



TESIS DE DOCTORADO

**ESTUDIO DE LA
CARACTERIZACIÓN, PURIFICACIÓN
Y PROPIEDADES CATALÍTICAS DE
CLÚSTERES CUÁNTICOS
ATÓMICOS DE COBRE Y PLATA**

Darío de la Iglesia Rodríguez

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2020



*A vós, por axudarme en todo
o que podiades e máis*



TABLA DE CONTENIDOS

1 Resumen	1
2 Objetivos	3
3 Introducción	5
3.1 Nanotecnología y nanomateriales, un enfoque actual	5
3.2 Clústeres metálicos subnanométricos: en la frontera del mundo cuántico	9
3.3 Estructura electrónica y estabilidad de los clústeres	13
3.4 Propiedades y aplicaciones de los clústeres metálicos	17
3.5 Síntesis de clústeres metálicos.....	23
4 Técnicas de caracterización.....	29
4.1 Espectroscopia de absorción ultravioleta-visible	29
4.2 Espectroscopia de fluorescencia	30
4.3 Espectrometría de masas	32
4.4 Espectroscopia de absorción atómica	34
4.4.1 Espectroscopia de absorción atómica de llama (FAAS)	35
4.4.2 Espectroscopia de absorción atómica electrotermica (ETAAS)	35
4.5 Espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado por inducción (ICP-OES)	36
4.6 Espectrometría de masas atómica de plasma acoplado por inducción (ICP-MS)	37
4.7 Electrodo selectivo de iones (ISE).....	38
4.8 Diálisis	39
4.9 Extracción en fase sólida (SPE).....	39
4.10 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)	40
4.11 Extracción líquido-líquido (LLE)	40
5 Síntesis y caracterización de clústeres metálicos.....	41

5.1 Introducción.....	41
5.2 Procedimiento experimental.....	44
5.2.1 Materiales	44
5.2.2 Síntesis de clústeres de Ag ₃ y Cu ₅	45
5.2.2.1 Síntesis de clústeres de Ag ₃	45
5.2.2.2 Síntesis de clústeres de Cu ₅	45
5.2.3 Caracterización espectroscópica de los clústeres sintetizados	46
5.2.4 Caracterización de clústeres por espectrometría de masas	47
5.3 Resultados y discusión	47
5.3.1 Síntesis y caracterización de clústeres de Ag ₃	47
5.3.2 Síntesis y caracterización de clústeres de Cu ₅	49
5.3.3 Optimización de la caracterización de clústeres mediante espectrometría de masas.....	51
5.3.3.1 Efecto del disolvente de dilución.....	52
5.3.3.2 Efecto de la adición de ácido fórmico	53
5.3.3.3 Efecto del modo de detección.....	55
5.3.3.4 Efecto de la frecuencia de medida	56
5.3.3.5 Efecto de la temperatura	57
5.3.3.6 Efecto del voltaje de cono	59
5.3.3.7 Identificación de los aductos de Ag ₂	60
5.3.3.8 Aplicación de la configuración óptima de medida a la caracterización de diferentes clústeres metálicos	63
5.4 Conclusiones	66
6 Purificación de clústeres	67
6.1 Introducción.....	67
6.2 Procedimiento experimental.....	69
6.2.1 Materiales	69
6.2.2 Cuantificación de iones y plata total	70
6.2.3 Diálisis	71
6.2.4 Extracción en fase sólida (SPE).....	71
6.2.5 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).....	72
6.2.6 Extracción líquido-líquido (LLE) de clústeres de Ag ₅₋₁₅ en acrilato	73
6.3 Resultados y discusión	74
6.3.1 Diálisis de clústeres de Ag ₅	74
6.3.2 Extracción en fase sólida de clústeres de Ag ₅	75
6.3.3 Separación de clústeres de Ag ₅ por HPLC	82
6.3.4 Extracción líquido-líquido de clústeres de Ag ₅₋₁₅ en acrilato.....	88

6.4 Conclusiones.....	95
7 Propiedades catalíticas de los clústeres metálicos	97
7.1 Introducción	97
7.2 Procedimiento experimental	99
7.2.1 Materiales	99
7.2.2 Experimentos de catálisis.....	100
7.3 Resultados.....	100
7.3.1 Catálisis con clústeres de Cu ₅ . Efecto de la luz solar.....	100
7.3.2 Efecto de la presencia de sales	102
7.3.3 Catálisis con clústeres de Ag ₃	103
7.3.4 Catálisis con clústeres de Ag ₅₋₁₅	104
7.3.5 Catálisis con clústeres de Au ₂	105
7.3.6 Catálisis con clústeres de Cu ₁₂ -Cis.....	106
7.3.7 Estudio cinético y mecanismo de la catálisis con Cu ₅	107
7.4 Conclusiones.....	113
8 Conclusiones.....	115
9 Bibliografía.....	117
10 Abreviaturas.....	127
11 Anexos.....	129
11.1 Protocolos de extracción en fase sólida (SPE)	129
11.2 Condiciones experimentales de las separaciones cromatográficas en HPLC.....	131
11.3 Condiciones experimentales de las reacciones de catálisis con clústeres.....	132
12. Índice de ilustraciones.....	135



1 RESUMEN

La presente tesis trata del estudio de la síntesis, caracterización y propiedades catalíticas de clústeres metálicos subnanométricos de cobre y plata. Los clústeres son partículas consistentes en agrupaciones de unos pocos átomos metálicos con composiciones bien definidas. Su enorme interés radica fundamentalmente en su pequeño tamaño, a menudo inferior al nanómetro, que los sitúa en la misma escala de tamaños que algunos fenómenos físicos como la longitud de onda de De Broglie y les confiere unas propiedades únicas y diferentes tanto de las nanopartículas como de los metales en estado masivo. Este pequeño tamaño origina cambios importantes en su estructura electrónica, siendo el más importante la desaparición de su carácter metálico y la aparición de un comportamiento tipo molecular con un hueco HOMO-LUMO similar a energía de la banda prohibida (*band gap*) en los semiconductores tradicionales. Este nuevo comportamiento resulta clave en la explicación de muchas de sus propiedades y también en sus potenciales aplicaciones, como es el campo de la catálisis.

El primer capítulo de la tesis se centra en la síntesis y caracterización de clústeres. Así, se describe la síntesis y caracterización espectroscópica de clústeres de Ag_3 y Cu_5 , obtenidos mediante métodos de síntesis electroquímica. Además, en el capítulo se describe el desarrollo y optimización de un método de caracterización de clústeres de Ag_2 por espectrometría de masas. Una vez optimizado, se evalúa la robustez del método mediante su aplicación a otros clústeres de diferentes metales y tamaños.

El segundo capítulo se centra en la purificación de clústeres. Por una parte, se explica el uso de diálisis, extracción en fase sólida y cromatografía líquida de alta eficiencia en la separación de iones Ag^+ y clústeres de Ag_5 , mediante el empleo de diferentes medios adsorbentes. Por otra parte, se describe el desarrollo secuencial de un método de

separación con el fin de extraer clústeres de Ag de entre 5 y 15 átomos en acrilato a una fase acuosa.

En el tercer capítulo se estudian las propiedades catalíticas de diferentes tipos de clústeres mediante su aplicación a una reacción modelo, como es la reducción del colorante azul de metileno utilizando hidracina como reductor. El estudio cinético del proceso y la descripción de un posible mecanismo de reacción para los clústeres más eficientes, constituye la parte final de este capítulo.



2 OBJETIVOS

El objetivo principal de esta tesis es el estudio y optimización de nuevos métodos de caracterización y purificación de distintos clústeres cuánticos atómicos de cobre y plata, así como el estudio de sus propiedades catalíticas. Dentro de este marco general, los objetivos más concretos en que se ha centrado la tesis son:

1. Optimizar la caracterización de clústeres cuánticos atómicos por espectrometría de masas de cuadrupolo simple con ionización por electrospray como fuente de iones.
2. Estudiar diversos métodos de separación con el fin de evaluar su idoneidad en la purificación de clústeres subnanométricos, así como optimizar aquellos que han resultado ser los más adecuados.
3. Desarrollar un método de extracción líquido-líquido con el fin de extraer clústeres de plata protegidos por ligandos protectores fuertes de una fase orgánica de acrilato a agua.
4. Evaluar las propiedades catalíticas de diversos clústeres cuánticos atómicos mediante su aplicación a reacciones de degradación de colorantes y optimizar los parámetros experimentales.



3 INTRODUCCIÓN

3.1 NANOTECNOLOGÍA Y NANOMATERIALES, UN ENFOQUE ACTUAL

Hoy en día a nadie le resulta ya extraño el término nanotecnología, tras el auténtico *boom* tecnológico al que hemos asistido durante las últimas décadas en lo que ya se ha comenzado a denominar como la tercera revolución industrial. En los últimos años, el descubrimiento y anuncio de innovadores materiales con increíbles propiedades y aplicaciones que hasta no hace mucho se reservaban a la ciencia ficción se ha sucedido de manera incesante, hasta hacer de la nanotecnología algo cotidiano que nos resulta imprescindible en nuestro día a día. En todos los ámbitos de nuestra vida, desde el ocio hasta la alimentación y la higiene, la nanotecnología nos rodea.

Sin embargo, y aunque su auténtico desarrollo y madurez no se han alcanzado hasta las últimas décadas, no se trata de un campo tan reciente como cabría pensar sino que, a pesar de la ausencia de conocimientos a nivel teórico, podemos encontrarnos múltiples ejemplos prácticos de su aplicación que datan de varios siglos o incluso milenios atrás. Sin ir más lejos, la archiconocida copa de Licurgo es una reliquia de la época del Imperio romano fabricada con vidrio dicróico, haciendo que la copa cambie de color al ser iluminada desde la parte delantera o desde la trasera. Lo que produce este increíble fenómeno es, precisamente, un ejemplo de nanotecnología, y más concretamente la presencia de nanopartículas de oro y plata dentro del vidrio. Otro de los más célebres ejemplos históricos de uso de nanotecnología lo podemos encontrar en las coloridas vidrieras de las catedrales góticas construidas durante la Edad Media, que deben sus vivas tonalidades a nanopartículas metálicas de diferentes formas y tamaños. Asimismo, eran empleadas por los artesanos de la antigua Mesopotamia para dotar a sus cerámicas de efectos resplandecientes¹.

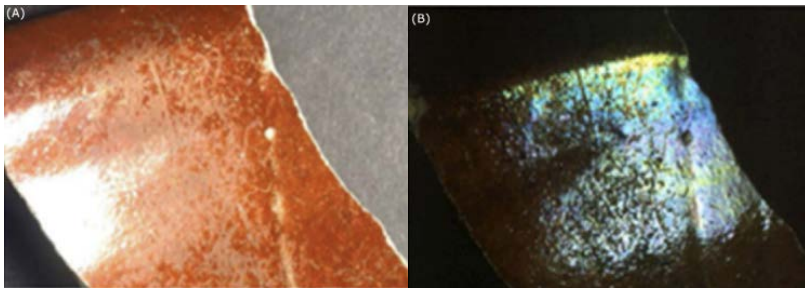


Figura 1. Lustre de una cerámica del siglo IX procedente de Susa (Mesopotamia), mostrando un color rojo o azul y verde al ser observada desde diferentes ángulos. Imagen obtenida de la referencia 1.

Será ya a mediados del siglo XIX cuando Michael Faraday presente su ensayo clásico acerca de las propiedades ópticas de los metales en escala nanométrica², ampliado años más tarde por Turner con sus estudios de *filmes* metálicos transparentes³. Ambos constituyen algunos de los primeros ejemplos de trabajos científicos de investigación de nanomateriales. Sin embargo, para muchos el comienzo de la historia de la nanotecnología tiene su origen en el año 1959, con el ya célebre discurso de Richard Feynman en la Universidad de Caltech *There is plenty of room at the bottom* (“Hay mucho espacio en el fondo”), en el que expone que, a su modo de ver, los principios de la física no se pronuncian en contra de la posibilidad de la manipulación de la materia a escala atómica. Feynman se había inspirado en el cuerpo humano, donde la manipulación de los átomos, células y ADN, que tienen una importancia vital en el funcionamiento de un organismo, podría ser la clave para curar la amplia mayoría de enfermedades. Años más tarde, en 1974, Norio Taniguchi acuña el término nanotecnología, popularizado por K. Eric Drexler quien inicia además el campo de la nanotecnología molecular con su trabajo acerca de la manipulación a nivel molecular⁴ en el año 1981. En el mismo año, Gerd Binnig y Heinrich Rohrer desarrollan en IBM Zúrich el microscopio de efecto túnel (STM), que permite visualizar superficies a nivel atómico. Durante los años siguientes comienzan a brotar, aún a cuentagotas, algunos avances importantes en este campo, como son el descubrimiento de los fullerenos por Harry Kroto (1985) o la creación, un año más tarde, del primer microscopio de fuerzas atómicas o AFM.

La relevancia de estos descubrimientos queda constatada en el hecho de que varios de los investigadores que las llevaron a cabo han sido premiados con el prestigioso premio Nobel, como es el caso de Binnig, Rohrer y Kroto.

En los años posteriores, una amplia variedad de investigaciones se sucede en diversos campos como la síntesis de nanomateriales, métodos de caracterización adecuados o múltiples aplicaciones para los nuevos materiales obtenidos. Es en este momento cuando la nanotecnología comienza a tomar relevancia, con un aumento exponencial tanto en el número de publicaciones como en el gasto de inversión en investigación. Sin embargo, no será hasta el cambio de milenio cuando se produzca la auténtica revolución nanotecnológica, que continúa aún hoy en día y tiene como consecuencia la masiva aparición de productos de consumo que hacen uso de los nuevos nanomateriales creados, hasta establecerse por completo en todos los ámbitos de la sociedad.

Así, se han desarrollado una amplia variedad de técnicas de caracterización tan avanzadas que consiguen llegar a límites físicos impensables hasta no hace mucho, como son la visualización directa de enlaces moleculares a través de microscopías realizadas a un elevado vacío y a temperaturas cercanas al cero absoluto con el fin de minimizar las vibraciones intrínsecas de las propias moléculas, o la detección de especies individuales mediante espectroscopia Raman aumentada por superficie (SERS). De forma paralela, se ha desarrollado una gigantesca gama de nanomateriales muy diversos con propiedades inéditas hasta el momento, como son los nanotubos de carbono o el grafeno y sus equivalentes formados por otros elementos, nanopartículas metálicas funcionalizadas, materiales nanocompuestos biocompatibles, películas delgadas o *thin films*, materiales nanoporosos o superficies

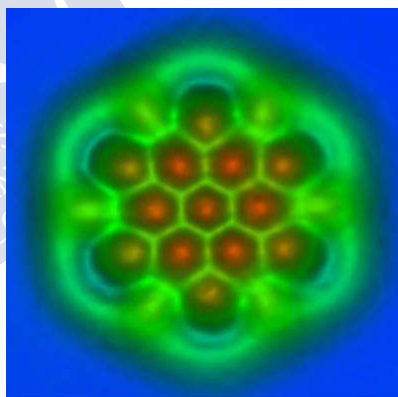
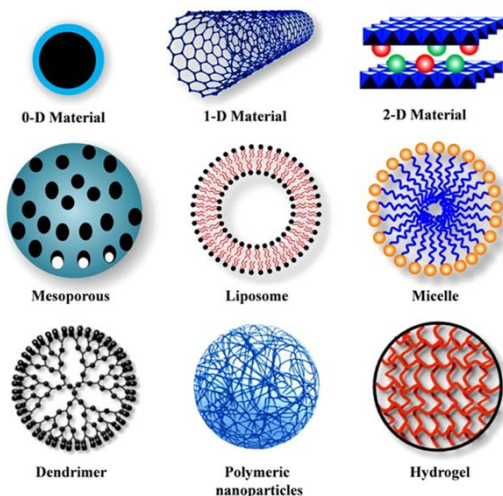


Figura 2. Imagen de una molécula de nanografeno obtenida por microscopía AFM en modo de no contacto, en la que se aprecian sus enlaces carbono-carbono. Imagen obtenida de phys.org.

nanoestructuradas, por citar sólo algunos ejemplos genéricos⁵. La importancia de estos nuevos materiales reside, no sólo en nuevas propiedades de gran interés, como la capacidad para atravesar barreras biológicas, grandes resistencias mecánicas o elevadas relaciones superficies-volumen, sino especialmente en la combinación única de estas propiedades en un sólo material, inconcebible en los materiales



tradicionales. No obstante, es la aplicación práctica de los nanomateriales y técnicas de fabricación lo que en realidad ha revolucionado la vida tal y como se conocía en todos los sectores de la sociedad, a través de su uso en campos como las energías renovables, la salud o la industria alimentaria. Mención aparte merece el campo de la nanoelectrónica, donde los avances en la fabricación de equipos electrónicos y redes

Figura 3. Algunos ejemplos de diferentes tipos de nanomateriales. Imagen obtenida de la referencia 5.

de comunicación han moldeado la sociedad global moderna tal y como la conocemos, antojándose a estas alturas imprescindible tanto en la vida laboral como en la personal. Esto ha sido posible gracias a la aplicación de nanomateriales basados en semiconductores y tierras raras, y sobre todo a las increíbles técnicas de nanolitografía que permiten la fabricación de chips electrónicos que integran millones de transistores de unos pocos nanómetros en una placa de tan sólo unos centímetros de superficie. Asimismo, la nanotecnología es la piedra angular de la que, de terminar produciéndose, se espera que sea la próxima gran revolución tecnológica como es la computación cuántica, en la que ya se han producido los primeros progresos.

Llegados a este punto, y en plena madurez de la nanotecnología, la mayoría de los retos que se plantean de cara al futuro a medio y largo plazo tienen un factor común, y es la preocupación por el estado y el cuidado del medioambiente. En este sentido, se abre todo un abanico de oportunidades de cara a la investigación, que abarca desde el desarrollo de nuevas tecnologías basadas en energías renovables y su implantación a nivel global hasta nuevos medicamentos y remedios para enfermedades causadas por la contaminación y los productos químicos usados, pasando por una transformación general de los métodos de fabricación y los materiales empleados. Algunos ejemplos de los últimos avances en este aspecto son el desarrollo de síntesis verdes y de materiales biodegradables obtenidos a partir de recursos renovables como las ligninas funcionalizadas, las nanocelulosas⁶, plásticos fabricados por bacterias modificadas genéticamente⁷ o el *shrilk*⁸, un polímero de gran resistencia mecánica generado a partir del quitosano de las cáscaras de los crustáceos.

Los clústeres metálicos subnanométricos, que son la base de las investigaciones presentadas en esta tesis y serán explicados en profundidad en el siguiente apartado, constituyen el siguiente paso a las nanopartículas en el desarrollo de la nanotecnología y tienen mucho que decir en este sentido, ya que poseen una serie de propiedades únicas y totalmente innovadoras que pueden resultar de gran utilidad en aplicaciones tan diversas como la fabricación de células solares fotovoltaicas flexibles de elevada eficiencia, terapias anticancerígenas, producción de hidrógeno, eliminación de dióxido de carbono o degradación de plásticos y otros contaminantes.

3.2 CLÚSTERES METÁLICOS SUBNANOMÉTRICOS: EN LA FRONTERA DEL MUNDO CUÁNTICO

Se ha descrito de forma breve la historia de la nanotecnología, así como su estado actual y algunos ejemplos prácticos pero, ¿qué es realmente lo “nano”? El prefijo nano hace referencia a un factor 10^{-9} , por lo que en dimensiones de longitud equivale a la milmillonésima parte de un metro ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$), unas 10000 veces más pequeño que lo que puede ser apreciado por el ojo humano. La escala de tamaños representada en la Figura 4 permite hacerse una idea del insignificante tamaño de los

nanomateriales en comparación con otros materiales, organismos y entidades más conocidas.

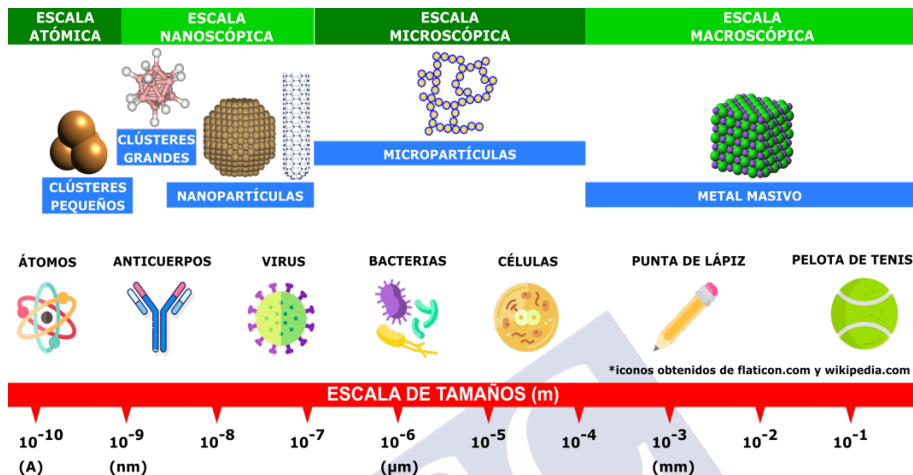


Figura 4. Escala de tamaños de la materia, mostrando tanto los diferentes tamaños de partícula (parte superior) como ejemplos representativos conocidos de las diferentes zonas de la escala (parte inferior).

Los clústeres metálicos subnanométricos o clústeres cuánticos atómicos (AQC, por sus siglas en inglés) son partículas que consisten en agrupaciones de tan sólo unos pocos átomos metálicos, con una composición bien definida y una o muy pocas estructuras geométricas estables. Su reducido tamaño, inferior a 1 o 2 nm, es incluso menor que algunas magnitudes físicas características como la longitud de onda de De Broglie. Esto les confiere toda una serie de nuevas propiedades que están fuertemente influenciadas por efectos de confinamiento cuántico. Dichas propiedades dependen fundamentalmente de dos factores: el elemento metálico y el número de átomos que lo forman, aunque la enorme dependencia de las propiedades con su tamaño queda constatada en el hecho de que una variación de tan sólo un átomo puede alterar completamente las propiedades de un clúster, pasando por ejemplo de tener una elevada eficiencia catalítica en una reacción concreta a ser totalmente inactivo.

Para comprender un poco mejor las propiedades de los clústeres metálicos subnanométricos, lo mejor es situarlos en el contexto de la

escala de tamaño de partículas de los materiales metálicos. Los metales en estado masivo se caracterizan por su elevada conductividad eléctrica y térmica, lo cuál ha sido aprovechado en gran cantidad de diversas aplicaciones. Esta elevada conductividad se debe a su estructura electrónica, compuesta por niveles de energía tan próximos entre sí que llegan a formar bandas continuas de energía, dando lugar a una banda de valencia y una banda de conducción. En el caso de los metales dichas bandas se solapan permitiendo a los electrones pasar fácilmente de la banda de valencia a la de conducción, lo que explica la elevada conductividad eléctrica/térmica característica de estos materiales.

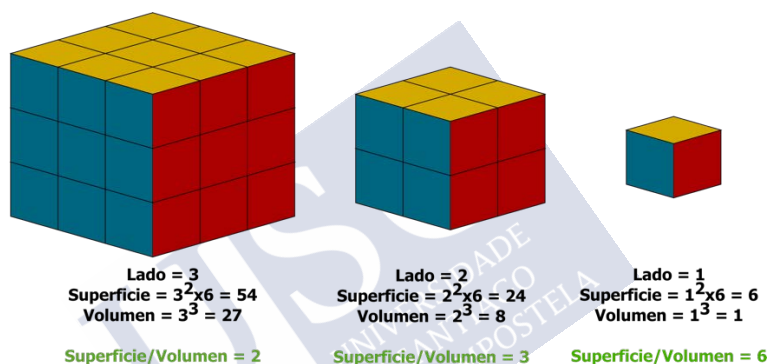


Figura 5. Esquematización de la variación de la relación superficie/volumen con la disminución del tamaño de partícula.

Cuando el tamaño de los materiales metálicos se reduce por debajo de ≈ 100 nm (campo de los nanomateriales) se producen cambios en algunas de las propiedades del metal. En lo que se refiere a su estructura electrónica, ésta se mantiene invariante, conduciendo tanto la electricidad como el calor de la misma forma que el metal masivo. Sin embargo, se produce una modificación de todas aquellas propiedades que dependen de la relación superficie/volumen como la afinidad electrónica, los potenciales de ionización o la temperatura de fusión. Esta elevada relación superficie/volumen es también la razón de que las nanopartículas resulten especialmente útiles en el campo de la catálisis, aumentando de forma notable la eficiencia en comparación con los catalizadores convencionales. Otra de las ventajas del uso de nanopartículas es la posibilidad de su modificación superficial, donde

la adición de diferentes ligandos posibilita aplicaciones específicas tanto industriales como biológicas. La relación superficie/volumen muestra una elevada dependencia con el tamaño, aumentando de forma notable al reducir el tamaño de partícula. Esto se muestra de manera visual en la Figura 5.

Al seguir disminuyendo en la escala de tamaños hasta aproximadamente un par de nanómetros se encuentran los clústeres metálicos. Estos materiales se caracterizan por la pérdida de las bandas electrónicas características de los materiales metálicos, dando lugar a la discretización de los niveles energéticos y a la aparición de una banda de energías prohibidas, hueco HOMO-LUMO o *band gap*, similar al de las moléculas o de los semiconductores tradicionales. Debido a este efecto cuántico los clústeres de átomos metálicos presentan propiedades magnéticas, catalíticas y fotoluminiscentes innovadoras y totalmente diferentes tanto de las nanopartículas como de las de los metales en estado masivo⁹.

De modo general, los clústeres metálicos pueden clasificarse en función de su tamaño en grandes y pequeños. Los clústeres grandes están formados por un núcleo de alrededor de 10-20 hasta 100-200 átomos metálicos, con una coraza protectora de ligandos fuertes como dendrímeros, fosfinas o tioles que resulta imprescindible para su estabilidad, evitando su descomposición. Por otra parte, los clústeres pequeños se componen únicamente de un reducido número de átomos metálicos, aproximadamente de 2 a 10-20. Se caracterizan por su elevada estabilidad sin necesidad de ningún ligando protector, y por el hecho de que casi la práctica totalidad de los átomos que lo forman son superficiales.

Teniendo en cuenta la enorme variación en las propiedades de los materiales en función del tamaño de partícula, se puede concluir que en la tabla periódica tradicional deberíamos añadir una nueva dimensión, que muestre, para cada elemento concreto, toda una nueva gama de materiales con diferentes propiedades dependientes del tamaño y que se encuentra entre el estado atómico y el elemento en estado masivo. Esta nueva tabla periódica en 3D se muestra de forma esquemática en la Figura 6.

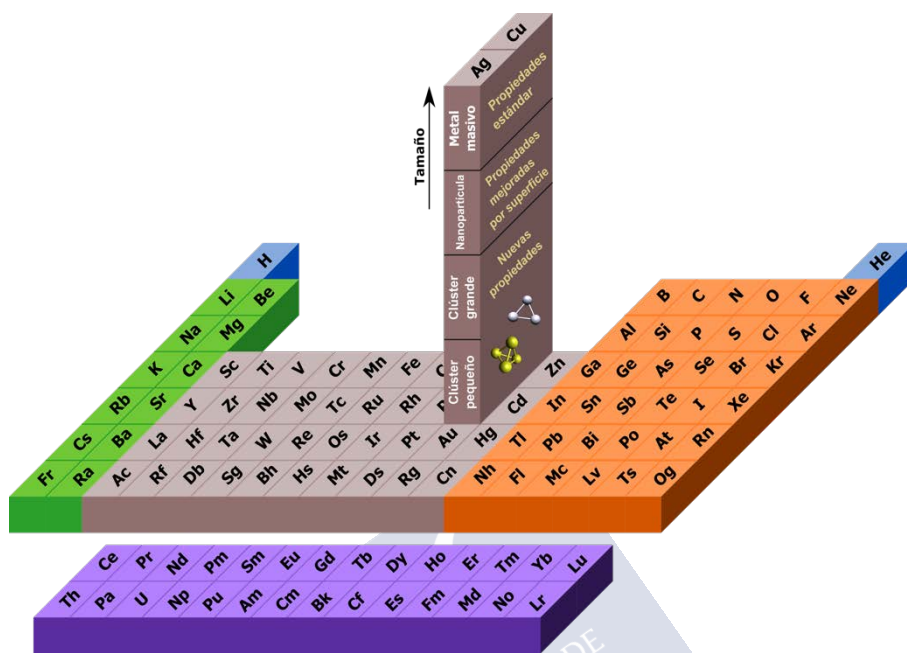


Figura 6. Tabla periódica de los elementos en tres dimensiones, que muestra la variación de las propiedades en función del tamaño de partícula.

3.3 ESTRUCTURA ELECTRÓNICA Y ESTABILIDAD DE LOS CLÚSTERES

La estructura electrónica de los clústeres metálicos, tal y como se ha explicado anteriormente, está marcada por la discretización de los niveles de energía y por la aparición de un hueco HOMO-LUMO centrado en el nivel de Fermi del material masivo. Esta energía de la banda prohibida se incrementa conforme el tamaño del clúster se hace más pequeño, y es la que permite explicar que estas propiedades sean fuertemente dependientes del tamaño.

Aún con los poderosos medios computacionales actuales, resulta bastante complicado realizar cálculos muy precisos (*ab initio*) de la estructura electrónica de los clústeres, especialmente cuando éstos contienen bastantes átomos, debido al elevado número de electrones de los átomos presentes en los metales. Aunque para evitar esos problemas se han desarrollado métodos computacionales más sencillos, como los métodos DFT (density functional theory), sin embargo,

siguen siendo laboriosos y requieren siempre su comparación con métodos *ab initio* para comprobar su fiabilidad. Es por ello por lo que se han desarrollado diferentes modelos mucho más sencillos y aproximados que permiten simplificar de forma considerable los cálculos de la estructura y propiedades físicoquímicas de los clústeres. Uno de estos métodos es el modelo del *jellium*¹⁰, originalmente desarrollado para clústeres de Li, Na y K en fase gas. La base de este modelo es el reemplazo del clúster por una coraza electrónica consistente en una esfera de *jellium* cargada uniforme y positivamente, ejerciendo un potencial atractivo sobre una nube de electrones que se mueve en el campo eléctrico creado por la esfera. Los electrones de valencia aportados por cada átomo del clúster ocupan niveles de energía que se llenan de acuerdo con el principio de Aufbau.

Mediante el uso de este modelo es posible calcular la energía total en función del tamaño del clúster, obteniendo ciertas discontinuidades en dicha energía que se corresponden con configuraciones electrónicas de capa cerrada. Esto se traduce en la abundancia de determinados clústeres excepcionalmente estables formados por un cierto número de átomos (2, 8, 20, 34, 40, 58, 92...). Son los llamados números mágicos y concuerdan con las observaciones experimentales de propiedades como las abundancias obtenidas mediante espectrometría de masas o los máximos de los potenciales de ionización.

El uso del modelo del *jellium* proporciona una buena aproximación para muchas de las propiedades físicoquímicas de los clústeres⁹, y resulta especialmente adecuado para metales con configuración de capas¹ como los alcalinos o Cu, Ag y Au. Asimismo, este modelo es capaz de predecir la aparición del hueco HOMO-LUMO, cuya relación con el número de átomos del clúster sigue la forma

$$E_g = \frac{E_{Fermi}}{N^{\frac{1}{3}}}$$

donde E_g es la energía de la banda prohibida, E_{Fermi} es la energía del nivel de Fermi del metal masivo y N es el número de átomos que forman el clúster. Además, es posible calcular también la posición de la banda de conducción mediante la ecuación

$$E_{CA} = \chi - E_{Fermi} - \frac{1}{2}E_g$$

donde E_{CA} es la posición de la banda de conducción y χ la electronegatividad del metal. Tanto la energía de la banda prohibida como la posición de la banda de conducción son controlables, ya que se pueden modificar mediante la utilización de diferentes elementos metálicos, el número de átomos del clúster, la presencia de ligandos protectores o soportando los clústeres en un sustrato determinado.

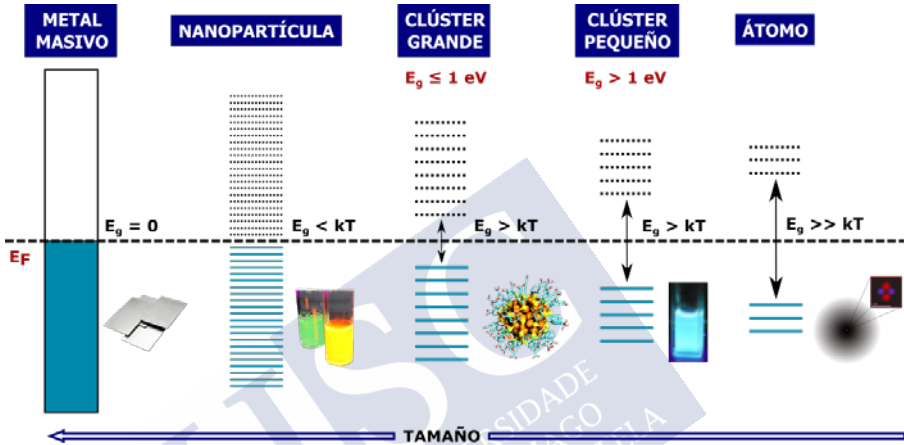


Figura 7. Representación esquemática de la variación de la estructura electrónica de los metales en función del tamaño de partícula.

En la Figura 7 se muestra la variación de la estructura electrónica de los materiales metálicos en función de su tamaño. Dicha estructura se representa para los metales en forma de bandas continuas de energía: la banda de valencia (azul) y la de conducción (blanca). En el caso de las nanopartículas, dichas bandas se representan en forma de niveles de energía (ocupados abajo y desocupados arriba) que se solapan, aunque su densidad de estados electrónicos es menor. Tanto en los metales masivos como en las nanopartículas los electrones poseen a temperatura ambiente la suficiente energía (kT) para pasar de la banda de valencia a la de conducción, lo que les confiere su elevada conductividad eléctrica y térmica. Por el contrario, la discretización de los niveles energéticos en los clústeres metálicos lleva a la aparición del hueco HOMO-LUMO, perdiendo los electrones la capacidad de promocionarse a los niveles desocupados a temperatura ambiente. Esto

convierte a los clústeres en una especie de semiconductores moleculares.

De acuerdo con la misma figura, los clústeres grandes poseen un hueco HOMO-LUMO ≤ 1 eV, por lo que la energía de los fotones de luz visible o IR es suficiente para excitar sus electrones de valencia. En cambio, los clústeres pequeños poseen un HOMO-LUMO grande, $\gg 1$ eV, por lo que la energía de la luz visible no es suficiente para producir dicha excitación y se requiere radiación más energética como la ultravioleta. Esta banda prohibida de elevada energía le confiere a los clústeres pequeños una gran estabilidad, permaneciendo inalterados en disolución durante años, además de hacerlos extremadamente estables frente a la oxidación, la temperatura, el pH o incluso la radiación ultravioleta¹¹.

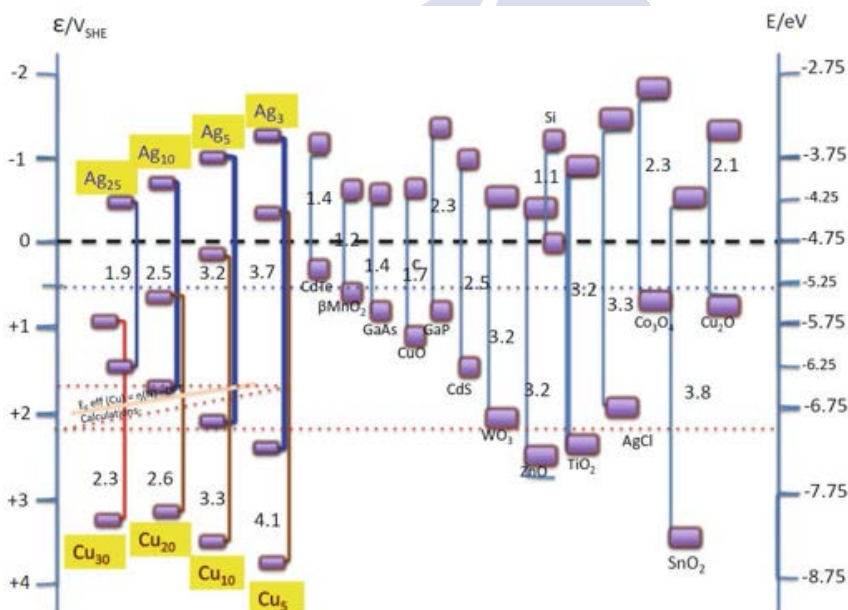


Figura 8. Comparación esquemática de los huecos HOMO-LUMO de diferentes clústeres de cobre y plata calculados mediante el modelo del *jellium*, así como las posiciones de los orbitales HOMO y LUMO (similares a las bandas de valencia -BV- y de conducción -BC-, respectivamente, en los semiconductores). Se muestran además para su comparación los valores de la energía de las bandas prohibidas de algunos semiconductores tradicionales, así como la posición de las bandas BC y BV. Figura obtenida de la referencia 9.

La elevada dependencia de la energía de la banda prohibida de los clústeres con su tamaño y el metal del que están formados puede verse de forma clara en la Figura 8. En ella se representan asimismo los valores correspondientes a diferentes semiconductores tradicionales bien conocidos.

Mediante el uso de cálculos DFT (teoría del funcional de la densidad) se han realizado más recientemente¹² estudios de la estructura electrónica de los clústeres, tanto grandes como pequeños. Estos métodos han permitido comprobar los efectos de la presencia de ligandos protectores y predecir los valores de sus huecos HOMO-LUMO, pudiendo observarse una buena concordancia con los resultados obtenidos mediante el simple modelo del *jellium*.

3.4 PROPIEDADES Y APLICACIONES DE LOS CLÚSTERES METÁLICOS

Una de las características más notables de las nanopartículas es sin duda la presencia de las bandas plasmónicas superficiales (SPB). Este fenómeno se produce cuando una nube de electrones superficiales oscila colectivamente debido a la interacción con la luz entrando en resonancia con determinadas longitudes de onda, y tiene lugar cuando el tamaño de la partícula es mucho menor que la longitud de onda de la radiación incidente¹³.

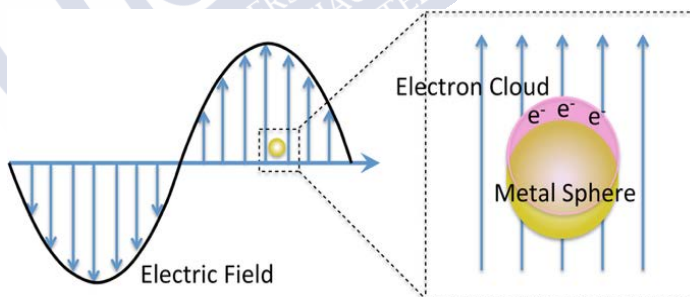


Figura 9. Representación del fenómeno de resonancia plasmónica superficial característica de las nanopartículas metálicas. Imagen obtenida de [Wikimedia.org](https://www.wikimedia.org).

Precisamente es esto lo que proporciona a las nanopartículas de Cu, Ag y Au sus vivos colores característicos, los cuales dependen a menudo fuertemente de su tamaño, y permiten su caracterización de forma sencilla mediante espectroscopia ultravioleta-visible. Las longitudes de onda a las que se producen dichas resonancias

dependen de factores tales como el tamaño y la forma o la composición de nanopartículas, dando lugar a bandas de absorción características de diferente complejidad y energía (Figura 10 a).

Sin embargo, tal como se comentó anteriormente, cuando el tamaño de la partícula metálica se reduce por debajo de aproximadamente 1-2 nm, el carácter metálico se pierde. En los clústeres metálicos, los electrones pierden su capacidad de promocionarse por efecto térmico a los niveles de energía desocupados y se produce la desaparición de la resonancia plasmónica superficial típica de las nanopartículas. En su lugar, se observa en los clústeres grandes una disminución continua de la absorbancia similar a la presentada por los semiconductores tradicionales (Figura 10 b). En el caso de los clústeres pequeños, muestran bandas de absorción bien definidas que recuerdan a las encontradas en las especies moleculares (Figura 10 c). Dichas bandas serán más definidas cuanto menor sea su tamaño.

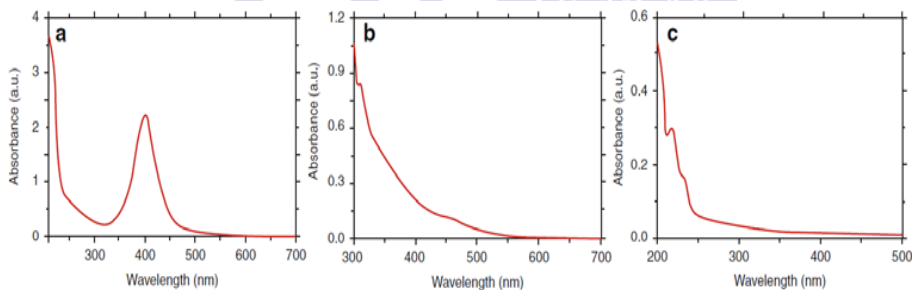


Figura 10. Espectros UV-Vis de nanopartículas de plata con una banda plasmónica a ~ 400 nm (a), clústeres de plata grandes protegidos por surfactante mostrando una disminución continua de la absorbancia (b) y clústeres de plata pequeños sin ligandos protectores con bandas de absorción bien definidas (c).

Como consecuencia de su hueco HOMO-LUMO los clústeres poseen en lugar de la SPB propiedades fotoluminiscentes. La luminiscencia que presentan depende del valor de la banda prohibida, por lo que dependerá también -según el modelo de *jellium*- tanto del metal del que están compuestos como del número de átomos que lo forman¹⁴. Debido a esto, puede usarse la espectroscopia de luminiscencia para estimar el valor del hueco HOMO-LUMO del clúster y, mediante la ecuación derivada de dicho modelo, obtener el número aproximado de átomos que forman el clúster.

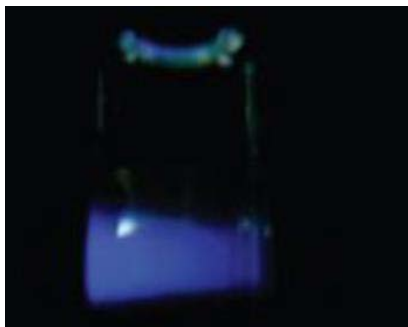


Figura 11. Emisión luminiscente de una disolución de clústeres de cobre pequeños tras su excitación a 296 nm. Imagen obtenida de la referencia 40.

Como las transiciones ópticas se producen tanto en el UV-Visible (clústeres pequeños) como en el infrarrojo (clústeres más grandes) abren a los clústeres potenciales aplicaciones ópticas, como son la construcción de diferentes tipos de dispositivos emisores de luz o el marcaje fluorescente de moléculas, de interés en biología. Además, su naturaleza inerte, biocompatibilidad y reducida fotoextinción en comparación con los fluoróforos orgánicos resultan de especial interés en este campo.

Uno de los aspectos más importantes en relación a las propiedades de los clústeres metálicos y sus potenciales aplicaciones es sin duda la posibilidad de ajustar dichas propiedades, tanto ópticas como electrónicas o químicas, mediante el incremento o disminución del número de átomos que lo forman y el propio metal del que están compuestos. Esto, junto con otros factores como la presencia o ausencia de ligandos, que cobra relevancia no sólo de cara a posibles efectos de impedimento estérico en disolución sino también especialmente en las interacciones que sufren los clústeres al ser depositados, determina de forma crucial sus posibles aplicaciones.

Los efectos de confinamiento cuántico debidos a su reducido tamaño, junto con su banda de prohibida de energías y su estructura

geométrica son la clave de sus excepcionales propiedades catalíticas. Al depender dicha banda de forma estricta del metal y del número de átomos que forman el clúster, cada clúster particular podrá resultar en la práctica adecuado para catalizar determinadas reacciones concretas. Además, el hecho de que el intervalo de energías prohibidas que se puede cubrir con los clústeres de diferentes metales y tamaños abarca la práctica totalidad del abanico que presentan los semiconductores típicos, resulta evidente su gran potencial para que se puedan aplicar a una gran variedad de reacciones diferentes. Como es de esperar, estas propiedades catalíticas singulares no encuentran análogo en los metales masivos ni en sus formas nanoestructuradas.

De forma general podemos decir que las reacciones en disolución catalizadas por clústeres tienen lugar en dos etapas¹⁵. La primera es la adsorción física del clúster a una de las especies reactivas formando un complejo clúster-reactivo, que puede ser la etapa limitante del proceso e incluso determinar la

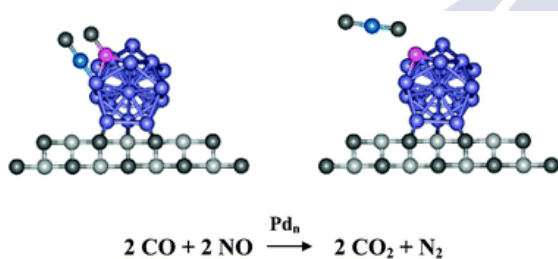


Figura 12. Esquema simplificado de una reacción de oxidación de CO catalizada por clústeres de Pd soportados. Imagen obtenida de la referencia 15.

existencia de un período de inducción. La segunda etapa es la reacción catalítica propiamente dicha, entre el complejo anterior y la segunda de las especies de reacción. El clúster actúa entonces como catalizador para facilitar el intercambio electrónico y/o atómico entre las especies que reaccionan. Se ha observado que para que un clúster sea catalíticamente activo en una reacción particular, la energía de los orbitales del clúster que intervienen en la reacción debe situarse cercano a las energías de los reactivos que participan en ella. Además de su enorme utilidad en catálisis homogénea en disolución, que será comentada de forma más detallada en el capítulo correspondiente a las aplicaciones catalíticas, una amplia gama de clústeres diferentes han demostrado poseer una elevada selectividad y eficiencia catalítica al

ser inmovilizados en distintos soportes^{16,17} en catálisis heterogénea en fase gaseosa. Un ejemplo de ello puede verse en la Figura 12.

Asimismo, dado su comportamiento similar a los semiconductores, los clústeres metálicos pueden actuar como fotocatalizadores. Su tamaño y por ende su banda prohibida, que determinan su capacidad para absorber fotones de distintas longitudes de onda, permiten su utilización en procesos fotocatalíticos muy variados. Así, los clústeres pequeños son adecuados para aplicaciones fotocatalíticas en presencia de radiación ultravioleta, mientras que los clústeres grandes permiten el aprovechamiento de radiación de la región del visible e incluso IR. Entre la gran diversidad de aplicaciones fotocatalíticas de los clústeres cabe mencionar la degradación de contaminantes orgánicos en disolución¹⁸, la fabricación de superficies autolimpiantes y de dispositivos para nanodetección y la fotooxidación de nanopartículas metálicas¹⁹. Mención aparte merece la posibilidad de su aplicación en la producción directa de hidrógeno²⁰ evitando el uso de etapas intermedias como ocurre con los semiconductores típicos. Esto podría permitir la fabricación de celdas de combustible y plantas de producción de hidrógeno de elevada eficiencia, cuyo interés e importancia se demuestran por sí solos si se echa un vistazo al mercado actual, donde diferentes tecnologías basadas en hidrógeno comienzan a aparecer.

Además, los clústeres de pequeño tamaño han demostrado ser muy activos en el campo de la electrocatálisis, por lo que podrían resultar de utilidad en la construcción de celdas de combustible, en la reducción de CO₂ o en el ámbito de la terapéutica, donde son capaces de catalizar reacciones electroquímicas bajo condiciones fisiológicas y a potenciales realmente bajos, incluso sirviéndose del propio potencial de membrana de las células²¹.

Más allá de sus propiedades ópticas y catalíticas, los clústeres poseen otras propiedades interesantes que resultan útiles en gran cantidad de sectores. Por ejemplo, encuentran aplicaciones importantes en el campo de la terapéutica, puesto que algunos clústeres como Ag₃ son capaces de interactuar con las moléculas de DNA intercalándose entre sus hebras²². Esto se relaciona además con su actividad

antibacteriana, permitiendo su integración en superficies con el fin de lograr un efecto bactericida.

Otra de las aplicaciones potenciales de los clústeres metálicos podría ser la fabricación de filmes transparentes conductores (TCFs), que podrían sustituir al óxido de indio y titanio (ITO). El ITO, material de referencia en la actualidad, se encuentra inmerso en una carrera hacia la búsqueda de nuevos materiales para su completa sustitución dada su escasez, su fragilidad y su elevado precio. El uso de clústeres para la manufactura de TCFs -mediante la deposición de una o varias monocapas en un



Figura 13. Pantalla táctil flexible construida mediante TCFs.

sustrato y su posterior sinterización- permitiría un abaratamiento de costes a la par que una reducción en el espesor de los filmes obtenidos. Estos filmes avanzados podrían integrarse en una enorme variedad de dispositivos de tecnología punta como pantallas táctiles flexibles (eligiendo un sustrato de esas características) y transparentes, electrónica impresa, tecnología fotovoltaica flexible o iluminación OLED (basada en diodos emisores de luz orgánicos).

Para finalizar, cabe mencionar la aplicación de los clústeres en diversos métodos de síntesis de nanopartículas anisotrópicas. Generalmente, las síntesis de nanomateriales anisotrópicos resultan realmente complicadas debido a la dificultad de controlar de forma precisa la forma de las partículas obtenidas. Una posibilidad es utilizar clústeres metálicos, que una vez adheridos al sustrato (núcleos o semillas de la reacción), pueden catalizar el crecimiento en una o varias direcciones determinadas. Así, mediante el empleo cuidadoso de diferentes cantidades de clústeres en proporción a la cantidad de sustrato (Figura 14), es posible obtener una gran cantidad de estructuras diferentes que van desde nanocilindros hasta nanotriángulos, pasando por nanofibras, nanoprismas, *multipods* o *thin films*²⁰.

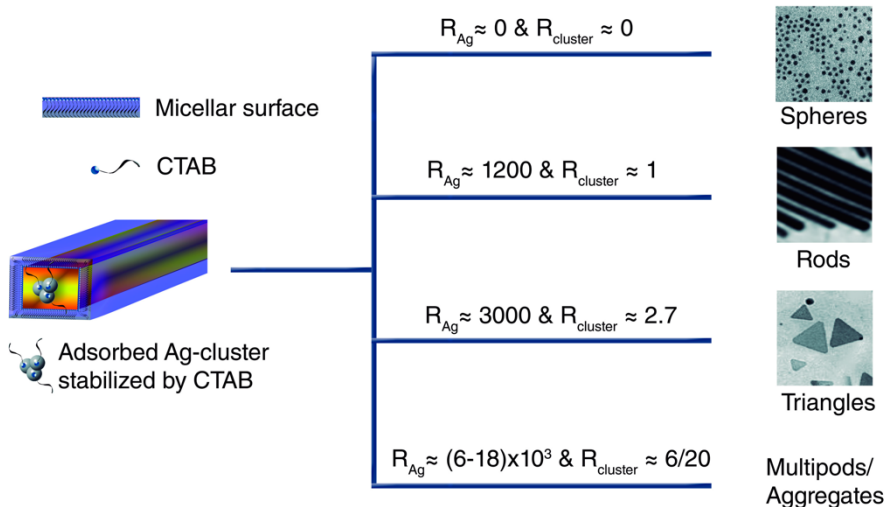


Figura 14. Esquema que muestra las diferentes síntesis anisotrópicas de nanopartículas de oro obtenidas mediante la variación de la proporción entre clústeres de plata y semillas de oro. Se muestran asimismo las imágenes de TEM obtenidas para las partículas sintetizadas. Imagen obtenida de la referencia 20.

3.5 SÍNTESIS DE CLÚSTERES METÁLICOS

La elección de un método de síntesis adecuado resulta crucial de cara al posterior aprovechamiento de las propiedades de los clústeres. Dicho método debe proporcionar clústeres del tamaño deseado, con la menor dispersión de tamaños posible, e intentar simplificar su posterior síntesis que tal y cómo se verá en uno de los capítulos posteriores puede llegar a resultar bastante compleja.

A lo largo de los años se han desarrollado métodos de síntesis diversos que, de la misma forma que ocurre con las nanopartículas, se basan en dos aproximaciones diferentes: *top-down* y *bottom-up*. Algunos de estos métodos se representan de forma esquemática en la Figura 15.

En los métodos de síntesis *top-down*, los clústeres son sintetizados a partir de precursores de mayor tamaño como metal masivo o nanopartículas. El ejemplo más representativo de este tipo de técnica es el *etching* de nanopartículas, basado en el ataque químico de algunos ligandos (como por ejemplo tioles, fosfinas, aminas o polímeros

multivalentes) que son capaces de remover los átomos superficiales de las nanopartículas metálicas o de romperlas en trozos más pequeños. Esto lleva a la formación de clústeres estables protegidos, caracterizados por una estructura electrónica de capa cerrada²³ (Figura 15 a).

Por el contrario, la aproximación *bottom-up* se basa en la síntesis de clústeres a partir de estructuras más pequeñas a nivel atómico como iones o átomos metálicos simples. En este caso existe una mayor variedad de métodos, que se eligen en función del tamaño de los clústeres sintetizados.

La síntesis por reducción química²⁴⁻²⁷ (Figura 15 b), consiste en la reducción de una sal metálica en presencia de un ligando de unión fuerte, lo que permite un buen control del tamaño y de las propiedades superficiales de los clústeres a través de la modificación de parámetros experimentales como la temperatura, el pH, el tiempo de reacción o los reactivos usados.

Por otra parte, existe una gran cantidad de plantillas diversas que se pueden usar a la hora de llevar a cabo la síntesis de clústeres, mediante procedimientos similares a los utilizados en la síntesis de materiales nanoestructurados comunes (Figura 15 c). Así, diferentes polímeros²⁸, proteínas^{29,30}, dendrímeros³¹ e incluso moléculas de ADN^{32,33} pueden ser usados como plantillas en este tipo de métodos.

Asimismo, pueden llevarse a cabo una gran variedad de síntesis en microemulsión (Figura 15 d), en las que diferentes estructuras lipídicas como micelas directas o inversas son empleadas como nanorreactores para controlar el tamaño de los clústeres sintetizados³⁴⁻³⁷. En este tipo de métodos, el control de los parámetros fisicoquímicos del sistema coloidal es la base para la obtención de los resultados deseados.

Es posible además utilizar radiación UV de diferentes longitudes de onda para sintetizar clústeres metálicos mediante reducción fotoquímica (Figura 15 e). A través de la reducción de sales y óxidos metálicos con luz UV se ha conseguido sintetizar diversos clústeres de Ag, Au y Cu protegidos con ligandos^{38,39}.

La síntesis electroquímica es un método versátil que permite sintetizar clústeres de diferentes tamaños, tanto protegidos como desnudos. En este caso, se generan iones metálicos mediante la

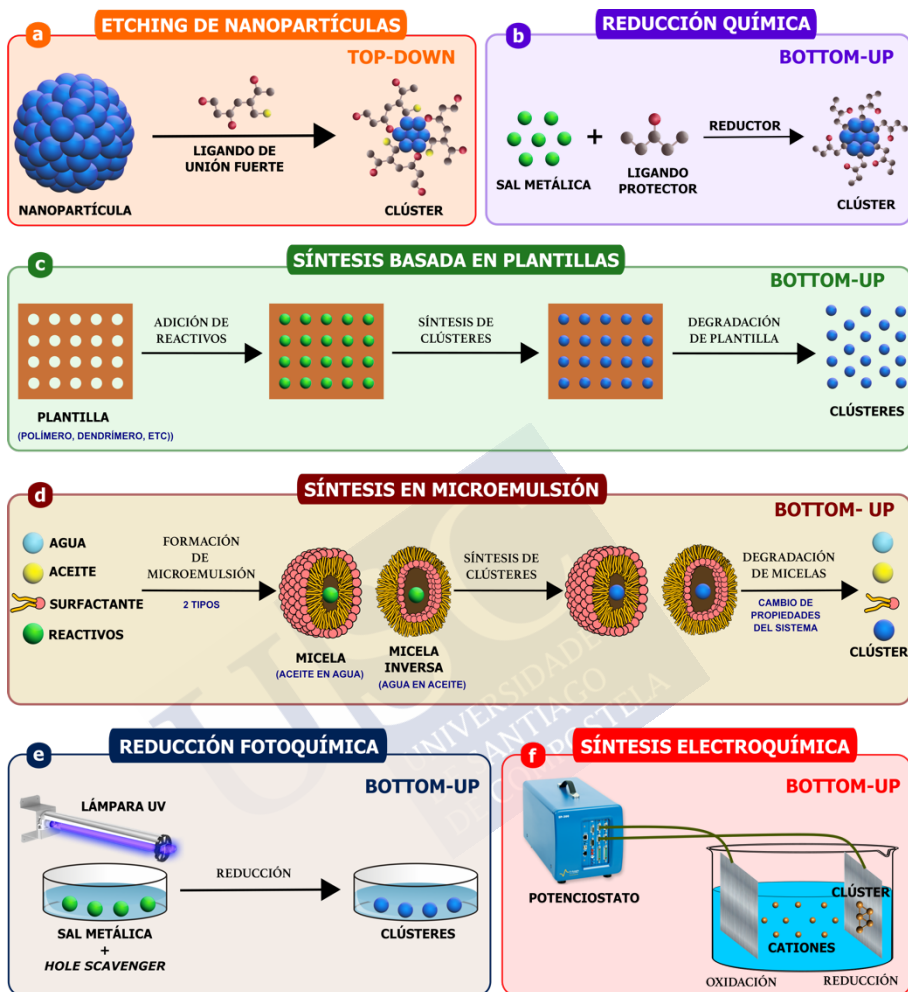


Figura 15. Representación esquemática de algunos de los métodos de síntesis de clústeres metálicos más significativos.

oxidación de un electrodo de trabajo (ánodo), que posteriormente son reducidos en un contraelectrodo (cátodo) llevando a la formación de los clústeres (Figura 15 f). De forma similar a lo que ocurre en el caso de nanopartículas, los clústeres metálicos son obtenidos a través de la nucleación y crecimiento de átomos metálicos, controlando el tamaño de dichos clústeres a través del ajuste riguroso de parámetros

experimentales como la densidad de corriente o la temperatura. Diferentes clústeres de Ag y Cu han sido producidos mediante métodos electroquímicos recientemente desarrollados^{11,22,40}.

De forma general e independientemente de la técnica usada, el control del tamaño de los clústeres sintetizados se realiza de modo diferente según se trate de clústeres grandes o pequeños. En el caso de los grandes, el crecimiento controlado y su estabilidad se consiguen por medio de una enorme variedad de ligandos protectores fuertes. Por el contrario, a la hora de sintetizar clústeres pequeños resulta imprescindible un control preciso de la cinética de reacción. Esto se consigue a través de condiciones de reacción suaves, tanto en lo referente a los reactivos empleados como a los parámetros experimentales, que hacen posible la ralentización de dichas cinéticas.

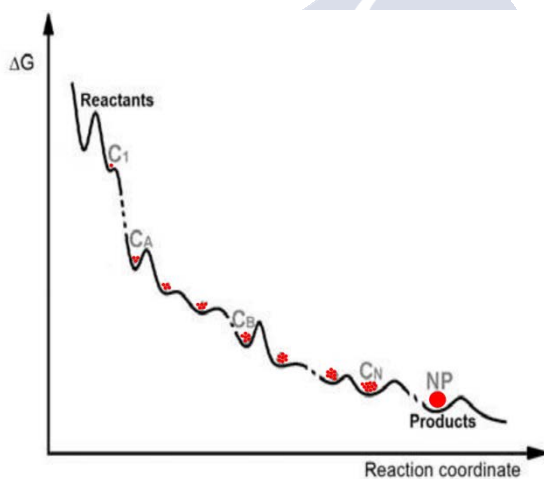


Figura 16. Representación simplificada de la variación de energía libre durante la síntesis de nanopartículas metálicas, que muestra la formación de clústeres con diferente estabilidad en etapas intermedias.

Tal y como se muestra en la Figura 16, durante la síntesis de nanopartículas a partir de la reducción de iones metálicos se producen diferentes clústeres en etapas intermedias de la reacción. Estos clústeres, algunos de ellos con una elevada estabilidad, pueden ser aislados si la reacción es lenta y se detiene a través de un estricto control cinético. Por lo tanto, el enfoque para la obtención de clústeres

pequeños es radicalmente opuesto a lo que ocurre en el caso de nanopartículas, que son obtenidas mediante una reducción rápida que lleva directamente a la obtención de núcleos estables con la misma estructura electrónica del metal masivo.





4 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

4.1 ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ULTRAVIOLETA-VISIBLE

La espectroscopia de absorción ultravioleta-visible (UV-Vis) es una técnica de caracterización basada en la interacción de la luz con la materia, ampliamente usada en los laboratorios tanto en investigación como en análisis de rutina. Mediante su uso se mide la fracción de luz incidente que es absorbida o dispersada por la muestra. Dicha luz incidente se sitúa típicamente entre $\approx 100\text{--}1000\text{ nm}$ del espectro electromagnético, abarcando la práctica totalidad de la región ultravioleta, la región del visible y una pequeña porción del infrarrojo cercano.

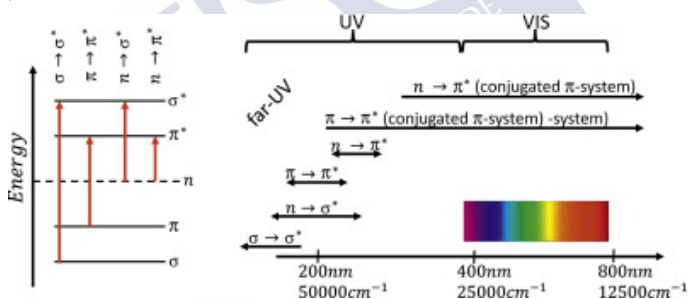


Figura 17. Principales transiciones electrónicas implicadas en la caracterización de especies por espectroscopia UV-Vis y regiones del espectro electromagnético donde se producen. Imagen obtenida de la referencia 41.

A nivel molecular, los fotones de la radiación incidente son absorbidos produciendo transiciones electrónicas entre los niveles de energía de dichas moléculas. A diferencia de lo que ocurre con los átomos, en las moléculas los niveles de energía rotacionales y vibracionales se encuentran superpuestos a los niveles de energía electrónicos, produciendo un ensanchamiento de las bandas de absorción obtenidas. Debido a los distintos niveles de energía característicos de cada compuesto, las bandas de absorción obtenidas también serán propias de cada compuesto, constituyendo lo que se

conoce como su *huella molecular* y permitiendo su identificación. La espectroscopia de absorción molecular UV-Vis resulta de gran utilidad para la caracterización de una amplia variedad de compuestos orgánicos, inorgánicos y biológicos, como por ejemplo moléculas iónicas, compuestos organometálicos y especies que contengan anillos aromáticos (Figura 17)⁴¹.

Las medidas realizadas mediante esta técnica se basan en la medición de la transmitancia óptica T , que es una magnitud referida a la fracción de luz incidente que atraviesa la muestra a una longitud de onda dada, y se calcula como el cociente entre la intensidad de luz después y antes de atravesar la muestra:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Sin embargo, lo más frecuente es representar las medidas como la absorbancia A de las muestras, la cual se define como el logaritmo de la transmitancia con signo negativo:

$$A = -\log T$$

Las medidas experimentales se realizan comúnmente en disolución, y permiten conocer la concentración de los analitos debido a que normalmente dicha concentración se relaciona linealmente con la absorbancia según la ley de Lambert-Beer^{42,43}

$$A = \varepsilon bc$$

donde ε es el coeficiente de extinción o de absortividad molar, el cual es característico de cada especie y varía con la longitud de onda de excitación; b es el paso óptico de la luz a través de la cubeta que contiene la muestra y c es la concentración de las especies absorbentes.

En relación con el trabajo presentado en esta tesis, esta técnica es útil para la confirmación de la presencia de clústeres en las muestras, realizar una estimación de su tamaño y dispersión de tamaños e incluso de su concentración, y para descartar la posible contaminación por presencia de nanopartículas como resultado de la síntesis.

4.2 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

El fenómeno de la fotoluminiscencia tiene lugar cuando una molécula que se encuentra en un estado de excitación electrónica pierde su energía de forma total o parcial mediante la emisión de fotones. Los

tipos de fotoluminiscencia más conocidos son la fluorescencia y la fosforescencia, que se diferencian por el estado de excitación a partir del cuál se producen, lo que lleva a diferentes formas de desactivación hasta el estado fundamental. Mientras que la fluorescencia, que se puede considerar como el proceso complementario a la absorción, es un proceso rápido que se produce en el orden de algunos nanosegundos, la fosforescencia es un proceso significativamente más lento, por lo común del orden de algunos nanosegundos. De los dos tipos de luminiscencia, la fosforescencia es el menos común y se produce en especies muy específicas y bajo unas condiciones muy concretas⁴⁴. El conocido diagrama de Jablonski⁴⁵ (Figura 18) muestra los distintos estados electrónicos de una molécula, así como las diferentes transiciones que se pueden producir entre ellos, y explica el mecanismo tanto de la fluorescencia como de la fosforescencia.

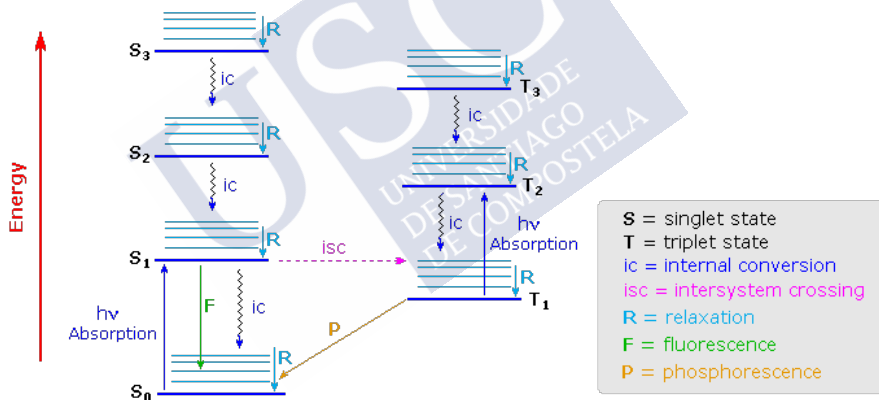


Figura 18. Diagrama de Jablonski. Imagen obtenida de la referencia 45.

La gran utilidad de esta técnica radica tanto en su especificidad como en su elevada sensibilidad, permitiendo obtener límites de detección hasta tres órdenes de magnitud menores que los obtenidos mediante espectroscopia de absorción. Es precisamente debido a esto que se trata de una técnica muy utilizada en el ámbito de la nanotecnología, especialmente en el caso de concentraciones demasiado bajas para ser detectadas a través de otras técnicas instrumentales. Las aplicaciones de esta técnica en la caracterización

de nanomateriales son amplias, ya que tanto las nanopartículas como ciertos clústeres metálicos presentan a menudo propiedades fluorescentes cuyas longitudes de onda de excitación y emisión son dependientes del tamaño. En el caso de clústeres su uso permite determinar el tamaño aproximado y obtener una estimación de la energía de la banda prohibida. Es importante resaltar que la fluorescencia depende no sólo de las propias especies sino también de su entorno químico, y en el caso de los clústeres la presencia de ligandos protectores puede afectar de forma notable a los espectros obtenidos, por lo que resulta fundamental controlar las condiciones de medida.

4.3 ESPECTROMETRÍA DE MASAS

La espectrometría de masas (MS) es, sin ningún género de duda, una de las técnicas de caracterización más importantes y su enorme popularidad continúa en auge, dando cuenta de ello los enormes avances que siguen produciéndose actualmente en el desarrollo de equipos cada vez más innovadores y completos. Se trata de una técnica de gran versatilidad, con aplicaciones en todos los ámbitos de la investigación científica que van desde la identificación unívoca de compuestos hasta su cuantificación, pasando por la obtención de imágenes o el análisis de muestras complejas. Además, dependiendo de la configuración del equipo de medida, es capaz de medir desde las moléculas más pequeñas formadas por unos pocos átomos hasta enormes macromoléculas y complejos moleculares de miles de átomos.

A grandes rasgos, su funcionamiento se basa en la ionización de los analitos de interés para su posterior separación en los llamados analizadores de masas según su relación masa/carga (m/z), que finalmente son detectados y cuantificados por el detector. Se trata de equipos sofisticados y caros (su principal desventaja) que requieren de un alto vacío para la correcta separación de los iones generados, permitiendo la obtención de gran cantidad de información útil en cortos períodos de tiempo.

Los analizadores de masas llevan a cabo su cometido mediante la aceleración de los iones generados a través de campos eléctricos y/o magnéticos. Existen diferentes tipos de analizadores, como el

cuadrupolo, el analizador de tiempo de vuelo (TOF), el de sector magnético o la trampa de iones, que pueden ser usados de forma separada o combinados en equipos híbridos, lo cual es cada vez más común. El analizador de tiempo de vuelo consiste en un tubo alargado que separa los iones según el tiempo que tardan en atravesarlo y llegar al detector, consiguiendo una mayor resolución cuánto mayor sea su longitud. El analizador cuadrupolar o cuadrupolo consigue una resolución menor que el de tiempo de vuelo, y consiste en cuatro barras cilíndricas paralelas que actúan como electrodos positivos y negativos que separan los iones mediante la aplicación de potenciales variables tanto de corriente continua como alterna.

Tabla 1. Comparación de las características de algunas fuentes de ionización

Método de ionización	Analitos típicos	Introducción de muestra	Rango de masas	Características
Impacto electrónico (EI)	Relativamente pequeños y volátiles	Cromatografía de gases o sondas de líquidos/sólidos	Hasta 1000 Daltons	Método duro, información estructural
Ionización química (CI)	Relativamente pequeños y volátiles	Cromatografía de gases o sondas de líquidos/sólidos	Hasta 1000 Daltons	Método blando, información del ion molecular
Ionización por electrospray (ESI)	Péptidos, proteínas y compuestos poco volátiles	Cromatografía de líquidos o inyección directa	Hasta 200000 Daltons	Método blando, a menudo iones con carga múltiple
Ionización/desorción láser asistida por matriz (MALDI)	Péptidos, proteínas y nucleótidos	Muestra depositada en matriz sólida	Hasta 500000 Daltons	Método blando para masas altas

Existen una gran cantidad de fuentes de iones diferentes (ver Tabla 1), y la elección de una u otra resulta clave a la hora de obtener los resultados deseados, ya que dependiendo de la fuente elegida ésta será más adecuada para muestras sólidas o en disolución, con matrices simples o complejas, especies muy o poco volátiles, analitos pequeños o macromoléculas, etc. Es de destacar que para que una especie pueda ser detectada por espectrometría de masas la única limitación es que pueda ser ionizada para que posteriormente pueda separarse y detectarse; esto nos da una idea de la relevancia de la elección de la

fuelle. A grandes rasgos, las fuentes de iones se clasifican en duras y blandas. Las fuentes duras, como la de impacto electrónico (EI), proporcionan una elevada energía y con ello mayor fragmentación y más información estructural. Por el contrario, las fuentes blandas como la ionización por electrospray (ESI) o la desorción/ionización mediante láser asistida por matriz (MALDI) proporcionan menor energía, poca fragmentación y menos información estructural, pero son útiles para la determinación exacta del peso molecular de las especies a analizar⁴⁶. La fuente ESI, usada en este trabajo, es una de las más comunes debido a su simplicidad de uso, su versatilidad y su suavidad, permitiendo conservar enlaces covalentes e incluso complejos⁴⁷. Su funcionamiento se basa en la introducción de los analitos en disolución a través de un capilar cargado, evaporando el disolvente e introduciendo posteriormente los analitos ionizados en el analizador de masas. Su uso requiere la presencia de aditivos previamente añadidos a las muestras, como ácido acético o cloruro amónico, para favorecer la ionización de los analitos.

Las principales ventajas que aporta la espectrometría de masas son su elevada sensibilidad (con límites de detección que pueden llegar a ser del orden de partes por trillón o ppt), su selectividad y su rapidez. A la hora de analizar clústeres metálicos subnanométricos, permite determinar su presencia y composición, así como su tamaño y distribución de tamaños.

4.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Se trata de una técnica eminentemente cuantitativa usada para determinar la concentración de una gran variedad de elementos diferentes, especialmente metales, y puede usarse tanto en muestras simples como complejas, en disolución o directamente en sólidos. Su funcionamiento se basa en la atomización de los analitos, para posteriormente atravesarlos con un haz de luz de una longitud de onda específica para cada compuesto y medir su absorbancia. Mediante la medida de la absorbancia de patrones de diferente concentración de los analitos de interés puede realizarse el calibrado para cuantificar las muestras desconocidas⁴⁸.

La forma de atomización usada determinará en gran medida las características del método, haciéndolo más o menos sensible o permitiendo la introducción de muestras con matrices más complejas. Entre ellas se puede destacar la espectroscopia de absorción atómica de llama (FAAS), la atomización electrotérmica u horno de grafito (ETAAS), la atomización en vapor frío para la determinación de mercurio o la atomización por arco eléctrico⁴⁹.

4.4.1 Espectroscopia de absorción atómica de llama (FAAS)

Se trata de una técnica sencilla y muy extendida, usada para la cuantificación de grandes cantidades de muestras en análisis de rutina. Es útil para muestras líquidas, que se nebulizan mediante un flujo de una mezcla de gas combustible y oxidante generándose la llama en la que se produce la atomización, para luego atravesarla con el haz de luz. Lo más común en este tipo de equipos es utilizar lámparas de cátodo hueco, que son específicas para cada elemento y deben ser reemplazadas cada vez que se desea cambiar el analito a medir. Debido a esto, no es una técnica adecuada para la cuantificación de varios analitos distintos en la misma muestra, dado el tiempo de medida y el elevado consumo de muestra, así como tampoco para muestras de concentraciones muy bajas o con matrices muy complejas.

4.4.2 Espectroscopia de absorción atómica electrotérmica (ETAAS)

También conocida como horno de grafito por el equipo con el que se lleva a cabo, se basa en la evaporación y posterior atomización de la muestra en su interior. Se caracteriza por la aplicación de una rampa de temperaturas en varias etapas en la que se pueden alcanzar valores elevados de temperatura (en torno a 2500°C o incluso más), con una etapa de secado en la que se elimina el disolvente, una de mineralización en la que se destruye la matriz de la muestra y una etapa de atomización en la que se mide la absorbancia de los elementos atomizados. Es común el empleo de modificadores de matriz para aumentar su volatilidad y favorecer así su eliminación mientras se evita la volatilización del analito. Las ventajas respecto a la atomización de llama son claras, ya que, a pesar de ser una técnica más lenta a la hora

de medir, permite la determinación directa de muestras sólidas, suspensiones y muestras de matriz compleja, y disminuye de forma notable las posibles interferencias. Además, se mejora enormemente la sensibilidad pudiendo llegar a obtener límites de detección varios órdenes de magnitud menores.

4.5 ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA DE PLASMA ACOPLADO POR INDUCCIÓN (ICP-OES)

Al igual que ocurre con la espectroscopia de absorción atómica explicada en el apartado anterior, la finalidad principal de esta técnica es la determinación de la concentración de una amplia gama de elementos químicos, aunque también se usa para su identificación rápida en análisis cualitativos. Se fundamenta en la atomización de las muestras para posteriormente medir la intensidad de la luz emitida por los átomos o iones elementales formados, la cual es proporcional a la concentración del elemento en cuestión. Cada átomo emite a unas longitudes de onda concretas, constituyendo lo que se conoce como su espectro de líneas de emisión, permitiendo su identificación⁵⁰. Existen diversos métodos de atomización, como el arco, la chispa y diversos tipos de plasma, aunque en la actualidad el más extendido es el plasma acoplado por inducción o plasma de acoplamiento inductivo (ICP). Su uso requiere la nebulización de la muestra, que posteriormente es atomizada a una elevada temperatura en un plasma de argón generado electromagnéticamente⁵¹.

Las ventajas de la espectroscopia ICP-OES respecto a la espectroscopia de absorción atómica son significativas, como son la reducción de las interferencias resultado de las altas temperaturas alcanzadas, una elevada sensibilidad del orden de partes por billón (ppb) y un amplio intervalo dinámico lineal que permite realizar calibrados de varios órdenes de magnitud. Además, es posible la determinación simultánea de varios elementos, reduciendo el consumo de muestra, y es posible cuantificar elementos no metálicos como cloro, bromo o azufre.

debido a matrices complejas u otros factores. Dicha celda tiene dos modos de funcionamiento: en el modo de reacción, las interferencias son eliminadas mediante la adición de un gas reactivo como oxígeno u amoníaco, mientras que en el modo de colisión se añade un gas inerte como helio y las interferencias son eliminadas a través de sucesivas colisiones a nivel atómico.

Esta técnica se caracteriza por una sensibilidad extremadamente alta, pudiendo llegar a límites de detección de partes por trillón o incluso partes por cuatrillón (ppq), aunque para alcanzar tales niveles se requiere un extremo cuidado en las medidas y la existencia de salas blancas preparadas para su uso exclusivo. Permite además la determinación simultánea de una gran cantidad de elementos, que abarca la práctica totalidad de la tabla periódica (ver Figura 19), y resulta muy adecuada para análisis de rutina de un número elevado de muestras como así lo demuestra su uso estandarizado en campos tan importantes como los análisis de aguas potables o de sangre y fluidos en el ámbito sanitario.

4.7 ELECTRODO SELECTIVO DE IONES (ISE)

El electrodo selectivo de iones es una técnica electroquímica sencilla que resulta muy útil para la cuantificación de iones concretos en un amplio intervalo lineal de concentraciones. Consiste en un transductor que actúa como sensor, convirtiendo la actividad de un ion específico en disolución en una señal eléctrica para su posterior medida en un voltímetro o un conductivímetro. La cuantificación se realiza a través de la ecuación de Nernst, que relaciona el potencial de reducción de un electrodo con el logaritmo neperiano de la actividad iónica en condiciones diferentes de las estándar:

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln(Q)$$

donde E es el potencial corregido del electrodo, E^0 el potencial tabulado en condiciones estándar, R la constante de los gases ideales, T la temperatura, n la cantidad molar de electrones que participan en la reacción, F la constante de Faraday que define la cantidad de carga eléctrica de un mol de electrones y Q el cociente de reacción.

Generalmente, la parte del electrodo que actúa como sensor es una membrana porosa específica para un ion concreto que funciona conjuntamente con un electrodo de referencia a la hora de realizar las medidas. Existen cuatro tipos principales de membranas: vidrio, estado sólido, líquidas y electrodos compuestos⁵³, aunque quizás las de estado sólido son las más extendidas en la actualidad para la mayoría de analitos. Se trata de una técnica extremadamente sensible a las condiciones experimentales, por lo que es necesario controlar con precisión diversos factores como la temperatura y el pH de la muestra, además de requerir la adición de un estabilizador de iones. En el caso de clústeres metálicos subnanométricos, aporta información sobre la concentración de iones metálicos presentes en las muestras como resultados del método de síntesis usado, lo cual resulta imprescindible de cara a su posterior eliminación por precipitación.

4.8 DIÁLISIS

La diálisis es una técnica de separación ampliamente usada en el ámbito sanitario y de la bioquímica en general. Se basa en la difusión de solutos y la ultrafiltración de fluidos a través de membranas semipermeables y resulta especialmente útil para separar moléculas pequeñas, como por ejemplo sales, de otras de mayor tamaño.

4.9 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE)

La extracción en fase sólida es una técnica de purificación basada en la separación de solutos entre una fase líquida (matriz de la muestra) y una fase sólida, en la que los analitos son adsorbidos para ser posteriormente eluidos con otra fase líquida⁵⁴. Los usos de la SPE son variados y dependen de la estrategia elegida y el protocolo empleado, haciendo posible la purificación de muestras complejas, la concentración de analitos, la separación de los componentes de una muestra en diversas fracciones o el intercambio de disolventes. Estos usos dependen en gran medida del medio sólido adsorbente utilizado como relleno en los cartuchos de SPE. Existen gran cantidad de rellenos con aplicaciones diferentes, que abarcan desde fase normal o fase reversa hasta intercambio iónico o rellenos para aplicaciones concretas con analitos específicos.

4.10 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)

La cromatografía líquida de alta eficacia o HPLC es, junto con la cromatografía de gases, la técnica de separación más utilizada en los laboratorios de todo el mundo. Se fundamenta en la separación de una mezcla de analitos disueltos en una fase móvil al atravesar una columna que contiene la fase estacionaria. La separación de dichos analitos se produce en base a su interacción con la fase móvil y la fase estacionaria⁵⁵. Del mismo modo que ocurre en el caso de la SPE, existen numerosas columnas de separación para HPLC, con rellenos que se fundamentan en mecanismos diversos como fase normal, fase reversa, exclusión por tamaños, afinidad o intercambio iónico. La elección de la columna adecuada para el objetivo concreto de la separación es clave para la consecución de los resultados deseados. Se trata de una técnica enormemente versátil, con aplicaciones en la purificación de todo tipo de compuestos desde moléculas de unos pocos Da de peso hasta macromoléculas como polímeros o proteínas.

La enorme utilidad del HPLC reside, además de en la variedad de columnas y formas de separación, en la posibilidad de utilizar diferentes tipos de detectores a través de la hibridación instrumental, haciendo posible el acoplamiento de espectrómetros de masas, espectroscopios UV-Vis, detectores electroquímicos e incluso resonancia magnética nuclear.

En términos generales, la HPLC resulta adecuada principalmente para la separación y caracterización de muestras complejas, así como para el análisis cualitativo y cuantitativo de especies con concentración a nivel de traza presentes en muestras junto con otras especies de concentración mucho mayor.

4.11 EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO (LLE)

La extracción líquido-líquido es una técnica de separación simple que resulta extremadamente útil a la hora de cambiar una especie de un determinado disolvente a otro en el que es más soluble, así como para purificar los compuestos aprovechando las diferentes solubilidades de los componentes de la matriz^{56,57}.

5 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE CLÚSTERES METÁLICOS

5.1 INTRODUCCIÓN

A pesar del hecho de que la síntesis de clústeres con estrechas distribuciones de tamaños no es una tarea sencilla, se han producido avances tremendamente significativos en este sentido durante los últimos años. Es importante resaltar que el desarrollo y optimización de los métodos de síntesis no es uno de los objetivos del presente trabajo, sino que la síntesis se considera como un paso necesario e imprescindible de cara a disponer de muestras adecuadas para llevar a cabo los estudios de optimización de la caracterización por espectrometría de masas, de diversos métodos de purificación y del estudio de sus propiedades catalíticas. Además, especialmente en el caso de algunos de los métodos de purificación, resulta indispensable que las muestras sean obtenidas previas a su estudio, puesto que en ocasiones las propiedades de las muestras pueden cambiar de forma notable si las impurezas no se eliminan en el momento de su síntesis o al cabo de pocos días de su preparación.

Aunque los clústeres grandes son bastante conocidos y existen numerosas investigaciones en relación con ellos, no ocurre lo mismo con los clústeres pequeños. Si bien es cierto que comienzan a experimentar un cierto auge y los trabajos acerca de ellos son cada vez más comunes, muchos de ellos son eminentemente teóricos, lo que constata el enorme interés de sus propiedades y sus potenciales aplicaciones, pero también la dificultad para su obtención y purificación. En lo referente a la síntesis de este tipo de clústeres, una serie de trabajos recientes totalmente novedosos han solventado en gran medida dichas dificultades, permitiendo la obtención de clústeres de menos de diez átomos en disolución acuosa y sin ningún tipo de ligandos protectores mediante métodos electroquímicos sencillos.

Sin embargo, dada la novedad de los estudios con este tipo de especies, se hace necesario el desarrollo de técnicas de caracterización específicas que permitan no sólo confirmar la presencia de clústeres en las muestras sintetizadas, sino también estudiar su distribución de tamaños. Esta tarea debe realizarse por el momento mediante la adaptación de las técnicas y métodos instrumentales inicialmente desarrollados para compuestos de mayor tamaño, puesto que no existen en la actualidad técnicas particularmente orientadas a este fin, como sí ocurre ya en el caso de las nanopartículas.

En esta tesis, las síntesis de clústeres de Ag_3 ²² y Cu_5 ¹¹ en agua y sin ligandos de protección se han realizado mediante métodos electroquímicos recientemente publicados, si bien el protocolo de síntesis de Ag_3 ha sido ligeramente modificado desde su publicación con objeto de su simplificación. Ambos métodos permiten obtener muestras estables y monodispersas, con una estrecha distribución de tamaños. Se trata en esencia de métodos similares, en los que los clústeres son obtenidos mediante la reducción electroquímica de sales metálicas en condiciones experimentales muy precisas, con el fin de controlar de forma estricta la cinética de la reacción. A diferencia de la mayoría de métodos electroquímicos existentes, no se añade ningún tipo de electrolito a la disolución durante la síntesis, sino que se realiza directamente en agua milli-Q. Esto permite la aplicación de densidades de corriente extremadamente bajas, lo que lleva a una ralentización apreciable de la cinética de reacción y por consiguiente al deseado control cinético del proceso. Cabe destacar asimismo que otros clústeres diferentes utilizados en los estudios, como Ag_5 desnudos o Ag_{10} protegidos con acrilato han sido proporcionados por la empresa Nanogap.

Tal y como se muestra en la Figura 20, la síntesis electroquímica de clústeres metálicos pequeños se produce en 4 etapas: primero se generan iones metálicos a través de la oxidación del electrodo de trabajo, que actúa como ánodo; posteriormente, se produce la migración de los iones generados hacia el contraelectrodo, que actúa como cátodo; luego, dichos iones son reducidos sobre la propia superficie del cátodo; por último, se produce la formación de los

clústeres mediante la agregación de los átomos reducidos sobre dicha superficie.

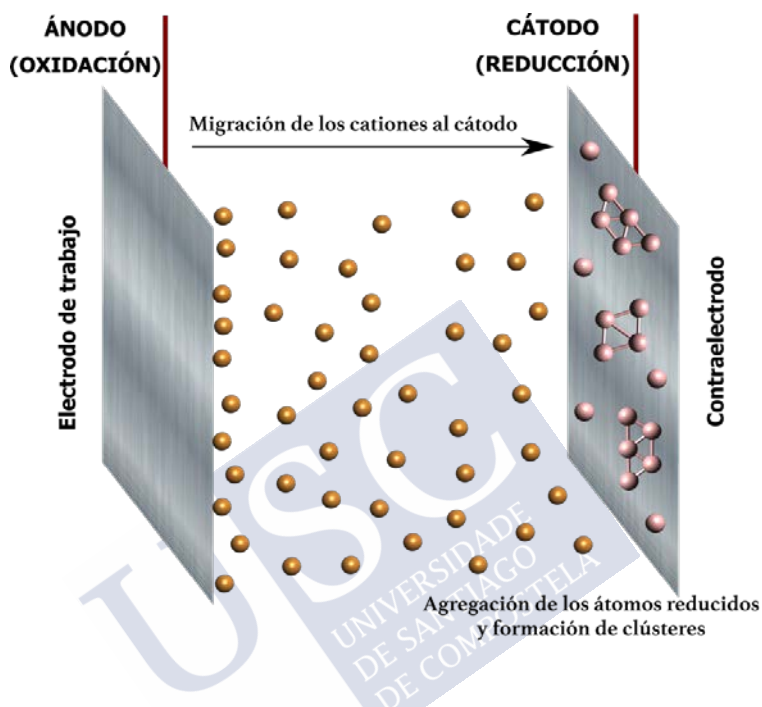


Figura 20. Esquema del proceso de síntesis electroquímica de clústeres metálicos subnanométricos.

Estas síntesis electroquímicas muestran una elevada dependencia de un gran número de parámetros fisicoquímicos, como son la temperatura, el tiempo, el voltaje aplicado, o la propia naturaleza y topografía superficial de los electrodos metálicos usados. La optimización minuciosa de todos estos parámetros es lo que permite la obtención de clústeres de tamaños específicos. El uso de estos métodos de síntesis tiene numerosas ventajas respecto de otras técnicas, puesto que el control de los parámetros experimentales nombrados es muy sencillo, requieren una baja temperatura y el tiempo de reacción es corto.

Posteriormente, se ha llevado a cabo la caracterización rutinaria de los clústeres sintetizados por espectroscopia UV-Visible y espectroscopia de fluorescencia con el fin de confirmar la presencia de clústeres en las muestras, así como realizar una estimación de su tamaño y de la energía de su banda prohibida.

Además de la síntesis y caracterización de los clústeres, en este capítulo se presenta un estudio más completo de la optimización de la caracterización de clústeres mediante espectrometría de masas de cuadrupolo simple. En él se describe de forma pormenorizada la influencia de los diferentes parámetros de medida en los espectros obtenidos y el proceso seguido para obtener una configuración óptima de medida.

5.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

5.2.1 Materiales

A la hora de sintetizar los clústeres cuánticos atómicos de Ag y Cu se han utilizado los siguientes reactivos:

- Agua milli-Q obtenida mediante un sistema de purificación Millipore Direct-Q 8 UV
- Láminas de plata 99,95% (Goodfellow)
- Lámina de cobre 99% (Goodfellow)
- Lámina de platino 99,95% (Goodfellow)
- Polvo de alúmina para pulido 1 μm (Buehler)
- Ácido nítrico 65% (Fisher)
- Ácido sulfúrico 97% (Sigma-Aldrich)

Por otra parte, los reactivos usados en las medidas de caracterización por espectrometría de masas son los siguientes:

- Ácido fórmico grado LC-MS 99,0+% (Fisher)
- Cloruro amónico $\geq 99,5\%$ (Sigma-Aldrich)
- Acetonitrilo $\geq 99,5\%$ (Merck)
- Metanol grado HPLC $\geq 99,9\%$ (Sigma-Aldrich)
- Cloruro sódico $\geq 99,0\%$ (Sigma-Aldrich)
- Hidróxido de sodio $\geq 99,0\%$ (Sigma-Aldrich)

5.2.2 Síntesis de clústeres de Ag₃ y Cu₅

Tal y como se ha mencionado previamente en este capítulo, la síntesis de ambos tipos de clústeres se realiza mediante métodos electroquímicos, similares en esencia, en los que la clave para la obtención de clústeres del tamaño deseado es la precisa regulación de unos determinados parámetros de reacción. Sin embargo, al tratarse de clústeres de metales distintos, existen algunas diferencias significativas en el procedimiento experimental, puesto que la síntesis de clústeres de cobre requiere de algunas etapas adicionales a la síntesis de clústeres de plata, que se explican de forma detallada a continuación.

5.2.2.1 Síntesis de clústeres de Ag₃

La síntesis electroquímica de clústeres de Ag₃ se realiza con un potenciostato Autolab PGSTAT20 en una celda electroquímica Metrohm termostatzada. Se utilizan dos láminas de plata de 2,5 cm², una como electrodo de trabajo y otra como contraelectrodo, y un electrodo de H₂ con hilo de platino como electrodo de referencia para el ajuste del voltaje aplicado. La celda electroquímica se llena con agua milli-Q y se termostatiza a 25 °C con agitación vigorosa y continua. El electrodo de trabajo y el contraelectrodo se sitúan frente a frente en el interior de la celda a una distancia de 1 cm, y se aplica un voltaje constante de 2 V durante 1200 s. Previamente a la síntesis ambos electrodos son pulidos con una lija de tamaño de grano 600 (Wolfcraft) y posteriormente lavados con agua milli-Q y sonicados. Al final de la jornada de trabajo, la celda electroquímica se limpia durante toda la noche con HNO₃.

5.2.2.2 Síntesis de clústeres de Cu₅

El método de síntesis de Cu₅ se realiza mediante un protocolo similar al explicado en el apartado anterior, con una serie de diferencias y condiciones adicionales. En primer lugar, se utiliza una lámina de cobre como electrodo de trabajo y una de platino como contraelectrodo. Además, es necesario realizar la síntesis en una atmósfera de N₂, para lo que se burbujea nitrógeno durante 30 minutos previos a la síntesis, y la celda electroquímica se termostatiza a 12 °C. En este caso, se aplica un voltaje constante de 1 V durante 1000 s. La lámina de cobre se lija

y limpia de igual forma que las láminas de plata en la síntesis de Ag_3 , con una lija de tamaño de grano 1200 (Wolcraft). Por el contrario, el uso de un electrodo de platino requiere un pulido cuidadoso con alúmina en lugar de lijado, seguido de un lavado con agua milli-Q y sonicación. Es preciso asimismo realizar una limpieza electroquímica de la lámina de platino mediante voltametría cíclica en H_2SO_4 1 M. En la Tabla 2 se presentan de forma resumida las condiciones y parámetros experimentales de la síntesis de clústeres de Cu_5 , en comparación con la síntesis de Ag_3 .

Tabla 2. Comparación de las condiciones de síntesis electroquímica de Ag_3 y Cu_5

	Ag_3	Cu_5
Electrodo de trabajo	Plata	Cobre
Contraelectrodo	Plata	Platino
Voltaje / V	2	1
Tiempo / s	1200	1000
Temperatura / °C	25	12
Pulido de electrodos	Lija 600	Lija 1200 (Cu) / Alúmina (Pt)
Burbujeo de N_2	No requerido	Requerido (30 min)
Voltametría cíclica	No requerido	Requerido para electrodo Pt

5.2.3 Caracterización espectroscópica de los clústeres sintetizados

La caracterización de los clústeres sintetizados se ha realizado mediante espectroscopia UV-Vis y de fluorescencia.

Las medidas de espectroscopia UV-Vis se han realizado en un espectrofotómetro Thermo Evolution 300.

Por otra parte, las medidas de fluorescencia se han llevado a cabo en un espectrofotómetro Varian Cary Eclipse.

Ambos tipos de medida se han efectuado en disolución y a temperatura ambiente en una cubeta de cuarzo (Hellma) de 10 mm de longitud de paso óptico.

5.2.4 Caracterización de clústeres por espectrometría de masas

Las medidas realizadas de cara a la optimización de la caracterización de clústeres por espectrometría de masas se han llevado a cabo con un espectrómetro Waters ACQUITY QDa. Se trata de un espectrómetro de masas de cuadrupolo sencillo, que utiliza el versátil método de ionización por electrospray (ESI) como fuente de iones y un fotomultiplicador como detector.

En este caso, la introducción controlada de las muestras en la fuente de iones se ha realizado por infusión directa mediante el uso de una bomba de jeringas Harvard Apparatus 11 Pico Plus Elite, junto con una microjeringa Hamilton Serie 700 de 250 μL .

5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.3.1 Síntesis y caracterización de clústeres de Ag_3

La síntesis electroquímica de clústeres de Ag_3 no tiene una eficiencia del 100%, por lo que no todos los iones Ag^+ generados durante la oxidación del electrodo de trabajo son reducidos para formar los clústeres. Por este motivo resulta necesario proceder a su posterior eliminación para su uso en todas aquellas aplicaciones en que su presencia pueda suponer un problema, para lo cual se ha recurrido a su precipitación con NaCl y a la filtración posterior del precipitado formado. A continuación, los clústeres libres de iones se concentran en un rotavapor a 35 $^\circ\text{C}$. Finalmente, los clústeres puros se cuantifican mediante espectroscopia de absorción atómica electrotérmica (ETAAS), obteniendo una concentración de 7 μM .

El espectro de absorción UV-Vis de los clústeres de Ag_3 se muestra en la Figura 21. En él se pueden apreciar claramente varias bandas de absorción en la zona de longitudes de onda menores a aproximadamente 260 nm que, aunque aparecen solapadas debido a su proximidad energética, están bien definidas. Estas bandas se corresponden con clústeres de plata de muy pequeño tamaño y recuerdan a las bandas de absorción encontradas en las especies moleculares. Además, el reducido número de bandas y el pequeño intervalo de longitudes de onda en el que aparecen permiten deducir la

existencia de una distribución pequeña de tamaños en los clústeres sintetizados.

Resulta destacable asimismo la ausencia de la banda plasmónica típica de las nanopartículas de plata entre 400 y 435 nm^{58,59}, lo cual es indicativo de que, al contrario de lo que ocurre en el caso de dichas nanopartículas, estos clústeres no poseen electrones libres.

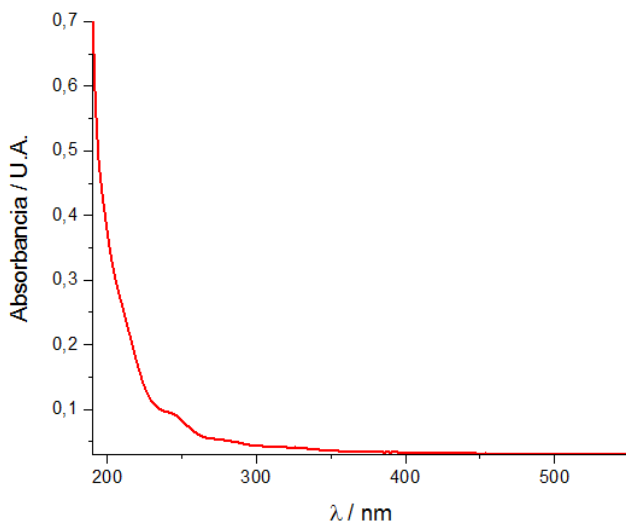


Figura 21. Espectro de absorción UV-Vis de los clústeres de Ag₃ sintetizados.

La Figura 22 muestra el espectro de emisión de los clústeres de plata al ser excitados a una longitud de onda de 223 nm. Dicho espectro presenta un máximo muy claro a 339 nm, que se corresponde con una energía de 3,66 eV para su banda prohibida. Es posible además calcular el tamaño del clúster mediante la aplicación del modelo del *jellium* a través de la ecuación

$$N = \left(\frac{E_{Fermi}}{E_g} \right)^3$$

y teniendo en cuenta que el nivel de Fermi para Ag en estado masivo tiene un valor de 5,4 eV se obtiene un valor de N = 3 átomos para el

clúster. Se puede observar también que, aunque los clústeres de Ag_3 son la especie predominante en las muestras, existen también de forma minoritaria clústeres más pequeños (emisión a $\approx 300\text{nm}$, correspondientes a Ag_2) y clústeres mayores (emisión a $\approx 400\text{nm}$, correspondientes a Ag_5). Teniendo en cuenta las áreas de las curvas se puede también decir que los clústeres minoritarios no representan más de $\approx 5\%$ de los clústeres totales.

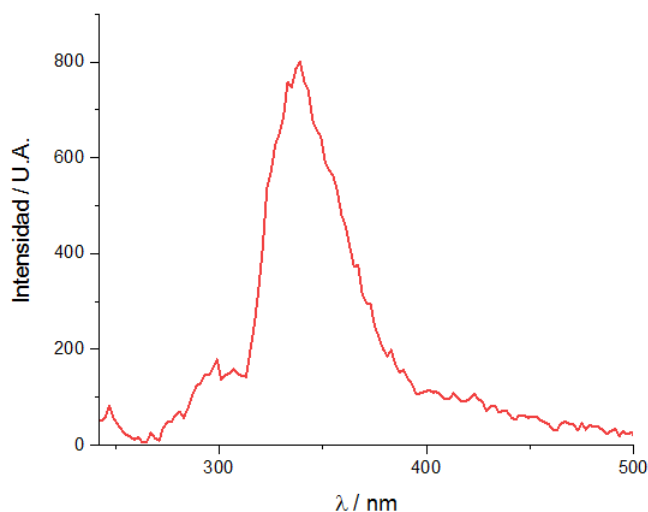


Figura 22. Espectro de emisión de los clústeres de Ag_3 a una longitud de onda de excitación de 223 nm.

5.3.2 Síntesis y caracterización de clústeres de Cu_5

Dado que el método electroquímico empleado para la síntesis de clústeres de Cu_5 es esencialmente similar al usado en el caso de los clústeres de Ag_3 , es necesario también eliminar el exceso de iones de Cu^{2+} generados durante el proceso. En este caso, dichos iones son eliminados por precipitación a través de un aumento del pH con NaOH , filtrando el precipitado formado y ajustando posteriormente el pH de nuevo a 7 con HClO_4 . Finalmente, los clústeres son concentrados en un rotavapor a $35\text{ }^\circ\text{C}$. La cuantificación de los clústeres puros y

concentrados se ha realizado mediante espectroscopia de absorción atómica de llama (FAAS), obteniéndose una concentración de $43 \mu\text{M}$.

De forma análoga al caso de los clústeres de plata, se ha realizado la caracterización de los clústeres de Cu_5 sintetizados. Así, en la Figura 23 se presenta el espectro de absorción UV-Vis obtenido. En él se puede observar claramente la presencia de una banda que aparece en forma de un hombro muy marcado en torno a $\approx 215 \text{ nm}$. La elevada energía de la banda se corresponde con la presencia de clústeres de cobre de muy pequeño tamaño. De nuevo, la estrecha forma de la banda es un claro indicativo de la estrecha distribución de tamaños de los clústeres de la muestra. La ausencia de la banda plasmónica característica a

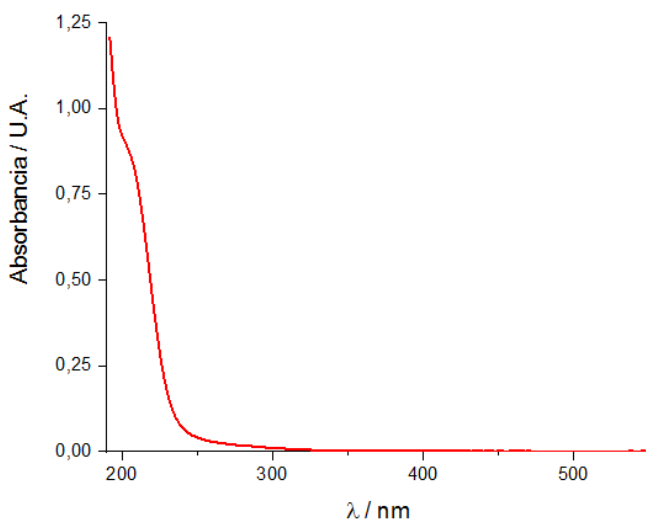


Figura 23. Espectro de absorción UV-Vis de los clústeres de Cu_5 sintetizados.

aproximadamente 560 nm ⁶⁰ descarta la contaminación por nanopartículas en la muestra como subproducto de la síntesis.

El espectro de emisión de la muestra al ser excitada a 230 nm se muestra en la Figura 24. Dicho espectro presenta una única banda de emisión estrecha localizada a 303 nm que se corresponde de forma mayoritaria con un único tamaño de clúster. Esta energía de longitud de onda se corresponde con una energía de $4,10 \text{ eV}$ para la banda

prohibida del clúster. Mediante la aplicación del modelo del *jellium* a través de la misma ecuación utilizada para los clústeres de Ag, $N = (E_{Fermi}/E_g)^3$, se puede deducir que los clústeres tienen un tamaño aproximado de 5 átomos. A la hora de realizar este cálculo, es necesario tener en cuenta que en el caso concreto del Cu la energía del nivel de Fermi muestra una dependencia con el tamaño según la ecuación

$$E_{Fermi\ AQC} = E_{Fermi\ metal\ masivo} - N^{-\frac{1}{3}}$$

la cual ha sido predicha de forma teórica⁶¹. De acuerdo con esto, el nivel de Fermi para los clústeres de Cu₅ se encuentra a 6,4 eV, en lugar del valor típico de 7 eV que se corresponde con el metal en estado masivo.

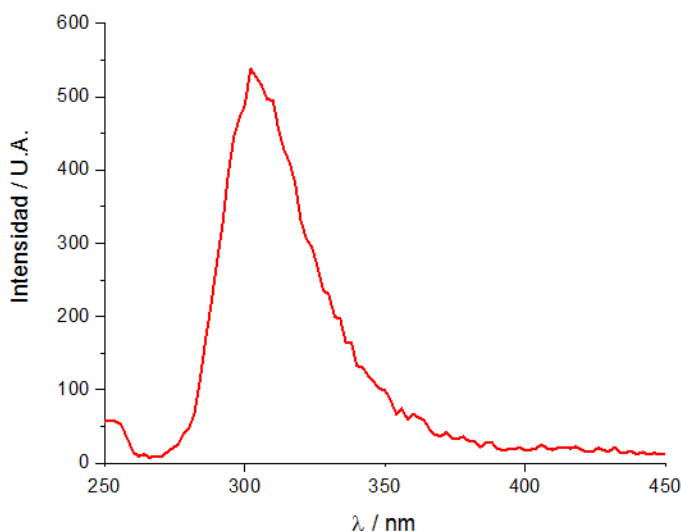


Figura 24. Espectro de emisión de los clústeres de Cu₅ a una longitud de onda de excitación de 230 nm.

5.3.3 Optimización de la caracterización de clústeres mediante espectrometría de masas

La espectrometría de masas es una de las técnicas indispensables en la caracterización de la práctica totalidad de los compuestos existentes. Tal y como se ha comentado, se trata de una técnica versátil que proporciona gran cantidad de información útil acerca la estructura,

la composición e incluso los isótopos de las especies medidas. Sin embargo, es también una técnica compleja, y en las medidas experimentales influyen de forma significativa una gran variedad de parámetros que pueden repercutir de forma definitiva en la obtención de los resultados deseados. Esto es debido principalmente al hecho de que esta técnica se basa en una ionización eficaz de los compuestos como requisito previo e indispensable para su posterior separación y detección, y si dichos compuestos no son ionizados correctamente o se consigue ionizar sólo una pequeña fracción, no será posible separarlos o no podrán ser detectados de forma óptima. En el caso concreto de la ionización por electrospray (ESI), es preciso optimizar parámetros como la temperatura o los aditivos añadidos para facilitar la ionización, además de los voltajes del cono o del capilar.

En este apartado se explica la optimización seguida de los principales parámetros y condiciones experimentales que afectan a las medidas de ESI-MS, utilizando para ello clústeres de Ag_2 suministrados por la empresa Nanogap. A continuación, se realiza la identificación de los principales aductos presentes en los espectros obtenidos durante el proceso de optimización. Finalmente, se aplica el conjunto de parámetros experimentales óptimos a otras muestras con el fin de comprobar su empleo en clústeres de distinto tamaño y composición.

5.3.3.1 Efecto del disolvente de dilución

Es muy común a la hora de realizar medidas experimentales de muestras acuosas con ESI-MS por infusión directa añadir una determinada cantidad de disolvente orgánico, el cual facilita tanto la nebulización como la desolvatación de las muestras y su ionización a través de la modificación de la polaridad del medio^{62,63}. Estos procesos son favorecidos al añadir el disolvente orgánico como resultado del aumento de la volatilidad del medio, muy reducida si las especies se encuentran en un medio 100% acuoso. En este trabajo se ha probado tanto MeOH como AcN, dos de los disolventes más utilizados en espectrometría de masas, en una dilución 50:50.

La Figura 25 representa los espectros obtenidos para la muestra de clústeres de plata, realizados en las mismas condiciones experimentales a excepción del disolvente orgánico añadido. De los resultados

obtenidos se desprende la idoneidad del AcN para caracterización de los clústeres por MS, ya que, si bien los espectros se parecen sustancialmente tanto en la forma de las señales como en sus intensidades, el aducto a $m/z = 365,7$ se pierde por completo al utilizar MeOH como disolvente. Esta diferencia podría explicarse principalmente en términos de la polaridad del disolvente elegido. Esto

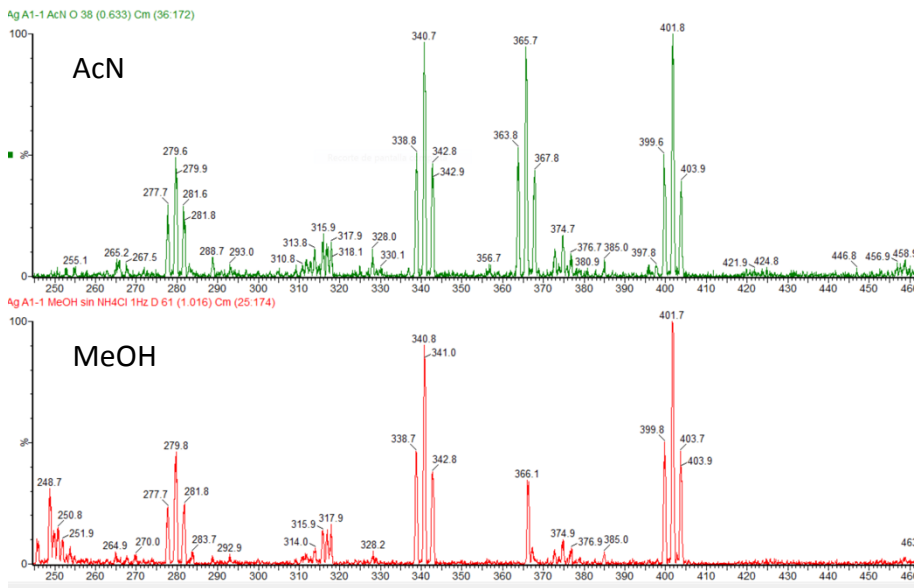


Figura 25. Efecto del disolvente de dilución en las medidas de ESI-MS.

es, un disolvente más apolar como el AcN favorece las interacciones con especies poco polares como los clústeres, facilitando por consiguiente los posteriores procesos de nebulización y desolvatación en el interior de la cámara de ionización.

5.3.3.2 Efecto de la adición de ácido fórmico

Además de diversos disolventes orgánicos, en la caracterización de una gran cantidad de compuestos por ESI-MS resulta imprescindible el uso de otros aditivos diferentes. El proceso de ionización en ESI-MS es complejo y por el momento no se comprende por completo. Sin embargo, se ha observado que la adición de

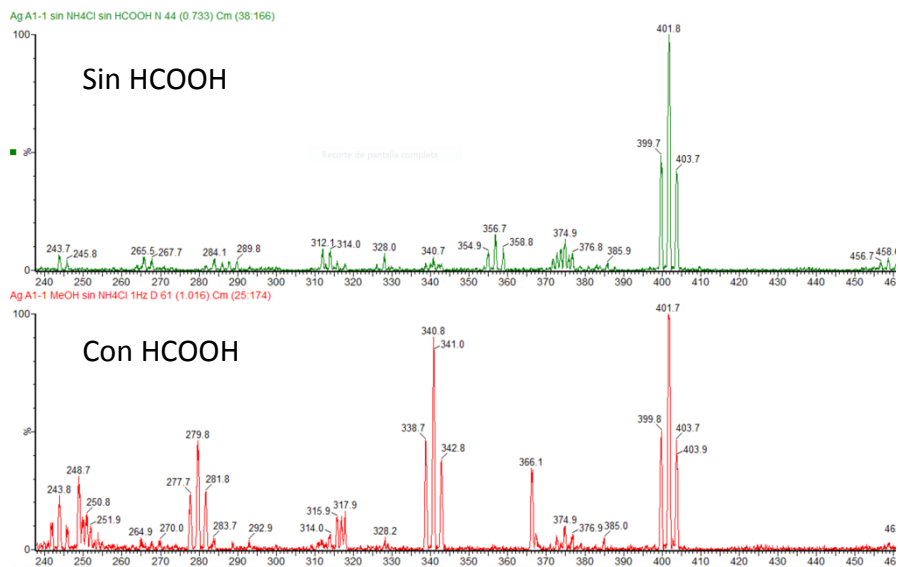


Figura 26. Efecto de la adición de HCOOH en las medidas de ESI-MS.

diferentes tipos de aditivos puede resultar muy efectiva a la hora de controlar la eficiencia de la formación de aductos separables y detectables por espectrometría de masas⁶⁴. Estos aditivos interactúan con los analitos de interés a través de diversos mecanismos o fenómenos fisicoquímicos, pero tienen en común su aplicación con el fin de facilitar o maximizar la ionización de especies poco polares o sin carga cuya detección por MS puede resultar tremendamente complicada. De hecho, se ha encontrado que la elección de los aditivos adecuados puede resultar en un aumento de hasta tres órdenes de magnitud en la sensibilidad.

De este modo, se ha comprobado el efecto de la adición de HCOOH a la muestra de clústeres de Ag_2 (Figura 26), en una proporción del 0,2 %. El ácido fórmico es un aditivo universalmente empleado en la caracterización por espectrometría de masas, que incluso en pequeñas cantidades es capaz de aumentar de forma notable la ionización de los analitos⁶⁵. Puede intervenir en la formación de aductos tanto a través de procesos de protonación como a través de la unión o adsorción superficial del anión formiato. De acuerdo con los

espectros obtenidos en las medidas, puede concluirse que la adición de HCOOH a las muestras de clústeres tiene un enorme efecto en su ionización y posterior detección. Tal y como se muestra en dichos espectros, el empleo del aditivo aumenta la intensidad de prácticamente todas las señales y, lo más importante, muestra dos nuevos aductos a $m/z = 279,8$ y $340,8$ que no aparecen en el espectro obtenido sin HCOOH.

5.3.3.3 Efecto del modo de detección

La espectrometría de masas, tal y como se ha explicado en el capítulo relativo a las técnicas de caracterización, se basa en la formación de especies cargadas como condición *sine qua non* de cara a su posterior separación y detección. Durante el proceso de generación de iones, tal y como cabría esperar, se forman tanto iones positivos como negativos. Por consiguiente, los espectrómetros de masas cuentan con dos modos básicos de detección: modo positivo y modo negativo. En función del modo elegido, el equipo separa y detecta sólo iones cargados positiva o negativamente⁶⁶. La elección del modo adecuado

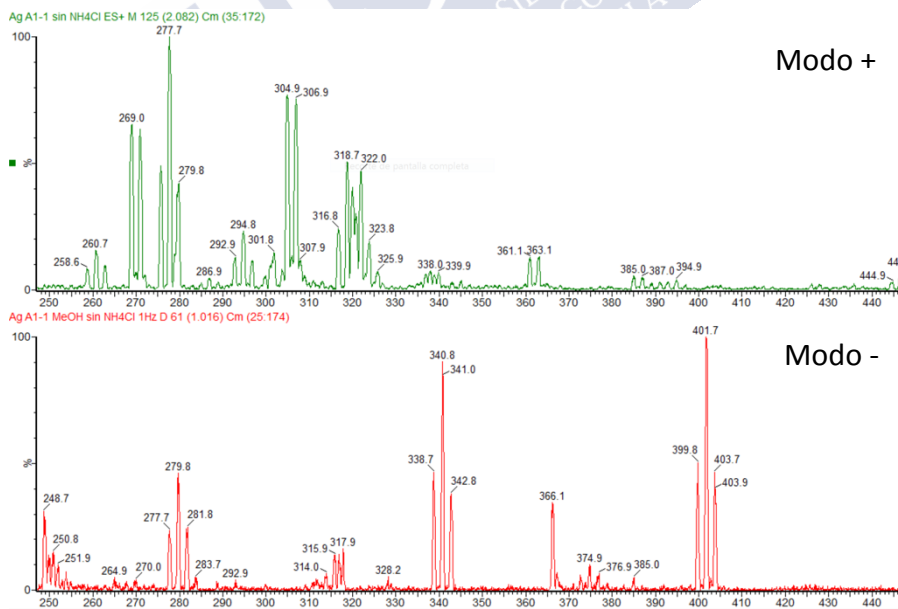


Figura 27. Efecto del modo de detección en las medidas de caracterización de Ag_2 por ESI-MS.

resulta crucial a la hora de detectar los analitos de interés, y depende no sólo de la propia carga de los analitos, sino también de los aditivos usados e incluso del proceso y condiciones experimentales de la ionización.

En el caso de los clústeres, la elección del modo de detección adecuado tiene a menudo como consecuencia el hecho de que sea posible su detección precisa o que no puedan detectarse en absoluto. Tal y como puede comprobarse en la Figura 27, al emplear el modo de detección negativo pueden detectarse hasta tres aductos de Ag_2 diferentes, localizados a $m/z = 279,8$, $340,8$ y $401,7$. Sin embargo, al medir en modo positivo sólo se detecta un aducto a $m/z = 277,7$. En este último caso, aparecen además otras señales correspondientes a distintos iones positivos presentes en las muestras o generados en la cámara de ionización, pero que no se corresponden con la distribución isotópica de ningún clúster de Ag , por lo que no resultan de interés en el presente estudio.

5.3.3.4 Efecto de la frecuencia de medida

La frecuencia de medida o frecuencia de barrido es un parámetro que puede resultar importante a la hora de realizar medidas de barrido en determinados intervalos de masas. Esta frecuencia es un valor que indica el número de medidas por segundo que realiza el equipo, e influye tanto en la resolución obtenida entre los iones separados como en el nivel final de detalle y la limpieza de las señales registradas posteriormente en el detector y reflejadas en los espectros.

Por lo general, existe una correlación negativa entre la cantidad de información cualitativa que un método puede proporcionar y su rendimiento cuantitativo (exactitud, precisión, sensibilidad, etc.)⁶⁷. Es necesario tener esto en cuenta a la hora de desarrollar los métodos de medida en ESI-MS, especialmente en la selección de la velocidad o frecuencia de barrido óptima.

En este estudio, se ha intentado buscar un equilibrio entre la información cualitativa obtenida y la intensidad cuantitativa de las señales, teniendo en cuenta que el equipo en el que se ha realizado no tiene una sensibilidad demasiado elevada. Sin embargo, tal y como demuestran los espectros de la Figura 28, en este caso la frecuencia de

medida no es un parámetro crítico, obteniéndose los mismos aductos al realizar medidas con frecuencia de 1, 5, 10, 15 y 20 Hz. No obstante, se observa que varían un poco las intensidades relativas y las señales residuales, por lo que se ha optado por un valor intermedio de 10 Hz como óptimo, que proporciona un espectro claro y limpio con buenas señales para los aductos de los clústeres de Ag_2 .

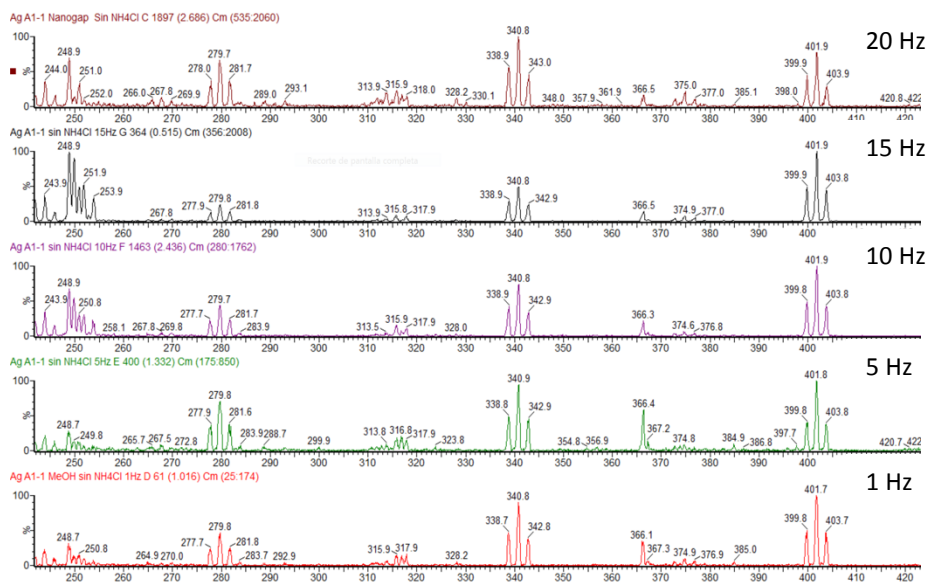


Figura 28. Efecto de la frecuencia de barrido en las medidas de caracterización por ESI-MS.

5.3.3.5 Efecto de la temperatura

La temperatura es uno de los principales parámetros que optimizar en cualquier medida de MS, se trata de un parámetro crítico que condiciona de forma definitiva la calidad de los resultados obtenidos. Es necesario optimizar cuidadosamente su valor para cada tipo de compuesto, con el fin de aumentar su volatilización para maximizar la eficiencia de su ionización, pero teniendo en cuenta al mismo tiempo que una temperatura demasiado elevada puede provocar distintas modificaciones en la composición de las moléculas e incluso provocar su descomposición^{68,69}. Al tratarse la fuente de iones ESI de

un método de ionización suave, está pensado para permitir la medida de las especies evitando su fragmentación y facilitando la detección del ion molecular, por lo que es importante tratar de evitar posibles modificaciones en su composición.

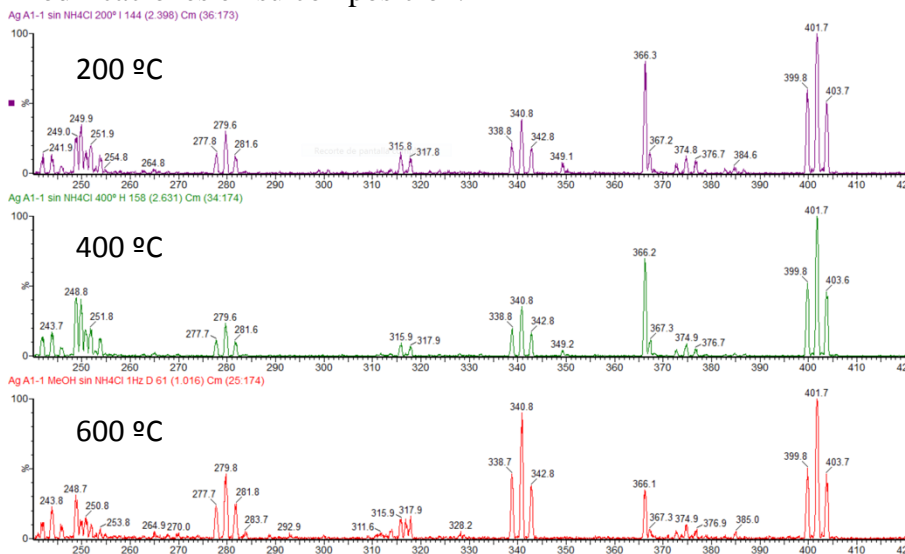


Figura 29. Efecto de la temperatura en la de caracterización de Ag_2 por ESI-MS.

Al realizar la optimización de la temperatura en las medidas de clústeres de Ag_2 (Figura 29) se ha concluido que, al contrario de lo que cabría pensar, en el caso concreto de los clústeres la temperatura no resulta un parámetro decisivo. Esto puede explicarse teniendo en cuenta dos factores: primero, porque a pesar de su baja volatilidad y la ausencia de carga, el empleo de disolventes orgánicos y aditivos como ácido fórmico ayudan a solventar estos inconvenientes y permiten obtener buenos espectros; y segundo, porque la elevada resistencia de los clústeres a diferentes magnitudes físicas como la temperatura hace que éstos se mantengan inalterados en un amplio intervalo de temperaturas⁷⁰. De este modo, a partir de las temperaturas ensayadas (200, 400 y 600 °C) se ha optado por una temperatura óptima de 400°C que, si bien no muestra las intensidades relativas más elevadas para los dos aductos que aparecen a relaciones m/z más bajas, sí tiene la relación

señal/ruido más alta obteniendo un espectro muy limpio y definido que resulta ideal a la hora de realizar la identificación de los aductos detectados.

5.3.3.6 Efecto del voltaje de cono

El cono de la cámara de ionización en ESI tiene la función de, además de intervenir en el proceso de ionización de los compuestos, atraer los iones generados hacia el interior del equipo y enfocarlos en un haz fino para su introducción en el separador de masas, mediante la aplicación de un voltaje de signo opuesto al de los iones que se pretendan separar y medir⁷¹ (depende por tanto de si se trabaja en modo positivo o negativo). De la misma forma que ocurre con la temperatura, el valor del voltaje de cono tiene un efecto directo en los espectros obtenidos: así, mientras que valores de voltaje bajos favorecen generalmente la formación de moléculas protonadas y diferentes aductos, valores demasiado elevados pueden llevar a la indeseada

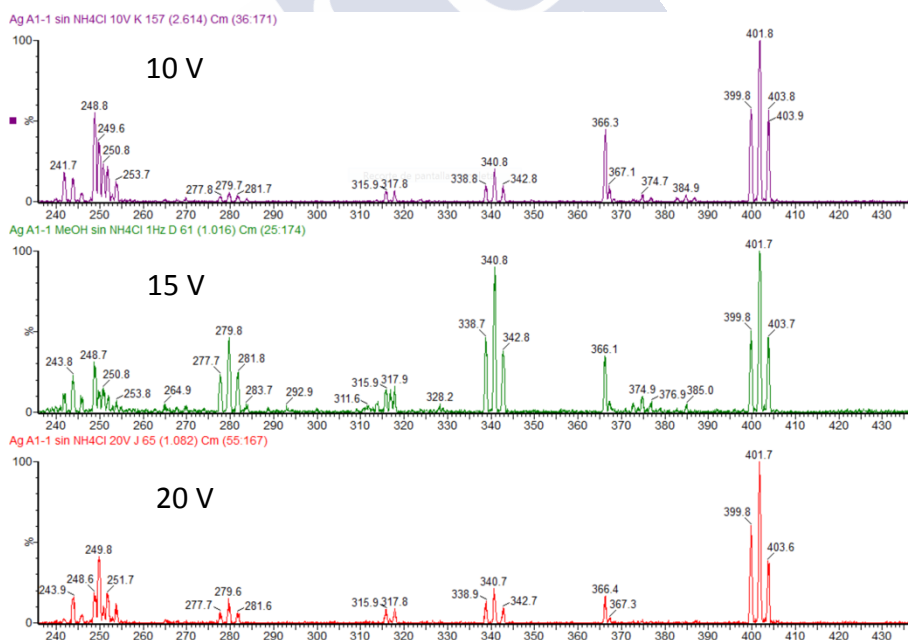


Figura 30. Efecto del voltaje de cono en las medidas de caracterización por ESI-MS

fragmentación de las especies de interés⁷². Por lo tanto, es necesario ajustar su valor para cada especie o familia de compuestos que se desee medir.

La optimización del voltaje de cono en la caracterización de clústeres de Ag_2 se muestra en la Figura 30, en la que se reflejan los espectros obtenidos al aplicar voltajes de cono de 10, 20 y 30 V. Tal y como puede comprobarse, el valor del voltaje influye de forma determinante en los resultados obtenidos. En este caso, se ha optado por un valor de 15 V que, a pesar de aumentar poco la relación señal/ruido en comparación con los demás voltajes, muestra de forma mucho más clara los aductos a $m/z = 279,8$ y $340,8$.

A continuación, se muestra una pequeña tabla resumen con los valores óptimos de todos los parámetros estudiados:

Tabla 3. Valores óptimos de los parámetros estudiados en la caracterización de clústeres de Ag_2 por ESI-MS

Parámetro	Valor óptimo
Uso de disolvente de dilución	AcN 50% V_t
Uso de aditivos	HCOOH 0,2 % V_t
Modo de detección	Modo -
Frecuencia de medida	10 Hz
Temperatura	400 °C
Voltaje de cono	15 V

5.3.3.7 Identificación de los aductos de Ag_2

Una vez finalizada la optimización de la caracterización de los clústeres de Ag_2 por ESI-MS, se procede a la identificación de los tres aductos representados en los espectros obtenidos.

A la hora de caracterizar clústeres metálicos por espectrometría de masas, estos aparecen en forma de aductos debido a la adsorción de diversas especies durante el proceso de nebulización y optimización. En este sentido, es común que tanto especies presentes en la propia muestra como los disolventes o aditivos usados en las medidas aparezcan formando parte de dichos aductos. Asimismo, es necesario

tener en cuenta la gran afinidad de los clústeres a la adsorción de algunos átomos y moléculas gaseosas como es el caso del oxígeno o el nitrógeno, usado en la nebulización del ESI-MS. La identificación de los aductos se realiza por comparación entre las señales experimentales de los espectros adquiridos y espectros teóricos generados por software. A este respecto, la distribución isotópica de la señal del aducto proporciona información precisa acerca del metal que forma el clúster y su tamaño, al menos en el caso de metales con más un isótopo como son Ag y Cu. A continuación, se presenta la comparación de los espectros de masas experimentales y teóricos para las tres especies de Ag_2 encontradas: $[\text{Ag}_2(\text{H})(\text{H}_2\text{O})(\text{HCOO})]^-$, $[\text{Ag}_2\text{Na}_2(\text{N})_2(\text{OH})_3]^-$ y $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\text{O})_4(\text{CH}_3\text{CN})(\text{HCOO})]^-$. Tal y como puede comprobarse en los espectros de las Figuras 31, 32 y 33, existe una buena correspondencia entre las distribuciones isotópicas experimentales y teóricas de las señales para los tres aductos encontrados.

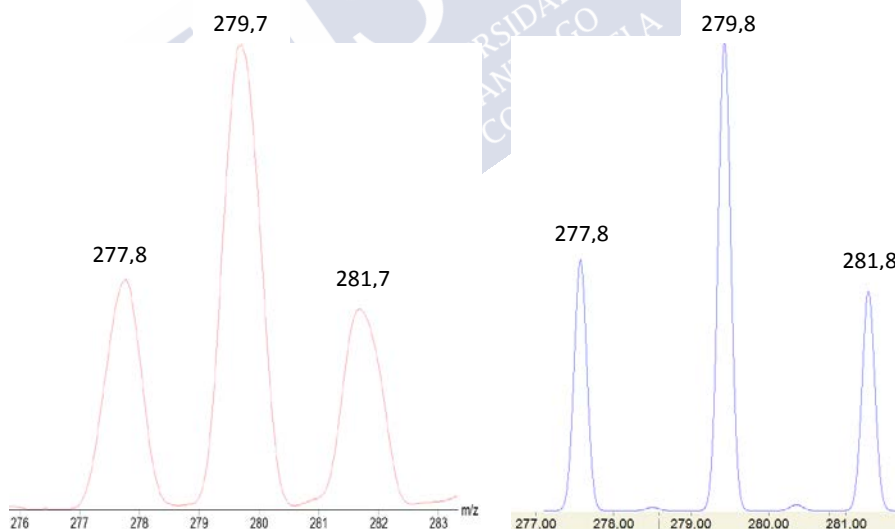


Figura 31. Espectros de masas experimental (izquierda) y teórico (derecha) correspondientes al aducto $[\text{Ag}_2(\text{H})(\text{H}_2\text{O})(\text{HCOO})]^-$.

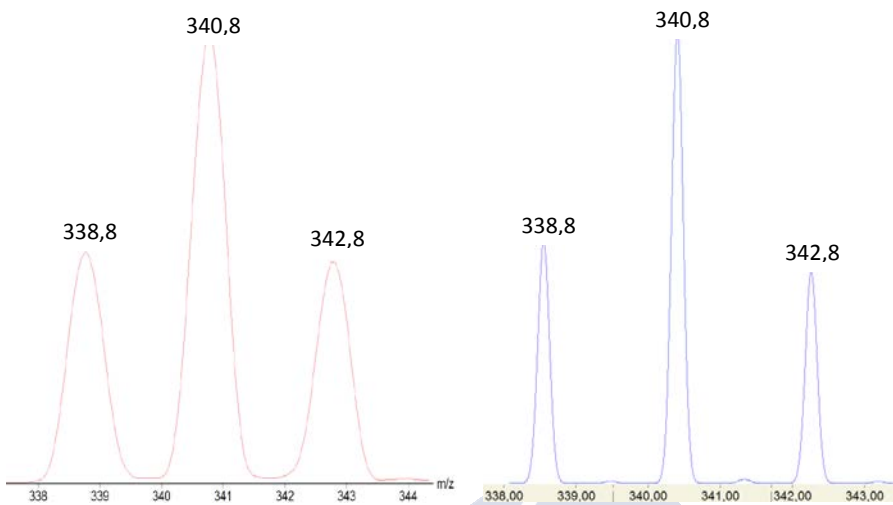


Figura 33. Espectros de masas experimental (izquierda) y teórico (derecha) correspondientes al aducto $[\text{Ag}_2\text{Na}_2(\text{N})_2(\text{OH})_3]^-$.

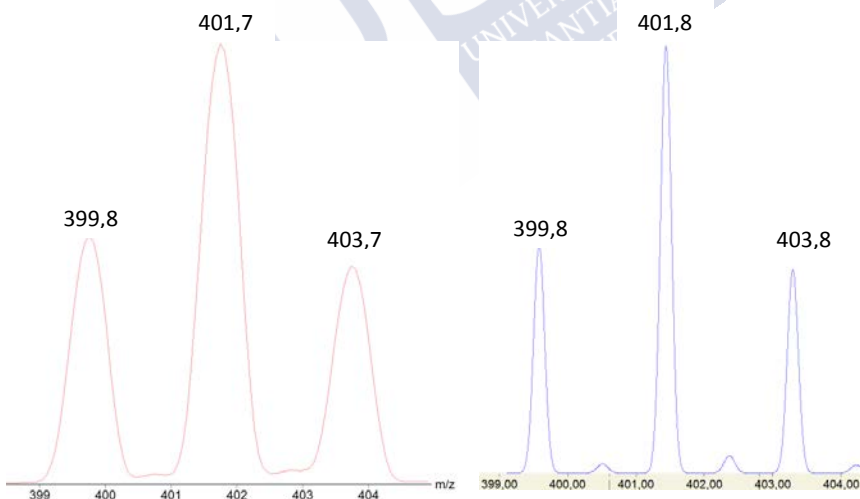


Figura 32. Espectros de masas experimental (izquierda) y teórico (derecha) correspondientes al aducto $[\text{Ag}_2(\text{H}_2\text{O})_2(\text{O})_4(\text{CH}_3\text{CN})(\text{HCOO})]^-$.

5.3.3.8 Aplicación de la configuración óptima de medida a la caracterización de diferentes clústeres metálicos

Para finalizar, se ha probado la configuración óptima de medida en ESI-MS obtenida para Ag_2 en otros clústeres de distintos tamaños de Ag y Cu. Es necesario aclarar que, idealmente, habría que optimizar completamente el conjunto de condiciones experimentales para cada tipo de clúster o para cada método de síntesis. Sin embargo, en la práctica esto resulta poco factible en términos de tiempo y recursos y, a pesar de que cada clúster de diferente tamaño y metal tiene algunas propiedades únicas, comparten una estructura y composición similar, por lo que es razonable pensar que este conjunto optimizado de condiciones puede resultar adecuado para caracterizar otros tipos de clústeres. Por ello, se ha utilizado el set de parámetros optimizados que se ha obtenido en los anteriores apartados con el fin de comprobar su comportamiento en la identificación de clústeres de Ag_3 , Ag_5 , Cu_2 y Cu_5 .

En las Figuras 34 y 35 se muestran los espectros experimentales y teóricos de las muestras de Ag_3 y Cu_5 sintetizadas, complementando la caracterización espectroscópica ya explicada. Tal y como se puede comprobar, existe una buena concordancia entre las observaciones y las

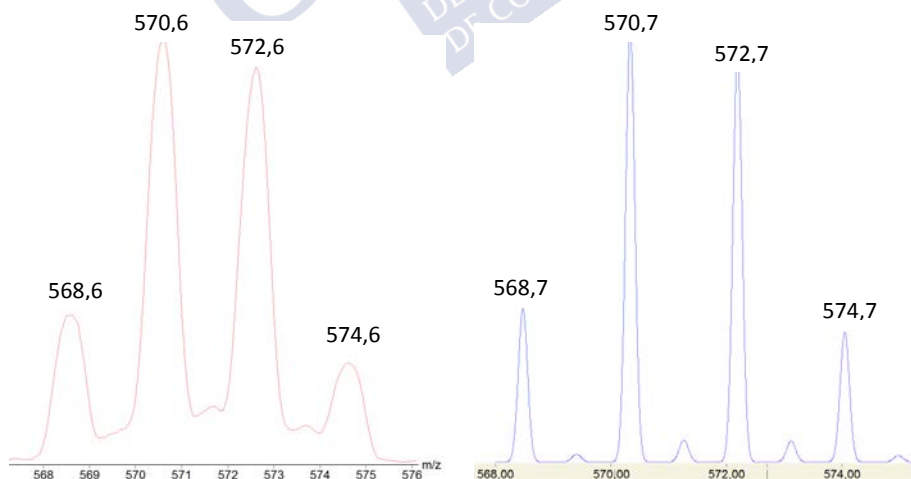


Figura 34. Espectros de masas experimental (izquierda) y teórico (derecha) correspondientes al aducto $[\text{Ag}_3\text{Na}_2(\text{OH})(\text{CH}_3\text{CN})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{HCOO})_2]^-$.

predicciones en ambos casos, obteniéndose señales claras y sin interferencias que permiten la identificación de los aductos.

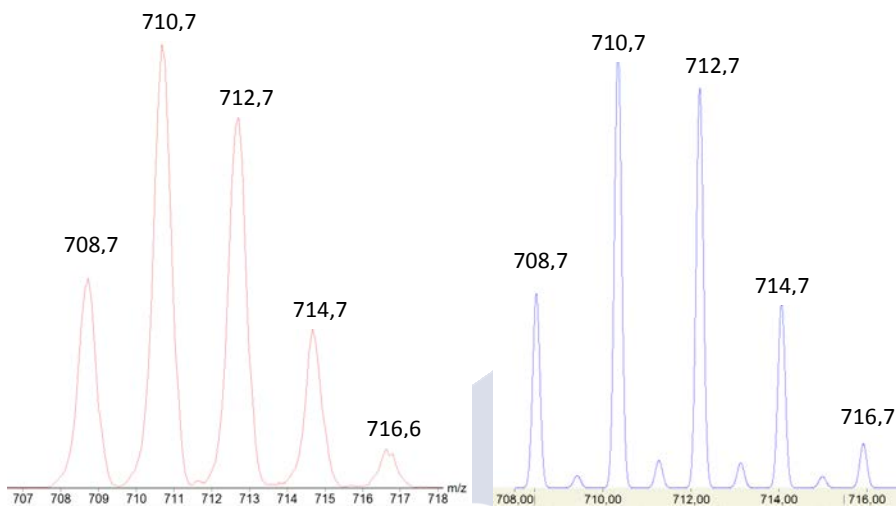


Figura 36. Espectros de masas experimental (izquierda) y teórico (derecha) correspondientes al aducto $[\text{Cu}_5\text{Na}_2(\text{N})_2(\text{O})_4(\text{OH})(\text{CH}_3\text{CN})(\text{H}_2\text{O})_6(\text{HCOO})_2]^-$.

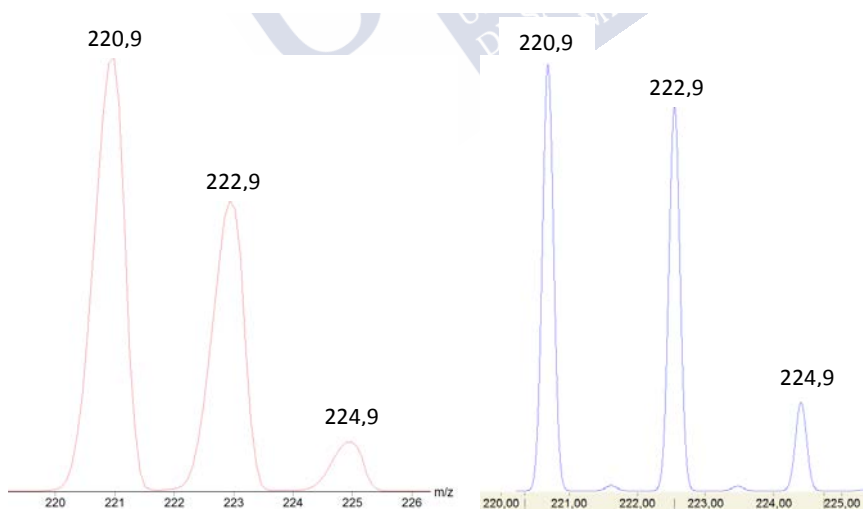


Figura 35. Espectros de masas experimental (izquierda) y teórico (derecha) correspondientes al aducto $[\text{Cu}_2(\text{O})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{HCOO})]^-$.

En las Figuras 36 y 37 se representan las distribuciones isotópicas experimentales y teóricas de clústeres de Ag_5 y Cu_2 , sintetizadas y cedidas para esta tesis por la empresa Nanogap. De nuevo se puede observar que las señales relativas a ambos aductos son claras y limpias, y existe una buena concordancia entre los datos experimentales y los espectros simulados, permitiendo la identificación de las especies medidas.

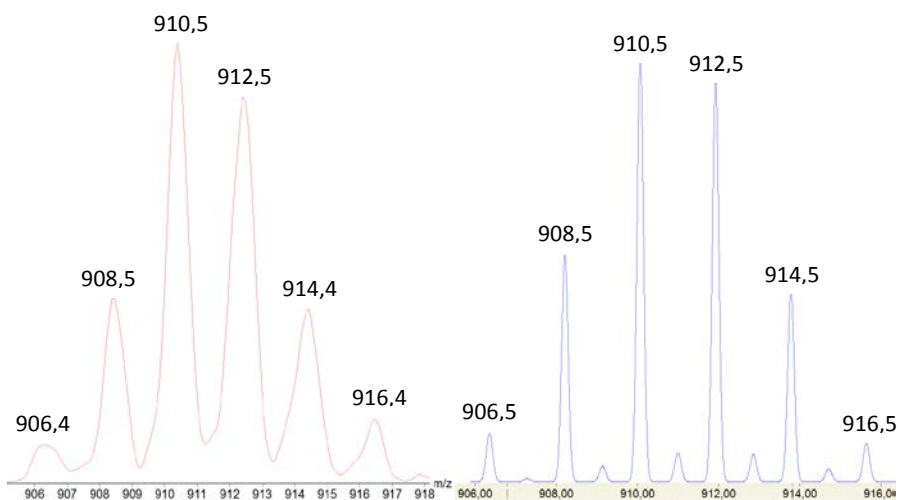


Figura 37. Espectros de masas experimental (izquierda) y teórico (derecha) correspondientes al aducto $[\text{Ag}_5\text{Na}_2(\text{N})_4(\text{O})_2(\text{OH})(\text{CH}_3\text{CN})(\text{H}_2\text{O})_5(\text{HCOO})_2]^-$.

A la vista de los resultados anteriores se puede inferir que, si bien algunos de los espectros podrían todavía mejorarse mediante la optimización específica de alguno de los parámetros clave, el conjunto de condiciones experimentales óptimas al que se ha llegado en los apartados anteriores para clústeres de Ag_2 resulta también adecuado para la caracterización de otros clústeres de diferentes metales y tamaños, permitiendo la identificación de los aductos con gran claridad.

Además, en el caso de los clústeres de Ag_3 y Cu_5 , cuya síntesis y caracterización se ha descrito previamente en este capítulo, los resultados obtenidos son consistentes con los observados mediante espectroscopia UV-Vis y de fluorescencia, confirmando la presencia en las muestras de los clústeres que se había pretendido sintetizar.

5.4 CONCLUSIONES

En el presente capítulo se ha descrito la síntesis de dos tipos de clústeres pequeños y sin ningún tipo de ligando protector, mediante métodos electroquímicos similares en esencia, pero con algunas diferencias significativas en las condiciones experimentales para cada tipo de clúster. La caracterización realizada mediante espectroscopia UV-Vis y de fluorescencia ha confirmado la presencia de clústeres de Ag_3 y Cu_5 en las diferentes muestras, así como también ha permitido determinar el valor de su banda prohibida (3,66 eV para Ag_3 y 4,10 eV para Cu_5) y la ausencia de nanopartículas en ambas muestras. Además, la posterior caracterización por ESI-MS concuerda con los resultados obtenidos en los métodos espectroscópicos, ratificando la presencia monodispersa tanto de Ag_3 como de Cu_5 en las respectivas muestras.

Por otra parte, el estudio de optimización de las condiciones experimentales en la caracterización de muestras de clústeres de Ag_2 por ESI-MS ha demostrado una influencia importante del uso de disolventes orgánicos, de aditivos para favorecer la ionización como el HCOOH y del valor de parámetros, tales como el voltaje del cono y el modo de detección. Por el contrario, la temperatura y la frecuencia de medida demostraron resultar no tan importantes, aunque su optimización es relevante de cara a maximizar la intensidad de las señales a la vez que se minimiza la relación señal/ruido. De este modo, se ha concluido que las condiciones óptimas para la caracterización de clústeres metálicos por ESI-MS consisten en el uso de AcN como disolvente de dilución, HCOOH como aditivo de ionización, modo de detección negativo, 400 °C de temperatura, 15 V de voltaje de cono y 10 Hz de frecuencia de medida.

Finalmente, se ha demostrado que el conjunto óptimo de condiciones experimentales resulta también idóneo en la caracterización de otros clústeres de diferentes metales y tamaños, permitiendo la obtención de señales claras que permiten la identificación de los aductos para clústeres de Ag_3 , Ag_5 , Cu_2 y Cu_5 .

6 PURIFICACIÓN DE CLÚSTERES

6.1 INTRODUCCIÓN

La purificación de los clústeres metálicos una vez sintetizados es sin duda uno de los procesos más relevantes de cara a su posterior aplicación en procesos catalíticos de forma eficiente. Sin embargo, es también actualmente la gran limitación debido a la ausencia de técnicas y métodos específicamente adaptados a este tipo de compuestos. El desarrollo de métodos de purificación adecuados se antoja, pues, esencial de cara a la eliminación de diferentes subproductos y especies presentes en las muestras que pueden interferir notablemente tanto en reacciones en disolución como en el proceso de depositar adecuadamente los clústeres en sustratos para catálisis heterogénea. Por otra parte, teniendo en cuenta que una diferencia de tan sólo un átomo puede cambiar enormemente las propiedades de un clúster, las técnicas de purificación deben estar orientadas, además de a la eliminación de reactivos en exceso y demás subproductos de síntesis, hacia la separación de clústeres por tamaños individuales, con el fin de aprovechar adecuadamente sus propiedades específicas. Es necesario tener en cuenta que, dicha separación por tamaños individuales, ha de resultar necesariamente complicada debido, entre otros factores, a su pequeñísimo tamaño y a la reducida diferencia de tamaño entre ellos.

En el capítulo anterior, se comentó que los clústeres recién sintetizados se purificaban de forma sencilla mediante precipitación con el fin de eliminar el exceso de iones metálicos presentes tras la síntesis. Se trata de un método rápido y adecuado para algunas aplicaciones como, por ejemplo, catálisis en disolución. No obstante, se trata de un método poco eficiente, con un gran margen de mejora en lo que respecta a su reproducibilidad y que, a pesar de eliminar los iones metálicos de forma eficaz, genera otros subproductos como los contraiones de las sales empleadas. Estos contraiones pueden, en

algunos casos, dificultar en gran medida la deposición efectiva de los clústeres en los sustratos, reduciendo enormemente sus posibilidades de aplicación.

En términos generales, el temprano estado de desarrollo del campo de la purificación de clústeres metálicos se plasma en la escasez de publicaciones relevantes a este respecto. Esto es especialmente notorio el caso de técnicas simples comúnmente utilizadas en los procesos de purificación. En este sentido, es conveniente indicar que no existen prácticamente referencias acerca del uso de técnicas de diálisis o extracción en fase sólida (SPE), dos de las técnicas empleadas en el presente trabajo. Además, resulta destacable el hecho de que la práctica totalidad de las publicaciones acerca de la purificación de clústeres se basan en el empleo de clústeres grandes protegidos con ligandos, en lugar de clústeres pequeños y sin ligandos protectores como los utilizados en la primera parte de este capítulo. Más común resulta sin embargo la utilización de la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en la separación de clústeres protegidos, obteniendo buenos resultados con diferentes tipos de columnas, tal como se ha puesto de manifiesto en diversas publicaciones recientes. Así, Y. Lu y W. Chen han conseguido purificar clústeres de oro estabilizados con glutatión mediante cromatografía de permeación en gel (GPC)⁷³. También el uso de HPLC con columnas de exclusión por tamaños (SEC) puede resultar eficaz en la purificación de clústeres con ligandos e incluso ser escalable, tal y como demuestran la separación semipreparativa de clústeres de Au mayores de 38 átomos⁷⁴ o la purificación de clústeres de Pt₅ con ácido mercaptoacético como ligando protector⁷⁵. Asimismo, el uso de HPLC con una columna versátil de C₁₈ ha demostrado ser útil para la separación de clústeres de plata menores de 10 átomos protegidos con diversas secuencias de ADN de 10 bases nitrogenadas^{76,77}. Más recientemente, S. Knoppe y P. Vogt han desarrollado un método simple de HPLC en fase reversa para la purificación de clústeres de Au₂₅ y Au₃₈ protegidos con alcanotiolatos⁷⁸.

Debido a todo lo anterior, en el presente trabajo se ha investigado el desarrollo de nuevos métodos de purificación de clústeres metálicos de pequeño tamaño, sintetizados tanto en fase acuosa (Ag₅ sin ligandos

protectores) como en un diluyente reactivo funcional (Ag_{5-15} sintetizados en acrilato). En el primer caso se han realizado experimentos de separación con técnicas de HPLC, diálisis y SPE. En el segundo caso se ha desarrollado un método de extracción líquido-líquido (LLE) con el fin de hidrolizar y extraer los clústeres a una fase acuosa. Los métodos elegidos tienen en común su adecuación para un posible escalado, pues si los métodos funcionasen de forma correcta se podría proceder a su adaptación para la purificación rutinaria de grandes cantidades de clústeres recién sintetizados, lo cual supone uno de los grandes retos en el campo de la síntesis de clústeres subnanométricos.

6.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

6.2.1 Materiales

En los experimentos de purificación de clústeres de plata en disolución acuosa se han utilizado los reactivos siguientes:

- Acetonitrilo $\geq 99,5\%$ (Merck)
- Ácido acético 99,8% (Fisher)
- Ácido fórmico grado LC-MS 99,0+% (Fisher)
- Ácido nítrico 70% grado MS (Sigma-Aldrich)
- Ácido perclórico 70% (Fisher)
- Agua milli-Q obtenida mediante un sistema de purificación Millipore Direct-Q 8 UV
- Hidróxido amónico 28,0 - 30,0% NH_3 (Sigma-Aldrich)
- Metanol grado HPLC $\geq 99,9\%$ (Sigma-Aldrich)
- Nitrato de plata $\geq 99,0\%$ (Sigma-Aldrich)
- Nitrato de sodio $\geq 99,0\%$ (Sigma-Aldrich)
- Tiourea $\geq 99,0\%$ (Sigma-Aldrich)
- Muestras de clústeres de Ag_5 (500 mg/L de Ag total) proporcionadas por la empresa Nanogap

Por su parte, los reactivos empleados en el desarrollo del método de extracción de clústeres de plata en acrilato son los siguientes:

- Agua milli-Q obtenida mediante un sistema de purificación Millipore Direct-Q 8 UV

- Diclorometano 99+% (Fisher)
- Hidróxido de sodio $\geq 99\%$ (Sigma-Aldrich)
- Metanol grado HPLC $\geq 99,9\%$ (Sigma-Aldrich)
- Muestra de clústeres de Ag₅₋₁₅ (936 μM) proporcionada por la empresa Nanogap

6.2.2 Cuantificación de iones y plata total

En los estudios realizados con técnicas como diálisis o SPE, es necesario cuantificar tanto las disoluciones iniciales y finales como en algunos casos las etapas o fracciones intermedias. Además, es necesario conocer la concentración inicial de plata total y la concentración de iones como punto de partida, con el fin de comprobar la eficacia de las distintas técnicas de purificación.

A la hora de cuantificar la cantidad de iones de plata presentes en las muestras se ha utilizado un electrodo selectivo de iones (ISE) Crison 9654 específico para Ag⁺, conectado a un conductivímetro Crison pH & ION Meter GLP 22+ junto con un electrodo de referencia de Ag/AgCl Crison 5044. Todas las medidas se han realizado mediante termostatación precisa a 25 °C con un baño termostático de circulación PolyScience 9112T11B. Además, debido a la elevada sensibilidad de la técnica, es preciso ajustar a pH = 4 con HClO₄ 0,1 M tanto los patrones de calibración como las muestras con el fin de asegurar la estabilidad de los iones a cuantificar. Por la misma razón es necesario añadir asimismo 2 mL de NaNO₃ 1 M como estabilizante por cada 100 mL de muestra a medir. Los calibrados se han realizado con patrones de distinta concentración de AgNO₃.

Por su parte, la cuantificación de la cantidad de plata total se ha realizado mediante espectroscopia de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), con un espectrómetro Perkin Elmer Optima 3300 DV, utilizando Ar como gas de transporte y nebulización. En este caso se ha optado por utilizar la línea de emisión de plata a 328 nm para la cuantificación, por ser la de mayor intensidad. La introducción de las muestras se ha realizado de forma manual mediante aspiración directa a través de una bomba peristáltica. Para la calibración se ha usado un patrón multielemental Perkin Elmer N9300233. Al igual que en el caso del ISE, es necesario acidificar las

muestras para garantizar la estabilidad de los analitos, para lo que se añade un 5% de HNO_3 a las muestras y patrones antes de realizar las medidas.

6.2.3 Diálisis

Los experimentos de diálisis se han realizado utilizando una membrana simétrica de éster de celulosa (CE) de Spectrum Labs Biotech, con un límite de peso molecular (MWCO) de 100-500 Da. La membrana, una vez lavada y aclarada con agua fue cortada en trozos de 7 cm de longitud, y cada trozo (una vez llenado con la disolución a separar) se introdujo en un vaso de precipitados de 500 mL con agitación magnética constante durante la separación.

La eficacia del método de purificación se ha comprobado por comparación de los resultados entre una muestra de clústeres de Ag_5 recién sintetizada de 500 mg/L de concentración (proporcionada por la empresa Nanogap) y un blanco de AgNO_3 de la misma concentración. En ambos casos, se han introducido 5 mL de la disolución en el interior de los trozos de membrana, posteriormente sellados con la ayuda de pinzas especiales para diálisis, y sumergidos en el interior de los vasos de precipitados con 300 mL de agua milli-Q.

Las pruebas de diálisis con muestra y blanco se han llevado a cabo de forma simultánea, durante un tiempo total de 169 h, con el fin de asegurar que se completase el proceso. En ambos casos se han tomado alícuotas en períodos crecientes de tiempo para comprobar el progreso de la separación y poder estimar el momento en que esta finaliza. Así, las alícuotas medidas se corresponden con tiempos de 1, 8, 16, 24, 48 y 72h. La cuantificación de iones Ag^+ y de la cantidad de Ag total se ha realizado mediante ISE e ICP-OES, respectivamente, de la forma descrita en el apartado anterior.

6.2.4 Extracción en fase sólida (SPE)

Los estudios de extracción en fase sólida se han desarrollado, de la misma forma que los de diálisis, por comparación entre una muestra de clústeres de Ag_5 de 500 mg/L y un blanco de AgNO_3 de idéntica concentración. De nuevo, la concentración de iones Ag^+ se mide

mediante ISE, y la de Ag total mediante ICP-OES, de la forma descrita en el apartado 6.2.2.

En el presente trabajo se han probado diferentes cartuchos de SPE con varios tipos de rellenos, con el fin de comprobar el comportamiento de cada uno de ellos en la purificación de clústeres. El funcionamiento de la SPE es sencillo y está basado en protocolos perfectamente establecidos. Dichos protocolos comienzan en la carga de los analitos en el medio adsorbente del cartucho tras hacer pasar la muestra en disolución a través de él (aunque a menudo se requieren una o dos etapas previas de acondicionamiento y equilibrado del cartucho). Posteriormente, se realizan distintas etapas de lavado y elución con el fin de conseguir la separación de los componentes de la muestra cargados en el cartucho en diferentes fracciones, a través del uso de fases de distinta naturaleza y polaridad con diferentes afinidades hacia los distintos componentes de la muestra. En este caso, se han utilizado los protocolos recomendados por el fabricante para cada uno de los cartuchos, además de otro protocolo alternativo en uno de los casos. La carga, el lavado y las eluciones se han realizado de forma manual mediante jeringas desechables de polipropileno de 5 mL (Acofar).

En el anexo 11.1 se exponen los diferentes protocolos de SPE que se han utilizado para cada uno de los cartuchos.

6.2.5 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

Las separaciones de HPLC se han realizado mediante un sistema híbrido ICP-MS-HPLC. Se ha utilizado una bomba de HPLC binaria Waters 1525 con un desgasificador en línea Waters AF DG2. Como detector se ha empleado un espectrómetro de masas de plasma acoplado por inducción (ICP-MS) Perkin Elmer NexION 300D con Ar como gas de transporte y nebulización, con el fin de cuantificar la cantidad de plata total. Para realizar dicha cuantificación se ha optado por el isótopo ^{107}Ag , por ser el de mayor abundancia natural. Las medidas se han llevado a cabo en modo colisión (KED) con He, con el fin de eliminar posibles interferencias espectrales debido a la formación de iones poliatómicos de la misma masa que el isótopo elegido. La introducción de los analitos en el sistema se ha realizado a través de inyección directa

en una válvula de 6 vías con una jeringa de precisión Hamilton Microliter Serie 700 de 500 μL .

Esta técnica se ha utilizado para purificar muestras de clústeres de Ag_5 de 500 mg/L similares a las usadas en las técnicas descritas en los anteriores apartados. Asimismo, se ha inyectado un blanco de AgNO_3 de la misma concentración.

A la hora de realizar las separaciones se han empleado varias columnas con distintos rellenos, como exclusión por tamaños, C18 de base de sílice o C18 de base polimérica. Las condiciones experimentales de cada una de las separaciones realizadas con las diferentes columnas se describen en el Anexo 11.2.

6.2.6 Extracción líquido-líquido (LLE) de clústeres de Ag_{5-15} en acrilato

El desarrollo y optimización de un método de extracción líquido-líquido de una fase orgánica a agua para clústeres de Ag_{5-15} se ha realizado de forma secuencial, modificando de forma sucesiva distintos parámetros con el fin de solventar los diferentes problemas que han surgido a lo largo del proceso. Dicho proceso se describe de forma detallada en el apartado de Resultados y Discusión, junto con las condiciones experimentales concretas de cada etapa del proceso.

Los clústeres de Ag_{5-15} empleados, suministrados por la empresa Nanogap, son sustancialmente distintos de los clústeres desnudos subnanométricos utilizados en los anteriores apartados de este capítulo. Se trata en este caso de clústeres de mayor tamaño, sintetizados mediante un método químico, en 1,6-hexanodiol diacrilato (HDDA) como disolvente. Poseen además una estabilización por medio tetraoctilamonio (TOA), que puede considerarse como un ligando de protección débil, al objeto de no enmascarar sus propiedades.

A modo general, en los experimentos se ha empleado una placa agitadora múltiple de la marca SBS, una placa calefactora Stuart CC162 y viales de vidrio de 20 mL (Hansell). Las medidas de fluorescencia se han llevado a cabo con una cubeta de cuarzo QS de 10 mm de paso óptico, en un fluorímetro Varian Cary Eclipse. Las extracciones se han realizado en un embudo de decantación de vidrio de 20 mL (Aldo), con

ayuda de un soporte vertical y un aro de pinza para sostener el embudo durante la separación de fases.

6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.3.1 Diálisis de clústeres de Ag₅

Las membranas de diálisis se caracterizan por su límite de peso molecular (MWCO), que está relacionado con el tamaño máximo de las moléculas que pueden pasar a través de ellas. En el presente estudio, se han utilizado para la separación de los iones Ag⁺ presentes en las muestras por su difusión a través de la membrana, permaneciendo los clústeres de Ag₅ en su interior. Dicha muestra de clústeres (500 mg/L de concentración de Ag total), ha sido medida en el ISE obteniendo una concentración de iones Ag⁺ de 417 mg/L. Con ello se puede estimar una concentración de clústeres Ag₅ de 83 mg/L en la muestra.

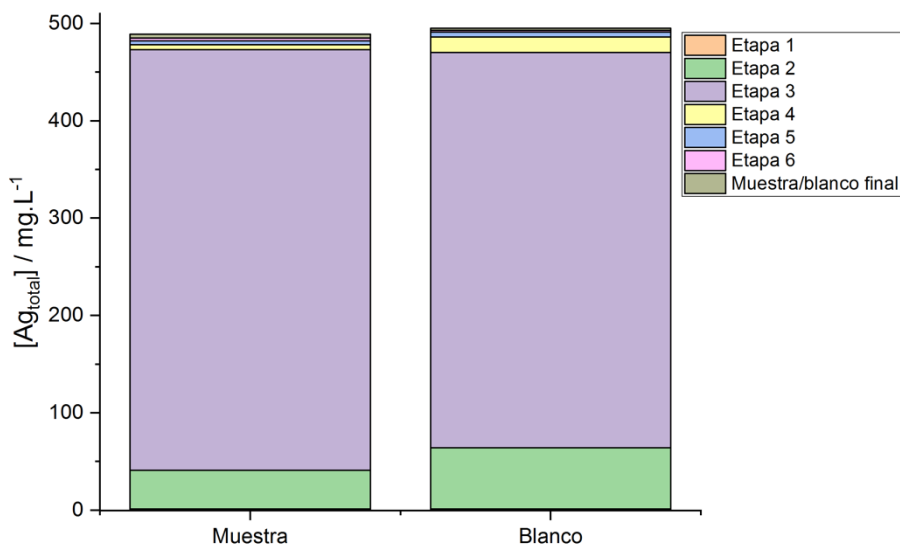


Figura 38. Cantidad de plata total medida en cada una de las etapas de la diálisis

La Figura 38 muestra los resultados obtenidos en el experimento de diálisis, con la cantidad de plata total medida en las alícuotas

correspondientes a cada una de las etapas tanto para la muestra de clústeres de Ag_5 como para el blanco de AgNO_3 , así como la cantidad de Ag total medida en el interior de la membrana tras finalizar la diálisis. Tal y como se puede comprobar, durante la primera hora (Etapa 1) la cantidad de plata que atraviesa la membrana es prácticamente nula tanto en la muestra como en el blanco. La plata empieza a salir en ambos casos a partir de las siguientes 8h (Etapa 2), aunque la práctica totalidad sale durante la etapa de 16h (Etapa 3). La cantidad de plata que sale durante las tres últimas etapas (144h en total) es prácticamente despreciable. Tras analizar los resultados se puede concluir que la diálisis resulta ineficaz para la separación de los iones y los clústeres en la muestra, puesto que, al contrario de lo que se esperaría, no existen grandes diferencias entre las cantidades de plata medidas entre la muestra y el blanco. Por otro lado, la pequeña cantidad de Ag final medida en el interior de la membrana en el caso de la muestra (3 mg/L) apunta a que los clústeres de Ag_5 son capaces de atravesar la membrana, haciendo imposible la purificación por este procedimiento.

Los porcentajes de recuperación ($\% \text{Rec} = ([\text{Ag}]_{\text{total inicial}} / [\text{Ag}]_{\text{total final}}) * 100$)⁷⁹ obtenidos son, $\% \text{Rec} = 97,8\%$ para la muestra y $99,0\%$ para el blanco e indican claramente que la cantidad de plata que se pierde (presumiblemente retenido en la membrana) es muy bajo. Esto concuerda con el análisis general de los resultados obtenidos en cada una de las etapas del proceso, y constata la ineficacia de la diálisis para la separación selectiva de los iones presentes en la muestra de clústeres como resultado de la síntesis, al menos con el diámetro de poro de la membrana utilizada, la de menor MWCO del mercado en el momento de la realización de este estudio.

6.3.2 Extracción en fase sólida de clústeres de Ag_5

El objetivo principal de este estudio es la separación en las muestras de los iones Ag^+ de los clústeres de Ag_5 , empleando muestras similares a las utilizadas en el caso de la diálisis. En este caso, el método resultará efectivo si los iones y los clústeres salen del cartucho en distintas etapas del protocolo de SPE, lo que ocurrirá si los iones se retienen muy poco o nada y los clústeres son adsorbidos y eluyen en las últimas etapas. Con este fin, se han realizado separaciones con

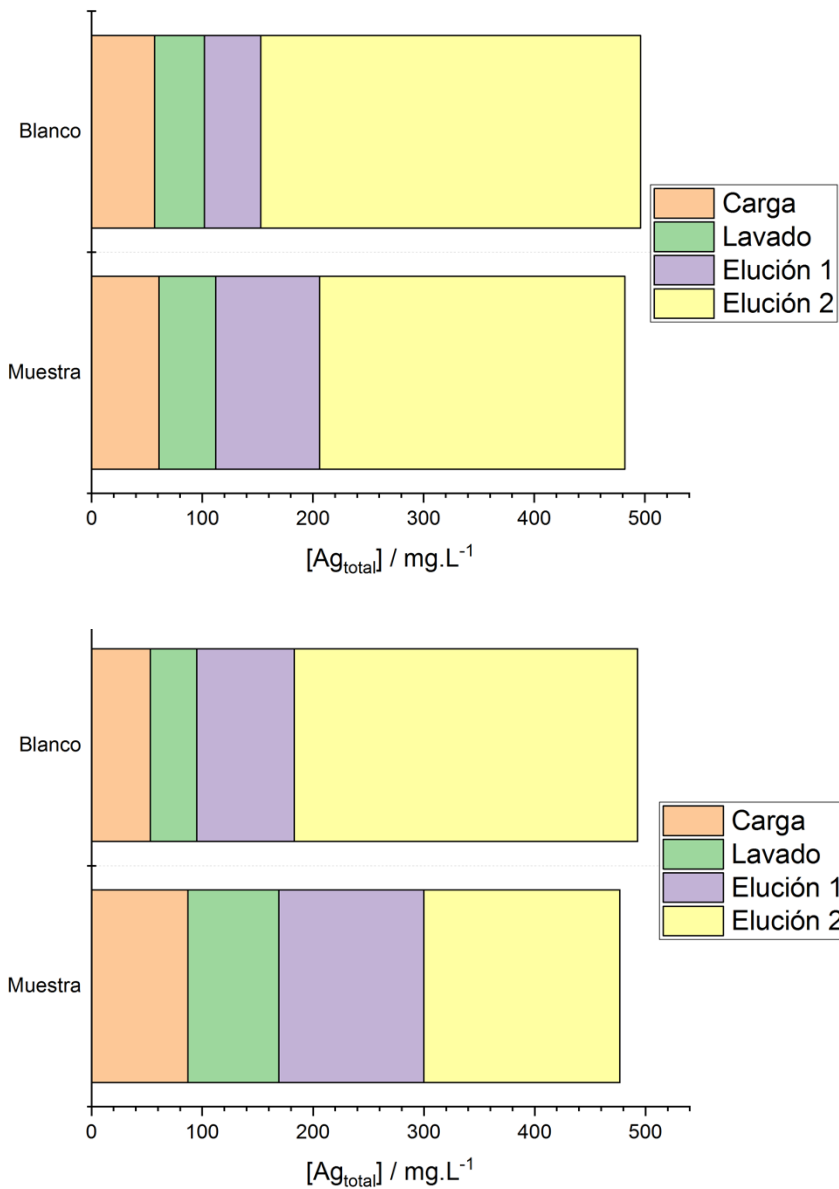


Figura 39. Cantidades de Ag total medidas en cada una de las etapas de SPE con el cartucho Waters Oasis MCX de intercambio catiónico, obtenidas mediante el Protocolo 1 (arriba) y el Protocolo 2 (abajo).

cartuchos de diferentes medios adsorbentes: de intercambio catiónico, alúmina ácida, alúmina neutra, alúmina básica, C2 de fase reversa y C18 de fase reversa.

En la Figura 39 se presentan los resultados obtenidos en la purificación por SPE con el cartucho Waters MCX de intercambio catiónico fuerte para la muestra de Ag_5 y el blanco de AgNO_3 , tanto para el Protocolo 1 como para el Protocolo 2 descritos en el Anexo 11.1. Los valores de %Rec obtenidos son 96,4% para la muestra y 99,2% para el blanco con el Protocolo 1, y 95,4% para la muestra y 98,6% para el blanco con el Protocolo 2. De acuerdo con los datos representados en la figura y con los porcentajes de recuperación calculados, se llega a la conclusión de la ineficacia del cartucho en la separación de Ag^+ y Ag_5 con independencia del protocolo usado, puesto que tanto en el caso de la muestra como en el blanco la plata sale de forma fraccionada a lo largo de todas las etapas. De este modo, a pesar de las diferencias evidentes en las cantidades de Ag de cada etapa entre muestra y blanco, clústeres e iones eluyen simultáneamente no resultando posible una

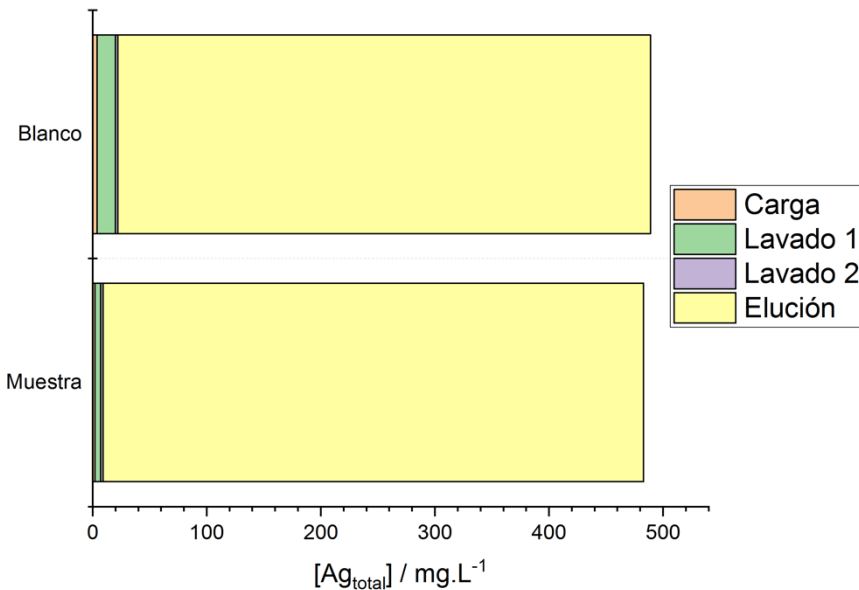


Figura 40. Cantidades de Ag total medidas en cada una de las etapas de SPE con el cartucho Waters Sep-Pak de alúmina ácida, obtenidas mediante el Protocolo 3.

purificación eficaz. Además, los elevados %Rec obtenidos indican que la cantidad de plata retenida en el cartucho al finalizar el proceso es mínima en ambos casos.

Los resultados relativos a la separación con el cartucho Waters Sep-Pak de alúmina ácida (Protocolo 3 del Anexo 11.1) se muestran en la Figura 40. En este caso ha obtenido %Rec = 96,6% para la muestra y 97,8% para el blanco. De acuerdo con los resultados se produce una fuerte adsorción de la plata en el medio sólido, dado que tanto en el blanco como en la muestra la Ag sale del cartucho casi por completo en la etapa final de elución. Esta adsorción, al producirse por igual en la plata iónica y en los clústeres, hace imposible la purificación. Además, al igual que ha ocurrido con el cartucho de intercambio iónico, los elevados %Rec indican que prácticamente toda la plata inicial es recuperada y la cantidad retenida en el cartucho es muy baja en muestra y blanco.

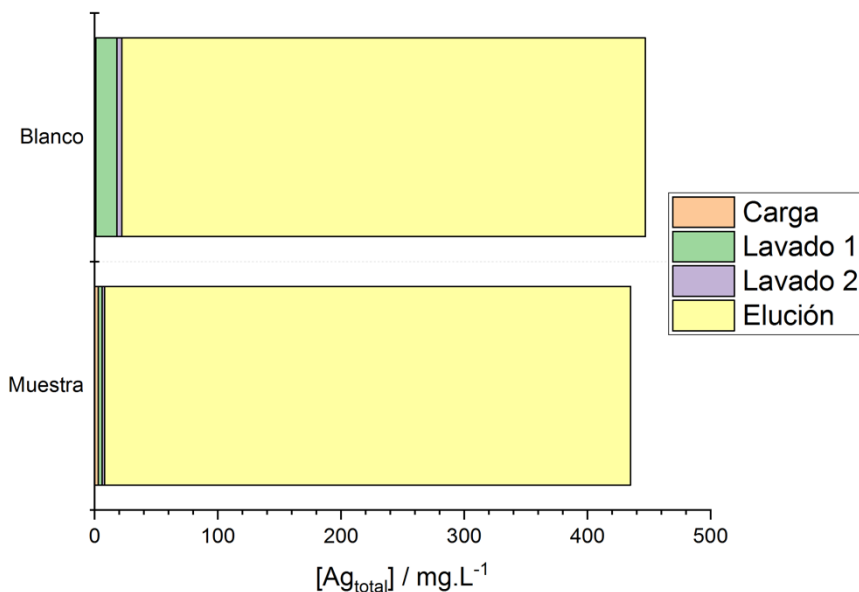


Figura 41. Cantidades de Ag total medidas en cada una de las etapas de SPE con el cartucho Waters Sep-Pak de alúmina neutra, obtenidas mediante el Protocolo 4.

En el caso de la separación con el cartucho Waters Sep-Pak de alúmina neutra mediante el Protocolo 4 (Figura 41), los resultados obtenidos son muy similares a los correspondientes al relleno de alúmina ácida. De nuevo, se produce una adsorción fuerte tanto de los iones Ag^+ como de los clústeres de Ag_5 , apareciendo casi por completo en la etapa de elución. Sin embargo, el %Rec de 87,0% para la muestra y 89,4% para el blanco son sensiblemente inferiores a los obtenidos en las anteriores separaciones, lo cual es indicativo de que una cantidad de plata apreciable se queda retenida en el interior del cartucho.

Un comportamiento prácticamente análogo se ha observado al emplear un cartucho Waters Sep-Pak de alúmina básica (Figura 42, Protocolo 5). Nuevamente, tanto en la muestra como en el blanco la inmensa mayoría de la plata sale en la última etapa del protocolo, por lo que el cartucho resulta completamente ineficaz para la purificación. Los porcentajes de recuperación obtenidos en este caso, del 77,4% para

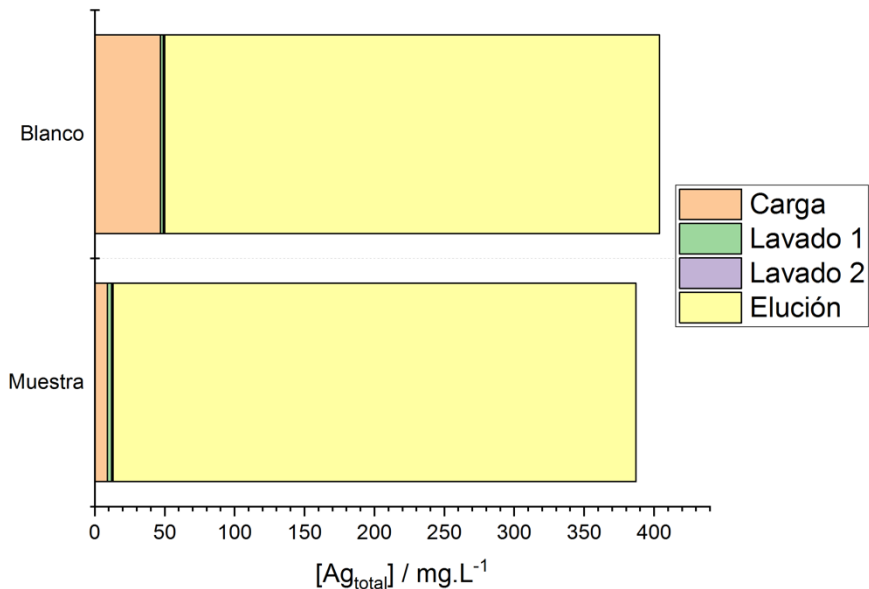


Figura 42. Cantidades de Ag total medidas en cada una de las etapas de SPE con el cartucho Waters Sep-Pak de alúmina básica, obtenidas mediante el Protocolo 5.

la muestra y 80,8% para el blanco, son aún más bajos que los obtenidos con el relleno de alúmina neutra, lo cual denota que una parte importante de la plata (mayoritariamente iónica) no llega a eluir del interior de los cartuchos.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos con el cartucho Waters Sep-Pak tC18 mediante el Protocolo 6 (Figura 43) ideada para separaciones en fase reversa, consistente en el empleo de una fase estacionaria (en este caso el medio adsorbente del cartucho) apolar junto con una fase móvil polar para conseguir la elución de los analitos retenidos. Las concentraciones de Ag total medidas en las diferentes fracciones difieren de forma significativa de las observadas en los anteriores apartados, puesto que la mayoría de la Ag atraviesa el cartucho sin ser adsorbido, lo cual se refleja en los elevados valores obtenidos en la fracción correspondiente a la carga de la muestra y el blanco en los cartuchos. Una fracción mucho menor, aunque también significativa, eluye en la etapa de lavado, y prácticamente nada en las

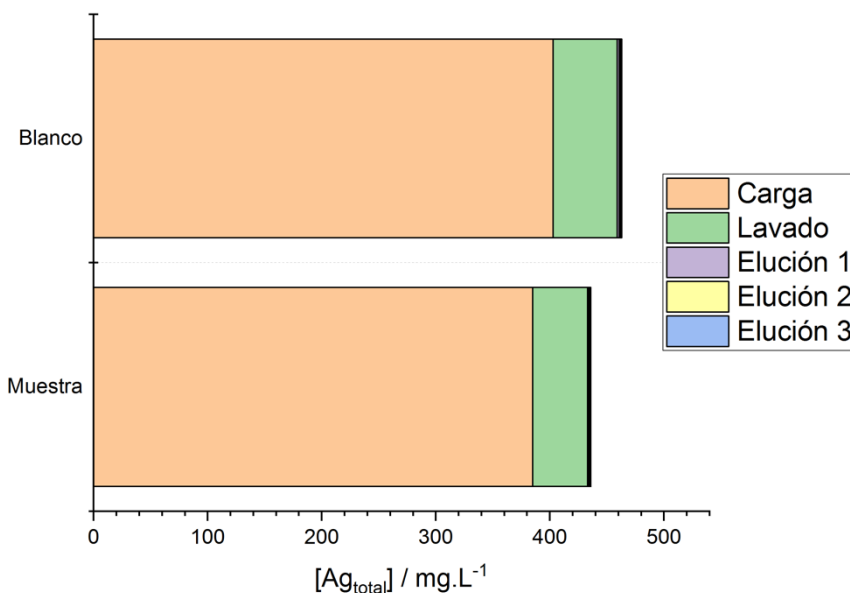


Figura 43. Cantidades de Ag total medidas en cada una de las etapas de SPE con el cartucho Waters Sep-Pak tC18 de fase reversa, obtenidas mediante el Protocolo 6.

tres etapas de elución. Por lo tanto, este cartucho resulta también ineficaz para la purificación de la muestra de clústeres. Los %Rec calculados, del 87,2% para la muestra y 92,6% para el blanco, son también bastante bajos, perdiéndose una cantidad notable de la plata durante el proceso.

Finalmente, en la Figura 44 se presentan los resultados correspondientes a la separación con el cartucho Waters Sep-Pak tC2 de fase reversa (Protocolo 7). Dichos resultados muestran una notable similitud con los correspondientes al cartucho de C18, aunque en este caso una cantidad un poco mayor de Ag se queda retenida y se eluye durante la etapa de lavado. No obstante, la comparación entre muestra y blanco demuestra que este cartucho tampoco resulta efectivo para lograr la purificación de los iones de la muestra. En este caso, los porcentajes de recuperación del 90,6% y 94,4% para muestra y blanco, respectivamente, se encuentran en una posición intermedia entre todos

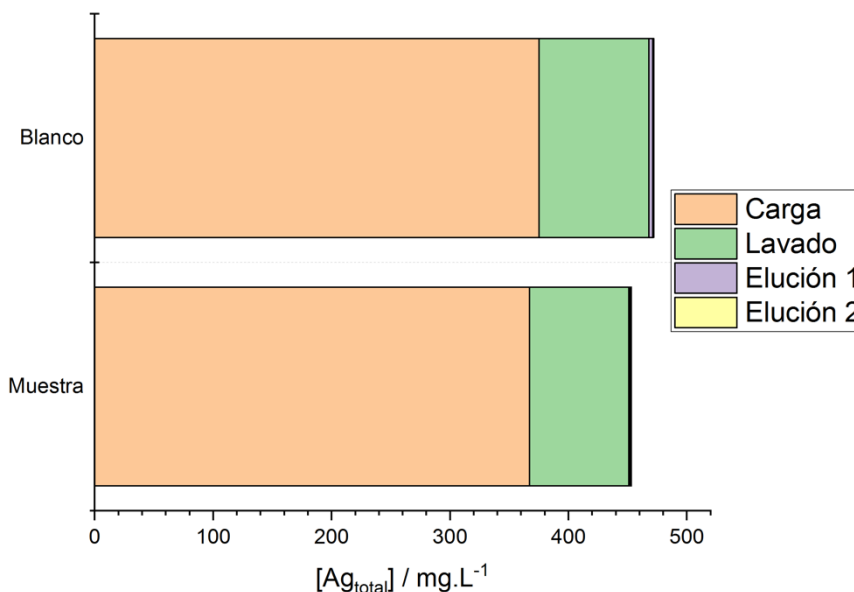


Figura 44. Cantidades de Ag total medidas en cada una de las etapas de SPE con el cartucho Waters Sep-Pak tC2 de fase reversa, obtenidas mediante el Protocolo 7.

los cartuchos utilizados en este apartado, perdiendo durante el proceso una cantidad apreciable de plata, aunque mucho menor que en el caso de rellenos como la alúmina básica o neutra.

En términos generales, se puede concluir que la SPE resulta totalmente ineficaz para la eliminación de los iones Ag^+ presentes en la muestra de Ag_5 . Tal y como se ha podido comprobar, con ninguno de los cartuchos utilizados se observa una diferencia significativa entre el blanco de AgNO_3 y la muestra de clústeres, sino que los resultados son muy similares entre ambas en todos los casos. Sin embargo, el hecho de realizar las pruebas de forma manual en lugar de emplear un colector específico para SPE complica de forma muy notable el proceso, resultando muy difícil controlar la presión aplicada como también asegurar un flujo lento y constante de las fases móviles. Todo esto puede afectar de forma decisiva al contacto y adsorción de los analitos con la fase estacionaria y con ello a los resultados obtenidos. Con todo, estos resultados pueden ser útiles para la evaluación de los diferentes rellenos y su posible optimización posterior o su uso en HPLC. Así, los rellenos con los que se han obtenido valores de %Rec más bajos pueden ser candidatos ideales para la realización de estudios más minuciosos en SPE o para utilizar en columnas de HPLC, puesto que las cantidades de Ag que no han podido ser recuperadas indican que parte de los analitos se quedan fuertemente adsorbidos en el medio sólido, y podría ser posible obtener unos buenos resultados si las fases móviles empleadas son optimizadas de forma adecuada. A este respecto, los rellenos de alúmina ácida, alúmina neutra, C18 o incluso C2 podrían ser los candidatos más idóneos.

6.3.3 Separación de clústeres de Ag_5 por HPLC

La técnica de HPLC se ha utilizado para separar los iones Ag^+ presentes en una muestra de clústeres de Ag_5 , de forma similar a lo descrito en los apartados anteriores. La Figura 45 muestra las separaciones realizadas con la columna de exclusión por tamaños Waters Ultrahydrogel 120A de la muestra de clústeres de Ag_5 y del blanco de AgNO_3 . Se trata de una columna de partículas poliméricas de 6 μm adecuada para la separación de especies de entre 100 y 5000 Da presentes en muestras acuosas. En este caso no se ha conseguido

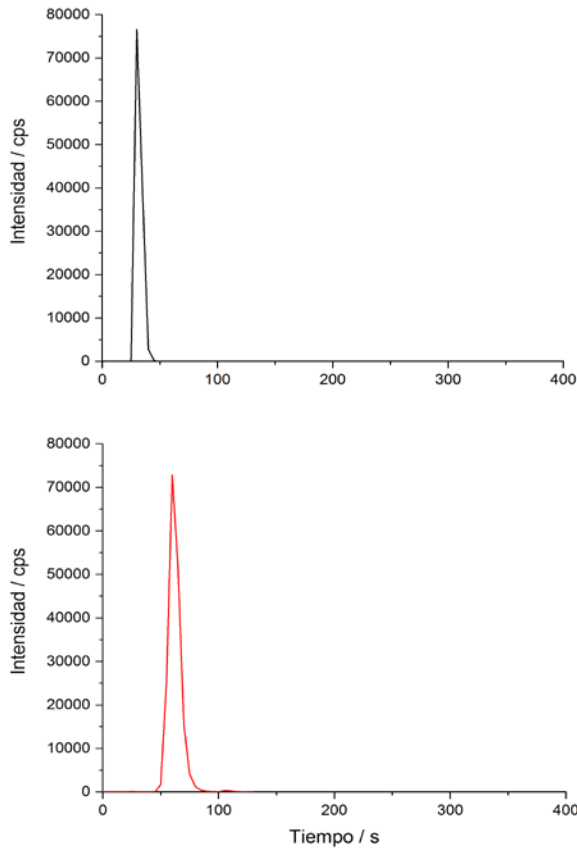


Figura 45. Separación en HPLC del blanco de AgNO_3 (arriba) y la muestra de clústeres de Ag_5 (abajo) con la columna de exclusión por tamaños Waters Ultrahydrogel 120A.

separar los iones de los clústeres, puesto que tanto en la muestra como en el blanco se observa tan sólo un único pico, lo cual indica de forma unívoca que los clústeres y los iones eluyen juntos en el caso de la muestra. Esto probablemente se debe a que el tamaño de poro de las partículas de la columna no es lo suficientemente pequeño para poder separarlos y tanto clústeres como iones la atraviesan con facilidad. Sin embargo, resulta llamativo el hecho de que exista un desplazamiento de aproximadamente 25 s entre los tiempos de retención correspondientes

a la muestra y el blanco. Posiblemente esto sea debido a que ambos interaccionan entre sí modificando su interacción con el medio adsorbente, lo cual complica aún más la separación, y explica las dificultades observadas tanto en la diálisis como en las separaciones con SPE. De todas formas, esta técnica podría ser de gran utilidad para realizar modificaciones tendentes a eliminar la interacción clústeres-iones (objetivo que queda fuera de la presente tesis), lo que permitiría realizar su separación de forma eficaz por alguno de los métodos ensayados.

En la Figura 46 se presenta la separación realizada con la columna Hamilton PRP-1, compuesta por partículas poliméricas con ligandos C18. La elección de esta columna se debe principalmente a la propia naturaleza de las partículas de relleno, puesto que resulta razonable pensar que dichas partículas poliméricas serán más inertes y tendrán una interacción más débil con los analitos en comparación con partículas de sílice típicas de los rellenos de fase reversa. Además, los resultados obtenidos en las separaciones de SPE con los tres cartuchos diferentes de alúmina evidencian la necesidad de intentar reducir esta interacción entre las especies de interés y el medio adsorbente con vistas a conseguir separar los iones de los clústeres. Sin embargo, la separación tampoco es posible con esta columna, eluyendo tanto clústeres como iones de forma conjunta en un único pico. En este caso, el tiempo de retención de los picos de muestra y blanco coinciden, indicando que, al contrario de lo observado con la columna de exclusión por tamaños, se produce una interacción análoga de la muestra y el blanco con el relleno de la columna.

A la vista de los resultados obtenidos con la columna C18 de base polimérica, se ha optado por probar otra columna de fase reversa C18 con un relleno sustancialmente distinto. En este caso, se ha empleado la columna Waters XBridge C18, compuesta por partículas de sílice. Al contrario de lo que ocurre con la práctica totalidad de las partículas de sílice usadas como relleno para columnas de HPLC, el ligando (en este caso octadecano) se une a la partícula a través de un enlace trifuncional en lugar de un enlace simple. Esto se traduce en una drástica reducción del número de grupos silanol libres presentes en la superficie de las partículas, lo que en muchos casos puede tener una influencia decisiva

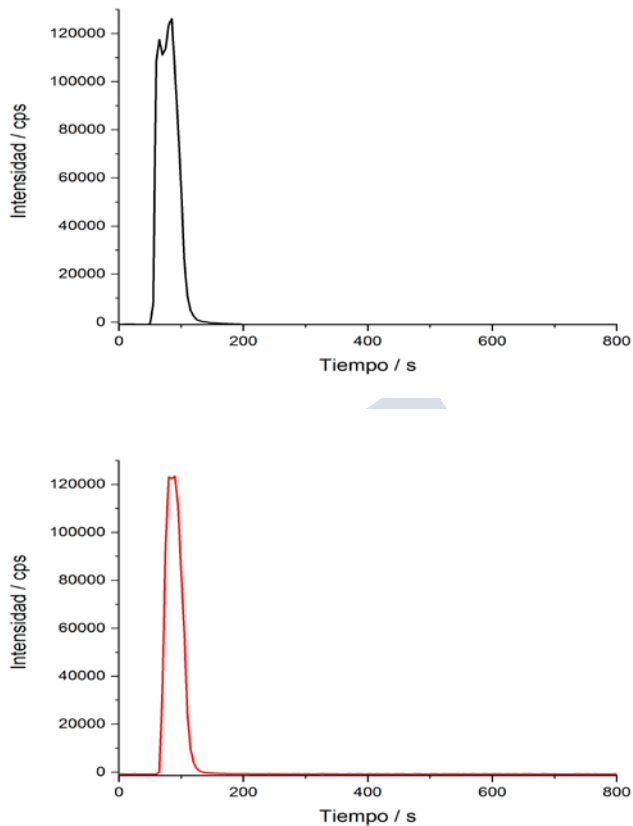


Figura 46. Separación en HPLC del blanco de AgNO_3 (arriba) y la muestra de clústeres de Ag_5 (abajo) con la columna de fase reversa Hamilton PRP-1 de base polimérica.

en la interacción de los analitos con las partículas de relleno y por ende en las separaciones obtenidas. Por lo tanto, cabe esperar un comportamiento notablemente distinto en comparación con las separaciones llevadas a cabo con los cartuchos y columnas de partículas de sílice, tanto funcionalizadas con C18 como sin funcionalizar.

Las separaciones realizadas con esta columna se presentan en la Figura 47. Al contrario de lo observado en todas y cada una de las separaciones comentadas hasta el momento, esta columna si que permite realizar una separación clara entre los clústeres de Ag_5 y los

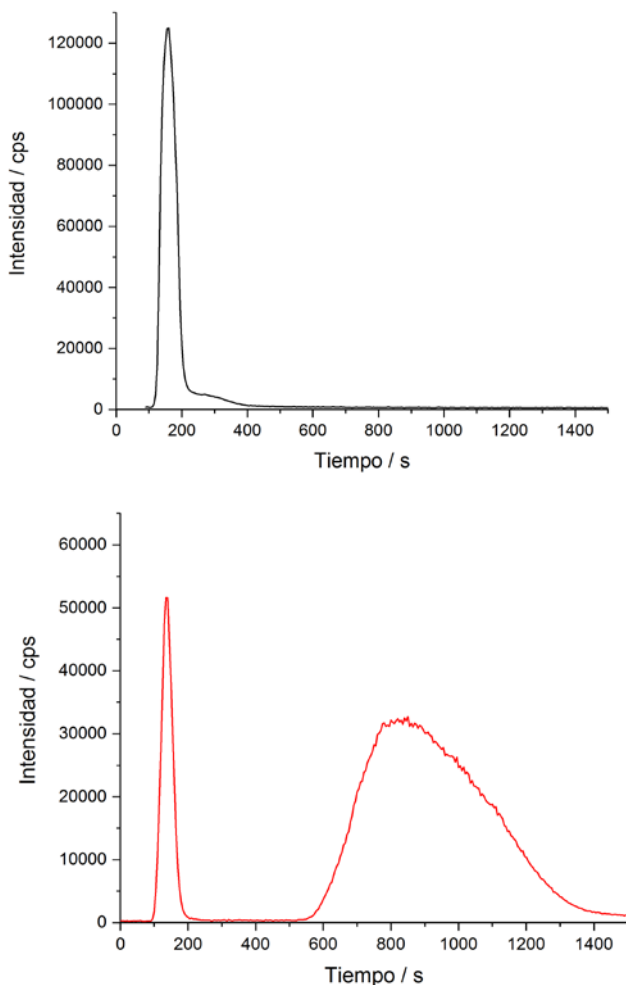


Figura 47. Separación en HPLC del blanco de AgNO_3 (arriba) y la muestra de clústeres de Ag_5 (abajo) con la columna de fase reversa Waters XBridge C18 de base de sílice modificado.

iones Ag^+ de la muestra. De acuerdo con los cromatogramas obtenidos, los iones eluyen tanto en la muestra como en el blanco con un tiempo de retención $t_R = 180$ s. Sin embargo, este pico es notablemente más intenso en el caso del blanco que en la muestra, lo cual sugiere que parte de los iones de Ag^+ en la muestra no están libres. Por otra parte, en el

caso de la muestra se observa una segunda banda, más ancha, con un $t_R = 850$ s. Esta segunda banda, presente únicamente en el cromatograma de la muestra, ha de corresponder a los clústeres metálicos. La mayor anchura de esta banda en relación con el pico correspondiente a los iones se puede explicar porque las interacciones de los clústeres con iones originan especies de diferentes tamaños, lo cual también explicaría la disminución de iones de plata libres observados al comparar el pico de los iones en la muestra y el blanco. Comparando ambos picos de Ag^+ podemos decir que en este caso se ha podido separar \approx el 58% de los iones de Ag^+ presentes en la muestra inicial. Del resto de iones, una parte queda libre, pudiendo permanecer también alguna parte retenida en los clústeres, lo que podría explicar el ancho del pico de los clústeres.

A la hora de evaluar el comportamiento de una separación cromatográfica, la ecuación de Van Deemter proporciona una estimación de la eficacia de una columna a través de las condiciones físicas, cinéticas y termodinámicas de la separación^{80,81}. El número de platos teóricos (N) es un parámetro que mide la eficacia de una separación para un analito concreto. Puede calcularse mediante una expresión derivada de la ecuación de Van Deemter,

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2$$

donde t_R es el tiempo de retención del analito en cuestión y W_b es la anchura del pico medida en la base. Así, se ha calculado un valor de $N = 52$ en el caso de los iones Ag^+ y $N = 18$ en el caso de los clústeres de Ag_5 . La elevada diferencia observada entre ambos valores se debe justamente a la gran diferencia existente en la anchura de los picos correspondientes a ambas especies. Se puede concluir por tanto que, a pesar de que la separación resulta muy eficaz para los iones, obteniendo un pico alto y estrecho, podría mejorarse en el caso de los clústeres. Para ello se podría proceder a repetir varias veces el proceso para eliminar los iones libres que aún quedan y ver si la interacción clúster-ion es de equilibrio de forma que, al eliminar iones libres, se irían eliminando también los iones enlazados al clúster. Aunque este procedimiento se intentó, se observó que las columnas quedaban dañadas una vez que se pasaba la muestra de clústeres. Este aspecto se

está estudiando en el grupo de investigación en el que se desarrolla la presente tesis doctoral, por lo que no se ha profundizado más en el tema.

La resolución (R_S) es otro parámetro que resulta muy útil a la hora de cuantificar la efectividad de una separación cromatográfica⁸⁰. En este caso se trata de un parámetro que indica la eficacia de la separación obtenida entre dos especies, y se calcula a través de la expresión

$$R_S = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_{b1} + W_{b2}}$$

Los valores de $R_S < 1$ se corresponden con un único pico para ambos compuestos, es decir, compuestos no separados. Valores de $R_S = 1$ indican una separación de aproximadamente el 90%. Por último, los valores de $R_S = 1,5$ indican una separación completa de los compuestos hasta la línea base. El valor de resolución obtenida con las muestras es de 1,49 lo que confirma de forma cuantitativa la excelente separación obtenida entre clústeres e iones que se observa de forma clara en el cromatograma.

En resumen, se puede concluir que, a pesar de los resultados negativos obtenidos en las separaciones de HPLC con las columnas de exclusión por tamaños y C18 de base polimérica, los obtenidos con la columna C18 de sílice con enlace trifuncional para los ligandos ha permitido separar de forma eficaz los iones Ag^+ de los clústeres de Ag_5 . Se trata de un resultado tremendamente prometedor, que abre la puerta a la aplicación de los clústeres puros en diversas reacciones catalíticas sin ningún tipo de influencia de los iones remanentes del proceso de síntesis o de contraiones derivados de la eliminación de dichos iones mediante procesos de precipitación. Además, este resultado puede ser un paso previo necesario de cara a poder conseguir la separación entre clústeres de diferentes tamaños o incluso con vistas a un posterior escalado del método con el propósito de realizar la purificación rutinaria de muestras de clústeres.

6.3.4 Extracción líquido-líquido de clústeres de Ag_{5-15} en acrilato

El objetivo de este estudio es extraer a una fase acuosa clústeres de Ag (entre 5 y 15 átomos) estabilizados con tetraoctilamonio (TOA) en HDDA como disolvente. El cambio de disolvente se antoja

indispensable con miras a la aplicación práctica de los clústeres sintetizados, al objeto de eliminar el exceso de TOA presente en la síntesis.

A la hora de realizar la separación, es necesario tener en cuenta que resulta preciso hidrolizar el acrilato previamente a la extracción, con el fin de que únicamente los clústeres pasen a la fase acuosa. De acuerdo con la bibliografía, la hidrólisis del acrilato se puede llevar a cabo de forma sencilla en medio básico, mediante compuestos como NaOH o KOH (Figura 48). El rendimiento de la reacción de hidrólisis alcalina depende principalmente de factores experimentales como la concentración de base empleada, la temperatura y el tiempo⁸².

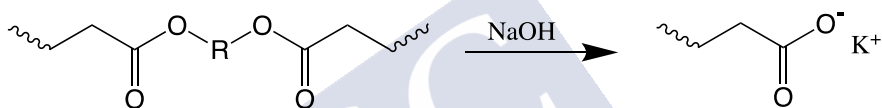


Figura 48. Esquema de la reacción de hidrólisis alcalina de HDDA polimerizado.

Con el fin de evaluar de forma rápida la eficacia del proceso de hidrólisis y extracción de los clústeres a una fase acuosa, el color de las disoluciones puede resultar de gran utilidad. Por ejemplo, tanto el HDDA como el TOA, además del agua, son incoloros. Sin embargo, la muestra de clústeres que se pretende purificar muestra un intenso color amarillo, que se corresponde con su máximo de absorción en la zona del violeta del espectro visible ($\lambda = 395$ nm). De este modo, es posible comprobar rápidamente si el método funciona, puesto que si se consigue extraer los clústeres a la fase acuosa, ésta se tornará del mismo color amarillo presente en la muestra mientras que la fase orgánica debería perder su color.

Para comenzar, se ha optado por intentar realizar la hidrólisis del acrilato y la extracción de los clústeres a la fase acuosa en un único paso. Así, se han mezclado 500 μ L de la muestra de clústeres con 10 mL de H₂O mQ y 110 μ L de NaOH en disolución acuosa, para una concentración de NaOH 1M. El proceso se ha llevado a cabo a T^a ambiente y con agitación magnética constante durante un tiempo de 3h. En este caso, la gran viscosidad que la mezcla ha terminado por adquirir durante la primera hora imposibilita totalmente la extracción (Figura

49). Además, las densidades del HDDA ($1,01 \text{ g/cm}^3$) y el agua ($1,00 \text{ g/cm}^3$) son demasiado similares como para realizar una extracción líquido-líquido de forma efectiva, ralentizando enormemente el proceso. Por este motivo, se ha optado por diluir la muestra de clústeres en algún tipo de disolvente orgánico, con el fin tanto de disminuir la viscosidad de la mezcla como de aumentar la diferencia de densidad entre la fase acuosa (FA) y la fase orgánica (FO) con vistas a la extracción. Así, se ha diluido la muestra tanto en diclorometano (CH_2Cl_2 , $d = 1,33 \text{ g/cm}^3$) como en tolueno (C_7H_8 , $d = 0,86 \text{ g/cm}^3$), comprobando que la muestra se diluye mucho mejor en el caso del CH_2Cl_2 .

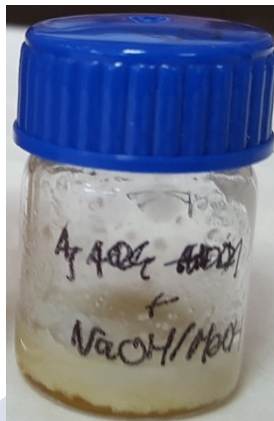


Figura 49. Mezcla viscosa obtenida al realizar la hidrólisis y la extracción en un único paso.

De este modo, se ha realizado la purificación de forma similar al anterior experimento, en un único paso, pero diluyendo previamente la muestra en diclorometano. Se han diluido $500 \mu\text{L}$ de la muestra de clústeres en 10 mL de CH_2Cl_2 y se han mezclado con 10 mL de agua mQ y NaOH ($[\text{NaOH}]_{\text{final}} = 1 \text{ M}$). En este caso, se ha observado la formación de 2 fases de forma prácticamente inmediata, por lo que la extracción se puede realizar de forma eficaz. Sin embargo, el hecho de emplear NaOH acuoso provoca que la base no sea capaz de hidrolizar de forma eficaz la muestra de clústeres en acrilato (el

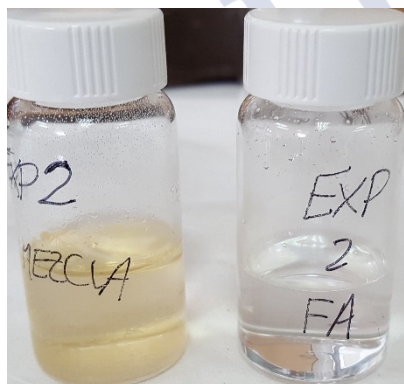


Figura 50. FO (izquierda) y FA (derecha) obtenidas al finalizar la extracción.

y que los clústeres no puedan ser extraídos, obteniendo una FA totalmente incolora y una FO con el mismo color amarillo de la muestra (Figura 50). Debido a esto, se ha decidido realizar el proceso en dos etapas: primero, la hidrólisis del

acrilato en la muestra mediante la adición de NaOH en un disolvente orgánico, y posteriormente la extracción de los clústeres a la FA.

A continuación, se han mezclado 500 μL de la muestra de clústeres con 10 mL de CH_2Cl_2 y 10,5 mL de una disolución de NaOH en MeOH (para una concentración final 2M de NaOH) con el fin de hidrolizar el acrilato de la muestra. La hidrólisis se ha llevado a cabo a T^a ambiente y con agitación magnética, durante un tiempo de 12h. Posteriormente, se han añadido a la mezcla 21 mL de H₂O mQ con fin de realizar la extracción LLE. La separación de fases se ha producido en unos pocos minutos, obteniendo una FA con un sutil color amarillo mientras que el tono amarillo de la FO pierde intensidad y adquiere matices grisáceos, apareciendo un residuo negro que se deposita en el fondo (Figura 51). Se trata sin duda de un buen resultado, ya que parte de los clústeres son extraídos con éxito a la fase acuosa, aunque es necesario todavía mejorar el rendimiento del

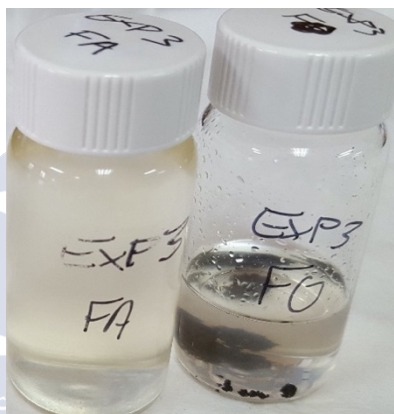


Figura 51. FA (izquierda) y FO (derecha) obtenidas tras la separación en dos etapas.

proceso. Para ello, seguidamente se ha tratado de optimizar la etapa de hidrólisis a través de la modificación de algunos de los factores experimentales que afectan a la reacción.

Para continuar, se ha realizado la hidrólisis de 400 μL de la muestra de clústeres tras su dilución en 8,1 mL de CH_2Cl_2 y la adición de 8,5 mL de NaOH en MeOH ($[\text{NaOH}]_{\text{final}} = 1\text{M}$). En este caso, la hidrólisis se ha realizado a 60 °C por calentamiento en un baño de silicona durante un tiempo de 3h. Al finalizar la etapa de hidrólisis, se ha realizado la extracción líquido-líquido tras añadir 17 mL de agua. El resultado obtenido es muy similar al del anterior experimento, con una extracción parcial de los clústeres a la FA (de un color amarillo muy pálido), aunque no se ha logrado aumentar de forma significativa el rendimiento de la separación. Un resultado muy similar se ha observado de nuevo

al realizar la hidrólisis a 60°C con concentraciones de 0,25, 0,5 y 2M de NaOH.

Finalmente, se ha logrado optimizar el método de purificación, a través de la hidrólisis de 1 mL de la muestra de clústeres diluidos en 4 mL de CH_2Cl_2 con 5 mL de NaOH en MeOH, para una concentración 3M de NaOH. La separación exitosa se ha llevado a cabo a Tª ambiente, con un tiempo de 12h para la hidrólisis. Al comparar estas condiciones experimentales con las de los anteriores experimentos, se puede concluir que el aumento de la [NaOH] es la clave para el aumento del rendimiento del método de

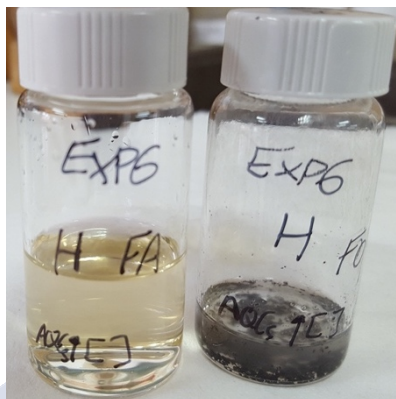


Figura 52. FA (izquierda) y FO (derecha) obtenidas en el proceso de separación optimizado.

purificación. En este caso, tras añadir 5 mL de agua y realizar la extracción se obtiene una FO completamente transparente aunque con una gran cantidad del mismo residuo negro observado en los últimos experimentos, y una FA totalmente cristalina de un color amarillo intenso (Figura 52). Esto es un claro indicativo de la elevada eficacia del método de separación. La explicación más sencilla del color negro observado es que en las muestras existe una pequeña cantidad de iones Ag^+ libres, que durante el proceso pueden ser reducidos a partículas de plata que dan ese color.

Una vez optimizado el proceso, se ha realizado una caracterización de los clústeres de Ag obtenidos en disolución acuosa, y se ha evaluado el rendimiento del método de separación. Así, se ha cuantificado la muestra de clústeres una vez purificada mediante FAAS obteniendo una concentración de 785 μM . Esto se corresponde con un porcentaje de recuperación del 83,9%, que si bien todavía admite un notable margen de mejora, confirma la eficacia del método.

Asimismo, se ha caracterizado la muestra mediante espectroscopia de fluorescencia, para su comparación con el espectro obtenido previamente a la purificación. En la Figura 53 se presentan los espectros de excitación y emisión de fluorescencia obtenidos para la muestra de clústeres antes y después de la aplicación del método de separación. Tal

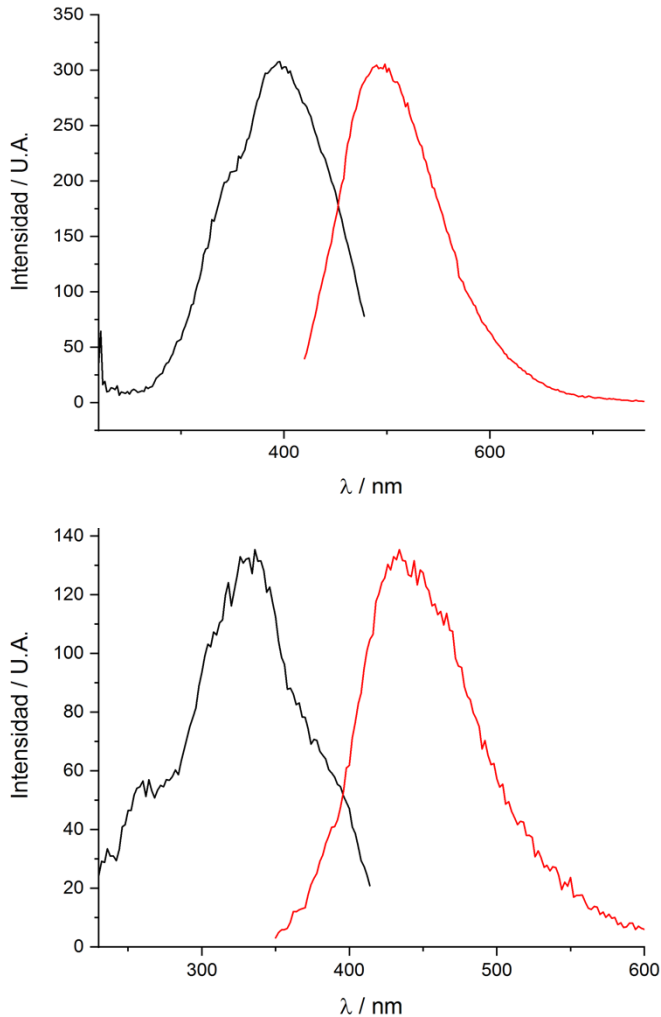


Figura 53. Espectros de excitación (en negro) y de emisión (en rojo) de fluorescencia correspondientes a la muestra de clústeres de Ag antes de realizar la separación (arriba) y después de la extracción en agua (abajo).

y como puede comprobarse, los espectros son notablemente similares, aunque se observa una intensidad un poco menor una vez realizada la extracción. Resulta destacable también el desplazamiento de las bandas hacia menores longitudes de onda en el caso de los clústeres purificados, que se puede explicar por la influencia del disolvente en las bandas espectrales⁴⁰.

Tras haber optimizado el método y realizado de forma satisfactoria la extracción de los clústeres de Ag a medio acuoso, se ha detectado que la totalidad o al menos gran parte del MeOH utilizado como disolvente para aumentar la eficacia de la hidrólisis con NaOH pasa a la FA junto con los clústeres durante la etapa de extracción. Esto se ha comprobado debido a su olor característico y al aumento anormal de volumen de la FA con respecto a la FO, teniendo en cuenta que el CH_2Cl_2 es insoluble en agua. Debido a esto, se ha añadido una tercera etapa al proceso de purificación, consistente en la eliminación del MeOH ($T_{\text{eb}} = 65\text{ }^\circ\text{C}$) por evaporación a través de calentamiento directo en una placa calefactora. De esta forma, el MeOH presente en la muestra se elimina con facilidad al calentar a $85\text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 min, al tiempo que se concentra la muestra a la mitad de volumen.

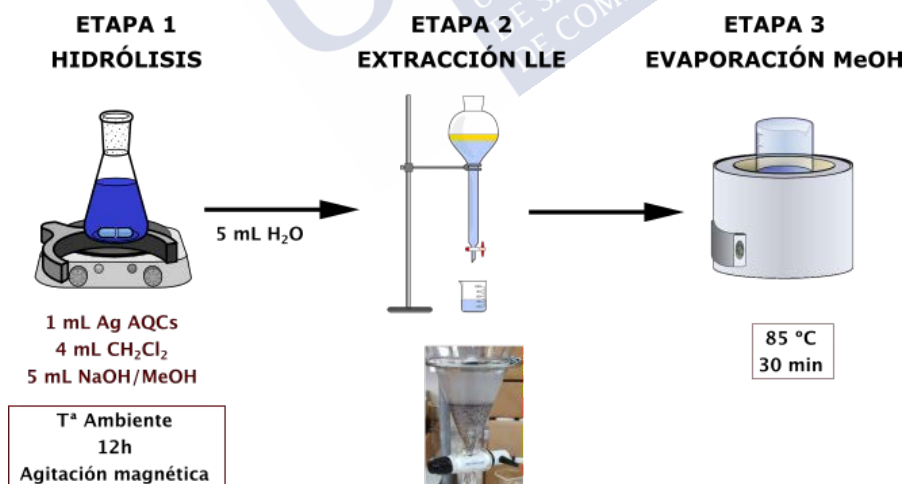


Figura 54. Representación esquemática del método de extracción de clústeres de Ag en acrilato a agua que se ha desarrollado.

Para finalizar, se muestra en la Figura 54 un esquema simplificado del proceso de extracción desarrollado en el presente capítulo. Además de las diferentes etapas del proceso, en él se plasman las condiciones experimentales requeridas en cada una de ellas.

6.4 CONCLUSIONES

En este capítulo se han investigado diferentes métodos de purificación de clústeres metálicos. Por una parte, se ha estudiado la aplicación de diálisis, extracción en fase sólida y HPLC a la eliminación de iones Ag^+ presentes en una muestra de clústeres de Ag_5 como subproducto de su síntesis. La diálisis ha resultado completamente ineficaz en esta tarea. Algo similar se ha observado en el caso de la extracción en fase sólida, no consiguiendo purificar la muestra con ninguno de los cartuchos probados (de intercambio catiónico, C18, C2 y alúmina ácida, neutra y básica). En el caso de HPLC, la separación ha sido de nuevo ineficaz al emplear las columnas de exclusión por tamaños y C18 de base polimérica, pero se ha conseguido separar los iones de los clústeres mediante una columna de C18 de base sílice. Con esta columna se ha logrado obtener una separación completa de base a base entre ellos, con un elevado valor resolución ($R_S = 1,49$). A partir de este prometedor resultado, se podría intentar optimizar las condiciones experimentales de la separación mediante procedimientos que permitan separar los iones Ag^+ que interaccionan con los clústeres.

Por otra parte, se ha desarrollado y optimizado un método de separación en tres etapas con el fin de extraer clústeres de Ag entre 5 y 15 átomos en acrilato a un medio acuoso. Para comenzar, se lleva a cabo la hidrólisis alcalina del acrilato en el que se encuentran dispersos los clústeres. Para ello, los clústeres se diluyen en CH_2Cl_2 para aumentar la eficacia de la hidrólisis y la disolución es basificada con NaOH en MeOH. Una vez finalizada la hidrólisis, los clústeres son extraídos a una fase acuosa mediante extracción líquido-líquido. Finalmente, el MeOH que pasa al medio acuoso durante la etapa de extracción es eliminado por evaporación a través del calentamiento de la disolución a 85 °C. El porcentaje de recuperación obtenido del 83,9% confirma el elevado rendimiento proceso. Una vez extraídos los clústeres, se evaluará su comportamiento en aplicaciones catalíticas.

Estos resultados se presentan, junto con los obtenidos para otros clústeres diferentes, en el capítulo siguiente.



7 PROPIEDADES CATALÍTICAS DE LOS CLÚSTERES METÁLICOS

7.1 INTRODUCCIÓN

El diseño de nuevos tipos de catalizadores innovadores continúa siendo hoy en día una de las tendencias principales en el ámbito de la investigación a nivel global, debido a su gran importancia en sectores como la industria química y petroquímica, la energía o el transporte. Las ingentes cantidades de dinero invertidas durante la última década en proyectos de I+D acerca del desarrollo de catalizadores específicos para todo tipo de reacciones son una prueba clara de ello. En este sentido, los metales nobles y más recientemente los nanocatalizadores han demostrado una elevada eficiencia en aplicaciones relevantes como la reducción electroquímica de CO_2 ⁸³, la desulfurización de combustibles⁸⁴ o la degradación fotocatalítica de fenoles⁸⁵.

En los últimos años, los clústeres metálicos subnanométricos o AQCs están adquiriendo cada vez más notoriedad en el campo de la catálisis, gracias a sus propiedades únicas e inusuales que los diferencian significativamente de los demás catalizadores. La clave reside en su pequeño tamaño que causa la aparición de un *band gap* (o más preciso, un HOMO-LUMO gap) situado en el nivel de Fermi⁹. La consiguiente nueva estructura electrónica que se origina en el clúster, que depende del número de átomos que forman el mismo, es precisamente la responsable de sus propiedades catalíticas, convirtiendo a clústeres de diferentes tamaños y metales en catalizadores altamente selectivos para reacciones específicas^{18,37,86}. Por ejemplo, diversos estudios publicados recientemente han demostrado que los clústeres de Ag, en disolución o soportados, resultan catalizadores muy eficientes para propósitos tan variados como la epoxidación de alquenos⁸⁷, la reducción de nitrofenoles⁸⁸, la hidrogenación de oxalatos⁸⁹, etc.; así como también de gran interés en

otros usos, como la fabricación de sensores para detección de Pb^{2+} en células vivas⁹⁰ o en aplicaciones antibacterianas y anticancerígenas⁹¹. Por su parte, debido a su pequeñísimo tamaño, la cantidad de material a utilizar en los procesos catalíticos se ve muy reducida, ya que prácticamente todos los átomos son activos. Por ello, se puede reducir el precio del catalizador apreciablemente, lo que es de gran importancia en el caso de metales nobles.

En el presente capítulo se estudia la aplicación de diferentes tipos de clústeres a la reducción catalítica del colorante azul de metileno (MB) a su forma incolora leuco azul de metileno (LMB) con hidracina (N_2H_4) como reductor. El MB es un compuesto ampliamente usado como modelo para el estudio de nuevos catalizadores debido a la simplicidad de las condiciones experimentales requeridas, así como por la facilidad de seguimiento del progreso de las reacciones mediante espectroscopia de absorción UV-Vis. De este modo, existen gran cantidad de estudios recientes en que el MB es empleado para la comprobación de las actividades catalíticas de diferentes materiales innovadores, como es el caso de materiales nanocompuestos de oro y grafeno⁹², nanocompuestos de MOFs (*metal-organic frameworks*) con plata⁹³, nanopartículas de plata sintetizadas mediante métodos de síntesis verdes⁹⁴, nanopartículas de oro biogénicas obtenidas a partir de extractos vegetales⁹⁵ o membranas nanoporosas de quitosano con nanopartículas de cobre⁹⁶, enmarcadas en la nueva corriente de obtención de nanomateriales a partir de recursos renovables como las plantas o la madera.

En este estudio, el seguimiento de la reacción se realiza mediante la desaparición progresiva de la banda de máxima absorción del MB ($\lambda = 665 \text{ nm}$), también conocida como banda de decoloración (Figura 55).

Debido a la fuerte dependencia de la actividad catalítica de los clústeres con el tamaño y el metal del que están formados, es posible controlar la cinética de las reacciones catalizadas mediante el uso del clúster más adecuado para una determinada reacción. Por ello, en el comienzo de este capítulo se exponen una serie de reacciones en las que se estudia la eficacia en la reducción del MB con hidracina de diferentes tipos de clústeres, como Cu_5 , Ag_3 o Cu_{12} -Cis. El objetivo de estos

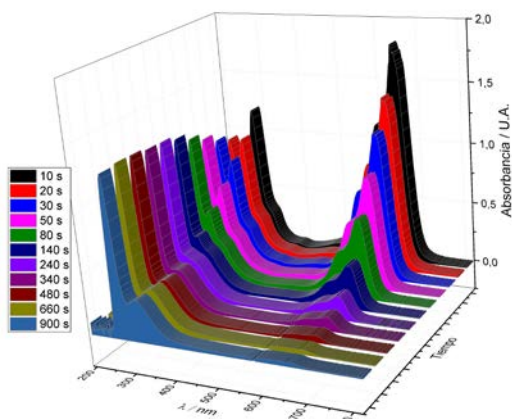


Figura 55. Seguimiento de la reacción de reducción catalítica del MB mediante espectroscopia UV-Vis.

experimentos es encontrar el clúster más adecuado para llevar a cabo dicha reacción, aunque también se evalúa el efecto de algunos parámetros experimentales como la presencia de luz solar durante la reacción.

A continuación, se presenta un estudio cinético realizado con clústeres de Cu_5 como catalizadores, tras haber comprobado su mayor eficacia en comparación con los demás clústeres utilizados en los experimentos preliminares. Asimismo, en esta parte se detalla el mecanismo de la reacción catalizada y se describe el diagrama de energías de la misma.

7.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

7.2.1 Materiales

En los experimentos de reducción catalítica de MB con N_2H_4 se han utilizado los siguientes reactivos:

- Agua milli-Q obtenida mediante un sistema de purificación Millipore Direct-Q 8 UV
- Azul de metileno trihidratado $\geq 95\%$ (Sigma-Aldrich)
- Cisteína $\geq 97\%$ (Sigma-Aldrich)
- Cloruro de sodio $\geq 99\%$ (Fisher)

- Hidracina monohidrato 64-65% (Sigma-Aldrich)
- Muestra de clústeres de Cu₅ (43 μM) previamente sintetizada
- Muestra de clústeres de Ag₃ (7 μM) previamente sintetizada
- Muestra de clústeres de Ag₅₋₁₅ (785 μM tras purificación por LLE) proporcionada por la empresa Nanogap
- Muestra de clústeres de Au₂ (8 μM) proporcionada por la empresa Nanogap
- Muestra de clústeres de Cu_{12-Cis} (73 μM) proporcionada por la empresa Nanogap

7.2.2 Experimentos de catálisis

Las reacciones de catálisis se han llevado a cabo siguiendo su progreso por medidas de la absorbancia del MB con un espectrofotómetro UV-Vis de diodos Analytik Jena Specord S600. Los experimentos se han realizado directamente en cubetas de cuarzo de Hellma de 10 mm de longitud de paso óptico, con agitación magnética, tanto en presencia de luz solar como en su ausencia.

Para comenzar, se ha mezclado el MB con H₂O mQ, y luego se han añadido los clústeres (así como el NaCl o la cisteína en los blancos correspondientes). A continuación, se ha ajustado el pH a 9 con NaOH 0,1 M. Finalmente, se ha añadido la N₂H₄ para dar comienzo a la reacción. Las concentraciones de los reactivos y catalizadores utilizados en los experimentos se describen en el Anexo 11.3.

7.3 RESULTADOS

7.3.1 Catálisis con clústeres de Cus. Efecto de la luz solar

Para comenzar, se ha probado la eficiencia en la reducción del MB de los clústeres de Cu₅ cuya síntesis y caracterización se describieron en el primer capítulo de esta tesis.

En la Figura 56 se presentan los resultados obtenidos en los experimentos realizados en presencia de luz solar. En ella se representan los valores de absorbancia normalizada correspondientes a la banda de 665 nm del MB a lo largo del tiempo. La comparación entre los resultados relativos a la reacción catalizada y al blanco confirman de forma clara la actividad catalítica de los clústeres de Cu₅. También

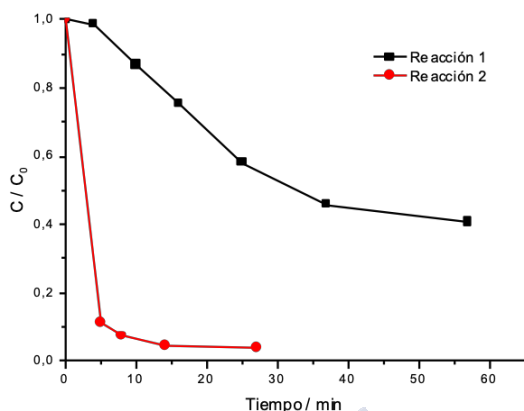


Figura 56. Progreso de las reacciones de reducción del MB en presencia de luz solar y ausencia (Reacción 1) o presencia (Reacción 2) de Cu_5 .

se puede observar el efecto de la luz en el blanco sin clústeres, puesto que, de acuerdo con la bibliografía, la absorbancia del colorante en ausencia de catalizador debería permanecer prácticamente inalterada durante al menos una hora^{97,98}.

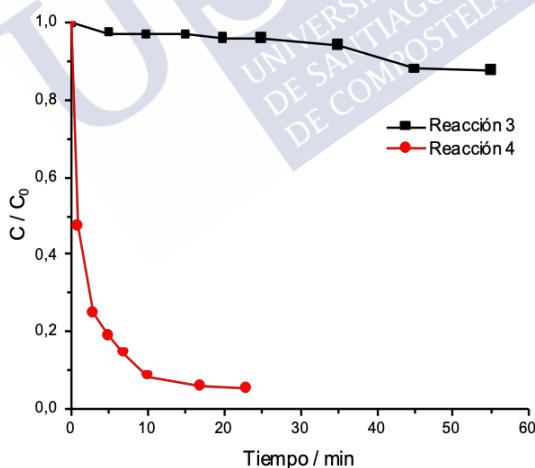


Figura 57. Progreso de la reducción del MB en ausencia (Reacción 3) y presencia (Reacción 4) de Cu_5 , llevadas a cabo en oscuridad.

En la Figura 57 se muestra la gráfica correspondiente a las reacciones en oscuridad. Se puede observar que, aunque ahora el blanco permanece prácticamente inalterado (como era de esperar), con

una variación inferior al 10% en la absorbancia del MB tras 1h, en la muestra se observa que la reacción es catalizada por los clústeres, siendo los resultados similares a los encontrados en presencia de luz. Se demuestra con ello la gran eficacia de los clústeres de Cu_5 en la reducción del MB, provocando la pérdida casi total de la absorbancia (y por tanto finalizando la reacción) en apenas 10 minutos. La Figura 58 muestra una fotografía de la muestra y el blanco al finalizar los experimentos, observándose claramente la actividad catalítica de los clústeres de Cu_5 .



Figura 58. Reacción catalizada (derecha) y blanco (izquierda) tras 1h desde la adición del reductor.

7.3.2 Efecto de la presencia de sales

A continuación, se ha evaluado el efecto de la presencia de sales en la reacción ya que, como indicamos en el capítulo precedente, las muestras de clústeres fueron purificadas de los iones por precipitación con NaCl. Para ello, se han realizado reacciones aumentando la cantidad de NaCl presente en las muestras (NaCl 7mM). Tal y como puede comprobarse en la Figura 59, la presencia de la sal produce una

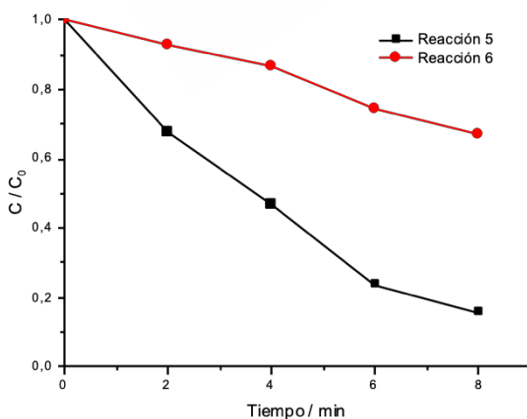


Figura 59. Reducción del MB catalizada por clústeres de Cu_5 en ausencia (Reacción 5) y presencia (Reacción 6) de NaCl.

clara inhibición de la catálisis, por lo que podemos deducir que la actividad catalítica de los clústeres sería todavía mayor si se pudieran purificar de las sales presentes en las muestras, lo que de nuevo indica la importancia de la purificación de las muestras de clústeres. Esta inhibición podría atribuirse a la competencia directa entre las especies iónicas y los clústeres por la adsorción del azul de metileno, inhibiéndose de esta forma su actividad catalítica.

7.3.3 Catálisis con clústeres de Ag₃

Se ha estudiado también la actividad catalítica de clústeres de Ag₃. En este caso, se trata de los clústeres de plata cuya síntesis y caracterización se presentan en el anterior capítulo de síntesis de clústeres. De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 60 se puede concluir que, aunque la actividad catalítica de los clústeres es indiscutible, la reacción es más lenta. Para comparar las actividades catalíticas de los clústeres de Ag₃ con los de Cu₅, es necesario tener en cuenta la diferencia de concentraciones utilizadas $[Cu_5]/[Ag_3] = 43\mu M/7\mu M \approx 6$. Por su parte la relación de los tiempos de semirreacción ($t_{1/2}$) son: $t_{1/2}(Ag_3)/t_{1/2}(Cu_5) \approx 100\text{min}/2\text{min} \approx 50$. Luego, puede deducirse que la actividad catalítica de los clústeres de Ag₃ es $\approx 50/6 \approx 8$ veces menor que la de los de Cu₅.

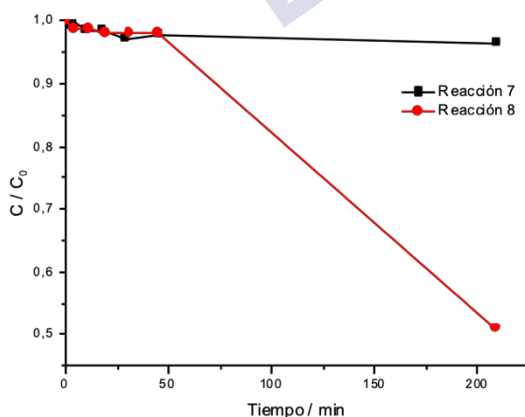


Figura 60. Reducción del MB con (Reacción 8) y sin (Reacción 7) clústeres de Ag₃.

Por su parte, resulta especialmente llamativo el período de inducción que se observa al comienzo de la reacción. Este período de inducción podría ser debido a que la etapa de adsorción del colorante a los clústeres es más lenta que en el caso del Cu_5 antes estudiado, pues allí no se observaba dicho período de inducción. Estas diferencias observadas (período de inducción y actividad menor en los clústeres de Ag_3 respecto a los de Cu_5) podrían ser debidas a diferencias en el pH y sales iónicas de las muestras de clústeres que pueden influir notablemente en la interacción de los clústeres con el MB. Es de notar finalmente que no se puede descartar la influencia de la presencia de clústeres de otros tamaños (Ag_2 y Ag_5) en las muestras de Ag_3 . Por resultados obtenidos en el grupo de investigación en el que se enmarca la presente tesis doctoral, se sabe que los clústeres de Ag_2 son totalmente inactivos por poseer una estructura electrónica de capa cerrada (similar a lo que ocurre con clústeres de Au_2 como veremos a continuación), mientras que los clústeres de Ag_5 son altamente catalíticos. Por este motivo, la presencia de clústeres de Ag_5 , aunque presentes en cantidades relativamente pequeñas respecto de Ag_3 , podrían estar jugando un papel importante en la catálisis observada. Este aspecto no puede resolverse hasta que se desarrolle un método adecuado de separación de clústeres de tamaños parecidos, lo que de nuevo pone de manifiesto la importancia de desarrollar dichos métodos, tal como se ha mencionado varias veces en el presente estudio.

7.3.4 Catálisis con clústeres de Ag_{5-15}

Se ha estudiado asimismo la actividad catalítica de los clústeres de Ag_{5-15} , producidos mediante síntesis química y extraídos a partir de una fase orgánica de acrilato a un medio acuoso, según el método descrito en el capítulo anterior. Se observa en este caso que también se produce una reducción rápida del colorante en presencia de clústeres (Figura 61). Teniendo en cuenta la concentración de clústeres empleada ($25 \mu\text{M}$) y el tiempo de semirreacción obtenido $t_{1/2}(\text{Ag}_{5-15}) \approx 1,7 \text{ min}$ podemos concluir que su eficiencia es \approx a la obtenida con Cu_5 .

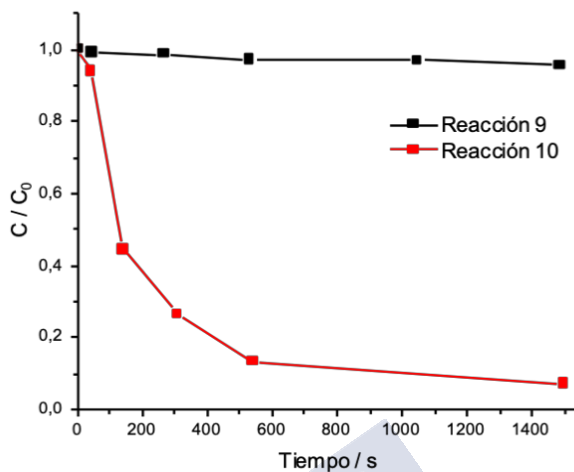


Figura 61. Reducción del MB con N₂H₄ sin catalizar (Reacción 9) y catalizada por clústeres de Ag₅₋₁₅ (Reacción 10).

7.3.5 Catálisis con clústeres de Au₂

De la misma forma, se ha valorado la actividad catalítica de los clústeres de Au₂ obtenidos mediante síntesis electroquímica, proporcionados por la empresa Nanogap. Los resultados obtenidos se

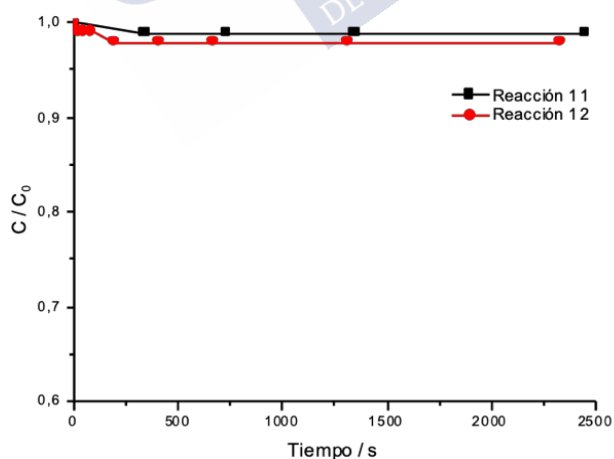


Figura 62. Progreso de la reacción de reducción del MB en ausencia (Reacción 11) y presencia (Reacción 12) de clústeres de Au₂.

muestran en la Figura 62. Tal y como puede comprobarse, estos clústeres no manifiestan actividad catalítica alguna, manteniéndose la absorbancia del colorante prácticamente constante tanto en el caso de la reacción catalizada como en el blanco.

Este hecho se puede explicar fácilmente teniendo en cuenta la estructura electrónica de los clústeres de Au_2 ($1s^2$), que al ser una configuración electrónica de capa cerrada es muy estable y, por ello, presentará una afinidad química prácticamente despreciable. Por este motivo no se unirá fácilmente al MB y, como consecuencia no presentará actividad catalítica alguna, al contrario de lo que vimos con otros clústeres de Ag o Cu. Este resultado puede servir como ejemplo claro de la diferente reactividad y actividad catalítica de los diferentes tipos de clústeres como catalizadores para distintas reacciones.

7.3.6 Catálisis con clústeres de Cu_{12} -Cis

Por último, se ha llevado a cabo el estudio de la actividad catalítica de clústeres de Cu_{12} -Cis. Se trata de clústeres protegidos por cisteína proporcionados por la empresa Nanogap, obtenidos mediante un método de síntesis química y de mayor tamaño que los típicamente obtenidos a través de síntesis electroquímicas. En la Figura 63 se puede observar la actividad catalítica de estos clústeres que, teniendo en

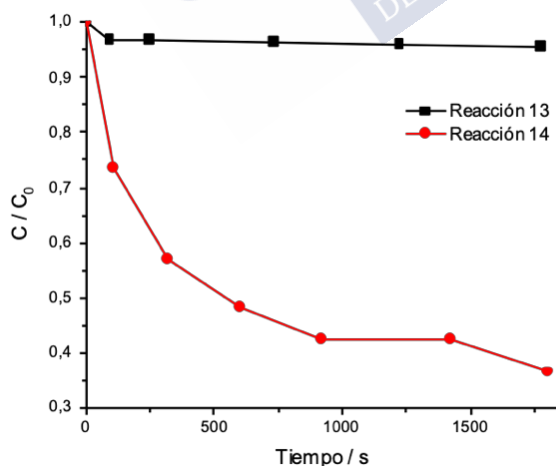


Figura 63. Reducción del MB con N_2H_4 sin catalizar (Reacción 13) y catalizada por clústeres de Ag_{5-15} (Reacción 14).

cuenta la concentración empleada ($23 \mu\text{M}$) y el tiempo de semirreacción obtenido $t_{1/2}(\text{Cu}_{12}\text{-Cis}) \approx 7 \text{ min}$, es aproximadamente la mitad de la observada en los clústeres de Cu_5 .

7.3.7 Estudio cinético y mecanismo de la catálisis con Cu_5

Una vez realizada la evaluación de diferentes tipos de clústeres en la reducción del MB, se procede al estudio pormenorizado de la cinética de la reacción catalizada. Dicho estudio se ha llevado a cabo con los clústeres de Cu_5 , tras haber concluido en los estudios preliminares su mayor eficacia en comparación con los demás clústeres que se han evaluado (aunque también los clústeres de Ag_{5-15} son muy activos, hemos optado por hacer el estudio con los de Cu_5 por su mayor sencillez de síntesis). Para ello, se han realizado una serie de experimentos mediante el uso de diferentes concentraciones tanto de Cu_5 como de N_2H_4 , con el fin de estimar su influencia en la reacción.

En la Figura 64 se presentan los resultados obtenidos para diferentes concentraciones de Cu_5 . Tal y como cabría esperar, un incremento en la concentración de catalizador produce un notable

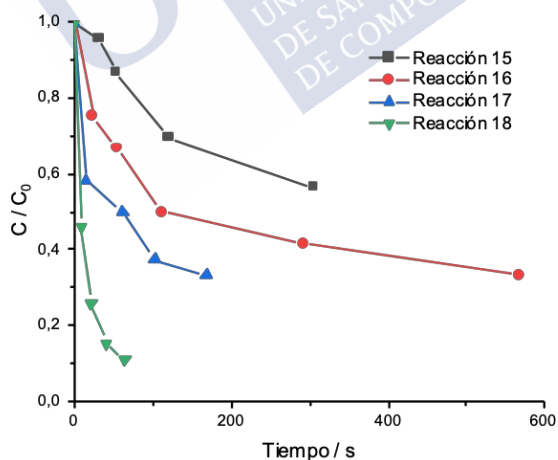


Figura 64. Reducción de MB con N_2H_4 catalizada por clústeres de Cu_5 , con $8 \cdot 10^{-7}$ (Reacción 15), $1,5 \cdot 10^{-6}$ (Reacción 16), $3,1 \cdot 10^{-6}$ (Reacción 17) y $3,1 \cdot 10^{-5}$ M (Reacción 18) de concentración de Cu_5 .

aumento en la velocidad de la cinética de reacción. Así, observamos que con una concentración de tan sólo 30 μM de Cu_5 se consigue la reducción total del colorante en menos de 100 s.

Por otra parte, se ha evaluado el efecto de la concentración de reductor sobre la reacción. En la Figura 65 se muestra el gráfico de disminución de la absorbancia del MB al emplear diferentes concentraciones de hidracina.

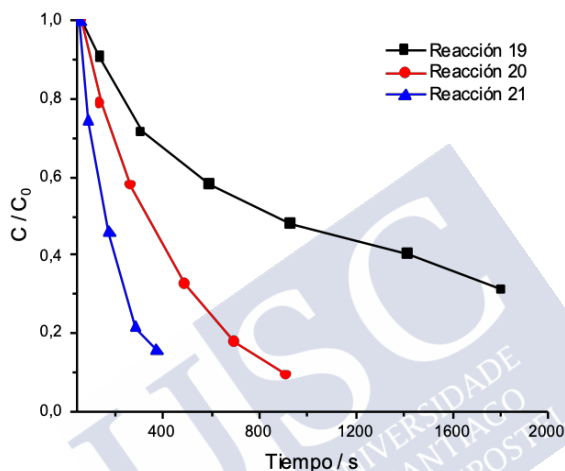


Figura 65. Reducción de MB con N_2H_4 catalizada por clústeres de Cu_5 , con 0,03 (Reacción 19), 0,12 (Reacción 20) y 0,2 M (Reacción 21) de concentración de N_2H_4 .

Tras la estimación del efecto de las concentraciones de catalizador y reductor, se lleva a cabo el estudio cinético del proceso catalítico. De acuerdo con el mecanismo de reacción propuesto por Noelia Vilar⁹⁹ para la reducción de MB con N_2H_4 catalizada por clústeres de Cu de diferentes tamaños, las reacciones catalizadas por clústeres implican generalmente dos etapas: en primer lugar, la adsorción física del clúster

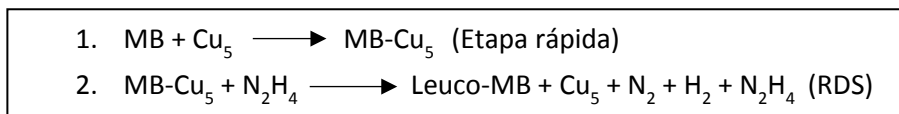


Figura 66. Esquema simplificado de las etapas involucradas en la reducción de MB con N_2H_4 catalizada por clústeres de Cu_5 .

al sustrato (en este caso MB); y en segundo lugar la reacción catalizada por el clúster, que tiene lugar mediante un intercambio electrónico a través del orbital LUMO del clúster. Tal y como se muestra en el siguiente esquema (Figura 66), la primera etapa es muy rápida en comparación con la segunda (sólo cuando no existe período de inducción, como en el caso de catálisis con Cu_5), por lo que no es necesario considerarla a la hora de realizar los cálculos cinéticos. La segunda etapa del proceso es en este caso la propia reducción del azul de metileno a su forma leuco. Esta es la etapa lenta, o etapa limitante de la velocidad (RDS).

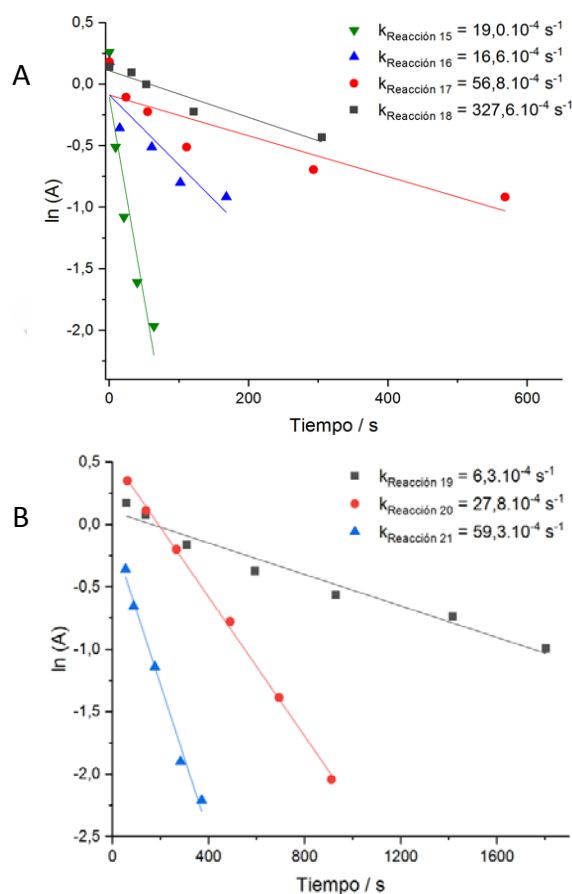


Figura 67. Ajuste lineal de las reacciones de reducción de MB con diferentes concentraciones de Cu_5 (A) y N_2H_4 (B).

La reacción ha demostrado ajustarse a una cinética de primer orden tanto respecto a los clústeres de Cu_5 como al N_2H_4 . Las reacciones de orden 1 se caracterizan por una relación lineal entre el logaritmo neperiano de la concentración de sustrato y el tiempo¹⁰⁰, siguiendo la ecuación $\ln([\text{MB}]) = -k_{\text{obs}}t + \ln([\text{MB}]_0)$. De acuerdo con la ley de Lambert-Beer¹⁰¹ $A_{\text{MB}} = \epsilon b[\text{MB}]$, y la ecuación anterior correspondiente a una cinética de orden 1 puede ser escrita de la forma $\ln(A_{\text{MB}}) = -k_{\text{obs}}t + \ln(A_{\text{MB}})_0$. En estas ecuaciones, $[\text{MB}]$ y A_{MB} se corresponden con la concentración y la absorbancia del azul de metileno, respectivamente; $[\text{MB}]_0$ y $(A_{\text{MB}})_0$ se refieren a la concentración y absorbancia iniciales de colorante, ϵ es el coeficiente de absortividad molar característico del MB, b es el camino óptico de la cubeta de medida, k_{obs} es la constante de velocidad aparente u observada y t es el tiempo de reacción.

Los gráficos correspondientes al ajuste lineal de las reacciones con diferentes concentraciones de Cu_5 y N_2H_4 se muestran en la Figura 67, junto con los valores de k_{obs} obtenidos en cada una de las reacciones.

Por otra parte, el incremento lineal de la velocidad de reacción con concentraciones crecientes de Cu_5 y N_2H_4 se muestra en la Figura 68. Este incremento lineal se ajusta a las ecuaciones $k_{\text{obs}} = k_{\text{obs}}'[\text{Cu}_5]$ en el caso de los clústeres y $k_{\text{obs}} = k_{\text{obs}}''[\text{N}_2\text{H}_4]$ para el reductor.

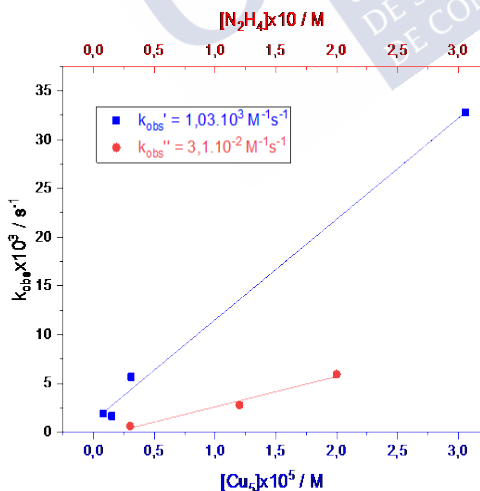


Figura 68. Gráfico de regresión lineal de los valores de k_{obs} obtenidos frente a la concentración de Cu_5 (azul) y N_2H_4 (rojo).

A partir de los ajustes lineales anteriores, se han obtenido los siguientes valores de $k_{\text{obs}}' = 1,03 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y $k_{\text{obs}}'' = 3,1 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Se puede concluir entonces que la cinética global de la reducción catalizada sigue la ecuación $k^0 = k_{\text{obs}}[\text{Cu}_5][\text{N}_2\text{H}_4]$. Las regresiones lineales presentadas en la Figura 69 permiten calcular el valor de la constante global de la reacción, obteniéndose el valor de $5,17 \cdot 10^3 \text{ M}^{-2}\text{s}^{-1}$ para el Cu_5 y $1,76 \cdot 10^3 \text{ M}^{-2}\text{s}^{-1}$ para el N_2H_4 . De este modo, se obtiene un valor medio para la constante de reacción de $\langle k^0 \rangle = 3,5 \cdot 10^3 \text{ M}^{-2}\text{s}^{-1}$. Si se compara este valor con el de $\langle k^0 \rangle = 0,9 \cdot 10^3 \text{ M}^{-2}\text{s}^{-1}$ obtenido por Noelia Vilar⁹⁹ en los estudios catalíticos previamente citados, supone un aumento de casi 4 veces en la constante de velocidad de la reacción. Este aumento puede explicarse teniendo en cuenta que los clústeres usados en esos estudios anteriores fueron obtenidos mediante un método de síntesis electroquímico utilizando nitrato de tetrabutilamonio como ligando protector⁴⁰. Aunque dicho ligando se considera que es de tipo débil y no perturba mucho la actividad catalítica de los clústeres, vemos que si hay un pequeño efecto inhibitor.

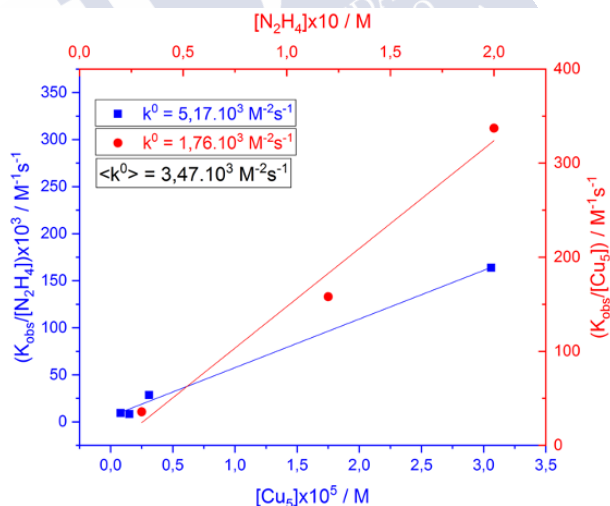


Figura 69. Ajuste lineal de los valores de k_{obs} divididos por las respectivas concentraciones frente a las concentraciones de Cu_5 (azul) y N_2H_4 (rojo).

Para finalizar, en la Figura 70 se expone un esquema completo de la reacción catalizada⁹⁹. En él se explica el mecanismo de la reducción

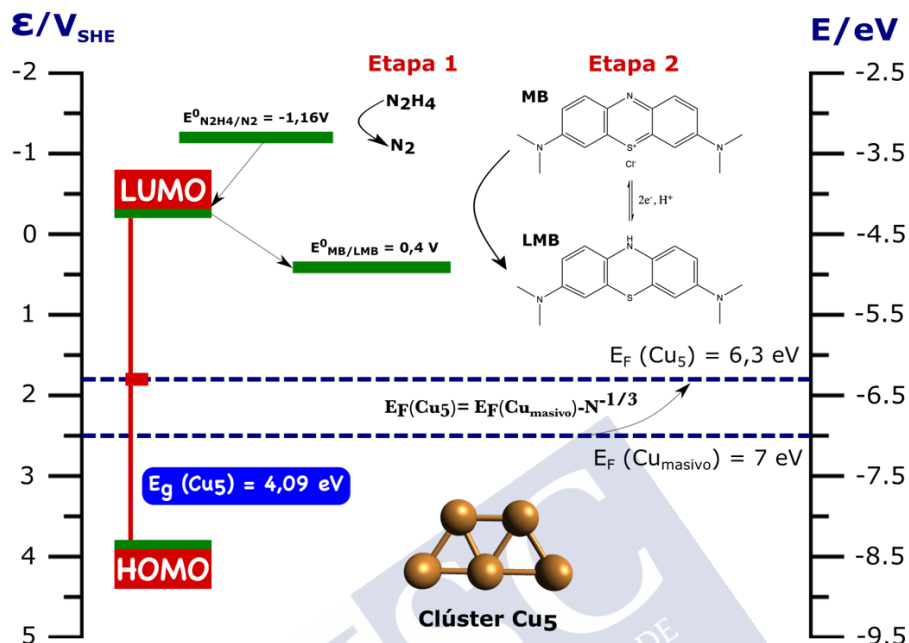


Figura 70. Representación esquemática de la reducción de MB con N_2H_4 catalizada por clústeres de Cu_5 , mostrando los niveles de energía de todos los compuestos involucrados en el proceso.

del MB con N_2H_4 mediante el intercambio de dos electrones a través del orbital LUMO del clúster de Cu_5 , una vez que el MB ha sido adsorbido sobre su superficie para dar lugar al intermedio de reacción Cu_5 -MB. Tal y como se muestra en el diagrama de la reacción, el nivel de energía del orbital LUMO se encuentra localizado entre los potenciales redox del N_2H_4 ($E^0_{N_2H_4/N_2} = -1,16 V$ vs SHE) y del MB ($E^0_{MB/LMB} = 0,4 V$ vs SHE para $pH=9$), permitiendo la transferencia electrónica a través de él y aumentando significativamente la velocidad de la reacción. Este esquema puede explicar asimismo la elevada dependencia de la actividad catalítica de los clústeres con su tamaño, puesto que tanto la energía del *band gap* (E_g) como la energía del nivel de Fermi de los clústeres son dependientes del número de átomos que los forman. Esto confirma la idoneidad de los clústeres de Cu_5 para la catálisis de la reacción estudiada debido a la posición favorable de su orbital LUMO. La variación de la energía del nivel de Fermi con el

tamaño del clúster se muestra también en la figura. Dicho valor se incrementa conforme aumenta el tamaño del clúster de acuerdo con la expresión $E_{\text{Fermi}}(\text{Cu}_{\text{AQC}}) = E_{\text{Fermi}}(\text{Cu}_{\text{masivo}}) - N^{-1/3}$, obtenida a partir de estudios de la teoría del funcional de la densidad (DFT) que relacionan el potencial químico de los clústeres de Cu su tamaño⁶¹.

7.4 CONCLUSIONES

En el presente capítulo se ha estudiado la reacción de reducción del colorante azul de metileno con hidracina como reductor, mediante el empleo de diferentes clústeres metálicos como catalizadores. De este modo, se ha comprobado que los clústeres de Cu₅ son lo más adecuados para catalizar dicha reacción. Se han obtenido asimismo buenos resultados con clústeres de Ag₅₋₁₅ extraídos de acrilato y con clústeres de Cu_{12-cis}. Los clústeres de Ag₃ han mostrado igualmente actividad catalítica en la reducción del colorante, si bien en este caso su actividad es aproximadamente 8 veces menor, presentando un período de inducción. Por el contrario, los clústeres de Au₂ no han mostrado actividad catalítica alguna sobre la reacción, que se explica por su gran estabilidad como consecuencia de su configuración electrónica de capa cerrada. Por otra parte, se ha estudiado el efecto de la luz sobre la reacción catalizada, concluyendo que es necesario llevar a cabo los experimentos en oscuridad con el fin de evitar procesos competitivos. Además, se ha estudiado el efecto de la presencia de sales, demostrando la inhibición de la catálisis producida por la existencia de NaCl en el medio de reacción.

Una vez realizados los experimentos preliminares, se ha llevado a cabo un estudio cinético de la reacción catalizada mediante los clústeres de Cu₅ tras demostrar su mayor eficacia catalítica en comparación con los demás clústeres evaluados y teniendo en cuenta la sencillez en su preparación. Así, se ha probado que el proceso catalizado sigue una cinética de primer orden tanto respecto a la concentración de Cu₅ como de N₂H₄. El mayor valor de la constante de reacción, comparado con estudios anteriores de clústeres similares estabilizados con ligandos protectores débiles, muestra que tales ligandos no son totalmente inactivos y que es mejor utilizar clústeres sin ningún ligando protector.



8 CONCLUSIONES

Se han sintetizado clústeres de Ag_3 y Cu_5 en medio acuoso, sin ningún tipo de ligandos protectores, mediante métodos de síntesis electroquímica recientemente desarrollados. Una caracterización simple mediante espectroscopia UV-Vis y espectroscopia de fluorescencia ha permitido identificar la presencia en las muestras de los clústeres mencionados, con valores de su HOMO-LUMO *gap* de 3,66 eV para Ag_3 y 4,10 eV para Cu_5 .

Por otra parte, se ha desarrollado un método de espectrometría de masas ESI-MS para la caracterización de clústeres, a través de la optimización sistemática de los parámetros experimentales más influyentes. De este modo, se ha concluido la importancia de la adición de un disolvente orgánico y de aditivos como el HCOOH a la hora de realizar las medidas. Del mismo modo, resulta importante optimizar los valores de parámetros como el voltaje del cono o el modo de detección. Por el contrario, parámetros experimentales, tales como la temperatura y la frecuencia de barrido, han demostrado tener una escasa influencia. Inicialmente desarrollado para la optimización de la técnica de masas para clústeres de Ag_2 , el método optimizado ha demostrado también su eficacia para la caracterización de otros clústeres, como es el caso de Ag_3 y Cu_5 . Los estudios por masas confirman los resultados encontrados por sencillas medidas espectroscópicas, lo que constituye algo de gran importancia para la realización de una caracterización rápida de clústeres.

Se ha realizado un estudio de la purificación de clústeres, mostrándose la ineficacia de los métodos de diálisis para la eliminación de iones Ag^+ que se encuentran presentes en las muestras de clústeres de Ag_5 . Algo similar se ha observado en el caso de la purificación mediante extracción en fase sólida, resultando muy difícil la separación con cartuchos de diferentes medios adsorbentes (intercambio catiónico,

C2, C18 y alúmina ácida, básica y neutra). Asimismo, la separación por HPLC, utilizando columnas de exclusión por tamaños y C18 de base polimérica, no ha dado resultados positivos. Sin embargo, si que se ha logrado una separación eficiente ($R_s = 1,49$) entre los iones y los clústeres mediante una columna C18 de base sílice.

Por su parte, se ha desarrollado un método de purificación en tres etapas para la extracción a medio acuoso de clústeres de Ag de entre 5 y 15 átomos en acrilato, consistente en: 1) proceso de hidrólisis alcalina del acrilato, 2) extracción líquido-líquido al agua y 3) eliminación por evaporación del MeOH que pasa a la fase acuosa durante la etapa de extracción. El método desarrollado permite una purificación eficaz de los clústeres, consiguiéndose un porcentaje de recuperación del 83,9%.

Finalmente, se han estudiado las propiedades catalíticas de diferentes clústeres metálicos en la reacción de reducción de azul de metileno con hidracina. Se observa que los clústeres de Cu_5 , Ag_{5-15} y Cu_{12-cis} poseen eficiencias catalíticas elevadas, siendo Cu_5 y Ag_{5-15} los más eficientes y en menor medida el Ag_3 . Por el contrario, se ha observado una total ausencia de actividad catalítica con clústeres de Au_2 que se explica por poseer una gran estabilidad que le confiere su configuración electrónica de capa cerrada. Asimismo, se ha concluido la necesidad de realizar los experimentos en oscuridad debido al efecto ejercido por la luz en la reacción, así como el efecto inhibitorio sobre la catálisis como consecuencia de la presencia de sales, como NaCl, en el medio.

Una vez demostrada la mayor eficacia catalítica de los clústeres de Cu_5 en comparación con los demás clústeres evaluados, se ha realizado un estudio cinético del proceso catalítico y se ha descrito el mecanismo de reacción. De este modo, se ha comprobado que la reacción sigue una cinética de primer orden tanto con respecto a la concentración de Cu_5 como a la de N_2H_4 , obteniéndose una mayor actividad catalítica de estos clústeres que no poseen ligandos protectores, que en presencia de dichos ligandos.

9 BIBLIOGRAFÍA

- (1) Nayfeh, M. Nanoeffects in Ancient Technology and Art and in Space. In *Fundamentals and Applications of Nano Silicon in Plasmonics and Fullerenes*; Elsevier, **2018**; pp 497–518. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-48057-4.00016-5>.
- (2) Faraday, M. Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light. *Philos. Trans. R. Soc. London* **1857**, *147*, 145–181. <https://doi.org/10.1098/rstl.1857.0011>.
- (3) Turner, T. Transparent Silver and Other Metallic Films. *Proc. R. Soc. London. Ser. A* **1908**, *81* (548), 301–310. <https://doi.org/10.1098/rspa.1908.0084>.
- (4) Drexler, K. E. Molecular Engineering: An Approach to the Development of General Capabilities for Molecular Manipulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1981**, *78* (9 I), 5275–5278. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.9.5275>.
- (5) Singh, A. P.; Biswas, A.; Shukla, A.; Maiti, P. Targeted Therapy in Chronic Diseases Using Nanomaterial-Based Drug Delivery Vehicles. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2019**, *4* (1), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41392-19-0068-3>.
- (6) Habibi, Y.; Lucia, L. A.; Rojas, O. J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications. *Chem. Rev.* **2010**, *110* (6), 3479–3500. <https://doi.org/10.1021/cr900339w>.
- (7) Phukon, P.; Saikia, J. P.; Konwar, B. K. Bio-Plastic (P-3HB-Co-3HV) from *Bacillus Circulans* (MTCC 8167) and Its Biodegradation. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2012**, *92*, 30–34. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.11.011>.
- (8) Fernandez, J. G.; Ingber, D. E. Chitosan-Fibroin Laminates: Unexpected Strength and Toughness in Chitosan-Fibroin Laminates Inspired by Insect Cuticle. *Adv. Mater.* **2012**, *24* (4), 446–446. <https://doi.org/10.1002/adma.201290016>.
- (9) Calvo Fuentes, J.; Rivas Rey, J.; López-Quintela, M. A.; Rivas, J. Synthesis of Subnanometric Metal Nanoparticles. *Encycl. Nanotechnol.* **2011**, 1–21. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-9751-4>.
- (10) Chou, M. Y.; Cleland, A.; Cohen, M. L. Total Energies, Abundances, and Electronic Shell Structure of Lithium, Sodium, and Potassium Clusters. *Solid State Communications.* **1984**, pp 645–648. [https://doi.org/10.1016/0038-1098\(84\)90725-7](https://doi.org/10.1016/0038-1098(84)90725-7).

- (11) Huseyinova, S.; Blanco, J.; Requejo, F. G.; Ramallo-López, J. M.; Blanco, M. C.; Buceta, D.; López-Quintela, M. A. Synthesis of Highly Stable Surfactant-Free Cu₅ Clusters in Water. *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120* (29), 15902–15908. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b12227>.
- (12) Walter, M.; Akola, J.; Lopez-Acevedo, O.; Jadzinsky, P. D.; Calero, G.; Ackerson, C. J.; Whetten, R. L.; Grönbeck, H.; Häkkinen, H. A Unified View of Ligand-Protected Gold Clusters as Superatom Complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, *105* (27), 9157–9162. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801001105>.
- (13) Englebienne, P.; Hoonacker, A. Van; Verhas, M. Surface Plasmon Resonance: Principles, Methods and Applications in Biomedical Sciences. *Spectroscopy* **2003**, *17*, 372913. <https://doi.org/10.1155/2003/372913>.
- (14) Zheng, J.; Nicovich, P. R.; Dickson, R. M. Highly Fluorescent Noble-Metal Quantum Dots. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2007**, *58*, 409–431. <https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.58.032806.104546>.
- (15) Heiz, U.; Bullock, E. L. Fundamental Aspects of Catalysis on Supported Metal Clusters. *J. Mater. Chem.* **2004**, *14* (4), 564–577. <https://doi.org/10.1039/b313560h>.
- (16) Vajda, S.; Vajda, S.; Pellin, M. J.; Pellin, M. J.; Greeley, J. P.; Greeley, J. P.; Marshall, C. L.; Marshall, C. L.; Curtiss, L. a; Curtiss, L. a; Ballentine, G. a; Ballentine, G. a; Elam, J. W.; Elam, J. W.; Catillon-Mucherie, S.; Catillon-Mucherie, S.; Redfern, P. C.; Redfern, P. C.; Mehmood, F.; Mehmood, F.; Zapol, P.; Zapol, P. Subnanometre Platinum Clusters as Highly Active and Selective Catalysts for the Oxidative Dehydrogenation of Propane. *Nat. Mater.* **2009**, *8* (3), 213–216. <https://doi.org/10.1038/nmat2384>.
- (17) Harding, C.; Habibpour, V.; Kunz, S.; Farnbacher, A. N. S.; Heiz, U.; Yoon, B.; Landman, U. Control and Manipulation of Gold Nanocatalysis: Effects of Metal Oxide Support Thickness and Composition. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (2), 538–548. <https://doi.org/10.1021/ja804893b>.
- (18) Vilar-Vidal, N.; Rey, J. R.; López Quintela, M. A. Green Emitter Copper Clusters as Highly Efficient and Reusable Visible Degradation Photocatalysts. *Small* **2014**, 1–5. <https://doi.org/10.1002/sml.201400679>.
- (19) Attia, Y. A.; Buceta, D.; Requejo, F. G.; Giovanetti, L. J.; López-Quintela, M. A. Photostability of Gold Nanoparticles with Different Shapes: The Role of Ag Clusters. *Nanoscale* **2015**, *7* (26), 11273–11279. <https://doi.org/10.1039/c5nr01887k>.
- (20) Attia, Y. a.; Buceta, D.; Blanco-Varela, C.; Mohamed, M. B.; Barone, G.; López-Quintela, M. A. Structure-Directing and High-Efficiency Photocatalytic Hydrogen Production by Ag Clusters. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (4), 1182–1185. <https://doi.org/10.1021/ja410451m>.
- (21) Selva, J.; Martínez, S. E.; Buceta, D.; Rodríguez-Vázquez, M. J.; Blanco, M. C.; López-Quintela, M. A.; Egea, G. Silver Sub-Nanoclusters Electrocatalyze Ethanol Oxidation and Provide Protection against Ethanol

- Toxicity in Cultured Mammalian Cells. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (20), 6947–6954. <https://doi.org/10.1021/ja907988s>.
- (22) Buceta, D.; Busto, N.; Barone, G.; Leal, J. M.; Domínguez, F.; Giovanetti, L. J.; Requejo, F. G.; García, B.; López-Quintela, M. A. Ag₂ and Ag₃ Clusters: Synthesis, Characterization, and Interaction with DNA. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2015**, *54* (26), 7612–7616. <https://doi.org/10.1002/anie.201502917>.
- (23) Habeeb Muhammed, M. A.; Ramesh, S.; Sinha, S. S.; Pal, S. K.; Pradeep, T. Two Distinct Fluorescent Quantum Clusters of Gold Starting from Metallic Nanoparticles by PH-Dependent Ligand Etching. *Nano Res.* **2010**, *1* (4), 333–340. <https://doi.org/10.1007/s12274-008-8035-2>.
- (24) Zheng, J.; Zhang, C.; Dickson, R. M. Highly Fluorescent, Water-Soluble, Size-Tunable Gold Quantum Dots. *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *93* (7). <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.93.077402>.
- (25) Schaeffer, N.; Tan, B.; Dickinson, C.; Rosseinsky, M. J.; Laromaine, A.; McComb, D. W.; Stevens, M. M.; Wang, Y.; Petit, L.; Barentin, C.; Spiller, D. G.; Cooper, A. I.; Lévy, R. Fluorescent or Not? Size-Dependent Fluorescence Switching for Polymer-Stabilized Gold Clusters in the 1.1–1.7 Nm Size Range. *Chem. Commun. (Camb)*. **2008**, No. 34, 3986–3988. <https://doi.org/10.1039/b809876j>.
- (26) Negishi, Y., Nobusada, K., Tsukuda, T. Glutathione-Protected Gold Clusters Revisited: Bridging the Gap between Gold(I)-Thiolate Complexes and Thiolate-Protected Gold Nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5261–5270.
- (27) Wu, Z.; Suhan, J.; Jin, R. One-Pot Synthesis of Atomically Monodisperse, Thiol-Functionalized Au₂₅ Nanoclusters. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19* (5), 622–626. <https://doi.org/10.1039/b815983a>.
- (28) Huang, X.; Luo, Y.; Li, Z.; Li, B.; Zhang, H.; Li, L.; Majeed, I.; Zou, P.; Tan, B. Biolabeling Hematopoietic System Cells Using Near-Infrared Fluorescent Gold Nanoclusters. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115* (34), 16753–16763. <https://doi.org/10.1021/jp202612p>.
- (29) Joseph, D.; Geckeler, K. E. Synthesis of Highly Fluorescent Gold Nanoclusters Using Egg White Proteins. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2014**, *115*, 46–50. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.11.017>.
- (30) Lin, Y. H.; Tseng, W. L. Ultrasensitive Sensing of Hg²⁺ and CH₃Hg⁺ Based on the Fluorescence Quenching of Lysozyme Type VI-Stabilized Gold Nanoclusters. *Anal. Chem.* **2010**, *82* (22), 9194–9200. <https://doi.org/10.1021/ac101427y>.
- (31) Zheng, J.; Dickson, R. M. Individual Water-Soluble Dendrimer-Encapsulated Silver Nanodot Fluorescence. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (47), 13982–13983. <https://doi.org/10.1021/ja028282l>.
- (32) Richards, C. I.; Choi, S.; Hsiang, J. C.; Antoku, Y.; Vosch, T.; Bongiorno, A.; Tzeng, Y. L.; Dickson, R. M. Oligonucleotide-Stabilized Ag Nanocluster Fluorophores. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (15), 5038–5039.

- <https://doi.org/10.1021/ja8005644>.
- (33) Sharma, J.; Rocha, R. C.; Phipps, M. L.; Yeh, H. C.; Balatsky, K. A.; Vu, D. M.; Shreve, A. P.; Werner, J. H.; Martinez, J. S. A DNA-Templated Fluorescent Silver Nanocluster with Enhanced Stability. *Nanoscale* **2012**, *4* (14), 4107–4110. <https://doi.org/10.1039/c2nr30662j>.
- (34) Kometani, N.; Kaneko, M.; Morita, T.; Yonezawa, Y. The Formation of Photolytic Silver Clusters in Water/Supercritical CO₂ Microemulsions. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2008**, *321* (1–3), 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.02.005>.
- (35) Ledo-Suárez, A., Rivas, J., Rodríguez-Abreu, C.F., Rodríguez, M., Pastor, E., Hernández-Creus, A., Oseroff, S.B., López-Quintela, M. A. Facile Synthesis of Stable Subnanosized Silver Atomic Clusters in Microemulsions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *119*, 8979–8983.
- (36) Vázquez-Vázquez, C.; Bañobre-López, M.; Mitra, A.; López-Quintela, M. A.; Rivas, J. Synthesis of Small Atomic Copper Clusters in Microemulsions. *Langmuir* **2009**, *25* (14), 8208–8216. <https://doi.org/10.1021/la900100w>.
- (37) Buceta, D.; Piñeiro, Y.; Vázquez-Vázquez, C.; Rivas, J.; López-Quintela, M. Metallic Clusters: Theoretical Background, Properties and Synthesis in Microemulsions. *Catalysts* **2014**, *4* (4), 356–374. <https://doi.org/10.3390/catal4040356>.
- (38) Zhang, H.; Huang, X.; Li, L.; Zhang, G.; Hussain, I.; Li, Z.; Tan, B. Photoreductive Synthesis of Water-Soluble Fluorescent Metal Nanoclusters. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (4), 567–569. <https://doi.org/10.1039/c1cc16088e>.
- (39) Peyser, L. A.; Lee, T. H.; Dickson, R. M. Mechanism of Ag_n Nanocluster Photoproduction from Silver Oxide Films. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106* (32), 7725–7728. <https://doi.org/10.1021/jp026111x>.
- (40) Vilar-Vidal, N.; Blanco, M. C.; López-Quintela, M. A.; Rivas, J.; Serra, C. Electrochemical Synthesis of Very Stable Photoluminescent Copper Clusters. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114* (38), 15924–15930. <https://doi.org/10.1021/jp911380s>.
- (41) Braeuer, A. Interaction of Matter and Electromagnetic Radiation. In *Supercritical Fluid Science and Technology*; Elsevier, **2015**; Vol. 7, pp 41–192. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63422-1.00002-X>.
- (42) Mäntele, W.; Deniz, E. UV–VIS Absorption Spectroscopy: Lambert-Beer Reloaded. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. Elsevier B.V. February 15, **2017**, pp 965–968. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.09.037>.
- (43) Crouch, S.; Skoog, D.; Holler, F. *Principles of Instrumental Analysis*; Cengage Learning, **2017**.
- (44) Buceta Fernandez, D. Caracterización y Propiedades Catalíticas de Clústeres Cuánticos Subnanométricos. **2011**, 203.
- (45) Fluorescence and Phosphorescence - Chemistry LibreTexts https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistr

- y_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Fluorescence_and_Phosphorescence (accessed Mar 4, 2020).
- (46) Dass, C. Modes of Ionization. In *Fundamentals of Contemporary Mass Spectrometry*; John Wiley & Sons, Inc., 2007; pp 15–65. <https://doi.org/10.1002/9780470118498.ch2>.
- (47) Cech, N. B.; Enke, C. G. Selectivity in Electrospray Ionization Mass Spectrometry. In *Electrospray and MALDI Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation, Practicalities, and Biological Applications: Second Edition*; John Wiley and Sons, 2012; pp 49–73. <https://doi.org/10.1002/9780470588901.ch2>.
- (48) Rosenberg, E.; Panne, U. Atomic Absorption Spectrometry (AAS) and Atomic Emission Spectrometry (AES). In *Handbook of Spectroscopy*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005; pp 421–496. <https://doi.org/10.1002/3527602305.ch12>.
- (49) Welz, B.; Sperling, M. Atomizers and Atomizer Units. In *Atomic Absorption Spectrometry*; Wiley-VCH Verlag GmbH, 2007; pp 149–219. <https://doi.org/10.1002/9783527611690.ch4>.
- (50) Bonchin, S. L.; Zoorob, G. K.; Caruso, J. A. Atomic Emission, Methods and Instrumentation. In *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*; Elsevier, 1999; pp 42–50. <https://doi.org/10.1006/rwsp.2000.0008>.
- (51) Stefánsson, A.; Gunnarsson, I.; Giroud, N. New Methods for the Direct Determination of Dissolved Inorganic, Organic and Total Carbon in Natural Waters by Reagent-Free Ion Chromatography and Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 2007, 582 (1), 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.09.001>.
- (52) Taylor, H. E. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry: Practices and Techniques. *Journal of Chemical Education*. Division of Chemical Education November 2001, p 1465. <https://doi.org/10.1021/ed078p1465>.
- (53) Rundle, C. C. A Beginners Guide to Ion-Selective Electrode Measurements. *Data Process.* 2011, No. May 2000, 1–30.
- (54) Camel, V. Solid Phase Extraction of Trace Elements. *Spectrochim. Acta Part B* 2003, 58, 1177–1233. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(03\)00072-7](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(03)00072-7).
- (55) Fanali, S.; Haddad, P. R.; Poole, C. F.; Schoenmakers, P.; Lloyd, D. *Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation*; Elsevier Inc., 2013. <https://doi.org/10.1016/C2010-0-68614-7>.
- (56) Blumberg, V. R. *Liquid-Liquid Extraction*; Wiley, 1988; Vol. 36. <https://doi.org/10.1002/nadc.19880361013>.
- (57) Nickerson, B.; Colón, I. Liquid-Liquid and Solid-Phase Extraction Techniques. In *Sample Preparation of Pharmaceutical Dosage Forms*; Springer US, 2011; pp 63–92. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9631-2_4.
- (58) Chen, S.; Kimura, K. Water Soluble Silver Nanoparticles Functionalized

- with Thiolate. *Chem. Lett.* **1999**, No. 11, 1169–1170.
<https://doi.org/10.1246/cl.1999.1169>.
- (59) He, S.; Yao, J.; Jiang, P.; Shi, D.; Zhang, H.; Xie, S.; Pang, S.; Gao, H. Formation of Silver Nanoparticles and Self-Assembled Two-Dimensional Ordered Superlattice. *Langmuir* **2001**, *17* (5), 1571–1575.
<https://doi.org/10.1021/la001239w>.
- (60) Lisiecki, I.; Pileni, M. P. Copper Metallic Particles Synthesized “in Situ” in Reverse Micelles: Influence of Various Parameters on the Size of the Particles. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99* (14), 5077–5082.
<https://doi.org/10.1021/j100014a030>.
- (61) Crispin, X.; Bureau, C.; Geskin, V.; Lazzaroni, R.; Brédas, J.-L. Local Density Functional Study of Copper Clusters: A Comparison between Real Clusters, Model Surface Clusters, and the Actual Metal Surface
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/%28SICI%291099-0682%2819990202%291999%3A2%3C349%3A%3AAID-EJIC349%3E3.0.CO%3B2-%23> (accessed Feb 20, **2020**).
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-0682\(19990202\)1999:2<349::aid-ejic349>3.3.co;2-r](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-0682(19990202)1999:2<349::aid-ejic349>3.3.co;2-r).
- (62) Henriksen, T.; Juhler, R. K.; Svensmark, B.; Cech, N. B. The Relative Influences of Acidity and Polarity on Responsiveness of Small Organic Molecules to Analysis with Negative Ion Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS). *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2005**, *16* (4), 446–455.
<https://doi.org/10.1016/j.jasms.2004.11.021>.
- (63) Omari, I.; Randhawa, P.; Randhawa, J.; Yu, J.; McIndoe, J. S. Structure, Anion, and Solvent Effects on Cation Response in ESI-MS. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2019**, *30* (9), 1750–1757. <https://doi.org/10.1007/s13361-19-02252-0>.
- (64) Kruve, A.; Kaupmees, K. Adduct Formation in ESI/MS by Mobile Phase Additives. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2017**, *28* (5), 887–894.
<https://doi.org/10.1007/s13361-017-1626-y>.
- (65) García, M. C.; Hogenboom, A. C.; Zappey, H.; Irth, H. Effect of the Mobile Phase Composition on the Separation and Detection of Intact Proteins by Reversed-Phase Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2002**, *957* (2), 187–199. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00345-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00345-X).
- (66) Sparkman, O. D. Mass Spectrometry Basics Christopher G. Herbert and Robert A. W. Johnstone. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2003**, *14* (8), 925–927.
[https://doi.org/10.1016/S1044-0305\(03\)00402-1](https://doi.org/10.1016/S1044-0305(03)00402-1).
- (67) Dubbelman, A. C.; Cuyckens, F.; Dillen, L.; Gross, G.; Vreeken, R. J.; Hankemeier, T. Mass Spectrometric Recommendations for Quan/Qual Analysis Using Liquid-Chromatography Coupled to Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1020*, 62–75.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02.055>.
- (68) Kebarle, P.; Tang, L. From Ions in Solution to Ions in the Gas Phase: The

- Mechanism of Electrospray Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **1993**, *65* (22). <https://doi.org/10.1021/ac00070a001>.
- (69) Banerjee, S.; Mazumdar, S. Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Technique to Access the Information beyond the Molecular Weight of the Analyte. *Int. J. Anal. Chem.* **2012**, *2012*, 282574. <https://doi.org/10.1155/2012/282574>.
- (70) Cuerva Vidales, M. Clústeres Cuánticos Subnanométricos: Síntesis y Propiedades, Universidade de Santiago de Compostela, **2018**.
- (71) Henderson, W.; McIndoe, J. S. Electrospray Mass Spectrometry. In *Comprehensive Coordination Chemistry II*; Pergamon, **2002**; pp 387–391. <https://doi.org/10.1016/B0-08-043748-6/01094-X>.
- (72) Cai, S. S.; Hanold, K. A.; Syage, J. A. Comparison of Atmospheric Pressure Photoionization and Atmospheric Pressure Chemical Ionization for Normal-Phase LC/MS Chiral Analysis of Pharmaceuticals. *Anal. Chem.* **2007**, *79* (6), 2491–2498. <https://doi.org/10.1021/ac0620009>.
- (73) Lu, Y.; Chen, W. Sub-Nanometre Sized Metal Clusters: From Synthetic Challenges to the Unique Property Discoveries. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (9), 3594–3623. <https://doi.org/10.1039/c2cs15325d>.
- (74) Knoppe, S.; Boudon, J.; Dolamic, I.; Dass, A.; Bürgi, T. Size Exclusion Chromatography for Semipreparative Scale Separation of Au₃₈(SR)₂₄ and Au₄₀(SR)₂₄ and Larger Clusters. *Anal. Chem.* **2011**, *83* (13), 5056–5061. <https://doi.org/10.1021/ac200789v>.
- (75) Tanaka, S. I.; Miyazaki, J.; Tiwari, D. K.; Jin, T.; Inouye, Y. Fluorescent Platinum Nanoclusters: Synthesis, Purification, Characterization, and Application to Bioimaging. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2011**, *50* (2), 431–435. <https://doi.org/10.1002/anie.201004907>.
- (76) Schultz, D.; Gwinn, E. G. Silver Atom and Strand Numbers in Fluorescent and Dark Ag: DNAs. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (46), 5748–5750. <https://doi.org/10.1039/c2cc17675k>.
- (77) Copp, S. M.; Schultz, D.; Swasey, S.; Pavlovich, J.; Debord, M.; Chiu, A.; Olsson, K.; Gwinn, E. Magic Numbers in DNA-Stabilized Fluorescent Silver Clusters Lead to Magic Colors. *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, *5* (6), 959–963. <https://doi.org/10.1021/jz500146q>.
- (78) Knoppe, S.; Vogt, P. HPLC of Monolayer-Protected Gold Clusters with Baseline Separation. *Anal. Chem.* **2019**, *91* (2), 1603–1609. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05064>.
- (79) Zhang, Z.; Pawliszyn, J. Quantitative Extraction Using an Internally Cooled Solid Phase Microextraction Device. *Anal. Chem.* **1995**, *67* (1), 34–43. <https://doi.org/10.1021/ac00097a007>.
- (80) Poole, C. F. *The Essence of Chromatography*; Elsevier, **2003**. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-50198-1.x5013-7>.
- (81) Wilson, I. *Encyclopedia of Separation Science*; Academic Press: San Diego, **2000**.
- (82) Talu, M.; Özgün, H. B. Alkaline Hydrolysis of Poly(Ethyl Acrylate) and

- Styrene-Ethyl Acrylate Copolymer. *Eur. Polym. J.* **1990**, 26 (1), 5–7. [https://doi.org/10.1016/0014-3057\(90\)90088-L](https://doi.org/10.1016/0014-3057(90)90088-L).
- (83) Xie, H.; Wang, T.; Liang, J.; Li, Q.; Sun, S. Cu-Based Nanocatalysts for Electrochemical Reduction of CO₂. *Nano Today*. Elsevier B.V. August 1, **2018**, pp 41–54. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2018.05.001>.
- (84) Rezvani, M. A.; Khandan, S. Synthesis and Characterization of New Sandwich-Type Polyoxometalate/Nanoceramic Nanocomposite, Fe₂W₁₈Fe₄@FeTiO₃, as a Highly Efficient Heterogeneous Nanocatalyst for Desulfurization of Fuel. *Solid State Sci.* **2019**, 98. <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2019.106036>.
- (85) Ethiraj, A. S.; Uttam, P.; K, V.; Chong, K. F.; Ali, G. A. M. Photocatalytic Performance of a Novel Semiconductor Nanocatalyst: Copper Doped Nickel Oxide for Phenol Degradation. *Mater. Chem. Phys.* **2020**, 242. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.122520>.
- (86) Tyo, E. C.; Vajda, S. Catalysis by Clusters with Precise Numbers of Atoms. *Nature Nanotechnology*. Nature Publishing Group July 1, **2015**, pp 577–588. <https://doi.org/10.1038/NNANO.2015.140>.
- (87) Lachkov, P. T.; Chin, Y. H. (Cathy). Catalytic Consequences of Reactive Oxygen Species during C₃H₆ Oxidation on Ag Clusters. *J. Catal.* **2018**, 366, 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2018.07.011>.
- (88) Wang, X.; Zhao, Z.; Ou, D.; Tu, B.; Cui, D.; Wei, X.; Cheng, M. Highly Active Ag Clusters Stabilized on TiO₂ Nanocrystals for Catalytic Reduction of P-Nitrophenol. *Appl. Surf. Sci.* **2016**, 385, 445–452. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.05.147>.
- (89) Liu, Y.; Ding, J.; Yang, J.; Bi, J.; Liu, K.; Chen, J. Stabilization of Copper Catalysts for Hydrogenation of Dimethyl Oxalate by Deposition of Ag Clusters on Cu Nanoparticles. *Catal. Commun.* **2017**, 98, 43–46. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2017.05.007>.
- (90) Wang, C.; Wu, J.; Jiang, K.; Humphrey, M. G.; Zhang, C. Stable Ag Nanoclusters-Based Nano-Sensors: Rapid Sonochemical Synthesis and Detecting Pb²⁺ in Living Cells. *Sensors Actuators, B Chem.* **2017**, 238, 1136–1143. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.07.090>.
- (91) Li, M.; Huang, L.; Wang, X.; Song, Z.; Zhao, W.; Wang, Y.; Liu, J. Direct Generation of Ag Nanoclusters on Reduced Graphene Oxide Nanosheets for Efficient Catalysis, Antibacteria and Photothermal Anticancer Applications. *J. Colloid Interface Sci.* **2018**, 529, 444–451. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.06.028>.
- (92) Xie, J.; Yang, X.; Xu, X. Wet Chemical Method for Synthesizing 3D Graphene/Gold Nanocomposite: Catalytic Reduction of Methylene Blue. *Phys. E Low-Dimensional Syst. Nanostructures* **2017**, 88, 201–205. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2016.11.016>.
- (93) Lajevardi, A.; Tavakkoli Yarak, M.; Masjedi, A.; Nouri, A.; Hossaini Sadr, M. Green Synthesis of MOF@Ag Nanocomposites for Catalytic Reduction of Methylene Blue. *J. Mol. Liq.* **2019**, 276, 371–378.

- <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.12.002>.
- (94) Saha, J.; Begun, A.; Mukherjee, A.; Kumar, S. A Novel Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Catalytic Action in Reduction of Methylene Blue Dye. *Sustain. Environ. Res.* **2017**, *27* (5), 245–250. <https://doi.org/10.1016/j.serj.2017.04.003>.
- (95) Das, J.; Velusamy, P. Catalytic Reduction of Methylene Blue Using Biogenic Gold Nanoparticles from *Sesbania Grandiflora* L. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2014**, *45* (5), 2280–2285. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2014.04.005>.
- (96) Durán, B.; Hevia, S. A.; Molero, L.; Isaacs, M.; Bonardd, S.; Diaz Diaz, D.; Leiva, A.; Saldías, C. Novel 3D Copper Nanoparticles/Chitosan/Nanoporous Alumina (CCSA) Membranes with Catalytic Activity. Characterization and Performance in the Reduction of Methylene Blue. *J. Clean. Prod.* **2019**, *210*, 811–820. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.020>.
- (97) Wu, J.; Zhang, X.; Yao, T.; Li, J.; Zhang, H.; Yang, B. Improvement of the Stability of Colloidal Gold Superparticles by Polypyrrole Modification. *Langmuir* **2010**, *26* (11), 8751–8755. <https://doi.org/10.1021/la904504d>.
- (98) Saha, A.; Ranu, B. Highly Chemoselective Reduction of Aromatic Nitro Compounds by Copper Nanoparticles/Ammonium Formate. *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (17), 6867–6870. <https://doi.org/10.1021/jo800863m>.
- (99) Vilar-Vidal, N.; Rivas, J.; López-Quintela, M. A. Size Dependent Catalytic Activity of Reusable Subnanometer Copper(0) Clusters. *ACS Catal.* **2012**, *2* (8), 1693–1697. <https://doi.org/10.1021/cs300355n>.
- (100) Bagshaw, C. R. Order of Reaction. In *Encyclopedia of Biophysics*; Roberts, G. C. K., Ed.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2013**; pp 1807–1808. https://doi.org/10.1007/978-3-642-16712-6_575.
- (101) Swinehart, D. F. The Beer-Lambert Law. *J. Chem. Educ.* **1962**, *39* (7), 333. <https://doi.org/10.1021/ed039p333>.



10 ABREVIATURAS

AQCs	clústeres cuánticos atómicos
DFT	teoría del funcional de la densidad
EI	impacto electrónico
ESI	ionización por electrospray
ETAAS	espectroscopia de absorción atómica electrotérmica
FA	fase acuosa
FAAS	espectroscopia de absorción atómica de llama
FO	fase orgánica
GPC	cromatografía de permeación en gel
HOMO	orbital molecular ocupado más alto
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
ICP	plasma de acoplamiento inductivo
ISE	electrodo selectivo de iones
LLE	extracción líquido-líquido
LMB	leuco azul de metileno
LUMO	orbital molecular desocupado más bajo
MALDI	desorción/ionización láser asistida por matriz
MB	azul de metileno
MS	espectrometría de masas
NPs	nanopartículas
OES	espectroscopia de emisión óptica
PDA	<i>array</i> de fotodiodos
RDS	etapa limitante de la velocidad
SEC	cromatografía de exclusión por tamaños
SPB	banda plasmónica superficial
SPE	extracción en fase sólida
TOF	tiempo de vuelo



11 ANEXOS

11.1 PROTOCOLOS DE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE)

- **Cartucho Waters Oasis MCX de intercambio catiónico**
 - **Protocolo 1**
 1. Acondicionamiento: MeOH 5 mL
 2. Equilibrado: MeOH 5 mL
 3. Carga de muestra/blanco: 5 mL
 4. Lavado: H₂O 2% HCOOH 4 mL
 5. Elución 1: MeOH 4 mL
 6. Elución 2: MeOH 5% NH₄OH 4 mL
 - **Protocolo 2**
 1. Acondicionamiento: MeOH 5 mL
 2. Equilibrado: MeOH 5 mL
 3. Carga de muestra/blanco: 5 mL
 4. Lavado: H₂O 5% NH₄OH 4 mL
 5. Elución 1: MeOH 4 mL
 6. Elución 2: MeOH 2% HCOOH 4 mL
- **Cartucho Waters Sep-Pak Plus Alum A de alúmina ácida**
 - **Protocolo 3**
 1. Carga de muestra/blanco: 2 mL
 2. Lavado 1: AcN 2 mL
 3. Lavado 2: MeOH 2 mL
 4. Elución: H₂O 2% CH₄N₂S 2 mL

- **Cartucho Waters Sep-Pak Plus Alum N de alúmina neutra**
 - **Protocolo 4**
 1. Carga de muestra/blanco: 4 mL
 2. Lavado 1: AcN 4 mL
 3. Lavado 2: MeOH 4 mL
 4. Elución: H₂O 2% CH₄N₂S 4 mL

- **Cartucho Waters Sep-Pak Plus Alum N de alúmina básica**
 - **Protocolo 5**
 1. Carga de muestra/blanco: 2 mL
 2. Lavado 1: MeOH 2 mL
 3. Lavado 2: AcN 2 mL
 4. Elución: H₂O 2 mL

- **Cartucho Waters Sep-Pak Plus tC18 de fase reversa (SiC₁₈H₃₇)**
 - **Protocolo 6**
 1. Acondicionamiento: MeOH 2 mL
 2. Equilibrado: H₂O 2 mL
 3. Carga de muestra/blanco: 2 mL
 4. Lavado: H₂O 2 mL
 5. Elución 1: H₂O/MeOH 70:30 2 mL
 6. Elución 2: MeOH 2 mL
 7. Elución 3: MeOH 2 mL

- **Cartucho Waters Sep-Pak Vac tC2 de fase reversa (SiC₂H₅)**
 - **Protocolo 7**
 1. Acondicionamiento: MeOH 3 mL
 2. Equilibrado: H₂O 3 mL
 3. Carga de muestra/blanco: 3 mL
 4. Lavado: H₂O 3 mL
 5. Elución 1: H₂O/MeOH 70:30 3 mL
 6. Elución 2: MeOH 3 mL

11.2 CONDICIONES EXPERIMENTALES DE LAS SEPARACIONES CROMATOGRÁFICAS EN HPLC

◇ Columna Waters Ultrahydrogel 120A de exclusión por tamaños

Fase móvil	H ₂ O
Volumen de inyección	20 µL
Flujo	0,8 mL / min
Temperatura	25 °C
Modo de elución	Isocrático

◇ Columna Hamilton PRP-1 de fase reversa

Fase móvil	H ₂ O/AcN 90:10 + HClO ₄ 0,1M
Volumen de inyección	20 µL
Flujo	1 mL/min
Temperatura	25 °C
Modo de elución	Isocrático

◇ Columna Waters XBridge C18 de fase reversa

Fase móvil	H ₂ O/MeOH 70:30
Volumen de inyección	20 µL
Flujo	1 mL / min
Temperatura	25 °C
Modo de elución	Isocrático

11.3 CONDICIONES EXPERIMENTALES DE LAS REACCIONES DE CATÁLISIS CON CLÚSTERES

∇ Catálisis con clústeres de Cu₅. Efecto de la luz

Experimento	[Cu ₅]x10 ⁵ / M	[N ₂ H ₄] / M	[MB]x10 ⁵ / M
Reacción 1	-	0,2	3,3
Reacción 2	1,9	0,2	3,3
Reacción 3	-	0,2	3,3
Reacción 4	1,9	0,2	3,3

∇ Efecto de la presencia de NaCl

Experimento	[Cu ₅]x10 ⁵ / M	[N ₂ H ₄] / M	[MB]x10 ⁻⁵ / M	[NaCl]x10 ³ / M
Reacción 5	1,5	0,2	2	-
Reacción 6	1,5	0,2	2	7

∇ Catálisis con clústeres de Ag₃

Experimento	[Ag ₃]x10 ⁵ / M	[N ₂ H ₄] / M	[MB]x10 ⁵ / M
Reacción 7	-	0,1	2
Reacción 8	0,9	0,1	2

∇ Catálisis con clústeres de Ag₅₋₁₅

Experimento	[Ag ₅₋₁₅]x10 ⁵ / M	[N ₂ H ₄] / M	[MB]x10 ⁵ / M
Reacción 9	-	0,2	3,3
Reacción 10	2,5	0,2	3,3

∇ **Catálisis con clústeres de Au₂**

Experimento	[Au ₂]x10 ⁵ / M	[N ₂ H ₄] / M	[MB]x10 ⁵ / M
Reacción 11	-	0,1	1,3
Reacción 12	0,6	0,1	1,3

∇ **Catálisis con clústeres de Cu₁₂-Cis**

Experimento	[Cu ₁₂ -Cis]x10 ⁵ / M	[N ₂ H ₄] / M	[MB]x10 ⁵ / M	[Cis]x10 ³ / M
Reacción 13	-	0,2	3,3	3,6
Reacción 14	2,3	0,2	3,3	-

∇ **Catálisis con clústeres de Cu₅. Efecto de la [Cu₅]**

Experimento	[Cu ₅]x10 ⁵ / M	[N ₂ H ₄] / M	[MB]x10 ⁵ / M
Reacción 15	0,08	0,2	3,3
Reacción 16	0,15	0,2	3,3
Reacción 17	0,31	0,2	3,3
Reacción 18	3,06	0,2	3,3

∇ **Catálisis con clústeres de Cu₅. Efecto de la [N₂H₄]**

Experimento	[Cu ₅]x10 ⁵ / M	[N ₂ H ₄] / M	[MB]x10 ⁵ / M
Reacción 19	1,7	0,03	3,3
Reacción 20	1,7	0,12	3,3
Reacción 21	1,7	0,2	3,3



12. ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURA 1. LUSTRE DE UNA CERÁMICA DEL SIGLO IX PROCEDENTE DE SUSA (MESOPOTAMIA), MOSTRANDO UN COLOR ROJO O AZUL Y VERDE AL SER OBSERVADA DESDE DIFERENTES ÁNGULOS. IMAGEN OBTENIDA DE LA REFERENCIA 1.	6
FIGURA 2. IMAGEN DE UNA MOLÉCULA DE NANOGRAFENO OBTENIDA POR MICROSCOPÍA AFM EN MODO DE NO CONTACTO, EN LA QUE SE APRECIAN SUS ENLACES CARBONO-CARBONO. IMAGEN OBTENIDA DE PHYS.ORG.	7
FIGURA 3. ALGUNOS EJEMPLOS DE DIFERENTES TIPOS DE NANOMATERIALES. IMAGEN OBTENIDA DE LA REFERENCIA 5.	8
FIGURA 4. ESCALA DE TAMAÑOS DE LA MATERIA, MOSTRANDO TANTO LOS DIFERENTES TAMAÑOS DE PARTÍCULA (PARTE SUPERIOR) COMO EJEMPLOS REPRESENTATIVOS CONOCIDOS DE LAS DIFERENTES ZONAS DE LA ESCALA (PARTE INFERIOR).	10
FIGURA 5. ESQUEMATIZACIÓN DE LA VARIACIÓN DE LA RELACIÓN SUPERFICIE/VOLUMEN CON LA DISMINUCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA.	11
FIGURA 6. TABLA PERIÓDICA DE LOS ELEMENTOS EN TRES DIMENSIONES, QUE MUESTRA LA VARIACIÓN DE LAS PROPIEDADES EN FUNCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA.	13
FIGURA 7. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA VARIACIÓN DE LA ESTRUCTURA ELECTRÓNICA DE LOS METALES EN FUNCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA.	15
FIGURA 8. COMPARACIÓN ESQUEMÁTICA DE LOS HUECOS HOMO-LUMO DE DIFERENTES CLÚSTERES DE COBRE Y PLATA CALCULADOS MEDIANTE EL MODELO DEL <i>JELLIUM</i> , ASÍ COMO LAS POSICIONES DE LOS ORBITALES HOMO Y LUMO (SIMILARES A LAS BANDAS DE VALENCIA – BV- Y DE CONDUCCIÓN -BC-, RESPECTIVAMENTE, EN LOS SEMICONDUCTORES). SE MUESTRAN ADEMÁS PARA SU COMPARACIÓN LOS VALORES DE LA ENERGÍA DE LAS BANDAS PROHIBIDAS DE ALGUNOS SEMICONDUCTORES TRADICIONALES, ASÍ COMO LA POSICIÓN DE LAS BANDAS BC Y BV. FIGURA OBTENIDA DE LA REFERENCIA 9.	16
FIGURA 9. REPRESENTACIÓN DEL FENÓMENO DE RESONANCIA PLASMÓNICA SUPERFICIAL CARACTERÍSTICA DE LAS NANOPARTÍCULAS METÁLICAS. IMAGEN OBTENIDA DE WIKIMEDIA.ORG.	17
FIGURA 10. ESPECTROS UV-VIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON UNA BANDA PLASMÓNICA A ~ 400 NM (A), CLÚSTERES DE PLATA GRANDES PROTEGIDOS POR SURFACTANTE MOSTRANDO UNA DISMINUCIÓN CONTINUA DE LA ABSORBANCIA (B) Y CLÚSTERES DE PLATA PEQUEÑOS SIN LIGANDOS PROTECTORES CON BANDAS DE ABSORCIÓN BIEN DEFINIDAS (C).....	18
FIGURA 11. EMISIÓN LUMINISCENTE DE UNA DISOLUCIÓN DE CLÚSTERES DE COBRE PEQUEÑOS TRAS SU EXCITACIÓN A 296 NM. IMAGEN OBTENIDA DE LA REFERENCIA 40.	19

FIGURA 12. ESQUEMA SIMPLIFICADO DE UNA REACCIÓN DE OXIDACIÓN DE CO CATALIZADA POR CLÚSTERES DE Pd SOPORTADOS. IMAGEN OBTENIDA DE LA REFERENCIA 15.	20
FIGURA 13. PANTALLA TÁCTIL FLEXIBLE CONSTRUIDA MEDIANTE TCFs.	22
FIGURA 14. ESQUEMA QUE MUESTRA LAS DIFERENTES SÍNTESIS ANISOTRÓPICAS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO OBTENIDAS MEDIANTE LA VARIACIÓN DE LA PROPORCIÓN ENTRE CLÚSTERES DE PLATA Y SEMILLAS DE ORO. SE MUESTRAN ASIMISMO LAS IMÁGENES DE TEM OBTENIDAS PARA LAS PARTÍCULAS SINTETIZADAS. IMAGEN OBTENIDA DE LA REFERENCIA 20.	23
FIGURA 15. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE ALGUNOS DE LOS MÉTODOS DE SÍNTESIS DE CLÚSTERES METÁLICOS MÁS SIGNIFICATIVOS.	25
FIGURA 16. REPRESENTACIÓN SIMPLIFICADA DE LA VARIACIÓN DE ENERGÍA LIBRE DURANTE LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS, QUE MUESTRA LA FORMACIÓN DE CLÚSTERES CON DIFERENTE ESTABILIDAD EN ETAPAS INTERMEDIAS.	26
FIGURA 17. PRINCIPALES TRANSICIONES ELECTRÓNICAS IMPLICADAS EN LA CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES POR ESPECTROSCOPIA UV-VIS Y REGIONES DEL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO DONDE SE PRODUCEN. IMAGEN OBTENIDA DE LA REFERENCIA 41.	29
FIGURA 18. DIAGRAMA DE JABLONSKI. IMAGEN OBTENIDA DE LA REFERENCIA 45.	31
FIGURA 19. LÍMITES DE DETECCIÓN TÍPICOS DE LA ESPECTROMETRÍA ICP-MS. IMAGEN OBTENIDA DE LA UNIVERSITY OF GEORGIA.	37
FIGURA 20. ESQUEMA DEL PROCESO DE SÍNTESIS ELECTROQUÍMICA DE CLÚSTERES METÁLICOS SUBNANOMÉTRICOS.	43
FIGURA 21. ESPECTRO DE ABSORCIÓN UV-VIS DE LOS CLÚSTERES DE Ag ₃ SINTETIZADOS.	48
FIGURA 22. ESPECTRO DE EMISIÓN DE LOS CLÚSTERES DE Ag ₃ A UNA LONGITUD DE ONDA DE EXCITACIÓN DE 223 NM.	49
FIGURA 23. ESPECTRO DE ABSORCIÓN UV-VIS DE LOS CLÚSTERES DE Cu ₅ SINTETIZADOS.	50
FIGURA 24. ESPECTRO DE EMISIÓN DE LOS CLÚSTERES DE Cu ₅ A UNA LONGITUD DE ONDA DE EXCITACIÓN DE 230 NM.	51
FIGURA 25. EFECTO DEL DISOLVENTE DE DILUCIÓN EN LAS MEDIDAS DE ESI-MS.	53
FIGURA 26. EFECTO DE LA ADICIÓN DE HCOOH EN LAS MEDIDAS DE ESI-MS.	54
FIGURA 27. EFECTO DEL MODO DE DETECCIÓN EN LAS MEDIDAS DE CARACTERIZACIÓN DE Ag ₂ POR ESI-MS.	55
FIGURA 28. EFECTO DE LA FRECUENCIA DE BARRIDO EN LAS MEDIDAS DE CARACTERIZACIÓN POR ESI-MS.	57
FIGURA 29. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA DE CARACTERIZACIÓN DE Ag ₂ POR ESI-MS.	58
FIGURA 30. EFECTO DEL VOLTAJE DE CONO EN LAS MEDIDAS DE CARACTERIZACIÓN POR ESI-MS..	59
FIGURA 31. ESPECTROS DE MASAS EXPERIMENTAL (IZQUIERDA) Y TEÓRICO (DERECHA) CORRESPONDIENTES AL ADUCTO [Ag ₂ (H)(H ₂ O)(HCOO)] ⁻	61
FIGURA 33. ESPECTROS DE MASAS EXPERIMENTAL (IZQUIERDA) Y TEÓRICO (DERECHA) CORRESPONDIENTES AL ADUCTO [Ag ₂ (H ₂ O) ₂ (O) ₄ (CH ₃ CN)(HCOO)] ⁻	62
FIGURA 32. ESPECTROS DE MASAS EXPERIMENTAL (IZQUIERDA) Y TEÓRICO (DERECHA) CORRESPONDIENTES AL ADUCTO [Ag ₂ Na ₂ (N) ₂ (OH) ₃] ⁻	62

FIGURA 34. ESPECTROS DE MASAS EXPERIMENTAL (IZQUIERDA) Y TEÓRICO (DERECHA) CORRESPONDIENTES AL ADUCTO $[Ag_3Na_2(OH)(CH_3CN)(H_2O)_3(HCOO)_2]^-$	63
FIGURA 36. ESPECTROS DE MASAS EXPERIMENTAL (IZQUIERDA) Y TEÓRICO (DERECHA) CORRESPONDIENTES AL ADUCTO $[Cu_2(O)_2(H_2O)(HCOO)]^-$	64
FIGURA 35. ESPECTROS DE MASAS EXPERIMENTAL (IZQUIERDA) Y TEÓRICO (DERECHA) CORRESPONDIENTES AL ADUCTO $[Cu_5Na_2(N)_2(O)_4(OH)(CH_3CN)(H_2O)_6(HCOO)_2]^-$	64
FIGURA 37. ESPECTROS DE MASAS EXPERIMENTAL (IZQUIERDA) Y TEÓRICO (DERECHA) CORRESPONDIENTES AL ADUCTO $[Ag_5Na_2(N)_4(O)_2(OH)(CH_3CN)(H_2O)_5(HCOO)_2]^-$	65
FIGURA 38. CANTIDAD DE PLATA TOTAL MEDIDA EN CADA UNA DE LAS ETAPAS DE LA DIÁLISIS	74
FIGURA 39. CANTIDADES DE AG TOTAL MEDIDAS EN CADA UNA DE LAS ETAPAS DE SPE CON EL CARTUCHO WATERS OASIS MCX DE INTERCAMBIO CATIONICO, OBTENIDAS MEDIANTE EL PROTOCOLO 1 (ARRIBA) Y EL PROTOCOLO 2 (ABAJO)	76
FIGURA 40. CANTIDADES DE AG TOTAL MEDIDAS EN CADA UNA DE LAS ETAPAS DE SPE CON EL CARTUCHO WATERS SEP-PAK DE ALUMINA ACIDA, OBTENIDAS MEDIANTE EL PROTOCOLO 3.	77
FIGURA 41. CANTIDADES DE AG TOTAL MEDIDAS EN CADA UNA DE LAS ETAPAS DE SPE CON EL CARTUCHO WATERS SEP-PAK DE ALUMINA NEUTRA, OBTENIDAS MEDIANTE EL PROTOCOLO 4.	78
FIGURA 42. CANTIDADES DE AG TOTAL MEDIDAS EN CADA UNA DE LAS ETAPAS DE SPE CON EL CARTUCHO WATERS SEP-PAK DE ALUMINA BASICA, OBTENIDAS MEDIANTE EL PROTOCOLO 5.	79
FIGURA 43. CANTIDADES DE AG TOTAL MEDIDAS EN CADA UNA DE LAS ETAPAS DE SPE CON EL CARTUCHO WATERS SEP-PAK TC18 DE FASE REVERSA, OBTENIDAS MEDIANTE EL PROTOCOLO 6.	80
FIGURA 44. CANTIDADES DE AG TOTAL MEDIDAS EN CADA UNA DE LAS ETAPAS DE SPE CON EL CARTUCHO WATERS SEP-PAK TC2 DE FASE REVERSA, OBTENIDAS MEDIANTE EL PROTOCOLO 7.	81
FIGURA 45. SEPARACIÓN EN HPLC DEL BLANCO DE $AgNO_3$ (ARRIBA) Y LA MUESTRA DE CLÚSTERES DE Ag_5 (ABAJO) CON LA COLUMNA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑOS WATERS ULTRAHYDROGEL 120A.	83
FIGURA 46. SEPARACIÓN EN HPLC DEL BLANCO DE $AgNO_3$ (ARRIBA) Y LA MUESTRA DE CLÚSTERES DE Ag_5 (ABAJO) CON LA COLUMNA DE FASE REVERSA HAMILTON PRP-1 DE BASE POLIMÉRICA.	85
FIGURA 47. SEPARACIÓN EN HPLC DEL BLANCO DE $AgNO_3$ (ARRIBA) Y LA MUESTRA DE CLÚSTERES DE Ag_5 (ABAJO) CON LA COLUMNA DE FASE REVERSA WATERS XBRIDGE C18 DE BASE DE SÍLICE MODIFICADO.	86
FIGURA 48. ESQUEMA DE LA REACCIÓN DE HIDRÓLISIS ALCALINA DE HDDA POLIMERIZADO.	89
FIGURA 49. MEZCLA VISCOSA OBTENIDA AL REALIZAR LA HIDRÓLISIS Y LA EXTRACCIÓN EN UN ÚNICO PASO.	90
FIGURA 50. FO (IZQUIERDA) Y FA (DERECHA) OBTENIDAS AL FINALIZAR LA EXTRACCIÓN.	90
FIGURA 51. FA (IZQUIERDA) Y FO (DERECHA) OBTENIDAS TRAS LA SEPARACIÓN EN DOS ETAPAS. ..	91

FIGURA 52. FA (IZQUIERDA) Y FO (DERECHA) OBTENIDAS EN EL PROCESO DE SEPARACIÓN OPTIMIZADO.....	92
FIGURA 53. ESPECTROS DE EXCITACIÓN (EN NEGRO) Y DE EMISIÓN (EN ROJO) DE FLUORESCENCIA CORRESPONDIENTES A LA MUESTRA DE CLÚSTERES DE AG ANTES DE REALIZAR LA SEPARACIÓN (ARRIBA) Y DESPUÉS DE LA EXTRACCIÓN EN AGUA (ABAJO).	93
FIGURA 54. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE CLÚSTERES DE AG EN ACRILATO A AGUA QUE SE HA DESARROLLADO.	94
FIGURA 55. SEGUIMIENTO DE LA REACCIÓN DE REDUCCIÓN CATALÍTICA DEL MB MEDIANTE ESPECTROSCOPIA UV-VIS.	99
FIGURA 56. PROGRESO DE LAS REACCIONES DE REDUCCIÓN DEL MB EN PRESENCIA DE LUZ SOLAR Y AUSENCIA (REACCIÓN 1) O PRESENCIA (REACCIÓN 2) DE Cu_5	101
FIGURA 57. PROGRESO DE LA REDUCCIÓN DEL MB EN AUSENCIA (REACCIÓN 3) Y PRESENCIA (REACCIÓN 4) DE Cu_5 , LLEVADAS A CABO EN OSCURIDAD.	101
FIGURA 58. REACCIÓN CATALIZADA (DERECHA) Y BLANCO (IZQUIERDA) TRAS 1H DESDE LA ADICIÓN DEL REDUCTOR.....	102
FIGURA 59. REDUCCIÓN DEL MB CATALIZADA POR CLÚSTERES DE Cu_5 EN AUSENCIA (REACCIÓN 5) Y PRESENCIA (REACCIÓN 6) DE $NaCl$	102
FIGURA 60. REDUCCIÓN DEL MB CON (REACCIÓN 8) Y SIN (REACCIÓN 7) CLÚSTERES DE Ag_3	103
FIGURA 61. REDUCCIÓN DEL MB CON N_2H_4 SIN CATALIZAR (REACCIÓN 9) Y CATALIZADA POR CLÚSTERES DE Ag_{5-15} (REACCIÓN 10).	105
FIGURA 62. PROGRESO DE LA REACCIÓN DE REDUCCIÓN DEL MB EN AUSENCIA (REACCIÓN 11) Y PRESENCIA (REACCIÓN 12) DE CLÚSTERES DE Au_2	105
FIGURA 63. REDUCCIÓN DEL MB CON N_2H_4 SIN CATALIZAR (REACCIÓN 13) Y CATALIZADA POR CLÚSTERES DE Ag_{5-15} (REACCIÓN 14).	106
FIGURA 64. REDUCCIÓN DE MB CON N_2H_4 CATALIZADA POR CLÚSTERES DE Cu_5 , CON $8 \cdot 10^{-7}$ (REACCIÓN 15), $1,5 \cdot 10^{-6}$ (REACCIÓN 16), $3,1 \cdot 10^{-6}$ (REACCIÓN 17) Y $3,1 \cdot 10^{-5}$ M (REACCIÓN 18) DE CONCENTRACIÓN DE Cu_5	107
FIGURA 65. REDUCCIÓN DE MB CON N_2H_4 CATALIZADA POR CLÚSTERES DE Cu_5 , CON 0,03 (REACCIÓN 19), 0,12 (REACCIÓN 20) Y 0,2 M (REACCIÓN 21) DE CONCENTRACIÓN DE N_2H_4	108
FIGURA 66. ESQUEMA SIMPLIFICADO DE LAS ETAPAS INVOLUCRADAS EN LA REDUCCIÓN DE MB CON N_2H_4 CATALIZADA POR CLÚSTERES DE Cu_5	108
FIGURA 67. AJUSTE LINEAL DE LAS REACCIONES DE REDUCCIÓN DE MB CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE Cu_5 (A) Y N_2H_4 (B).	109
FIGURA 68. GRÁFICO DE REGRESIÓN LINEAL DE LOS VALORES DE K_{OBS} OBTENIDOS FRENTE A LA CONCENTRACIÓN DE Cu_5 (AZUL) Y N_2H_4 (ROJO).	110
FIGURA 69. AJUSTE LINEAL DE LOS VALORES DE K_{OBS} DIVIDIDOS POR LAS RESPECTIVAS CONCENTRACIONES FRENTE A LAS CONCENTRACIONES DE Cu_5 (AZUL) Y N_2H_4 (ROJO).	111
FIGURA 70. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA REDUCCIÓN DE MB CON N_2H_4 CATALIZADA POR CLÚSTERES DE Cu_5 , MOSTRANDO LOS NIVELES DE ENERGÍA DE TODOS LOS COMPUESTOS INVOLUCRADOS EN EL PROCESO.	112