre nanopartículas de sílice.

7.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

7.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.

Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.

7.5 COMUNICACIONES. *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

- II GRAFOB 2013, Córdoba, 22 al 25 de octubre de 2013.

Acción antioxidante ROS específica de β -caroteno en células mamíferas. G. Bosio y D. Mártire.

- XXIV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo y II Reunión Materia Orgánica y Sustancias Húmicas, Bahía Blanca, 5 al 9 de mayo de 2014.

Ácidos húmicos en la síntesis de nanopartículas magnéticas para la adsorción de colorantes. Diz, V.E.; C. Ramos; G. Leyva; Mártire, D.O.

Materiales magnéticos recubiertos con ácidos fúlvicos con aplicaciones ambientales. Arce, V.B.; Mucci, C.R.; Fernández Solarte, A.; Torres Sánchez, R.M.; Mártire, D.O.

VII Encuentro sobre Aplicaciones Ambientales de Procesos Oxidativos Avanzados y I Congreso Iberoamericano de Procesos Oxidativos Avanzados. Recife (Brasil) 15 al 18 de octubre de 2013.

Foto-reducción de $HgCl_2$ Por Irradiación Anaeróbica Con Luz UV-A. Daniel O. Mártire, Valeria B. Arce, Julia Cillero, Carla R. Mucci, Mariano Cipollone.

Bio-based substances from urban waste for solar photo-Fenton treatment: degradation of emerging pollutants. L. Carlos, D. Mártire, J. Gomis, A. Arques. Poster con presentación oral de L. Carlos.

16th International Congress on Photobiology, Córdoba, 8-12 de septiembre de 2014.

Pectin-coated silver nanoparticles and singlet oxygen generation. M.B. Rivas Aiello and D.O. Mártire.

7.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS. *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda.*

8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

8.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS. *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

8.2 PATENTES O EQUIVALENTES. *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

8.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO. *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

8.5 Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.

9. SERVICIOS TECNOLÓGICOS. *Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.*

10. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

10.1 DOCENCIA

10.2 DIVULGACIÓN

11. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES. *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

-Co-director de Lic. Gabriela Bosio (Becaria interna de post-grado Tipo I de Conicet) a partir de 01/05/10 hasta 31/03/13. Tipo II: Desde 01/04/13 hasta 09/07/14.

-Director del Dr. Juan Pablo Escalada (Becario post-doctoral de Conicet) desde el 1/04/11 hasta 31/12/13.

-Director de la Dra. Danila Ruiz (Becaria post-doctoral de Conicet) desde el 1/04/11 hasta la 31/3/2013.

-Director de la Biotecnóloga María Belén Rivas Aiello (Becaria doctoral de CONICET, temas Estratégicos) desde 1/10/13 hasta la fecha.

-Director del Biotecnólogo Joaquín Martínez Porcel (Becario de Entrenamiento CIC) desde 1/10/14.

-Supervisor del Lic. Pablo Salgado Mendoza (pasante), estudiante de doctorado de la Universidad de Concepción (Chile) durante su estadía en el INIFTA; período: octubre-diciembre de 2014.

-Co-director de Lic. Gabriela Bosio (Becaria Posdoctoral de Conicet) a partir de 10/07/14 hasta la fecha.

-Director de la Dra. Laura Villata (Investigadora Adjunta de CIC) desde enero de 2007.

-Co-director de la Dra. Paula Caregnato (Investigadora Asistente de CONICET) desde febrero de 2008 hasta diciembre de 2013.

-Director del Dr. Luciano Carlos (Investigador Asistente de CONICET) desde enero de 2011 hasta diciembre de 2014.

-Co-Director de la Dra. Valeria Arce (Investigadora Asistente de CIC) desde agosto de 2013.

-Director de la Dra. Gabriela Bosio (Investigadora Asistente de CONICET) con designación pendiente.

12. DIRECCION DE TESIS. *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

- Director de tesis en la Facultad de Ciencias Exactas (UNLP) de la Lic. Gabriela Bosio. Fecha de defensa: 29/11/13. Tema: Estudio del efecto de β -caroteno en el mecanismo de desactivación de oxígeno singlete en células mamíferas. Sobresaliente (10).
- Director de tesis de doctorado de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata de la biotecnóloga María Belén Rivas Aiello. Tema "Efecto de nanomateriales metálicos sobre la generación y decaimiento de oxígeno singlete (1O₂). Aplicaciones biológicas". Tesis en ejecución.

13. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS. *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

-Miembro del Comité Científico del VII Encuentro sobre Aplicaciones Ambientales de Procesos Oxidativos Avanzados y I Congreso Iberoamericano de Procesos Oxidativos Avanzados. Recife (Brasil) 15 al 18 de octubre de 2013. En ese encuentro actué como chairman de una serie de charlas. Ver punto 7.5 sobre trabajo presentado.

-Participación como Panelista en el Simposio "Las sustancias húmicas y sus interacciones" en el XXIV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo y II Reunión Materia Orgánica y Sustancias Húmicas, Bahía Blanca, 7 de mayo de 2014. Tema de la conferencia: Sustancias húmicas y tratamientos químicos y fotoquímicos de aguas.

-Dictado de la Conferencia "Potential applications of SBO in wastewater treatments" en el Workshop "Soluble Bio-Organic substances (SBO) obtained from urban wastes: Potential applications in the chemical industry and environmental processes", La Plata, 16-17 de julio de 2014.

-Dictado de la Conferencia "Pectin-coated silver nanoparticles and singlet oxygen generation" en el Simposio "Nanoparticles in PDT" en el marco del 16th International Congress on Photobiology, Córdoba, 8 de septiembre de 2014.

14. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.*

15. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO. *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*

Institución otorgante: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (Investigador Responsable). Tema: "Síntesis y caracterización de nanopartículas de sílice y sílice mesoporosa con aplicaciones ambientales". PICT 2008 número PICT-2008-00686. Período: 2010-2013. Total: \$300000.

Institución otorgante Universidad Nacional de La Plata (Director). Tema: Aplicaciones Ambientales de Nanomateriales. Proyecto de Incentivos: Código: X 651. Período: 2013-2016. Anual de \$13000.

Institución otorgante: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (Investigador Responsable). Tema: "Efecto de Nanomateriales Metálicos en la Generación y Decaimiento de Oxígeno Singlete. Aplicaciones Biológicas". Proyecto PICT 2012 No. 1817. Período: 2013-2016. Total: \$400000.

Institución otorgante Universidad Nacional de La Plata (Co-director). Tema: Nanomateriales de silicio con aplicaciones biológicas. Proyecto de Incentivos: Código: X 647. Período: 2013- 2016. Anual de \$13000.

Participación en el Proyecto No. 269128, Marie Curie Actions-IRSES International Research Staff Exchange Scheme, de la UE: Isolation, Characterization and screening of environmental applications of Bio-Organic substances obtained from urban biomasses (EnvironBOS). Período: 2011-2014.

Miembro del grupo responsable del Proyecto PICT-E 2014 para la adquisición de un equipo de laser flash-fotólisis.

16. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO. *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*

17. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.

18. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA. *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

- Desde marzo de 2009 hasta 2013: miembro de la Comisión de Planeamiento del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Exactas (UNLP).
- Desde diciembre de 2014 hasta la fecha miembro del Consejo Directivo del INIFTA.
- Integrante de la Comisión Asesora Técnica del área Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata en 2014.

19. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO. *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

- Denominación: Profesor Titular Ordinario Dedicación Simple.

Período: hasta 31/03/2014.

Lugar de Trabajo: Facultad de Ciencias Exactas (Universidad Nacional de La Plata).

Cargo: Dedicación Simple.

Cátedras: Introducción a la Química y Química General.

- Denominación: Profesor Titular Interino Dedicación Exclusiva.

Período: Desde 1/04/14 hasta la fecha.

Lugar de Trabajo: Facultad de Ciencias Exactas (Universidad Nacional de La Plata).

Cargo: Dedicación Simple.

Cátedras: Introducción a la Química y Química General.

Dictado del Curso de posgrado: "Especies reactivas involucradas en tratamientos fotoquímicos de aguas." 40 horas de duración. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia, 18-22 de febrero de 2013.

20. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES. *Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período.*

Durante el período fui miembro del jurado de las siguientes tesis doctorales: Lic. Ivana Karina Levy (Universidad de Buenos Aires), Lic. María Florencia Mangiameli (Universidad Nacional de Rosario), Lic. Rebeca Purpora de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco; Lic. Mariana Serrano (Universidad Nacional de La Plata) y del jurado de tesina para obtener el título de Licenciado en Química de la Srta. Yanina Bava (Universidad Nacional de La Plata). Además, fui miembro de la comisión de tesis doctoral de la Lic. Laura Hernández y del Lic. David Possetto de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de Río Cuarto.

En este período fui referee de las siguientes revistas: Photochemistry and Photobiology (American Society for Photobiology), Chemosphere (Elsevier), Photochemical and Photobiological Sciences (Royal Society of Chemistry), Journal of Photochemistry and Photobiology: A Photobiology (Elsevier), Journal of Photochemistry and Photobiology: B Photobiology (Elsevier), Applied Catalysis B (Elsevier), Advances RSC (Royal Society of Chemistry), Spectrochimica Acta A (Elsevier).

En 2013 fui miembro de jurado de 2 concursos de Profesor de la Universidad Nacional Arturo Jauretche y en 2014 fui miembro de jurado de concurso en Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (Junín) y de un concurso de Profesor de la Universidad Nacional de Mar del Plata y de un concurso de docentes auxiliares de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP.

En 2014 fui evaluador de Carrera de Investigador de CONICET (Ingreso y promociones) y en el mismo año fui evaluador de proyectos de la Universidad Nacional de Río Negro.

21. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO. *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

Aplicaciones Ambientales y Biológicas de Nanomateriales.

El plan de trabajo tiene las siguientes partes que se describirán en forma separada:

- 1) Aplicaciones Ambientales de Nanomateriales.
- 2) Efecto de Nanomateriales Metálicos sobre la Generación y Decaimiento de Oxígeno Singlete. Aplicaciones Biológicas.

La factibilidad del plan de trabajo se detalla a continuación de la Parte 2.

PARTE 1: Aplicaciones Ambientales de Nanomateriales.

Objetivos:

Esta parte del proyecto tiene el siguiente objetivo:

Desarrollar nanomateriales para ser empleados en procesos de descontaminación. Con este fin se prepararán y caracterizarán:

(i) Nanopartículas de SiO₂ recubiertas con diferentes grupos orgánicos (en suspensiones coloidales) para la extracción de iones metálicos (Hg²⁺, Pb²⁺ y Cd²⁺) de soluciones acuosas.

(ii) Suspensiones coloidales de nanopartículas de Fe₃O₄ (magnetita) recubiertas de sustancias húmicas o biosurfactantes orgánicos que por irradiación con luz solar se emplearán en la reducción de HgCl₂ a Hg₂Cl₂(s) y para la fotodegradación de contaminantes orgánicos y, sin irradiación, para la adsorción de colorantes y metales pesados.

Marco teórico o estado actual del tema:

Dado que el acceso a agua potable es la clave para la protección de la salud pública, el agua limpia se ha convertido en una necesidad de las sociedades modernas (World Health Organization 2008). A pesar de sus bajas concentraciones en aguas naturales, tanto los contaminantes orgánicos como los iones metálicos tóxicos (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Ag^{+} y As^{3+}) se están convirtiendo en un problema severo de la salud ambiental y pública (Brezonik 2012). Este hecho ha impulsado, en los últimos años, el desarrollo de nuevas tecnologías de descontaminación, con el objetivo de proveer alternativas económicamente viables que posibiliten una degradación efectiva de la carga orgánica y su toxicidad. A nivel local, cabe señalar la importancia que podría tener el desarrollo de métodos de reducción (para mercurio) o extracción de los metales de las aguas, dada la alta contaminación existente en ciertas aguas naturales de la región como en la cuenca del Riachuelo-Matanza, ya que la mayoría de las 3.600 plantas que se concentran en la zona usan en su producción elementos pesados como los metales de interés de este proyecto.

Para lograr la detoxificación de aguas contaminadas, se emplean varias técnicas como adsorción, precipitación, intercambio iónico, ósmosis inversa, tratamientos electroquímicos, filtración, evaporación, flotación, oxidación y biosorción (Chen 2009, Chen 2010, Ivanov 2004). Sin embargo, a medida que aumentan las exigencias legales para la eliminación de los contaminantes, en los últimos años se están desarrollando métodos novedosos, eficientes y poco costosos (Mehta 2005). En este contexto, el desarrollo de nuevos nanomateriales de bajo costo para la remediación ambiental y detección de contaminantes ha atraído considerable atención en los últimos años. Los avances recientes sugieren que varios problemas relacionados con la calidad del agua podrían resolverse o mejorarse considerablemente mediante el empleo de productos que surjan del desarrollo de la nanotecnología (Schulte 2005). En el desarrollo de nuevas tecnologías que emplean nanomateriales, un aspecto crítico a tener en cuenta es la composición superficial de los mismos, ya que de ella depende su selectividad y estabilidad en medio acuoso.

Las sustancias húmicas (SH) son los mayores constituyentes de la materia orgánica disuelta y por lo tanto tienen un papel importante en el destino y transporte de las partículas coloidales. Las SH pueden adsorberse sobre las partículas cambiando sus cargas superficiales y afectando su agregación y biodisponibilidad (Tiller 1993), interferir con los procesos de disolución/ precipitación y participando de reacciones redox (Borch 2010). Debido a la variedad de grupos orgánicos contenidos en las SH, estas son buenos agentes complejantes de metales y, a su vez, funcionan como adsorbentes de compuestos orgánicos (Lu 2001). Debido a estas propiedades, recientemente se ha considerado el uso de SH como aditivos en los tratamientos de aguas contaminadas (Gu 2011). Además, la fotólisis de las SH conduce a la formación de varias especies reactivas que incluyen radicales libres, electrones hidratados, estados tripletes reactivos, radicales hidroxilo, oxígeno singlete molecular, peróxido de hidrógeno, todas las cuales intervienen en la fotoquímica acuática (Cooper 1989). Por esta razón, la adición de SH resulta beneficiosa en los tratamientos de degradación fotoquímica de contaminantes (Sturini 2010, Carlos 2012). Sustancias con composición y estructuras similares a las SH pueden obtenerse de la degradación de residuos sólidos urbanos. Estas sustancias son conocidas como sustancias bio-orgánicas solubles (BOS) (Bianco Prevot 2011). El uso potencial de estas sustancias para la detoxificación de aguas puede considerarse un "proceso verde", ya que valoriza los residuos urbanos como material de aplicación tecnológica.

En este proyecto se propone el desarrollo de nanomateriales magnéticos y/o de sílice que contienen SH o BOS obtenidos de residuos urbanos, u otros grupos orgánicos para:

(i) la adsorción y/o reducción de metales y (ii) para adsorción y/o fotodegradación de contaminantes orgánicos.

Referencias

- [Bianco Prevot 2011] A. Bianco Prevot, P. Avetta, D. Fabbri, E. Laurenti, T. Marchis, D. G. Perrone, E. Montoneri and V. Boffa, , ChemSusChem 2011, 4, 85–90.
- [Borch 2010] T. Borch, R. Kretzschmar, A. Skappler, P. Van Cappellen, M. Ginder-Vogel, A. Voegelin and K. Campbell, Environ. Sci. Technol. 2010, 44, 15-2
- [Brezonik 2012] P.L. Brezonik and W.A. Arnold, Environ. Sci. Technol. 2012, 46, 5650–5657.
- [Chen 2009] S. Chen, Y. Zou, Z. Yan, W. Shen, S. Shi, X. Zhang, H. Wang, J. Hazard. Mater. 2009, 161, 1355–1359.
- [Chen 2010] Y. Chen, B. Pan, H. Li, W. Zhang, L. Lv, J. Wu, Environ. Sci. Technol. 2010, 44, 3508–3513.
- [Cooper 1989] W.J. Cooper, Adv. Chem. Ser. 1989, 219, 332–362.
- [Gu 2011] L. Gu, N. Zhu, L. Wang, X. Bing, X. Chen, J. Hazard. Mater. 2011, 198, 232–240.
- [Ivanov 2004] V. Ivanov, J.H. Tay, S.T. Tay, H.L. Jiang, Water Sci. Technol. 2004, 50, 147–154.
- [Lu 2001] X.Q. Lu and R. Jaffe, Water Res., 2001, 35, 1793-1803.
- [Mehta 2005] S.K. Mehta, J.P. Gaur, Crit. Rev. Biotechnol. 2005, 25, 113.
- [Schulte 2005] J. Schulte and J. Dutta, Sci. Technol. Adv. Mater. 2005, 6, 219–220.
- [Sturini 2010] M. Sturini, A. Speltini, F. Maraschi, A. Profumo, L. Pretali, E. Fasani and A. Albin, Environ. Sci. Technol. 2010, 44, 4564-4569.
- [Tiller 1993] C.L. Tiller and C.R. O'Melia, Colloids Surf., A 1993, 73, 89-102.)
- [World Health Organization2008] World Health Organization. (2008). Guidelines for Drinking-water Quality, 3rd Edition, Incorporating the first and second addenda, Vol. 1, Recommendations, Geneva, Switzerland. Retrieved from http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/fulltext.pdf

Aporte original al tema:

Esta sección se ha dividido en varias subsecciones de acuerdo a los diferentes problemas abordados en el proyecto.

Reducción de Hg(II). Algunos metales como el plomo, el cadmio y el mercurio son bien conocidos por sus efectos adversos sobre la salud humana en altos niveles de exposición. El mercurio se libera a la atmósfera, principalmente por la combustión de combustibles fósiles. Allí se transporta y se transforma en una variedad de especies con propiedades diferentes (Lin y Pehkonen, 1999). En particular, se ha informado que la materia orgánica disuelta (DOM) muestra un doble papel en la reducción de Hg y su liberación, ya que la DOM es capaz de convertir Hg (II) a Hg(0), pero también de reaccionar con Hg(0) para formar complejos de Hg-DOM (Gu et. al., 2011). Recientemente se demostró que el ácido oxálico, la benzofenona y los ácidos húmicos, pueden afectar las reducciones inducidas por la luz en hielos (Bartels-Rausch 2011). Por otra parte, investigaciones previas de nuestro grupo demostraron el mecanismo de la reducción de HgCl₂ a Hg⁰ mediada por el radical CO₂^{•-} (Berkovic 2010) y señalaron la conveniencia de usar estos radicales como agentes reductores de mercurio. Entre los aditivos que absorben en el rango visible y son capaces de producir radicales CO₂^{•-} se encuentran las quinonas. En particular, la 1,4-naftoquinona (NQ) absorbe en la región UV-A del espectro electromagnético (320 -400 nm) dentro de la radiación solar que alcanza la superficie de la Tierra, y la reducción de su estado triplete de menor energía (3NQ) por los iones formiato genera los radicales CO₂^{•-} (Loeff 1991;. Görner 2007). En nuestro grupo se demostró que la irradiación anaeróbica UV-A de

soluciones 1,4-naftoquinona que contienen ácido fórmico conducen a la foto-reducción de HgCl_2 seguido por precipitación de Hg_2Cl_2 , sólido que puede ser fácilmente eliminado por filtración. Estos resultados son de interés potencial para el desarrollo de los sistemas técnicos para el tratamiento de aguas contaminadas con HgCl_2 (Berkovic 2012). La exitosa sustitución de 1,4-naftoquinona por un ácido fúlvico comercial, como un compuesto modelo de materia orgánica disuelta, mostró que el método puede aplicarse a aguas que contienen materia orgánica sin la adición de quinonas, ya que estas están presentes en las sustancias húmicas (Berkovic 2012).

Complejación de iones metálicos. La funcionalización de la sílice con grupos orgánicos modifica la superficie cambiando sus propiedades. La interfaz puede volverse hidrofóbica e interactuar con solventes, con polímeros o enlazarse a otras moléculas o nanopartículas [Werst 2001, Ossemkamp 2001, Ossemkamp 2002].

En particular, se han modificado nanopartículas de sílice con moléculas orgánicas como ditiocarbamato o diamina que han sido propuestas como nanoscavengers para secuestrar iones metálicos en solución [Howard 2005]. Para tal fin podrían emplearse además otras nanopartículas cuyas síntesis fueron publicadas previamente como las funcionalizadas con 8-hidroxiquinolina [Howard 2005, Esser 1994] grupos 3-mercaptopropilsilil, 9,10,12-N-propilsalicilaldimina [Abou-El-Sherbini 2002], pirogalol [Deorkar 1997] y resacetofenona [Goswanmi 2002]. Por otro lado, Prakasham y col. desarrollaron un método sol-gel para el diseño y confinamiento de partículas de sílice impregnadas con ion férrico [Prakasham 2007].

En nuestro grupo recientemente hemos sintetizado nanopartículas de sílice modificadas con grupos tioles y amino para ser empleadas en la extracción de iones Pb^{2+} y Cd^{2+} . El trabajo recibió un premio en un congreso nacional [Gargarello 2011]. En este proyecto continuaremos con esta línea de investigación.

Adsorción y Fotodegradación de Contaminantes orgánicos. Recientemente el uso de NPs de magnetita como adsorbentes en tratamientos de aguas ha recibido atención dado que posibilita de forma sencilla la separación y remoción de contaminantes mediante el empleo de campos magnéticos. Las NPs de magnetita desnudas son susceptibles a oxidación en el aire y se agregan fácilmente (Maity 2007). Por ello, es conveniente su modificación superficial para aumentar su capacidad de sorción y estabilidad en agua. Hemos visto que las SH y BOS pueden emplearse para la modificación superficial de NPs de magnetita (Carlos 2012, Magnacca 2012 Primer Premio en el congreso "Argentina Ambiental 2012", sección: Residuos Sólidos y Efluentes). Como se mencionó anteriormente, estas partículas presentan potenciales propiedades para ser empleadas en la descontaminación de aguas mediante tratamientos químicos y fotoquímicos.

Como contaminantes orgánicos modelos en este proyecto emplearemos colorantes presentes en las aguas residuales de industrias textiles, papeleras, de plásticos, cuero, etc. (Sharma 2010) y contaminantes emergentes (CEs), que son un grupo de sustancias químicas detectadas recientemente en aguas dulces, como resultado de las actividades humanas. En particular, se incluyen dentro de este grupo de CEs compuestos farmacéuticos, hormonas, preservativos, bactericidas, pantallas solares y drogas ilícitas, entre otros. Hemos visto que empleando las NPs de magnetita recubiertas con BOS, puede removerse de un medio acuoso el colorante violeta de cristal. La eficiencia adsorción depende de varios factores como el pH y la carga orgánica superficial de las NPs (Magnacca 2012).

Debido a que además de adsorber contaminantes las SH y las BOS producen especies reactivas bajo irradiación (Guerard 2009, Peuravuori 2009, Bianco Prevot 2010), el uso de las NPs recubiertas con estas sustancias es de esperar que fotosensibilicen la degradación de contaminantes.

- [Abou-El-Sherbini 2002] K.S. Abou-El-Sherbini, I.M.M. Kenawy, M.A. Hamed, R.M. Issa, R. Elmorsi, *Talanta* 2002, 58, 289–300.
- [Bartels-Rausch 2011] T. Bartels-Rausch, G. Krysztofiak, A. Bernhard, M. Schläppi, M. Schwikowski, M. Ammann, *Chemosphere* 2011, 82, 199–203.
- [Berkovic 2010] A.M. Berkovic, M.C. Gonzalez, N. Russo, M. Michelini, R. Pis Diez, D.O. Mártire, *J. Phys. Chem. A* 2010, 114, 12845–12850.
- [Berkovic 2012] A.M. Berkovic, S.G. Bertolotti, L.S. Villata, M.C. Gonzalez, R. Pis Diez and D.O. Mártire, *Chemosphere*, en prensa.
- [Bianco Prevot 2010] A. Bianco Prevot, D. Fabbri, E. Pramauro, C. Baiocchi, C. Medana, E. Montoneri, V. Boffa, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2010, 209, 224-231.
- [Carlos 2012] L. Carlos; M. Cipollone; D. B. Soria; M.S. Moreno; P.R. Ogilby; F.S. García Einschlag; D.O. Mártire. *Sep. Purif. Technol.* 2012, 91, 23-29.
- [Deoakar 1997] N.V. Deorkar, L.L. Tavlirides, *Hydrometallurgy* 1997, 46, 121–135.
- [Görner 2007] H. Görner, *J. Phys. Chem.* 2007, 111, 2814-2819.
- [Goswami 2002] A. Goswami and A.K. Singh, *Anal. Chim. Acta* 2002, 454, 229–240.
- [Gragarello 2011] R. Gargarello, V.B. Arce, F. Ortega, V. Romagnano, C. Bernardelli, E.R. Donati, P.E. Allegretti y D.O. Mártire. Congreso de Ciencias Ambientales COPIME, Buenos Aires, 5 al 7 de octubre de 2011) (2o Premio al trabajo “Nanopartículas de sílice modificada y su aplicación en la adsorción de metales pesados”).
- [Gu 2011] B. Gu, Y. Bian, C.L. Miller, W. Dong, X. Jiang, L. Liang, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011, 108, 1479-1483.
- [Guerard 2009] J.J. Guerard, P.L. Miller, T.D. Trouts, Y.P. Chin, *Aquatic Sciences* 2009, 71, 160-169.
- [Howard 2005] A.G. Howard and N.H. Khadry, *The Analyst* 2005, 130, 1432-1438.
- [Lin y Pehkonen, 1999] C.-J. Lin and S.O. Pehkonen, *Atmospheric Environment* 1999, 33, 2067-2079.
- [Loeff 1991] I. Loeff, S. Goldstein, A. Treinin, H. Linschitz, *J. Phys. Chem.* 1991, 95, 4423-4430.
- [Magnacca 2012] G. Magnacca, L. Carlos, M.M. Cuevas, M. Cipollone, M.C. Gonzalez y D.O. Mártire, *Argentina Ambiental* 2012. [Maity 2007] D. Maity and D.C. Agrawal, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 2007, 308, 46-55.
- [Ossemkamp 2001] G.C. Ossenkamp, T. Kemmitt and J.H. Johnston, *Chem. Mater.* 2001, 13, 3975-3980.
- [Ossemkamp 2002] G.C. Ossenkamp, T. Kemmitt and J.H. Johnston, *Langmuir* 2002, 18, 5749-5754.
- [Peuravuori 2009] J. Peuravuori, K. Pihlaja, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2009, 394, 1621-1636.
- [Prakasham 2007] R.S. Prakasham, G. Sarala Devi, K. Rajya Laxmi and C. Subba Rao, *J. Phys. Chem. C*, 2007, 111, 3842–3847
- [Sharma 2002] K.K. Sharma, B.S.M. Rao, H. Mohan, J.P. Mittal, J. Oakes, P. O'Neill, *J Phys Chem A* 2002, 106, 2915-2923.

Actividades y Metodología

La metodología consiste de las siguientes etapas:

A) Nanopartículas de SiO₂.

A1) Modificación y caracterización de NPs de sílice con grupos orgánicos complejantes.

A2) Empleo de las NPs modificadas para la extracción de iones metálicos (Pb²⁺, Cd²⁺ y Hg²⁺) de soluciones acuosas.

A3) Estudio de la cinética y el equilibrio de adsorción de los iones metálicos sobre las partículas.

B) Nanopartículas de Fe₃O₄.

B1) Síntesis y caracterización de NPs de Fe₃O₄ desnudas y cubiertas con ácidos fúlvicos (FA) o BOS.

B2) Irradiación de las NPs de Fe₃O₄recubiertas en experimentos de fotorreducción de HgCl₂.

B3) Empleo de las NPs de Fe₃O₄recubiertas en experimentos de fotodegradación de colorantes y CEs.

B4) Empleo de las NPs de Fe₃O₄recubiertas en experimentos de adsorción de colorantes y metales.

Se llevarán a cabo las siguientes actividades:

Modificación y Caracterización de NPs de sílice. En este proyecto no se propone sintetizar nanopartículas de sílice. Las nanopartículas comerciales de sílice que se emplearán son de sílice pirogénica (Sigma) de área específica superficial de (390 ± 40) m²/g y diámetro de partícula promedio de 7 nm [Ruiz 2007]. Existen diversos métodos de modificación de sílice (Ossemkamp 2001, Ossemkamp 2002, Ruiz 2007). En el caso de las aplicaciones previstas en este proyecto sería deseable minimizar la posibilidad de hidrólisis, por lo que se empleará el método descrito en la referencia (Howard 2005), en la que se utilizan agentes sililantes mediante los que se consigue que el grupo orgánico quede covalentemente ligado al átomo de Si, siendo el producto menos susceptible a hidrólisis. Este procedimiento ya fue descrito para los ligandos ditiocarbamato o diamina (Howard 2005). En el primer caso la síntesis comprende la mezcla de una solución de NaOH con el agente quelante en un baño de ultrasonido con el agregado primero de 2-propanol y luego de disulfuro de carbono. La mezcla debe dejarse en reposo y luego centrifugarse a 55.000 rpm. El precipitado se lava con 2-propanol hasta eliminación del olor a CS₂. Se seca en vacío y se mantiene en heladera en atmósfera de nitrógeno. Para la síntesis de sílice con el ligando diamina, las partículas se dispersan en tolueno incorporando N-[3-(trimetoxisilil)propil]etilenediamina dejando la reacción que transcurre durante 4 horas a 90 °C bajo nitrógeno y con agitación. El producto se lava con tolueno y se seca en vacío. En caso de surgir algún inconveniente con estas síntesis, no se descarta utilizar otros agentes quelantes ya empleados para la funcionalización de la sílice como 8-hidroxiquinolina (Howard 2005, Esser 1994), grupos 3-mercaptopropilsilil (Gotturk 2000), N-propilsalicilaldimina (Deoakar 1997, Abou-El-Sherbini 2002), pirogalol (Deoakar 1997) y resacetofenona (Goswami 2002).

Síntesis NPs de Fe₃O₄. Se aplicarán modificaciones de los métodos publicados para preparar nanopartículas de Fe₃O₄recubiertas de FA y BOS(Liu 2008, Carlos 2012a). Se disolverán para ello FeCl₃ y FeCl₂·4H₂O en agua a 90 °C. Luego se adicionarán rápida y secuencialmente soluciones de NH₃ y FA o BOS. Los FA serán comerciales provistos por IHSS (<http://www.humicsubstances.org/>) y las BOS serán provistas por el grupo de la Dra. Bianco Prevot de la Universidad de Torino (Italia). El precipitado se purificará mediante múltiples lavados con agua y las NPs se separarán del sobrenadante con la ayuda de un campo magnético. No se descarta el empleo de

Caracterización de las NPs de SiO₂ y Fe₃O₄. Las partículas “desnudas” y derivatizadas se caracterizarán mediante diversas técnicas: FTIR, RMN en fase sólida, TEM, termogravimetría, calorimetría diferencial de barrido, dispersión de rayos X, dispersión dinámica de luz, absorción uv-visible, TOC y determinación de área específica superficial por el método BET, tal como se procedió en los estudios con otras NPs (Arce 2009, Arce 2010, Arce 2011a, Arce 2011b, Arce 2012, Carlos 2012a, Ruiz 2007).

-Espectro de absorción IR (FTIR): permite examinar los grupos superficiales de las NPs.

-Microscopía de transmisión electrónica (TEM): La preparación de la muestra involucra la evaporación de múltiples gotas de suspensión de partículas en una red ultrafina de cobre recubierta de carbono. Estas determinaciones se realizarán en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, en CRIBABB (Bahía Blanca) o en el Centro Atómico (Bariloche).

-El área superficial puede determinarse por el método BET, y el tamaño de partícula estimarse suponiendo que son esféricas y la distribución de tamaño monodisperso. En el caso de las NPs modificadas, este parámetro es muy sensible al grado de cobertura de la muestra.

-Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA): Estas técnicas pueden utilizarse para determinar la fracción en masa de componente orgánico en las partículas modificadas, suponiendo que todo el carbono se eliminó a alta temperatura. Estas medidas pueden hacerse en el ámbito de la UNLP.

-Las técnicas de ^{13}C -RMN y ^{29}Si -RMN en estado sólido brindan información sobre los enlaces covalentes entre los grupos orgánicos. Estos experimentos se realizarán en colaboración con el grupo del Dr. Claudio Airoidi de la Universidad de Campinas (Brasil).

Evaluación de la toxicidad y posible degradación de los materiales preparados. Evaluación de toxicidad: Se empleará el método de *Vibrio fischeri*. Este método es ampliamente usado dada su conveniencia y alta sensibilidad comparadas con métodos respirométricos en los que se emplean fangos (o barros) activos, los que son más adecuados para evaluar la aplicabilidad de procesos biológicos para el tratamiento de efluentes [Ricco 2004]. Los ensayos se realizarán de acuerdo a la norma estandarizada ISO 11348-3, empleando bacterias liofilizadas (*Vibrio fischeri*, NRRL B-11177). La reconstitución de las bacterias se hará usando una solución salina comercial. La luminiscencia se medirá con un luminómetro. La toxicidad se determinará luego de 15 minutos de incubación a 15°C en una conservadora de temperatura controlada. Se emplearán soluciones de ZnSO_4 en experimentos control. Los valores de EC50 (concentración de exposición que tiene un efecto inhibitorio de luminiscencia del 50% en la población de prueba) se obtendrán a partir de gráficos logarítmicos de la concentración vs. $G_t = E\% / (100 - E\%)$, con $E\%$ = porcentaje de inhibición de bioluminiscencia detectado en el experimento realizado con una concentración C de partículas. Se compararán los valores de EC50 con aquellos determinados para las moléculas orgánicas quelantes en ausencia de las partículas y con los de las partículas sin modificar.

Experimentos de remoción de contaminantes. Se determinarán las cinéticas e isotermas de adsorción de iones metálicos sobre las NPs. Con este fin se pondrán en contacto suspensiones de NPs con soluciones de metales pesados, por un lado, y contaminantes orgánicos, por otro. Para separar las NPs de: i) SiO_2 : los sistemas se filtrarán con filtros de nylon de 0,1 micrón o se ultracentrifugarán a 55000 rpm durante 2 horas y ii) Fe_3O_4 : se empleará un campo magnético. En las soluciones obtenidas se determinará la concentración total de los iones metálicos por absorción atómica y los contaminantes orgánicos por espectroscopía UV-visible o HPLC. Dado que en un efluente real se encuentran varios contaminantes simultáneamente, se realizarán ensayos con mezclas de contaminantes.

Experimentos fotoquímicos de reducción de HgCl_2 . Se generará la especie reductiva CO_2^- , cuyo potencial redox de un electrón indica que es un agente adecuado para la reducción del ion Hg(II) en solución ($E_0 = 0,85 \text{ V}$), tal como se determinó en nuestro

grupo (Berkovic 2010 y 2012). Los radicales $\text{CO}_2\cdot$ se generarán en condiciones anaeróbicas por fotólisis de suspensiones acuosas de las NPs de Fe_3O_4 cubiertas con FA o BOS. Las fuentes de excitación serán lámparas monocromáticas ($\lambda = 350 \text{ nm}$) o radiación solar. En el primer caso se determinarán los rendimientos cuánticos de fotorreducción empleando un actinómetro de ferrioxalato de potasio (García Einschlag 2002). Se realizarán ensayos blanco con las mismas NPs en ausencia de luz debido a la factible reducción de HgCl_2 por FA en condiciones anaeróbicas.

Experimentos fotoquímicos de fotodegradación de contaminantes orgánicos. Los contaminantes orgánicos (sustratos) a emplear serán: (i) Contaminantes emergentes. Dado que los CEs pueden presentar estructuras químicas muy diferentes y que suelen estar presentes en mezclas complejas, la degradación de estos compuestos en mezclas puede ser muy distinta a la que presentan en forma individual. Es decir, en las mezclas puede haber efectos antagonísticos o sinérgicos. Los CEs a emplear en forma individual y mezclas serán acetaminofeno (analgésico), cafeína (agente estimulante), acetemiprid (insecticida), ácido clofibrico (herbicida), carbamazepine (droga psiquiátrica) y amoxicilina (antibiótico). (ii) Colorantes de distinta naturaleza (neutros o aniónicos del tipo azo) y colorantes catiónicos derivados del trifenilmetano, como el violeta de cristal.

Se irradiarán suspensiones coloidales de NPs de Fe_3O_4 recubiertas con FA o BOS con lámparas monocromáticas ($\lambda = 350 \text{ nm}$) o radiación solar. En el primer caso se determinarán los rendimientos cuánticos de degradación por actinometría. Las velocidades de degradación de los contaminantes se determinarán monitoreando su absorbancia en el UV-visible (en el caso de colorantes) o mediante HPLC. Se estudiará el efecto de agentes secuestrantes de las especies reactivas generadas por fotólisis de FA o BOS sobre las cinéticas de degradación de los contaminantes. En particular se emplearán NaN_3 como agente secuestrante de oxígeno singlete, ácido sórbico para estados triplete, isopropanol para radical hidroxilo. La supresión de degradación o la disminución de su velocidad en presencia de un agente secuestrante específico de una especie reactiva será indicativo de la participación de esa especie en el mecanismo de fotodegradación. (Bosio 2008, Carlos 2012b). Los datos de velocidades de degradación se correlacionarán con valores de constantes de velocidad de especies reactivas.

Para los radicales hidroxilo, las constantes de velocidad de las reacciones de los contaminantes se empleará el reactivo Fenton (Haag 1992) siendo el ácido 4-clorobenzoico la referencia a utilizar ($k = 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Buxton 1988)).

Para la especie oxígeno singlete molecular: El quenching de oxígeno singlete por un sustrato puede tener lugar mediante dos vías: (a) reacción química con constante de velocidad k_r , y (b) interacción física con constante de velocidad k_q . La constante bimolecular del proceso global, k_t , incluye ambos procesos. Para determinar k_t para los contaminantes como sustratos, estos se disolverán en soluciones de sensibilizadores de oxígeno singlete, tales como rosa de Bengala (RB). Se detectará la fosforescencia de oxígeno singlete en experimentos resueltos en el tiempo con detección en el infrarrojo cercano (NIR) mediante un detector de Ge o un fotomultiplicador Hamamatsu, ambos disponibles en el INIFTA. La comparación de las pendientes obtenidas en gráficos de primer orden para el consumo del sustrato realizados con las NPs y en experimentos en condiciones similares realizados con un sustrato de referencia para el que se conoce k_r , permitirá la determinación de k_r para las NPs (Calza 2004, David Gara 2009).

Además, como la remoción de los sustratos no garantiza la descontaminación porque podrían formarse sub-productos de mayor toxicidad que el sustrato inicial, la toxicidad de las muestras se determinará empleando la bioluminiscencia de la bacteria *Vibrio fischeri* como se mencionó anteriormente. Durante los procesos de fotodegradación se identificarán y cuantificarán los subproductos formados por HPLC.

Referencias

- [Abou-El-Sherbini 2002] K.S. Abou-El-Sherbini, I.M.M. Kenawy, M.A. Hamed, R.M. Issa, R. Elmorsi, *Talanta* 2002, 58, 289–300.
- [Arce 2009] V.B. Arce, S.G. Bertolotti, F.J. V. E. Oliveira, C. Airoidi, M. C. Gonzalez, P. E. Allegretti and D.O. Mártire. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectr.* 2009, 73, 54 - 60.
- [Arce 2010] V. B. Arce, J. Rosso, F.J. V. E. Oliveira, C. Airoidi, D. B. Soria, M. C. Gonzalez, P. E. Allegretti and D. O. Mártire. *Photochemistry and Photobiology* 2010, 86, 1208–1214.
- [Arce 2011 a] V. B. Arce, P. Caregnato, M. C. Gonzalez and D.O. Mártire. *Silica Nanoparticles: Preparation, Properties and Uses*, Nova Publishers. 2011. Cap. 2, 39-80. Libro de 288 páginas.
- [Arce 2011 b] V.B. Arce, S.G. Bertolotti, F.J.V.E. Oliveira, C. Airoidi, M.C. Gonzalez, P.E. Allegretti and D.O. Martire. *J. Phys. Chem. C* 2011, 115, 18122–18130.
- [Arce 2012] V.B. Arce, S.G. Bertolotti, F.J.V. E. Oliveira, C. Airoidi, A. Arques, L. Santos-Juanes, M.C. Gonzalez, C.J. Cobos, P.E. Allegretti and D.O. Mártire, *Photochemical & Photobiological Sciences* 2012, 11, 1032–1040.
- [Beck 1992] S. Beck; J. C. Vartuli; W. J. Roth; M. E. Leonowicz; C. T. Kresge; K. D. Schmitt; C. T-W. Chu; D. H. Olson; E. W. Sheppard; S. B. McCullen; J. B. Higgins; and J. L. Schlenkert, *Journal of the American Chemical Society* 1992, 114, 10834–1084.
- [Berkovic 2012] A.M. Berkovic, S.G. Bertolotti, L.S. Villata, M.C. Gonzalez, R. Pis Diez and D.O. Mártire, *Chemosphere*, en prensa.
- [Bosio 2008] G.N. Bosio, P. David Gara, F.S. García Einschlag, M.C. Gonzalez, M.T. del Panno and D.O. Mártire, *Photochemistry & Photobiology* 2008, 84, 1126-1132.
- [Buxton 1988] G.V. Buxton, C.L. Greenstock, W.P. Helman and A.B. Ross, *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 1988, 17, 513-886.
- [Calza 2004] P. Calza, E. Pelizzetti, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2004, 162, 609–613.
- [Carlos 2012 a] L. Carlos; M. Cipollone; D. B. Soria; M.S. Moreno; P.R. Ogilby; F.S. García Einschlag; D.O. Mártire. *Sep. Purif. Technol.* 2012, 91, 23-29.
- [Carlos 2012 b] L. Carlos, D.O. Mártire, M.C. Gonzalez, J. Gomis, A. Bernabeu, A.M. Amat, A. Arques, *Water Research* 2012, 46, 4732–4740.
- [David Gara 2009] P. David Gara, G.N. Bosio, V.B. Arce, L. Poulsen, P.R. Ogilby, R. Giudici, M.C. Gonzalez and D.O. Mártire, *Photochemistry & Photobiology*, 2009, 85, 686–692.
- [Deoakar 1997] N.V. Deoakar, L.L. Tavlarides, *Hydrometallurgy* 1997, 46, 121–135.
- [Esser 1994] B.K. Esser, A. Volpe, J.M. Kenneally, D.K. Smith, *Anal. Chem.* 1994, 66, 1736–1742.
- [García Einschlag 2002] F.S. García Einschlag, L. Carlos, A.L. Capparelli, A.M. Braun and E. Oliveros, *Photochem. Photobiol. Sci.* 2002, 1, 520-525.)
- [Goswami 2002] A. Goswami, A.K. Singh, *Anal. Chim. Acta* 2002, 454, 229–240.
- [Gotturk 2000] G. Gokturk, M. Delzendeh, M. Volkan, *Spectrochim. Acta, Part B* 2000, 55, 1063–1071.
- [Haag 1984] W.R. Haag, J. Hoigne, E. Gassman and A.M. Braun, *Chemosphere* 1984, 13, 631-640.
- [Howard 2005] A.G. Howard, N.H. Khadry, *The Analyst* 2005, 130, 1432-1438.
- [Liu 2008] J.F. Liu, Z.S. Zhao and G.B. Jiang, *Environ. Sci. Technol.* 2008, 42, 6949-6954.
- [Ossemkamp 2001] G.C. Ossenkamp, T. Kemmitt, J.H. Johnston, *Chem. Mater.* 2001, 13, 3975-3980.
- [Ossemkamp 2002] G.C. Ossenkamp, T. Kemmitt, J.H. Johnston, *Langmuir* 2002, 18, 5749-5754.

[Ricco 2004] G. Ricco, M.-C. Tomei, R. Ramadori, G. Laera, *Water Res.* 2004, 38, 2103-2110.

[Rosso 2003] J.A. Rosso, P. Caregnato, V.C. Mora, M.C. Gonzalez, D.O. Mártire, *Helvetica Chimica Acta* 2003, 86, 2509-2524.

[Ruiz 2007] A. Ruiz, P. Caregnato, V.B. Arce, M.M. Schiavoni, V.C. Mora, M.C. Gonzalez, P.E. Allegretti, D.O. Mártire, *J. Phys. Chem. C.* 2007, 111, 7623-7628.

[Zhao 1998] D. Zhao 1998, *Science* 279, 548.

PARTE 2: Efecto de Nanomateriales Metálicos sobre la Generación y Decaimiento de Oxígeno Singlete. Aplicaciones Biológicas.

Objetivos

El oxígeno singlete es el estado excitado más bajo del oxígeno molecular (Foote 1995, Schweitzer 2003, Paterson 2006). El efecto citotóxico de oxígeno singlete se usa actualmente en prácticas clínicas en una modalidad de tratamiento llamada terapia fotodinámica de tumores (PDT), en la que la producción controlada de oxígeno singlete lleva a la erradicación de tejido no deseado (Bonnett 2000).

El oxígeno singlete se produce más común y convenientemente vía fotosensibilización. Por absorción de luz los sensibilizadores más eficientes producen estados triplete de largos tiempos de vida que transfieren su energía de excitación al estado fundamental de la molécula de oxígeno en un proceso colisional para producir oxígeno singlete. La forma menos ambigua de detectar al oxígeno singlete es por su fosforescencia característica a 1275 nm (Schweitzer 2003, Wilkinson 1993). Sin embargo, esta emisión es muy débil porque la desactivación del oxígeno singlete está dominada por procesos no radiativos (Schweitzer 2003). Esto dificulta la detección óptica del oxígeno singlete, particularmente en experimentos con resolución espacial en pequeños volúmenes (Snyder 2004 y 2005).

Es deseable emplear fotosensibilizadores con generación muy eficiente de oxígeno singlete, que presenten altos coeficientes de absorción y que sean más estables. Con este propósito, en este proyecto se estudiará la habilidad de los nanomateriales para generar oxígeno singlete por irradiación. También se explorará el daño celular causado por los sensibilizadores al ser expuestos a la luz visible, así como el comportamiento del oxígeno singlete en células con resolución espacial y temporal.

Los objetivos específicos de esta parte del plan de trabajo son los siguientes:

- (1) Explorar la posible generación de oxígeno singlete por irradiación de nanomateriales de metales nobles (Ag y Au).
- (2) Examinar el efecto de la presencia de dispersiones de nanomateriales de metales nobles sobre el rendimiento cuántico de generación de oxígeno singlete de sensibilizadores orgánicos (Fi delta).
- (3) Investigar mediante espectroscopias Raman y de fluorescencia las moléculas unidas a los nanomateriales.
- (4) Investigar la viabilidad y morfología de células incubadas con los nanomateriales irradiados con luz visible durante diferentes tiempos.
- (5) Obtener información cinética sobre la generación y desactivación de oxígeno singlete en células incubadas con los nanomateriales.

Marco teórico o estado actual del tema:

Las excitaciones colectivas de los electrones de conducción de los metales se denominan "plasmones". Dependiendo de las condiciones de contorno, se acepta comúnmente la distinción entre plasmones "bulk" (plasma 3D), plasmones que se propagan en la superficie (films 2D), y plasmones localizados en superficies (nanopartículas) (Kreibig 1995). Las resonancias de plasmones superficiales localizados

(LSPRs) de los nanomateriales dependen de la naturaleza y tamaño de las nanopartículas y, por ello, una elección cuidadosa del sistema permite obtener LSPRs en distintas zonas espectrales.

Toftagaard et al. (Toftagaard 2008 y 2011) emplearon litografía coloidal (Fredriksson 2007) para preparar nanodiscos de oro de tamaño controlado sobre sustratos vítreos. Las muestras se cubrieron con una capa delgada (ca. 100 nm) de poliestireno dopado con el fotosensibilizador de oxígeno singlete tetrafenilporfirina (TPP). Las LSPRs de estos materiales se encontraron en el infra-rojo cercano (NIR). Usando un microscopio configurado para experimentos de oxígeno singlete generado por fotosensibilización, los autores observaron la típica señal a 1275 nm asignada a la fosforescencia de oxígeno singlete. Para la muestra para la cual la LSPR coincidía con la fosforescencia de oxígeno singlete, el aumento de la señal de fosforescencia fue el mayor observado. Por ello, los autores concluyeron que la desactivación radiativa de oxígeno singlete aumentó por acoplamiento con la LSPR asociada con la nanoestructura del metal.

Ragàs et al. (Ragàs 2011) mediante efectos plasmónicos en films de islas de plata cubiertos con C60 lograron aumentar la fosforescencia de oxígeno singlete. También se publicó que el rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete por irradiación de ftalocianinas puede incrementarse por la presencia de nanopartículas de oro (Hone 2002, Chauke 2011). Sin embargo, para aumentar la absorción de luz por el sensibilizador y así la cantidad de oxígeno singlete producido, la LSPR del nanomaterial debería estar localizada en el visible para que coincida con la absorción del sensibilizador.

Las propiedades ópticas de una esfera pequeña están determinadas por su matriz de amplitud de dispersión (Bohren 1983). De acuerdo a la teoría de Mie aplicada a coloides metálicos a concentración constante, para partículas más grandes los espectros de extinción se desplazan al rojo y se ensanchan. Este efecto puede usarse para determinar de manera rápida el tamaño de las partículas (Khlebtsov 2008).

Aporte original al tema:

Basándonos en este contexto proponemos investigar en este plan de trabajo la generación de oxígeno singlete por irradiación de suspensiones de nanopartículas de metales nobles en presencia de sensibilizadores orgánicos. Con este fin se realizarán inicialmente experimentos de oxígeno singlete por irradiación in vitro y en ausencia de material biológico. La presencia de esta especie reactiva se confirmará por análisis de los productos de reacción de esta especie con sondas específicas.

Debido a nuestro interés en la aplicación de los sistemas estudiados en PDT, se realizarán experimentos con células. Para ello, las células se incubarán con los sensibilizadores y nanomateriales y se irradiarán con luz visible. Los ensayos con células se realizarán usando (a) suspensiones celulares contenidas en cubetas y (b) experimentos resueltos en el espacio basados en microscopía de oxígeno singlete. Para los experimentos en cubeta se emplearán células HL-60 (Human promyelocytic leukemia cells) no adherentes y para los experimentos de microscopía células HeLa capaces de crecer en monocapas.

El grupo del INIFTA tiene experiencia en nanotecnología, principalmente en materiales de sílice y magnetita (Arce 2009, 2010, 2011 y 2012, Caregnato 2010, Carlos 2012, Gargarello 2011, Llansola 2012, Ruiz 2007). Este grupo también tiene experiencia en la generación y desactivación de oxígeno singlete (Arce 2012, Carlos 2012, David Gara 2009).

El trabajo propuesto en este plan será desarrollado conjuntamente en La Plata y en el grupo del Prof. Peter Ogilby (Aarhus, Dinamarca). El Prof. Ogilby es el director del Centro para la Microscopía e Imagen de Oxígeno de la Universidad de Aarhus, tiene una amplia experiencia en oxígeno singlete y posee equipamiento único para la detección de oxígeno singlete con resolución espacial y temporal. Tiene además

experiencia en la generación y detección de oxígeno singlete por irradiación de nanomateriales recubiertos de sensibilizadores orgánicos (Toftegaard 2008 y 2011).

Actualmente, hay una colaboración entre ambos grupos. Específicamente, la Tesis Doctoral de la Bioqca. Gabriela Bosio se desarrolló conjuntamente en ambos grupos. Algunos de los resultados preliminares de ese trabajo fueron publicados en el Journal of the American Chemical Society (Bosio 2013), lo que avala la buena relación laboral entre los grupos.

Las investigaciones a realizar tienen el objetivo de probar las siguientes hipótesis de trabajo:

(1) La generación de oxígeno singlete por irradiación de dispersiones de los nanomateriales es viable. Los experimentos diseñados para comprobar esta hipótesis se enfocarán en la detección de señales de fosforescencia de oxígeno singlete estado estacionario y resueltas en el tiempo bajo diferentes condiciones experimentales (concentración de oxígeno disuelto, presencia de desactivadores de oxígeno singlete, etc.).

(2) Podrán incorporarse los nanomateriales a las células por incubación. Para verificar esta hipótesis se emplearán las espectroscopias Raman y de fluorescencia.

(3) Se producirá daño celular al irradiar las células incubadas con los nanomateriales. Para verificar esta hipótesis se harán los siguientes experimentos con cultivos celulares irradiados y no irradiados (con y sin sensibilizadores orgánicos):

(i) Observación microscópica de cambios morfológicos.

(ii) La coloración con Trypan Blue se usará como herramienta simple de evaluación de integridad de membrana (y así poder inferir si hay viabilidad o muerte celular).

(iii) Test de competencia metabólica para evaluar citotoxicidad.

(4) A partir de experimentos de fosforescencia de oxígeno singlete será posible obtener información del entorno celular en los que el oxígeno singlete se forma, difunde y reacciona. Para probar esta hipótesis, se realizarán experimentos de fosforescencia de oxígeno singlete en sistemas que contienen quenchers de diferente localización celular en:

(i) Suspensiones celulares (resolución temporal).

(ii) Células individuales con el microscopio de oxígeno singlete (resolución temporal y espacial).

Actividades y Metodología

Para comprobar la hipótesis de trabajo (1) se requerirán nanomateriales de unos pocos nanómetros de diámetro (Vankayale 2011). Se emplearán nanomateriales comerciales (nanopartículas y nanorods de Au y Ag disponibles de varios proveedores (Sigma-Aldrich, Nanorods USA, Nanopartz USA).

En caso de ser necesario el empleo de nanomateriales de tamaños específicos no disponibles en el mercado, se procederá a su síntesis. Para las nanopartículas de Ag, su tamaño puede controlarse empleando agentes reductores de distinto potencial redox (Kvítek 2005). Mayor reducción del tamaño puede lograrse variando el pH o usando galactosa o lactosa como agentes reductores (Panáček 2006). Si fuere necesario, se prepararán nanopartículas de oro con alto rendimiento y tamaño controlado mediante síntesis química (Vivero-Escoto 2011). El método más usado es mediante reducción con citrato (Turkevich 1951). Para evitar la agregación se requerirá el empleo de un agente estabilizador que se adsorba física o químicamente sobre la superficie de las nanopartículas.

Para facilitar la localización celular por fluorescencia o por Raman, será necesaria la modificación de los nanomateriales con grupos orgánicos apropiados. Los experimentos diseñados para verificar la hipótesis de trabajo número 2 se harán con estos materiales.

En el caso de las nanopartículas de Au el agente estabilizante podrá reemplazarse por la molécula fluorescente o Raman activa mediante la formación de enlaces Au-S sobre la superficie de la partículas (Templeton 2000).

Por otro lado, los nanorods de Au estabilizados con CTAB presentan carga positiva permitiendo así la unión electrostática con moléculas negativamente cargadas como Rosa de Bengala (RB) (Gabudean 2012). Se podría probar un método similar para unir nanopartículas de Au y Ag estabilizadas con CTAB a RB. La unión se monitoreará por espectroscopia UV-visible y medidas de potencial zeta (Gabudean 2012). Se ha publicado que la excitación resonante de ambos RB y nanorods a 532 nm conduce a SERRS (surface-enhanced resonance Raman scattering) y metal-enhanced fluorescence (MEF) (Gabudean 2012).

Los nanomateriales se caracterizarán por las siguientes técnicas; (i) Espectroscopia FTIR, que permitirá el análisis de los grupos orgánicos superficiales. (ii) Microscopía de transmisión electrónica (TEM) para determinar el tamaño de las partículas. (iii) Termogravimetría (TGA) y calorimetría de escaneo diferencial (DSC), y RMN de ¹³C para obtener información sobre el contenido orgánico de los nanomateriales. Nuestro grupo tiene experiencia en la aplicación de estas técnicas para la caracterización de nanomateriales de sílice y magnetita (Arce 2009, 2010, 2011 y 2012, Carlos 2012). Todos estos análisis se realizarán en la UNLP, excepto los de RMN que se realizarán en colaboración con el grupo del Prof. Claudio Airoidi (Universidad de Campinas, Brasil).

Para verificar las hipótesis de trabajo 1 y 2, la fosforescencia de oxígeno singlete se determinará en forma cuantitativa mediante el empleo de un detector de Ge que permite la realización de experimentos resueltos en el tiempo mediante excitación con armónicos de un láser de Md:YAG ($\lambda = 266, 355$ y 532 nm). Las suspensiones se prepararán en D₂O, solvente en el que el tiempo de vida de oxígeno singlete es ~ 67 microsegundos (Ogilby 1982) y serán sonicadas para evitar aglomeraciones. Para confirmar la asignación a oxígeno singlete, la fosforescencia se medirá en suspensiones con: i) Diferentes concentraciones de oxígeno disuelto. ii) Cantidades variables de desactivadores de oxígeno singlete, como por ejemplo NaN₃ (Rubio 1992). Para estos experimentos se necesitará conocer la extinción y absorbancia de las soluciones para lo que se empleará un espectrofotómetro equipado con esfera integradora. Adicionalmente, para confirmar la presencia de oxígeno singlete, se usarán sondas químicas como ciclohexeno (Xue 2007), el sensor verde de oxígeno singlete (SOGS) (Ragàs 2009), y 2,2,6,6-Tetrametilpiperidina (Hideg 1994).

Las células Hela serán obtenidas de American Type Culture Collection (ATCC) (Rockville, MD, USA). Las células se cultivarán en monocapas como se describe en la ref. 32. Se contarán con un hemocitómetro Neubauer y la viabilidad se determinará por ensayos de Trypan Blue (Sigma, St. Louis, MO, USA). Los nanomateriales se incorporarán en las células por consumo pasivo (passive uptake) (Shukla 2005, Sirimuthu 2010).

Para verificar la hipótesis de trabajo número 2 se realizarán los siguientes experimentos:

Experimentos de fluorescencia: En este caso la microscopía de fluorescencia se empleará para determinar la localización de los nanomateriales y la experimentos de co-localización se harán empleando una sonda selectiva para organelas ácidas (LysoSensor Green DND-189). Estos experimentos se realizarán en el INIFTA e IMBICE (UNLP).

Experimentos de Resonancia Raman: La espectroscopia Raman con resolución espacial se realizará en CEQUINOR (UNLP) y en la Universidad de Aarhus.

Se realizarán experimentos “blanco” con células que no incubadas con los nanomateriales.

Para verificar la hipótesis de trabajo número 3 se realizarán los siguientes experimentos: La citotoxicidad de células HeLa irradiadas se determinará midiendo la

reducción de la sal de tetrazolio (bromuro de 3-(4,5-detiliazol-2-ilo) 2,5 difeniltetrazolio) a formazan por enzimas deshidrogenasas de las mitocondrias intactas en células vivas (Twentyman 1987).

Es conocido que las nanopartículas de Ag tienen propiedades bactericidas (Morones 2005, Hwang 2008), mientras que existe cierta controversia sobre su toxicidad y especialmente sobre la de las nanopartículas de Au en células eucariotas (Pernodet 2006, Hwang 2008, Asha Rani 2009). Por estas razones se requerirán controles con los nanomateriales sin irradiar.

Para verificar la hipótesis de trabajo número 4 se realizarán los siguientes experimentos de fosforescencia de oxígeno singlete en sistemas que contengan quenchers de diferente localización:

Experimentos resueltos en el tiempo en suspensiones celulares.

Experimentos con células individuales con el microscopio de O2(1 □g). La metodología ya se ha descrito en detalle (45).

Para los experimentos de fosforescencia de oxígeno singlete a 1275 nm, se realizará el intercambio de H2O por D2O como se describió previamente (Hatz 2007). Este intercambio isotópico afecta la intensidad y el tiempo de vida de oxígeno singlete en las células. La preparación de las células para los estudios de fosforescencia ya ha sido descrito (Bosio 2013).

FACTIBILIDAD DEL PLAN DE TRABAJO (PARTES 1 y 2):

Equipamiento disponible en el grupo del INIFTA: Espectrofotómetros UV-visible, flash-fotólisis en el nanosegundo, detector de Ge, láseres de Nd:YAG, lámparas, reactores, baño ultrasónico, electrodos para determinaciones de pH, cloruros, nitratos, fluoruros y oxígeno molecular, varios pH-metros, GC/MS, HPLC, equipo para medición de carbono orgánico total, espectrofluorómetro con conteo de fotones individuales. En otros grupos del INIFTA: XPS y FTIR.

El INIFTA cuenta además, con talleres de electrónica, vitroplastia y mecánica.

Instalaciones, equipamiento y otros recursos de Otras Instituciones:

-TEM: Como servicios a terceros en el Laboratorio de Microscopía de la Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP, dependiendo del tamaño de partícula. HRTEM en CNEA (Bariloche).

-BET: Como servicio a terceros, CINDECA y INIFTA, UNLP.

-TGA y DSC: Como servicio a terceros, CINDECA, UNLP.

- Raman: como servicio a terceros de CEQUINOR.

-RMN de 29Si y 13C de sólidos, en colaboración con el Dr. C. Airoidi, Campinas, Brasil.

Equipamiento disponible en la Universidad de Aarhus: La instrumentación disponible para estos estudios es única y ya ha sido descrita (Bosio 2013). Brevemente, las células a estudiar se mantendrán en una cámara de atmósfera controlada, la que será montada sobre una plataforma móvil de un microscopio invertido. Los sensibilizadores incorporados en las células se irradiarán con un sistema de laser de femtosegundo que se enfocará en la célula mediante el objetivo del microscopio. La luz emitida, ya sea fosforescencia de oxígeno singlete o fluorescencia o fosforescencia del sensibilizador, será recogida mediante el objetivo del microscopio, aislada espectralmente mediante un filtro de interferencia, y transmitida a un fotomultiplicador enfriado que opera en su modo de conteo de fotones individuales. La detección por imágenes de las células se hará mediante irradiación de la célula y su entorno con una lámpara de Xe y filtros de interferencia para seleccionar las longitudes de onda apropiadas. La luz emitida por la muestra se detectará mediante filtros de interferencia empleando una cámara CCD colocada en el plano de la imagen del microscopio. Los laboratorios de Ogilby en Aarhus también disponen de todo el equipamiento de apoyo necesario (por ejemplo:

espectrómetros de estado estacionario, instrumentación de diagnóstico láser, facilidades para cultivos celulares).

El programa científico de Aarhus (es decir del Centro de Microscopía de Oxígeno e Imágenes, COMI) es financiado por la Fundación de investigación Nacional Danesa. COMI proveerá de ayuda financiera para las visitas a Dinamarca.

Referencia Bibliográficas.

[Arce 2009] V.B. Arce, S.G. Bertolotti, F.J. V. E. Oliveira, C. Airoidi, M.C. Gonzalez, P.E. Allegretti and D. O.Mártire, *SpectrochimicaActa A* 2009, 73, 54-60.

[Arce 2010] V.B. Arce, J.A. Rosso, F.J. V. E. Oliveira, C. Airoidi, D.B. Soria, M.C. Gonzalez, P.E. Allegretti and D.O. Mártire, *Photochemistry & Photobiology*, 2010, 86, 1208-1214.

[Arce 2011] V. Arce, S. Bertolotti, F. Oliveira, C. Airoidi, M.C. Gonzalez, P.E. Allegretti and D.O. Mártire, *J. Phys. Chem. C* 2011, 115, 18122–18130.

[Arce 2012] V.B. Arce, S.G. Bertolotti, F.J. V. E. Oliveira, C. Airoidi, A. Arques, L. Santos-Juanes, M.C. Gonzalez, C.J. Cobos, P.E. Allegretti and D.O. Mártire, *Photochem.Photobiol. Sci.* 2012, 11, 1032–1040.

[Asha Rani 2009] P.V. Asha Rani, G.L. KahMun, M.P. Hande, S. Valiyaveetil, *ACS Nano* 2009, 3, 279–290.

[Bohren 1983] C.F. Bohren and D.R. Huffman. *Absorption and scattering of light by small particles*. New York: Wiley; 1983.

[Bonnett 2000] R. Bonnett, *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*; Gordon and Breach Science Publishers: Amsterdam, 2000.

[Bosio 2013] G.N. Bosio, T. Breitenbach, J. Parisi, M. Reigosa, F.H. Blaikie, B. W. Pedersen, E.F.F. Silva, D.O. Mártire and P.R. Ogilby, *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 272–279.

[Caregnato 2010] P. Caregnato, M. Forbes; D.B. Soria, D.O. Mártire and M.C. Gonzalez, *Journal of Physical Chemistry C* 2010, 114, 5080–5087.

[Carlos 2012] L. Carlos, M. Cipollone, D.B. Soria, S. Moreno, P.R. Ogilby, F.S. García Einschlag and D.O. Mártire, *Separ.Purif.Technol.* 2012, 91, 23–29.

[Chauke 2011] V. P. Chauke, E. Antunes, W. Chidawanyika and T. Nyokong, *J. Mol. Catal. A* 2011, 335, 121.

[David Gara 2009] P. David Gara, G.N. Bosio, V.B. Arce, L. Poulsen, P.R. Ogilby, R. Giudici, M.C. Gonzalez and D.O. Mártire, *Photochem.Photobiol.* 2009, 85, 686–692.

[Foote 1995] C.S. Foote and E.L. Clennan. In *Active Oxygen in Chemistry*; Foote, C. S., Valentine, J. S., Greenberg, A., Liebman, J. F., Eds.; Chapman and Hall: London, 1995; pp 105-140.

[Fredriksson 2007] H. Fredriksson, Y. Alaverdyan, A. Dmitriev, C. Langhammer, D. S. Sutherland and M. Zich and B. Kasemo, *Adv. Mater.* 2007, 19, 4297.

[Gabudean 2012] A.M. Gabudean, M. Focsan and S. Astilean, *J. Phys. Chem. C* 2012, 116, 12240–12249.

[Gargarello 2011] R. Gargarello, V.B. Arce, F. Ortega, V. Romagnano, C. Bernardelli, E.R. Donati, P.E. Allegretti y D.O. Mártire. *Nanopartículas de sílice modificada y su aplicación en la adsorción de metales pesados*, Congreso de Ciencias Ambientales COPIME, Buenos Aires, October 5-7, 2011.

[Hatz 2007] S. Hatz, J.D.C. Lambert and P.R. Ogilby, *Photochem. Photobiol. Sci.* 2007, 6, 1106–1116.

[Hideg 1994] E. Hideg, C. Spetea and I. Vass. *Biochim.Biophys.Acta, Bioenerg.* 1994, 1186, 143–152.

[Hone 2002] D.C. Hone, P.I. Walker, R. Evans-Gowing, S. FitzGerald, A. Beeby, I. Chambrier, M.J. Cook and D.A. Russell, *Langmuir*, Vol. 18, 2002, 2985-2987.

[Hwang 2008] E.T. Hwang, J.H. Lee, Y.J. Chae, Y. Seok Kim, B. Chan Kim, B. Sang and M. Bock Gu, 2008, *Small*, 4, 746–750.

- [Khlebtsov 2008] N.G. Khlebtsov, *Anal.Chem.* 2008, 80, 6620–5.
- [Kreibig 1995] U. Kreibig and M.Vollmer, *Optical properties of metal clusters*. Berlin: Springer; 1995.
- [Kvítek 2005] L. Kvítek, R.Prucek, A.Panáček, R. Novotny, J.Hrbáč and R.Zbořil, *J. Mater. Chem.* 2005, 15, 1099.
- [Llansola 2012] M. LlansolaPortolés, R. Pis Diez, M.L. Dell’Arciprete, P. Caregnato, J.J. Romero, D.O. Mártire, O. Azzaroni, M. Ceolín and M.C. Gonzalez, *J. Phys. Chem. C* 2012, 11315-11325.
- [Morones 2005] J.R. Morones, J.L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J.B. Kouri, J. Tapia Ramírez and M.J. Yacaman, 2005, *Nanotechnology*, 16, 2346–2353.
- [Ogilby 1982] P. R. Ogilby and C. S. Foote, *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, 104, 2069-2070.
- [Panáček 2006] A. Panáček, L. Kvítek, R. Prucek, M. Kolář, R. Večeřová, N. Pizúrová, V.K. Sharma, T. Nevěčná and R. Zbořil, *J. Phys. Chem. B* 2006, 110, 16248-16253.
- [Paterson 2006] M.J. Paterson, O. Christiansen, F. Jensen and P. Ogilby, *Photochem.Photobiol.* 2006, 82, 1136–1160.
- [Pernodet 2006] N. Pernodet, X. Fang, Y. Sun, A. Bakhtina, A. Ramakrishnan, J. Sokolov, A. Ulman and M. Rafailovich, *Small* 2006, 2, 766 – 773.
- [Ragàs 2009] X. Ragàs, A. Jiménez-Banzo, D. Sánchez-García, X. Batllori and S. Nonell, *Chem. Commun.*, 2009, 2920–2922.
- [Ragàs 2011] X. Ragàs, A. Gallardo, Y. Zhang, W. Massad, C. D. Geddes and S. Nonell, *J. Phys. Chem. C* 2011, 115, 16275–16281.
- [Rubio 1992] M. A. Rubio, D. O. Mártire, S. E. Braslavsky and E. A. Lissi, *J. Photochem. Photobiol. A*, 1992, 66, 153-157.
- [Ruiz 2007] A.E. Ruiz, P. Caregnato, V.B. Arce, M. Schiavoni, V.C. Mora, M.C. Gonzalez, P.E. Allegretti and D.O. Mártire, *J. Phys. Chem. C* 2007, 111, 7623-7628.
- [Schweitzer 2003] C. Schweitzer and R. Schmidt, *Chem. Rev.* 2003, 103, 1685–1757.
- [Shukla 2005] R. Shukla, V.Bansal, M.Chaudhary, A.Basu, R.R.Bhonde and M.Sastry, *Langmuir* 2005, 21, 10644–10654.
- [Sirimuthu 2010] N.M. S. Sirimuthu, C.D. Syme and J.M. Cooper, *Anal. Chem.* 2010, 82, 7369–7373
- [Snyder 2004] J. W. Snyder, I. Zebger, Z. Gao, L. Poulsen, P. K. Frederiksen, E. Skovsen, S. P. McIlroy, M. Klinger, L. K. Andersen and P. R. Ogilby, *Acc. Chem. Res.* 2004, 37, 894.
- [Snyder 2005] Snyder, J. W.; Skovsen, E.; Lambert, J. D. C.; Ogilby, P. R. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 14558–14559.
- [Snyder 2006] J.W. Snyder, E. Skovsen, J.D. C. Lambert, L. Poulsen and P.R. Ogilby, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2006, 8, 4280-4293.
- [Templeton 2000] A.C. Templeton, M.P.Wuelfing and R.W. Murray, *Acc. Chem. Res.* 2000, 33, 27–36.
- [Toftegaard 2008] R. Toftegaard, J. Arnbjerg, K. Daasbjerg, P.R. Ogilby, A. Dmitriev, D.S. Sutherland and L. Poulsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2008, 47, 6025 –6027.
- [Toftegaard 2011] R. Toftegaard, J. Arnbjerg, H. Cong, H. Agheli, D.S. Sutherland and P. R. Ogilby, *Pure Appl. Chem.*, 2011, 83,885-898.
- [Turkevich 1951] J. Turkevich, P.C. Stevenson and J. Hillier, *J. Discuss. Faraday Soc.* 1951, 11, 55–75.
- [Twentyman 1987] P.R. Twentyman and M.Luscumbe, *Br. J. Cancer* 1987, 56, 279-85.
- [Vankayala 2011] R. Vankayala, A. Sagadevan, P. Vijayaraghavan, C.-L.Kuo and K.C. Hwang, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011, 50, 10640 –10644.
- [Vivero-Escoto 2011] J.L. Vivero-Escoto and Y.-T. Huang, *Int. J. Mol. Sci.* 2011, 12, 3888-3927.

[Wilkinson 1993] F.Wilkinson, P.W. Helman and A. B. Ross, J. Phys. Chem. Ref. Data 1993, 22, 113.
[Xue 2007] X. Xue and Y. Xu, J. Mol. Catal.A 2007, 276, 80.

Condiciones de la presentación:

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Investigador, la que deberá incluir:
 - a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 21).
 - b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda "Informe Científico Período".
 - c. Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.
- B. Envío por correo electrónico:
 - a. Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: ininvest@cic.gba.gov.ar (puntos 1 al 21), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
 - b. En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.

Nota: El Investigador que desee ser considerado a los fines de una promoción, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.