



ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Nerea
Borja González

Tesis doctoral

Síntesis fotoquímica de
clústeres de plata de baja
atomicidad

Santiago de Compostela, 2022

Programa de doctorado en Ciencia de Materiales



TESIS DE DOCTORADO

**SÍNTESIS FOTOQUÍMICA
DE CLÚSTERES DE PLATA
DE BAJA ATOMICIDAD**

Nerea Borja González

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD
DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA DE MATERIALES

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2022





D./Dña. **Nerea Borja González**

Título **Síntesis fotoquímica de clústeres de plata de baja**
de la tesis: **atomicidad**

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento y declaro que:

- 1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.
- 2) De ser el caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.
- 3) Confirmando que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.
- 4) La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide la versión impresa con la presentada en formato electrónico.

Y me comprometo a presentar el Compromiso Documental de Supervisión en el caso que el original no esté depositado en la Escuela.

En **Santiago de Compostela, 06 de mayo de 2022.**

Firma electrónica





D./Dña. **José Rivas Rey**

En
condición **Tutor/a**
de:

Título **Síntesis fotoquímica de clústeres de plata de baja**
de la tesis: **atomicidad**

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D/Dña **Nerea Borja González**, bajo mi dirección/tutorización, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director/tutor de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

En **Santiago de Compostela, 06 de mayo de 2022**

Firma electrónica





D./Dña. **Manuel Arturo López Quintela y David Buceta
Fernández**

En
condición **Director/a**
de:

Título **Síntesis fotoquímica de clústeres de plata de baja
de la tesis: atomicidad**

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D/Dña **Nerea Borja González**, bajo mi dirección/tutorización, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director/tutor de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

En **Santiago de Compostela, 06 de mayo de 2022**

Firma electrónica



A mi familia

*“La ciencia se compone de errores,
que a su vez son pasos hacia la verdad”
Julio Verne*

ÍNDICE

ABREVIATURAS	17
RESUMEN.....	21
ABSTRACT	22
OBJETIVOS	23
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	25
2. EL ORIGEN DE LA NANO ESCALA	25
3. ¿QUÉ SON LOS AQCs?	31
3.1. Estructura electrónica de los AQCs.....	36
3.2. Estructura geométrica de los AQCs	39
4. PROPIEDADES DE LOS AQCs	40
4.1. Propiedades ópticas	40
4.2. Propiedades catalíticas	44
4.3. Propiedades biomédicas	47
5. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE AQCs	49
5.1. Síntesis top-down.....	50
5.1.1. <i>Etching de nanopartículas</i>	<i>51</i>
5.2. Síntesis bottom-up.....	52
5.2.1. <i>Efecto plantilla</i>	<i>53</i>
5.2.1. <i>Síntesis en microemulsión</i>	<i>53</i>
5.2.2. <i>Reducción química o Brust-Schiffrin.....</i>	<i>54</i>
5.2.3. <i>Síntesis electroquímica</i>	<i>55</i>
5.2.4. <i>Fotoreducción de sales</i>	<i>57</i>
CAPÍTULO II. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN.....	59
1. ESPECTROSCOPIA VISIBLE - ULTRAVIOLETA	59
2. ELECTRODO SELECTIVO DE IONES DE PLATA.....	62
3. ESPECTROSCOPIA DE MASAS CON PLASMA	
ACOPLADO INDUCITIVAMENTE.....	65

4. ESPECTROSCOPIA DE EMISION ATOMICA CON PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE	67
5. ESPECTROMETRIA DE MASAS	68
6. DISPERSION DE LUZ DINAMICA (DLS)	71
7. CROMATOGRAFIA DE GASES	73
CONCLUSIONES GENERALES	77
MAIN CONCLUSIONS	81
REFERENCIAS.....	85
DECLARACIONES DE USO DE IMAGENES Y CONTENIDO PUBLICADO	95

ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AFM	Microscopía de Fuerzas Atómicas
AQCs	Clústeres Cuánticos Atómicos
BC	Banda de Conducción
B-S	Brust-Schiffrin
BV	Banda de Valencia
CTAB	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
DFT	Teoría del Funcional de la Densidad
DLS	Dispersión de luz dinámica
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
DTT	Ditiotreitol
E_g	Energía del <i>Band gap</i>
E_F	Energía del nivel de Fermi
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ESI-TOF	Ionización por Electrospray – Tiempo de Vuelo
EXAFS	Estructura fina de absorción de rayos X extendida
HOMO	Orbital Molecular Ocupado de más Alta Energía
HS	<i>Hole Scavenger</i> o Agente de Sacrificio
ICP-MS	Espectroscopía de Masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo

ICP-OES	Espectroscopía de Emisión Óptica con Plasma de Acoplamiento Inductivo
ISE	Electrodo Selectivo de Iones
IPA	Isopropanol
LD	Límite de detección
LDA	Aproximación Local de Densidad
LSP	Plasmón de Superficie Localizado
LUMO	Orbital Molecular Desocupado de más Baja Energía
NGT	Teoría de Nucleación y Crecimiento
NPs	Nanopartículas
MeOH	Metanol
PMMA	Polimetilmetacrilato
ppb	Partes por billón
ppm	Partes por millón
QM/MM	Mecánica Cuántica/Mecánica Molecular
RT	Temperatura Ambiente (<i>Room Temperature</i> , en inglés)
rpm	Revoluciones por minuto
SF	Síntesis Fotoquímica
SPE	Extracción en Fase Sólida
SPR	Resonancia Plasmónica Superficial
TCD	Detector de Conductividad Térmica
TEA	Trietilamina
TNC	Teoría de Nucleación y Crecimiento

UV	Ultravioleta
vis-UV	Visible-Ultravioleta
XANES	Estructura Fina de Absorción Rayos X cerca del Borde
XPS	Espectroscopía Fotelectrónica de Rayos X

RESUMEN

La presente tesis doctoral está dirigida hacia la obtención de clústeres de Ag a gran escala en ausencia de surfactantes o grupos protectores. Para ello, se estudiará la optimización de una síntesis fotoquímica que nos permita obtener estas especies subnanométricas en concentraciones elevadas mediante un método fácilmente escalable a nivel industrial, lo que supone sin duda un gran desafío. Además, se realizará una amplia investigación acerca de los métodos de caracterización y purificación de estos materiales cuyas propiedades, estrictamente dependientes de su tamaño, representan una gran novedad en diversas aplicaciones como catálisis, fotocatalisis y biomedicina, entre otras.

ABSTRACT

This PhD Thesis is focused on the scale-up synthesis of silver atomic quantum clusters without any surfactant. For that purpose, we will optimize a photochemical synthesis to obtain clusters in high concentrations by a scalable process. That supposes a really challenge in this research field. In addition, we will explore different characterization and purification methods of clusters, whose size-dependent properties have become very attractive in catalytic, photocatalytic, and biomedical applications.

OBJETIVOS

El objetivo concreto de esta tesis es la síntesis de clústeres de 5 átomos de Ag puros, libres de surfactantes o agentes protectores y de manera escalada. De esta forma se tratará de solventar uno de los mayores problemas de las síntesis de clústeres en disolución, el escalado, ya que con los métodos actuales se producen cantidades del orden de $\mu\text{g}/\text{día}$. A parte de la reducida cantidad, las disoluciones obtenidas son muy diluidas (del orden de ppbs) y son necesarios procesos de concentración costosos y laboriosos, que hacen inviable su utilización más allá de la escala de laboratorio.

Además, en los últimos años, se ha incrementado el interés por estas especies subnanométricas debido a su excelente actividad en reacciones de catálisis implicadas en la eliminación de gases de efecto invernadero, así como en el ámbito de la salud, donde demuestran poseer, entre otras, actividades antitumorales.

Para lograr el objetivo, nos centraremos en cuatro objetivos principales: (1) Diseñar y optimizar la síntesis de clústeres de 5 átomos de Ag basada en un método fotoquímico, (2) estudiar diferentes métodos de purificación de los clústeres obtenidos en disolución (3) diseñar un método de caracterización de los clústeres obtenidos que permita además su cuantificación de forma sencilla y (4) evaluar la actividad catalítica de los clústeres obtenidos, estudiando asimismo la influencia de la purificación en dicha propiedad.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1. EL ORIGEN DE LA NANO ESCALA

Los materiales se pueden clasificar en función de su tamaño tal como se muestra en la Figura 1. Aquellos materiales cuyo tamaño es mayor de 100 micrómetros pueden observarse a simple vista. Cuando el tamaño varía entre 100 μm y 100 nm, se necesita la ayuda de un microscopio óptico, sin embargo, los materiales cuyo tamaño es menor de 100 nm precisan de un microscopio electrónico para ser observados. Los materiales a escala atómica, debido a su pequeño tamaño, sólo pueden observarse mediante el uso de longitudes de onda más energéticas, como los rayos X.

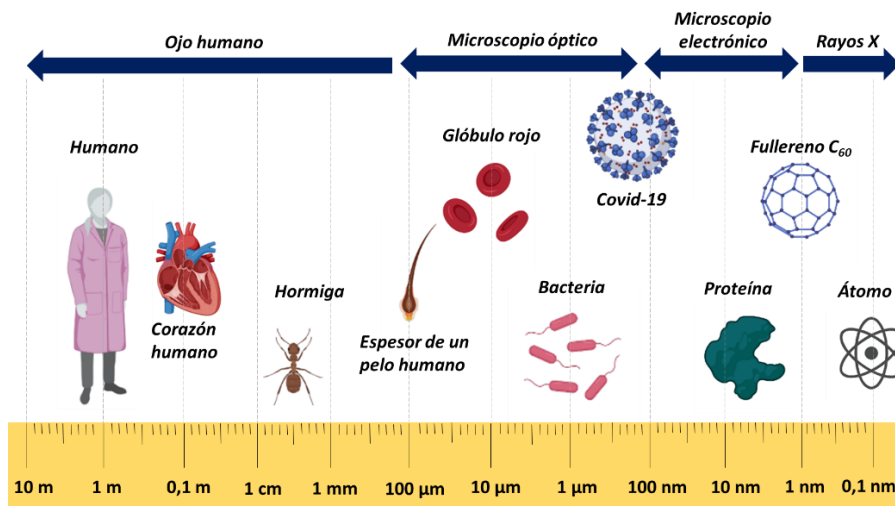


Figura 1. Escala métrica desde los 10 m hasta 0.1 nm ejemplificada con materiales biológicos y químicos bien conocidos. Imagen creada con Biorender.

La Nanotecnología es la ciencia que estudia los materiales y su manipulación en la escala nanométrica que, generalmente, abarca desde 1 a 100 nanómetros ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$).

Esta ciencia, aunque nos pueda parecer reciente, lleva muchos años presente entre nosotros sin haber tenido constancia de ello. En la Antigüedad, los romanos (siglo IV a.C.) fabricaron la famosa copa de Licurgo cuya belleza se puede observar en el *Brittish Museum* de Londres¹. Esta copa posee unas propiedades lumínicas fascinantes y es que, debido a la presencia de nanopartículas de Au y Ag en su composición, su color varía en función de su iluminación (ver Figura 2). Si se ilumina la copa desde el exterior esta posee un color verde, mientras que si se ilumina desde el interior su color cambia a rojo. La explicación a este fenómeno llegó en el año 1990 gracias al microscopio de fuerzas atómicas² (AFM).



Figura 2. Copa de Licurgo fabricada por los romanos en el siglo IV a.C. y expuesta en el *Brittish Museum* de Londres. Imagen adaptada de la referencia 1 bajo licencia Copyright con el permisos de uso anexados en la presente tesis.

Otros ejemplos del uso de nanotecnología en la historia van desde las vidrieras diseñadas en la edad Antigua hasta los ceramistas de Manises (Valencia, España) del medievo. Ambos utilizaban nanopartículas de Ag, Au o Cu que en un caso aportaban diversidad cromática y en otro un brillo metálico muy característico.

En la edad actual, la Contemporánea, el primer científico en sintetizar nanopartículas fue Michael Faraday que sintetizó, accidentalmente, una suspensión de oro coloidal que poseía características diferentes a la de su metal masivo³. El oro, conocido por su color amarillo brillante, se presenta en esta dispersión con un color rojo rubí intenso (ver Figura 3). Actualmente la dispersión coloidal, sintetizada en 1856, permanece estable y se puede observar de cerca en la *Royal Institution* de Londres.



Figura 3. Solución de oro coloidal sintetizada en 1856 por Michael Faraday y que 175 años más tarde permanece estable en la Royal Institution de Londres. Imagen reproducida con permiso de la página web de la Royal Institution de Gran Bretaña.

Medio siglo más tarde, en 1905, fue el científico Albert Einstein⁴ el encargado de explicar la existencia de los coloides,

dando así explicación a lo descubierto de forma experimental y accidental por Faraday.

Unos años más tarde, en una conferencia de divulgación científica celebrada en el Instituto de Tecnología de California (Caltech) el 29 de diciembre de 1959⁵, el físico teórico estadounidense Richard Feynman se refirió a estos materiales, pero en ausencia de un término que los definiera. En su discurso pronunció la frase “There’s plenty of room at the bottom”, que ha servido de inspiración científica hasta nuestros días y que se toma como referencia de los inicios de la Nanociencia. Feynman se refería a la capacidad de manipular átomos y moléculas a pequeña escala, abriendo así una ventana de oportunidades en el ámbito científico que, años más tarde, se conocería como Nanotecnología.

Y así fue como 15 años después del ya conocido discurso de Feynman, en 1974, Norio Taniguchi acuñó el término Nanotecnología⁶. El científico japonés de la Universidad de Tokio utilizó este término para describir procesos como la deposición de películas delgadas y la definió como “la ciencia que estudiaba los procesos de consolidación, separación y deformación de materiales por un átomo o una molécula”.

No fue hasta pocos años después, en la década de los 80, cuando el término Nanotecnología se consolidó gracias al descubrimiento en 1981 del microscopio de efecto túnel⁷ a manos de dos científicos de la compañía IBM, G. Binnig y H. Röhrer, que les llevaría cinco años más tarde hacia el premio Nobel⁸ y gracias también al descubrimiento en 1985 de un derivado

nanométrico del carbono, el fullereno C_{60} ⁹ (*Buckyball*, en inglés), a manos de H. Kroto, R. Curl y R. Smalley que les llevaría también al Nobel en 1996¹⁰.

En los últimos años, la Nanotecnología ha sufrido un auge constante. Y es que esta rama de la ciencia tiene influencias y aplicaciones en diversos campos de gran interés industrial, entre los que podemos citar las industrias alimentarias¹¹, energéticas¹² o farmacéuticas¹³.

El porqué del interés surgido en la Nanotecnología está basado, principalmente, en que las propiedades que presentan los materiales nanométricos están influidas notablemente por el aumento de la relación superficie/volumen respecto al material masivo. Un aspecto interesante de los estudios con materiales nanométricos es que abrió la posibilidad de investigar qué ocurriría con las propiedades de los materiales cuando se converge a tamaños atómicos.

Así, se observó que las propiedades de los materiales masivos o macroscópicos difieren, en muchos casos, de los nanomateriales, con la aparición incluso de nuevas propiedades cuando el tamaño se sitúa por debajo de la escala nanométrica. En la nano-escala, la ley de escalabilidad, basada en el aumento de la relación superficie/volumen al reducirse el tamaño del material, permite predecir las propiedades de los materiales al reducirse su tamaño hasta aproximadamente unos pocos nanómetros¹⁴. Sin embargo, se ha observado que, a tamaños muy pequeños la ley de escalabilidad deja de cumplirse por lo que se denomina confinamiento cuántico de los electrones (o efecto de tamaño finito). Esto ocurre cuando el tamaño de los materiales

comienza a ser comparable con determinados parámetros característicos de los electrones, como son el recorrido libre medio de los electrones o la longitud de onda de De Broglie asociada a los mismos¹⁵. En esas condiciones de confinamiento cuántico, los nanomateriales suelen poseer propiedades muy diferentes tanto del material masivo como de los propios nanomateriales de mayor tamaño. Y es, precisamente, en estos tamaños muy pequeños (por lo general, inferiores a unos pocos nanómetros) donde se encuentran los clústeres de átomos, también denominados clústeres cuánticos atómicos (AQC), nanoclústeres o clústeres de baja atomicidad, que son el objeto de estudio de la presente tesis doctoral.

2. ¿QUÉ SON LOS AQCs?

Los clústeres cuánticos atómicos (AQC) son especies formadas por n átomos de un metal en estado de oxidación promedio próximo a cero, siendo n un número menor de ≈ 150 - 200 átomos. Es decir, son especies cuyo tamaño no supera los tamaños de ≈ 1 - 2 nm. Es de destacar que una de las características más peculiares de los AQC es que estas especies poseen estructuras electrónicas bien definidas, que son diferentes de las correspondientes al mismo número de átomos en las nanopartículas o el material masivo.¹⁶ Este hecho, motivado como dijimos por el confinamiento cuántico, explica las diferencias en las propiedades químicas, electrónicas y ópticas de estas especies y que dan lugar a la aparición de propiedades nuevas en el material, como pueden ser sus actividades catalíticas, aparición de nuevos comportamientos magnéticos, fotoluminiscencia, etc.¹⁷⁻²⁰

Para el caso concreto de nanopartículas metálicas, cuando su tamaño es suficientemente grande, presentan bandas electrónicas continuas²¹ similares al material masivo. Esto permite que los electrones se muevan libremente de los niveles energéticos ocupados a los niveles energéticos desocupados convirtiendo a las nanopartículas y al metal masivo en materiales conductores.

Los clústeres cuánticos atómicos, debido al reducido número de átomos que los componen, sufren un confinamiento cuántico que provoca la cuantización de su energía. Es decir, la energía ya no es una banda continua, sino que aparecen niveles discretos de energía cuya diferencia energética es mayor a la energía térmica

($k_B T$). Esta zona de energías prohibidas que aparece en los AQC's nos recuerda al *band gap* propio de semiconductores o, en el caso de los clústeres de menor tamaño, al HOMO-LUMO *gap* existente en los materiales moleculares (ver Figura 4)²¹⁻²³.

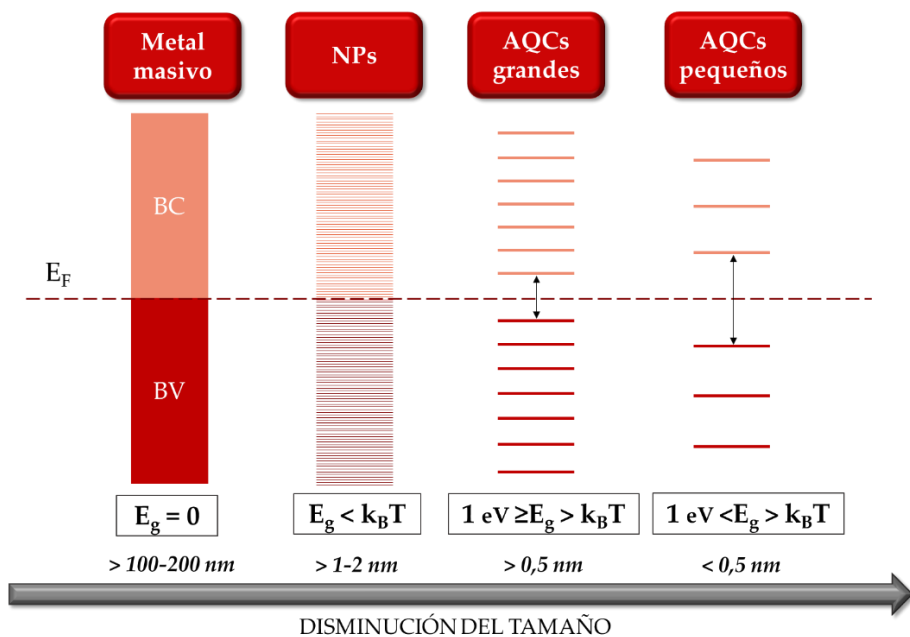


Figura 4. Diagrama de la estructura electrónica en función del tamaño de partícula. De izquierda a derecha: metal masivo, nanopartículas, clústeres grandes y clústeres pequeños. Imagen adaptada de la referencia 14 bajo licencia Copyright con el permisos de uso anexados en la presente tesis.

En la Figura 4 se puede observar la clara dependencia de la banda de energías prohibidas con el tamaño del clúster. También resaltamos la idea de las diferencias que existen entre los clústeres grandes (aquellos que poseen un número de átomos aprox. entre 10-20 hasta ≈ 150) y los clústeres pequeños, denominados clústeres de baja atomicidad (con un número de átomos menor de $\approx 10-15$), pues las propiedades de los primeros

son más parecidas a las de las nanopartículas y tienen una menor estabilidad que ellas, mientras que los segundos, tienen una gran estabilidad, mayor incluso no sólo a la de las nanopartículas sino también a la del material masivo del que proceden, tal como demostraremos en la presente tesis doctoral. En todos ellos, clústeres grandes y pequeños, su banda de energías prohibidas (o su HOMO-LUMO *gap*) varía de forma inversamente proporcional a su tamaño.

Por lo que acabamos de decir, los clústeres grandes (con un pequeño *band gap*) precisan de ligandos fuertes que los protejan y estabilicen, mientras que los clústeres pequeños (con un HOMO-LUMO *gap* muy grande) no precisan de ligandos estabilizadores, ya que no son susceptibles a fenómenos de agregación o sinterización debido a que poseen estructuras electrónicas y geométricas bien definidas.¹⁵

El modelo del *Jellium*²⁴ (descrito más adelante en el apartado 2.1.) es capaz de predecir de forma aproximada muchas de las propiedades fisicoquímicas de los clústeres. Este modelo mecanocuántico permite obtener una solución analítica para el valor de las energías permitidas, y es capaz de predecir la aparición de la banda de energías prohibidas, propia de los clústeres, en función del tamaño del clúster. En la ecuación 1 se puede observar la relación -predicha por este modelo- que hay entre la banda de energías prohibidas (E_g) y el tamaño del clúster (N) y que no contiene ningún parámetro ajustable, pues solamente depende de la energía del nivel de Fermi del metal correspondiente (E_F).

$$E_g = \frac{E_F}{N^{1/3}} \quad (1)$$

En la Figura 5 se puede ver la variación del *band gap* predicho por esta simple ecuación, en función del tamaño del clúster. A modo comparativo, se representa también la posición de los correspondientes *band gaps* de los semiconductores más típicos, pudiendo observarse que con tan solo dos metales (Ag y Cu), variando su tamaño, se puede cubrir todo el espectro de *band gaps* de los semiconductores tradicionales.

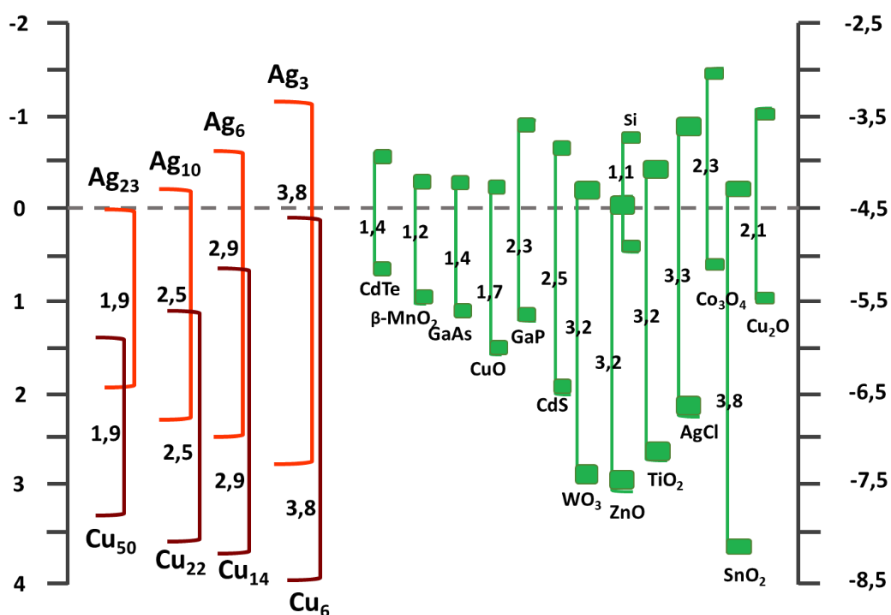


Figura 5. Comparación de la energía de bandas prohibidas (*band gap*) de clústeres de Cu y Ag con algunos semiconductores clásicos. Imagen adaptada de referencia 16 con permiso del autor.

Por este motivo, los clústeres de pequeño tamaño abren la ventana a la exploración de materiales totalmente nuevos, donde con tan solo modificar en una unidad el tamaño del clúster, se pueden modificar drásticamente sus propiedades. Gracias a estas nuevas propiedades podemos proponer una tabla periódica en 3D¹⁴ (Figura 6), donde se muestra como variarían las propiedades de los clústeres y nanopartículas respecto a las propiedades ya conocidas de los materiales masivos. Es de destacar que los clústeres se han convertido en una excelente alternativa para muchas aplicaciones, como por ejemplo la catálisis, no sólo por la versatilidad de su tamaño sino por su gran relación superficie-volumen²¹, donde todos o la mayoría de los átomos que los componen quedan expuestos a la superficie y, por lo tanto, pueden jugar un papel importante en catálisis heterogénea, que es un fenómeno exclusivamente superficial.

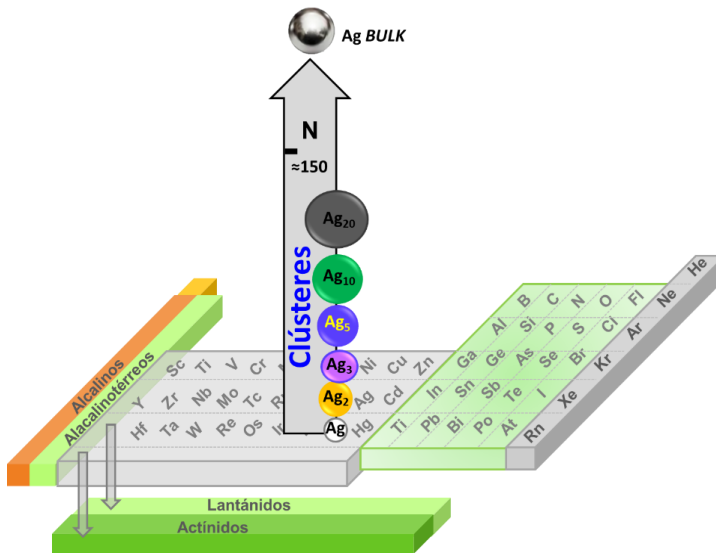


Figura 6. Tabla periódica en tres dimensiones donde se representa la influencia del tamaño en las propiedades fisicoquímicas de los elementos. Imagen tomada y adaptada con permiso del

2.1. ESTRUCTURA ELECTRÓNICA DE LOS AQCS

Aunque la estructura electrónica de los clústeres se puede calcular tanto mediante métodos cuánticos *ab initio* como por métodos teóricos aproximados, como la teoría del Funcional Densidad (DFT) -o aproximaciones más sencillas dentro de ella, como la de la densidad local (LDA)-*, en general los cálculos son complejos y solamente se utilizan para casos muy concretos. Es cierto que, en los últimos años, han aparecido herramientas de trabajo que simplifican enormemente los cálculos -como por ejemplo el “aprendizaje automático” o “*machine learning* (ML)”, que le permite al *software* -mediante procedimientos derivados de la inteligencia artificial- aprender a través de la adaptación de los algoritmos utilizados a la entrada de nuevos datos. Pero, también en estos casos de ML, se precisa disponer de cálculos precisos mediante DFT o *ab initio*. En el caso que nos ocupa, se precisa disponer de cálculos teóricos precisos para clústeres de un metal con diversos números de átomos que, introducidos en el algoritmo de ML nos podrían dar de forma rápida las proyecciones para clústeres con números de átomos diferentes.

Por este motivo, para explicar de una forma sencilla la estructura electrónica de los clústeres, se desarrolló el modelo del *Jellium*. Este modelo es un modelo mecanocuántico sencillo, que

* La solución de la ecuación de Schrödinger obtenida mediante cálculos *ab initio* está basada en una función multieletrónica, mientras que la solución de la ecuación mediante la aproximación DFT está basada en el funcional (es decir, una función de una función) de la densidad electrónica, disminuyéndose así, en gran medida, la complejidad del cálculo.

ofrece una solución analítica y que fue desarrollado en 1984 para clústeres de metales alcalinos (Na, Li, y K) en fase gas²⁵. Más tarde se comprobó su consistencia para clústeres de Cu, Ag y varias aleaciones de estos metales²⁶. El modelo del *Jellium* supone que el clúster es una esfera positivamente cargada rodeada de una nube electrónica donde tanto la esfera positiva -formada por el núcleo y los electrones del núcleo- como la nube electrónica -formada por los electrones de valencia- están distribuidas uniformemente en el espacio. Los electrones de valencia se mueven en un potencial de campo medio que sustituye el potencial externo por un potencial atenuado que confina a los electrones en un volumen finito.

En el modelo del *Jellium* se supone que el sistema posee una simetría esférica en tres dimensiones, cuyos pozos de potencial se puedan ajustar a un pozo de potencial armónico, intermedio o de pozo cuadrado²⁷ (ver Figura 7). La forma de dicho pozo de potencial varía en función de la naturaleza del clúster. Mediante la solución analítica de este modelo se puede obtener un potencial efectivo total que permite la obtención de un sistema muy similar al utilizado en los átomos, con la consiguiente ocupación electrónica de niveles energéticos en una estructura de capas, siguiendo el principio de Aufbau (1S₂ | 1P₆ | 1D₁₀ | 2S₂ 1F₁₄ | 2P₆ 1G₁₈ | ...).²⁷

Esta solución es consistente con la estabilidad de los clústeres encontrados al analizar la vaporización de metales alcalinos y metales nobles en vacío mediante cromatografía de gases. En efecto, se observó la presencia de clústeres de determinados tamaños mucho más estables que el resto de los clústeres (números mágicos^{26,28}). De acuerdo con el modelo del *Jellium*,

esto se debe a que la energía total del clúster en función del tamaño presenta ciertas discontinuidades, con la presencia de mínimos de energía que se corresponden con estructuras electrónicas de capas cerradas. Las estructuras de capas cerradas, que se pueden predecir a partir de los niveles de energía representados en la Figura 7, para elementos monovalentes son: 8, 18, 20, 34, 40, 58, 92, 138, ..., que se corresponden con los clústeres más estables y de mayor abundancia encontrados en los experimentos.

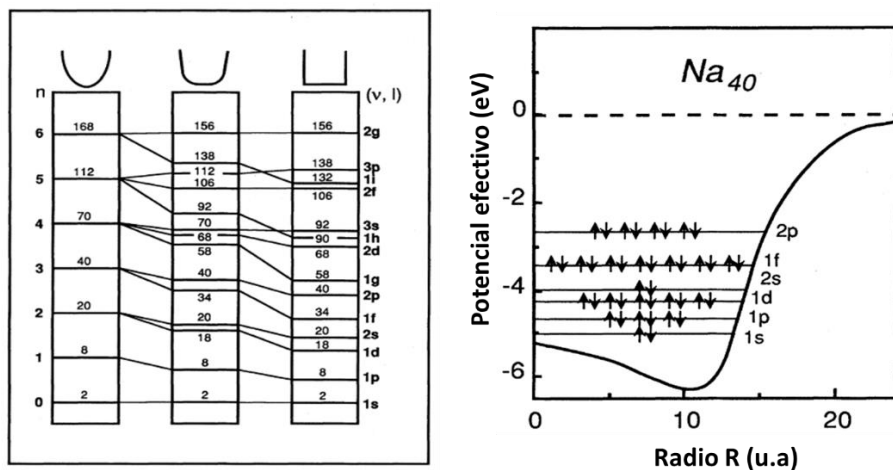


Figura 7. (izda) Ocupación de los niveles energéticos para estructuras con geometría esférica 3D según la forma del pozo de potencial: armónico, intermedio y de pozo cuadrado. (dcha) Potencial efectivo de una esfera del Jellium de Na_{40} y ocupación electrónica de los niveles de energía. Imagen adaptada de referencia 16 bajo licencia Copyright con el permisos de uso anexados en la presente tesis.

2.2. ESTRUCTURA GEOMÉTRICA DE LOS AQCS

El modelo del *Jellium* y cálculos DFT nos permiten también predecir la estructura geométrica óptima de los materiales minimizando la energía electrónica respecto a la densidad electrónica. Las estructuras cristalinas serán tanto más estables cuanto menor sea su energía. Una de las primeras estructuras cristalinas calculada mediante cálculos DFT y técnicas experimentales fue la de $[\text{Au}_{13}(\text{SR})_{18}]^-$.

Al igual que ocurre con la estructura electrónica de los clústeres sin ligandos protectores, también la estructura geométrica de los clústeres sin ligandos depende del tamaño y del tipo de metal. Se ha observado que, generalmente, la geometría más estable para clústeres en 2D es la triangular-plana, mientras que para clústeres en 3D es la icosaédrica. Sin embargo, la estructura cristalina de los metales masivos y de las nanopartículas metálicas de metales como son el oro, la plata o el cobre, es un empaquetamiento cúbico centrado en las caras (FCC).

Para clústeres pequeños, menores de 6 átomos, la geometría plana es la más estable (en el vacío). En el caso de los clústeres de Ag_5 , la diferencia de energías entre sus dos estructuras más estables, la trapezoidal plana y la bipirámide trigonal, varía entre 0.49 y 0.15 eV, siendo la primera la más estable. En la Figura 8 se pueden ver las estructuras más estables de los clústeres de Ag de 3 a 20 átomos en función de su tamaño.^{29,30}

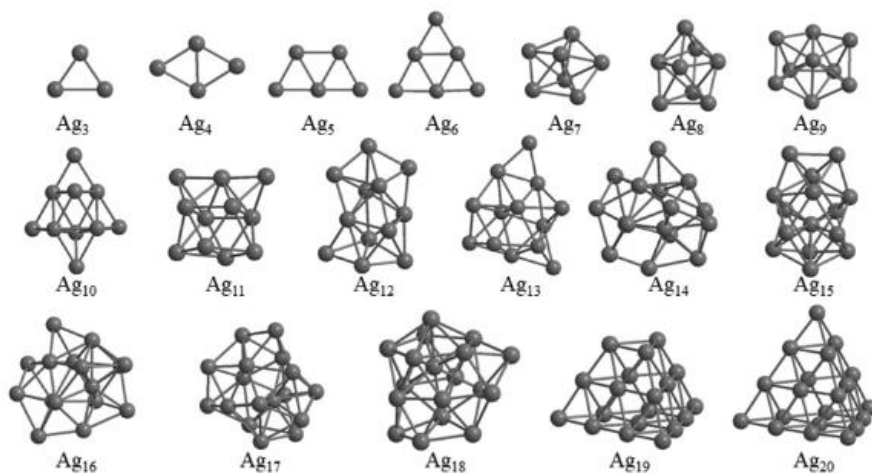


Figura 8. Estructuras geométricas más estables de los clústeres cuánticos atómicos de plata de 3 a 20 átomos. Figura adaptada de la referencia 29 bajo licencia Copyright con el permisos de uso anexados en la presente tesis.

3. PROPIEDADES DE LOS AQCs

3.1. PROPIEDADES ÓPTICAS

Como se ha mencionado, los clústeres -debido al confinamiento cuántico que sufren a causa de su pequeño tamaño- presentan propiedades distintas de su análogo masivo o de las nanopartículas del mismo metal. Un ejemplo de esto son sus propiedades ópticas.

Los metales masivos poseen su característico brillo metálico que se pierde a medida que el tamaño de partícula disminuye. Cuando llegamos a la región nanométrica (≈ 100 nm), se observa la aparición de colores intensos que varían en función del tamaño

de las nanopartículas y del metal que las forma. El color que presentan las nanopartículas metálicas se debe a los plasmones superficiales localizados (LSP).

Los plasmones superficiales localizados son un tipo de banda plasmónica superficial (SPR) que tiene lugar en la superficie de volúmenes pequeños, como es el caso de las nanopartículas metálicas. Cuando una nanopartícula es irradiada con una radiación cuya longitud de onda es similar al tamaño de la nanopartícula (por ejemplo, con luz visible incidiendo en una partícula de ≈ 100 nm), los electrones de la banda de conducción de la nanopartícula interaccionan con la onda electromagnética de la radiación incidente y esto provoca que los electrones de la nanopartícula oscilen y resuenen a longitudes de onda determinadas, dando lugar a una absorción de luz y la correspondiente aparición de los colores característicos en partículas de Cu, Ag y Au³¹ (en otros metales sucede lo mismo pero las longitudes de absorción están en el UV, por lo que no presentan color).

Los electrones de los clústeres, debido a que su energía está cuantizada, se encuentran confinados en niveles de energía dentro de la banda de valencia y precisan de una energía mayor que la energía térmica para alcanzar la banda de conducción. Al no haber electrones en la banda de conducción (BC), el plasmón superficial típico de las nanopartículas metálicas desaparece en los clústeres.

Tal como se muestra en la Figura 9, las propiedades ópticas de los clústeres varían en función de su tamaño. Tanto para clústeres grandes como para clústeres pequeños se observa la

pérdida de la banda plasmónica superficial propia de nanopartículas metálicas, que en el caso de la plata se presenta a 400 nm. La absorción vis-UV de un clúster grande es similar a la absorción de un semiconductor, en la que se muestra un decaimiento constante de la absorción a medida que aumenta la longitud de onda, con la presencia de pequeños hombros. Sin embargo, los clústeres pequeños presentan una absorción similar a la de moléculas mostrando bandas de absorción bastante bien definidas.¹⁶

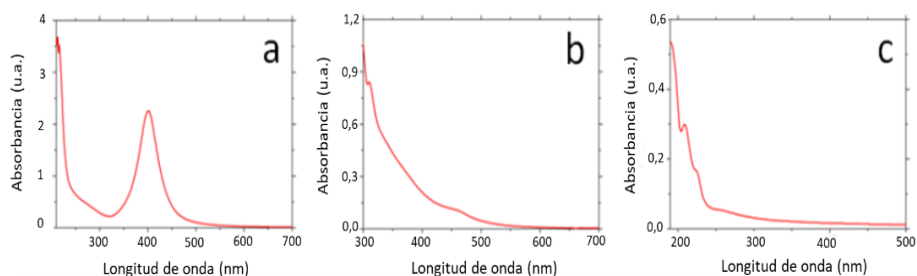


Figura 9. Espectros de absorción vis-UV de (a) Nanopartículas de Ag con su banda plasmónica característica a 400 nm (b) Clústeres grandes de plata protegidos con un surfactante, donde se observa la disminución de la absorción a medida que aumenta la longitud de onda (c) clústeres de plata de baja atomicidad en ausencia de ligandos fuertes que los protejan, donde se aprecian bandas de absorción bien definidas. Imagen adaptada de la referencia 16 bajo licencia Copyright con el permisos de uso anexados en la presente tesis.

Además, debido a la aparición del *band gap* (HOMO-LUMO *gap*), tanto clústeres pequeños como grandes presentan propiedades fluorescentes. Por este motivo, pueden caracterizarse no sólo mediante espectroscopía vis-UV sino también mediante espectroscopía de fluorescencia.

El espectro de emisión del clúster varía en función de su tamaño, tal como podemos observar en la Figura 10²⁰. A medida

que aumenta el tamaño del clúster, aumenta la longitud de onda de onda de emisión de fluorescencia observada y, por tanto, disminuye su energía.

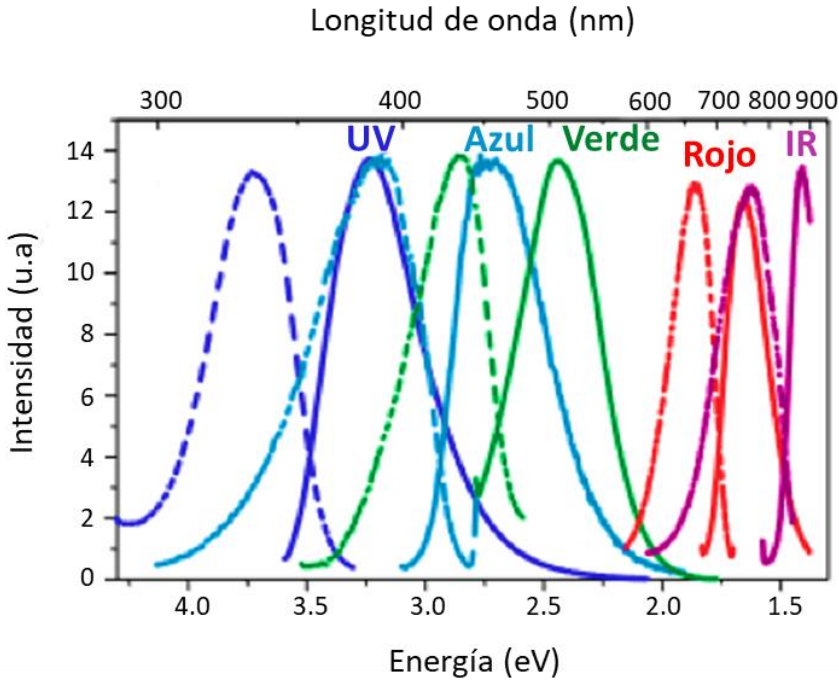


Figura 10. Espectro de excitación (líneas punteadas) y de emisión (líneas sólidas) de fluorescencia de clústeres de Au protegidos con PANAM (poli(amidoamina)). El espectro de emisión azul oscuro se corresponde con un clúster de Au_5 , el azul claro con uno de Au_8 , el verde con uno de Au_{13} , el rojo con uno de Au_{23} y, por último, el morado con uno de Au_{31} . Imagen adaptada de la referencia 20 bajo licencia Copyright con el permisos de uso anexados en la presente tesis.

En disolución acuosa la energía de emisión de fluorescencia se puede relacionar con el número de átomos del clúster a través de la ecuación (1) que predecía el modelo esférico del *Jellium*. De

esta forma, en la Figura 10 se pueden apreciar los espectros de emisión de fluorescencia de clústeres de Au de 5, 8, 13, 23 y 31 átomos cuyas energías de emisión de fluorescencia son 3.76 eV, 3.22 eV, 2.86 eV, 1.85 eV y 1.62 eV respectivamente²⁰. Por tanto, los clústeres de 5 átomos de oro emitirán fluorescencia en la región ultravioleta del espectro electromagnético, los clústeres de oro de 8, 13 y 23 lo harán en la región visible mientras que, los clústeres más grandes, los de 31 átomos, emitirán en la región infrarroja.

Las propiedades ópticas de los clústeres les convierten en unos excelentes fluoróforos para ser aplicados en diversos campos (biomarcadores, sensores, etc.). En concreto, los AQCs de oro se utilizan mucho en aplicaciones biológicas como biosensores y biomarcadores debido a su fluorescencia y a su elevada biocompatibilidad³². Las aplicaciones de estos clústeres varían desde su utilización como biomarcadores para bioimagen *in vitro* e *in vivo*^{33,34} hasta biosensores para la detección del Alzheimer³⁵.

3.2. PROPIEDADES CATALÍTICAS

Tal como hemos comentado, los clústeres poseen un gran potencial dentro del área de la catálisis. Para los propósitos de la presente tesis doctoral comentaremos algunas de las propiedades de los clústeres de Ag de baja atomicidad y cómo el tamaño influye de forma notable en esas propiedades. Así, se ha visto que los clústeres de Ag₂ no poseen actividad catalítica y son relativamente inertes³⁶. Los clústeres de Ag₃ comienzan a tener cierta actividad, aunque sus efectos más notables son su interacción con los anillos aromáticos³⁷ dentro de lo cual se

destacan sus interacciones con el ADN^{19,36} (véase más adelante). El clúster de Ag₅ posee una gran actividad catalítica y, por esa razón, será uno de los objetivos de estudio prioritarios dentro de los trabajos aquí realizados. Se ha visto que este clúster posee dos conformaciones muy estables (plana y bipirámide trigonal), que puede intercambiar y adoptar cualquiera de ellas en función de la catálisis a realizar, lo que le confiere una gran versatilidad, que no posee el clúster más pequeño de Ag₃, ya que sólo puede tener una conformación estable plana.

Los clústeres de pequeña atomicidad y, más particularmente, de \approx 3-6 átomos, tienden a quedarse en las interfases y adsorberse, tal como veremos a continuación para algunos ejemplos concretos, en planos preferenciales de las nanosemillas (núcleos de crecimiento), catalizando el crecimiento de los planos en los que están adsorbidos y originando así un mecanismo de rotura de la simetría de las nanopartículas y formando diferentes nanoestructuras dependiendo del número de caras en las que se adsorban.

En la Figura 11³⁸, vemos el ejemplo de la formación de nanocilindros de oro, originados por la presencia del clúster (en este caso Ag₃) en una sola cara de la semilla. Una vez formados esos cilindros con los clústeres adsorbidos, se pueden observar interesantes procesos fotocatalíticos al ser irradiados con luz UV. En efecto, tal como se muestra en dicha figura, las actividades fotocatalíticas de los clústeres pueden dar lugar a: (1) la fotodisolución de los nanocilindros y/o fotooxidación de materia orgánica; (2) la reacción de fotoproducción de hidrógeno. Esto último ocurre cuando se desoxigenan las muestras ya que, al eliminar el oxígeno del medio, que es un aceptor de electrones, e

irradiar la disolución en presencia de un dador de electrones o *hole scavenger*, los electrones se acumulan en el nanocilindro de oro y el nivel de Fermi aumenta hasta alcanzar el potencial de reducción de hidrógeno, haciendo posible su fotoreducción. En el caso en el que no se elimine el oxígeno del medio, en presencia de un dador de electrones (sustancia susceptible de oxidarse, por ej. un alcohol), los fotohuecos generados, por su alto potencial redox, producirán su fotooxidación (fotodescomposición de materia orgánica). Pero si en el sistema no existe materia orgánica, los fotohuecos generados son capaces de oxidar incluso a los átomos de oro, provocando la fotodisolución de los mismos.

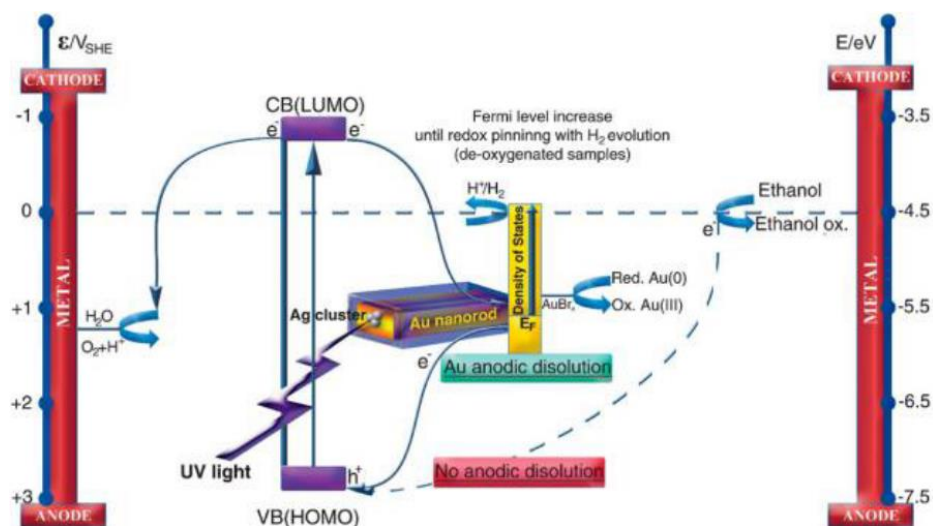


Figura 11. Diagrama esquemático donde se muestran la fotodisolución de los nanocilindros de oro y la fotoproducción de hidrógeno catalizada por los AQC's de Ag de tres átomos. Imagen adaptada de referencia 38 bajo licencia Copyright con el permisos de uso anexados en la presente tesis.

Por otro lado, se ha visto que los clústeres de Ag de cinco átomos son capaces de realizar diversas catálisis homogéneas y

heterogéneas. Así, se ha visto que pueden actuar como catalizadores homogéneos en la reducción del radical DPPH y como catalizadores heterogéneos en reacciones de hidrogenación de CO₂, entre otras, tal como se describe en la tesis doctoral de la Dra. Iria Rodríguez¹⁹. Existen otros muchos ejemplos de la catálisis por clústeres de diferentes metales, tales como Au, Pt, Cu y Ag, entre otros^{18,39}, en reacciones en las que el material masivo -o en forma de nanopartículas- apenas posee actividad catalítica alguna. Todo ello lleva a concluir que la actividad catalítica de los clústeres es muy diferente de la de las nanopartículas del mismo metal o el metal masivo.

3.3. PROPIEDADES BIOMÉDICAS

Al igual que ocurre con las propiedades que acabamos de ver en los apartados anteriores, los clústeres presentan también propiedades biomédicas diferentes en función de su tamaño.

Así, se ha observado que los clústeres de Ag de tres átomos poseen excelentes propiedades antibacterianas. Se ha demostrado su actividad antibacteriana tanto en bacterias *gram* positivas como *gram* negativas.⁴⁰ El descubrimiento de nuevos bactericidas es de gran importancia en el ámbito de la medicina, ya que el uso desmesurado de antibióticos provoca que nuestro cuerpo se vuelva resistente a los mismos y, por consiguiente, una pérdida de su eficacia.

Por su parte, los clústeres de Ag₃ son capaces, debido a su interacción específica, de intercalarse en la cadena del ADN, modificando su estructura e impidiendo notablemente su compactación. Este resultado se ha aprovechado para explorar

su empleo en el aumento de la eficacia terapéutica de los antitumorales basados en el ADN. En efecto, como el tiempo de residencia de los clústeres en el interior de las hebras de ADN supera a los intercaladores utilizados actualmente en dos o tres órdenes de magnitud, aumentan muy notablemente la ventana de tiempo que tienen las sustancias anticancerígenas para introducirse en el ADN y, por ello, su eficiencia, de forma que se podría reducir la cantidad de agentes antitumorales empleados sin pérdida de eficiencia, pero con una disminución muy importante en sus efectos secundarios.³⁶

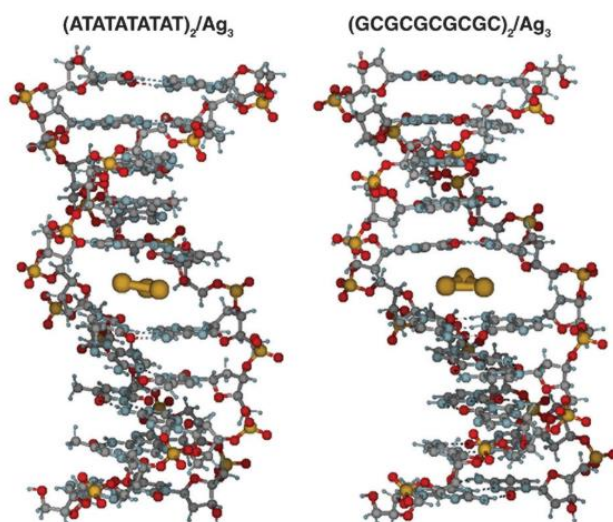


Figura 12. Estructuras de mínima energía de complejos $d(ATATATA-TAT)_2/Ag_3$ y $d(GCGCGCGCGC)_2/Ag_3$ obtenidas mediante cálculos QM/MM, mostrando la intercalación del clúster de Ag_3 entre los pares de bases 5^o y 6^o. Imagen adaptada de la referencia 36 bajo licencia Copyright con el permisos de uso anexados en la presente tesis.

Por su parte, los clústeres de Ag_5 , son capaces de oxidar los tioles de proteínas con mayor intensidad en células tumorales.

La oxidación de los azufres de cisteína y glutatión provoca la apoptosis celular de las células tumorales. Además, debido a su pequeño tamaño son capaces incluso de atravesar la barrera hematoencefálica, por lo que, podrían actuar contra tumores cerebrales. Esto convierte a los AQC's en excelentes candidatos como agentes antitumorales. Debemos resaltar que este hecho ha sido explorado también en la presente tesis doctoral, presentándose estudios de la aplicación de clústeres, obtenidos por un nuevo procedimiento fotoquímico, como agentes antitumorales^{41,42}. Veremos cómo su actividad y eficacia varía en función de la pureza de las muestras, lo que constituye un aspecto de gran importancia al que no se le había dado anteriormente la atención que merece.

4. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE AQC'S

La síntesis de clústeres se centra en desarrollar métodos que nos permitan obtener clústeres de determinado tamaño para su uso en una aplicación concreta. Es todo un reto obtener clústeres monodispersos cuyo tamaño difiera en un número pequeño de átomos. Tal como hemos visto, el tamaño, la forma y el origen del metal influyen en las características y propiedades de los AQC's. Es por este motivo que, el disponer de métodos de síntesis de clústeres monodispersos de forma sencilla y robusta es de suma importancia para los estudios posteriores de sus propiedades y aplicaciones.

Los primeros clústeres sintetizados, como comentamos al describir el modelo esférico del *Jellium*, fueron los clústeres en fase gas. La síntesis consistía en calentar a vacío una lámina

metálica a elevadas temperaturas, de forma que se produjera la evaporación de los átomos metálicos. Los átomos metálicos evaporados tenían un número de átomos determinado (números mágicos) y fueron analizados por espectrometría de masas. El problema principal de este método es la baja concentración de clústeres obtenida, sin mencionar la complejidad de la síntesis. Por este motivo, se hizo necesario investigar otros tipos de síntesis más sencillas y eficientes, que permitieran además controlar de forma adecuada el tamaño de los clústeres.

De forma general, las síntesis de clústeres metálicos, al igual que ocurre con la síntesis de nanopartículas, se pueden dividir en dos grandes grupos: síntesis *bottom-up* y síntesis *top-down*. Los nombres de estas síntesis se basan en el proceso de obtención: las síntesis *bottom-up* describen aquellos procesos que ocurren de “abajo” a “arriba”, es decir, partiendo de átomos (o iones) se obtengan clústeres; mientras que las síntesis *top-down* engloban aquellos procesos en los que, a partir de una micro o nanopartícula o incluso del metal masivo, “arriba”, se obtienen los clústeres, de tamaño mucho más pequeño “abajo”. En esta sección se expondrán de forma resumida algunos de estos métodos.

4.1. SÍNTESIS TOP-DOWN

Este tipo síntesis, tal como hemos comentado, se basa en partir de una nanopartícula o del metal masivo para obtener clústeres. Uno de los métodos más utilizado para obtener clústeres en disolución es el *etching*, que describiremos a continuación. También existen métodos como la ablación láser que se utiliza generalmente para la obtención de clústeres

bimetálicos⁴³, que resultan muy interesantes por sus propiedades catalíticas.

4.1.1. *ETCHING* DE NANOPARTÍCULAS

Esta síntesis es un método *top-down* que consiste en el *etching* o troceado de nanopartículas metálicas en presencia de ligandos que sean capaces de eliminar, gracias a su capacidad corrosiva, los átomos superficiales de las nanopartículas metálicas formando clústeres estables. La estabilidad de los clústeres vendrá determinada por la capacidad del ligando de proteger completamente los átomos superficiales de la nanopartícula. Este es el caso del clúster de oro protegido con glutatión-tiolato, $\text{Au}_{25}(\text{SG})_{18}$.²²

Una variación de este método es el *etching* de nanopartículas de Au protegidas con ácido mercaptosuccínico⁴⁴. El *etching*, realizado con el ligando glutatión, forma clústeres de distinto tamaño en función del pH de la disolución. Cuando el pH es ácido, pH 3, el clúster formado posee 25 átomos de Au, mientras que si la reacción ocurre a pH neutro-alcalino (7-8) el clúster más estable es el de oro de 8 átomos. Este es un claro ejemplo de cómo modificando los parámetros de la síntesis se puede variar drásticamente las características del clúster obtenido.

Aunque el mecanismo de *etching* no está muy claro, se han propuesto dos rutas sintéticas a través de las cuales podrían formarse los clústeres (ver Figura 13)⁴⁴. La primera se basa en la eliminación de átomos de oro de la superficie de las nanopartículas por la acción del glutatión, formándose un complejo Au(I)-glutatión que, debido a las interacciones aurofílicas propias de complejos de oro, forme el clúster de oro.

La segunda ruta se basa en el *etching* de los átomos de la superficie por el glutatión, que irá reduciendo el tamaño de la nanopartícula hasta llegar al clúster de oro.

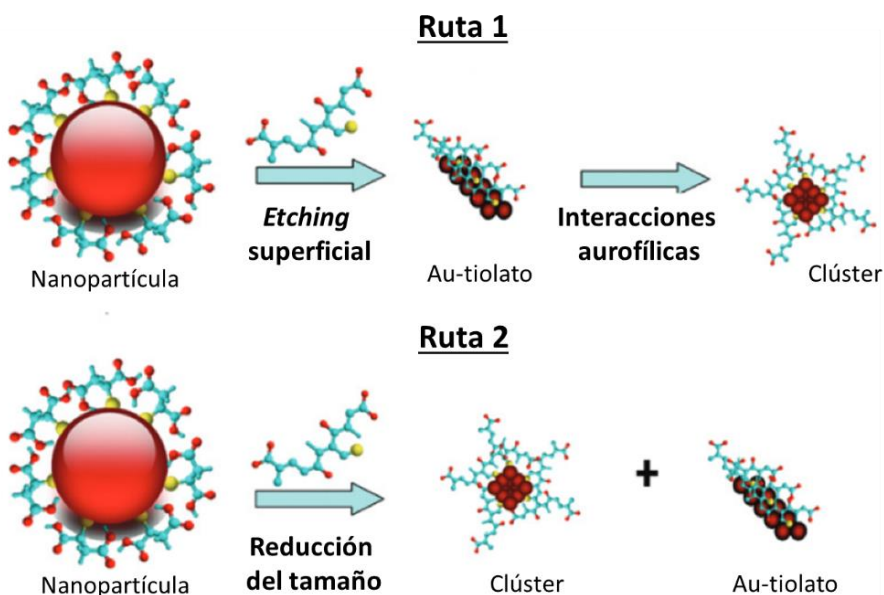


Figura 13. Mecanismos propuestos para el etching de nanopartículas de Au protegidas con ácido mercaptosuccínico. Imagen adaptada de la referencia 44 bajo licencia Copyright con el permisos de uso anexados en la presente tesis.

4.2. SÍNTESIS *BOTTOM-UP*

Las síntesis basadas en métodos *bottom-up* consisten en la formación de clústeres a partir de átomos o iones. Una de las síntesis más extendidas es la reducción química en presencia de un agente protector, de igual modo que ocurre en la síntesis de nanopartículas metálicas. A continuación, se expondrán algunos de los métodos más utilizados.

4.2.1. EFECTO PLANTILLA

El nombre, traducido del término inglés *Template Synthesis*, hace referencia al uso de *scaffolds* que sirvan como guía en el crecimiento del clúster evitando que al reducirse crezcan y se agreguen para reducir su energía superficial formando nanopartículas de gran tamaño⁴⁵. Los *scaffolds* o plantillas utilizadas varían en función del tamaño de clúster que se quiera sintetizar y de las propiedades ópticas, catalíticas o magnéticas que se deseen, ya que el origen del *scaffold* y su interacción con el clúster van a determinar sus propiedades fisicoquímicas. Algunos de los *scaffolds* más utilizados son: ADN^{46,47}, péptidos⁴⁸, proteínas^{49,50}, dendrímeros⁵¹ y polímeros⁵².

4.2.2. SÍNTESIS EN MICROEMULSIÓN

Este método se basa en la formación de gotas de un tamaño nanométrico en un disolvente no miscible, generalmente, gotas de agua en aceite o viceversa. Las nanogotas se forman de manera espontánea y se estabilizan mediante surfactantes o copolímeros de bloque.¹⁴ El parámetro que determina el tamaño del clúster es el tamaño de la gota formada y éste depende estrechamente de la cantidad de sal metálica de partida¹⁷. En el marco de nuestro grupo de investigación se han sintetizado, mediante este método, clústeres de Ag⁵³ y de Cu⁵⁴ de baja atomicidad que presentan excelentes propiedades ópticas.

4.2.3. REDUCCIÓN QUÍMICA O BRUST-SCHIFFRIN

Brust y Schiffrin describieron este procedimiento para la síntesis de nanopartículas de oro de pequeño tamaño (1-3 nm) protegidas con grupos tiolados^{55,56}. La reacción se puede llevar a cabo mediante dos variantes: síntesis en una fase o síntesis en dos fases.

El método B-S en una fase consiste en la reducción de una sal de oro, el ácido tetracloroaurico, con borohidruro de sodio. La sal áurea y el p-mercaptofenol se disuelven en metanol y se añade ácido acético para evitar que se desprotone el mercaptofenol. Después se añade la solución acuosa de borohidruro sódico para la reducción del oro. Las nanopartículas obtenidas no son solubles en agua porque el ligando que protege a la nanopartícula es apolar, siendo el grupo fenólico el que se une a la superficie de la nanopartícula.

El método en dos fases, reportado un año de antes y basado en la síntesis de oro coloidal de Faraday³, consiste en utilizar un sistema de dos fases, agua-tolueno para reducir el ácido tetracloroaurico en presencia de borohidruro sódico. De nuevo, el ligando que protege a la nanopartícula es un ligando tiolado. Para llevar a cabo la reacción se disuelve ácido tetracloroaurico en agua y se mezcla con una disolución de bromuro de tetraoctilamonio en tolueno, de forma que, el catalizador de transferencia de fase (bromuro de tetraoctilamonio) provoque que la sal de oro pase a la fase orgánica. Después se añade la solución acuosa de borohidruro sódico y se observa la formación de nanopartículas de oro tioladas de 1-3 nm.

Este método es uno de los más utilizados en la síntesis de clústeres ya que permite un buen control del tamaño del clúster tan sólo optimizando variables de la síntesis tales como el pH, la relación metal-ligando, la estructura del ligando protector, el origen del reductor, etc. Es de destacar que, recientemente, se ha reportado una síntesis modificada del método B-S mediante la que se obtienen clústeres de Au de 18, 23, 25 y 31 átomos, cuyo tamaño varía al cambiar la cantidad de agente de transferencia de fase utilizado⁵⁷.

4.2.4. SÍNTESIS ELECTROQUÍMICA

Esta síntesis es una modificación del método electroquímico diseñado por Reetz y Helbig para la síntesis de nanopartículas metálicas⁵⁸. El método original consiste en la disolución oxidativa de un ánodo metálico, seguida de la migración de los cationes metálicos al cátodo donde se produce la reducción. Una vez formados los átomos metálicos, estos crecen siguiendo la teoría clásica de nucleación y crecimiento hasta formar nanopartículas que se estabilizan gracias al bromuro de tetraoctilamonio, que provoca su precipitación en el medio de reacción⁵⁹.

En el grupo de investigación en el que se enmarca la presente tesis doctoral, el Dr. José M. Blanco Trillo y la Dra. Shahana Huseyinova, optimizaron el método electroquímico para la obtención de clústeres de Ag⁶⁰ y de Cu⁶¹ de baja atomicidad, respectivamente. El método se basa, tal como podemos ver en la Figura 14, en la oxidación de un ánodo metálico y la consiguiente migración de iones al cátodo donde se reducen y se agregan dando lugar a la formación de clústeres. La síntesis tiene lugar

bajo una atmósfera y temperatura controladas. En el caso de la plata, tanto el ánodo como el cátodo son de ese mismo metal, pero en el caso del Cu, el ánodo es de cobre y el cátodo de platino. Los parámetros implicados en la velocidad de oxidación del metal y de reducción de los iones metálicos son los factores esenciales que determinan el tamaño final de los clústeres formados.

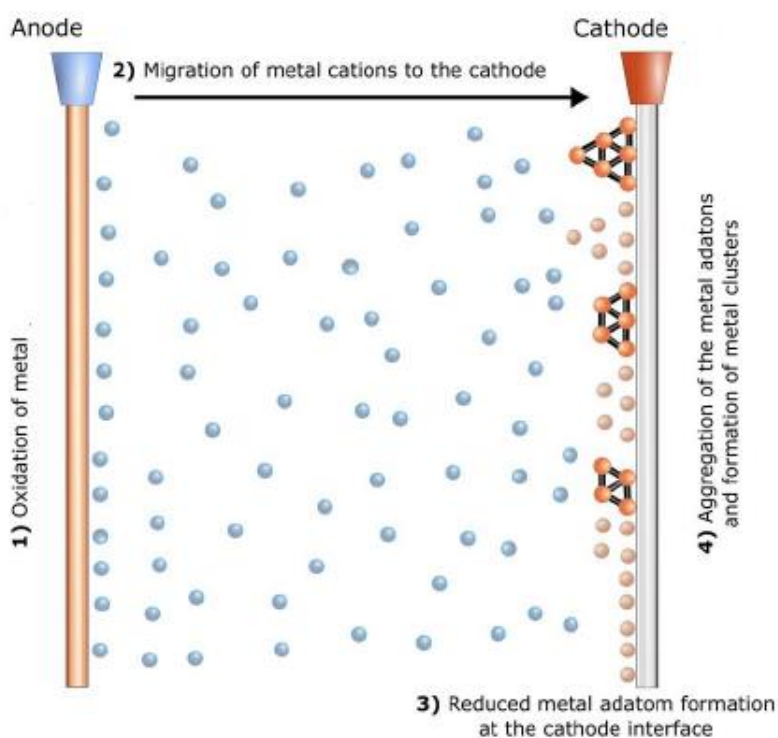


Figura 14. Esquema de la síntesis electroquímica de AQC.

A diferencia del método de Reetz y Helbig, los clústeres sintetizados en los procedimientos descritos no poseen surfactantes, es decir, carecen de sustancias protectoras, por lo

que el control de tamaño se basa en un estricto control cinético mediante el que se pueden llegar a obtener clústeres de pequeño tamaño con gran monodispersidad.

4.2.5. FOTOREDUCCIÓN DE SALES

Otro de los métodos utilizados para la síntesis de nanopartículas metálicas que se ha aplicado a la obtención de clústeres metálicos es la reducción de una sal metálica con luz UV en presencia de un surfactante. Este método es la base de la presente tesis doctoral.

Dickson y colaboradores fueron los primeros en sintetizar clústeres de Ag con unas excelentes propiedades lumínicas al irradiar una película de óxido de plata. Después se sintetizaron también por un procedimiento parecido clústeres de plata embebidos en microgeles⁶². Este método de síntesis también se ha utilizado para obtener clústeres de otros metales, como, por ejemplo, platino^{63,64}.

La diferencia principal entre el método de fotoreducción utilizado para la obtención de clústeres y el presentado en esta tesis doctoral es la presencia o ausencia de surfactantes. Todos los métodos vistos hasta ahora -excepto los mencionados métodos electroquímicos de nuestro grupo de investigación- se basan en la síntesis de clústeres en presencia de surfactantes o agentes protectores, ya que el control de tamaño es termodinámico y este control es más sencillo que el control cinético. Sin embargo, para muchas de las aplicaciones (por ejemplo, las mencionadas en la sección 3 de este capítulo) se precisa el uso de clústeres sin ligandos protectores que inhiben,

en parte o totalmente, sus propiedades. Este aspecto se desarrollará en el capítulo 3 de la presenta tesis doctoral.

CAPÍTULO II. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

1. ESPECTROSCOPIA VISIBLE - ULTRAVIOLETA

La espectroscopía vis-UV se basa en la interacción de la luz con la materia y permite identificar, caracterizar y cuantificar un amplio elenco de átomos y moléculas. Los átomos solo poseen una contribución energética, la electrónica, mientras que las moléculas poseen además energía rotacional y vibracional (aparte de la energía de traslación que existe cuando el sistema no es sólido). Esto es la razón por la que los espectros de absorción atómica y molecular son diferentes.

Cuando un material se irradia con una determinada longitud de onda, pueden ocurrir varios fenómenos, entre ellos la absorción y la dispersión de la luz. La absorción de luz ocurre cuando la energía de la radiación incidente es igual a la diferencia energética que existe entre el estado fundamental y el estado excitado de un átomo o molécula, provocando una transición electrónica desde el nivel fundamental al excitado. Por otro lado, la dispersión de la luz se produce cuando la radiación incidente interacciona con partículas cuyo tamaño es del orden o mayor que la longitud de onda incidente. En este caso, la dispersión de luz se superpone a la absorción.

Como acabamos de indicar, cuando la radiación electromagnética interacciona con un material dando lugar a la absorción de luz, se produce un tránsito electrónico. En el caso de los átomos, las transiciones electrónicas permitidas tienen

lugar entre ciertos niveles energéticos de los electrones en los diferentes orbitales atómicos. Estas transiciones dan lugar a un espectro de absorción que presenta unas líneas discretas a determinadas longitudes de onda, que se corresponden con las transiciones energéticas permitidas. Al tener únicamente una contribución energética, la electrónica, solo poseen estados electrónicos y las combinaciones posibles de transiciones electrónicas permitidas son pocas. Las transiciones energéticas son únicas para cada elemento, por este motivo se dice que el espectro de absorción atómico de un elemento es su “huella digital”.

Sin embargo, en el caso de las moléculas (o también clústeres de átomos y nanopartículas) hay que tener en cuenta que los electrones no solo se excitan de un orbital molecular a otro, sino que las moléculas vibran y rotan; por lo tanto, existirán transiciones vibracionales y rotacionales que tienen lugar en las regiones infrarroja y microondas del espectro electromagnético, es decir, en zonas de menor energía que la radiación vis-UV que es la causante de las transiciones electrónicas. Los estados electrónicos, vibraciones y rotacionales se superponen dando lugar a muchas más transiciones energéticas permitidas y, por este motivo, en lugar de que su espectro de absorción esté formado por líneas discretas (como ocurre en la espectroscopía atómica), está formado por bandas anchas de energía que se corresponden con todas las transiciones energéticas, vibracionales y rotacionales permitidas.

La espectroscopía de absorción molecular UV-Vis es la técnica que se va a utilizar a lo largo de esta tesis doctoral para caracterizar a los clústeres. Un espectrofotómetro mide la

cantidad de fotones absorbidos o dispersados tras hacer pasar un haz de luz a través de una disolución. En el caso de un espectrofotómetro vis-UV la luz que se utiliza es la parte ultravioleta (185-380 nm) y la visible (380-750 nm) del espectro electromagnético. En ocasiones se amplía hasta el infrarrojo cercano (750-1100 nm).⁶⁵

La espectroscopía de absorción molecular mide la atenuación de la intensidad de la radiación incidente en función de las especies absorbentes de la muestra (ver Figura 15). Este fenómeno se basa en la Ley de Lambert-Beer (Ecuación (2)), que indica una relación lineal entre la concentración de una muestra y su absorbancia a una determinada longitud de onda.

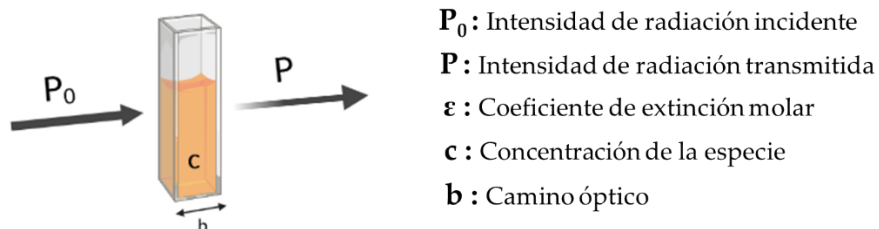


Figura 15. Esquema de la interacción de luz con la materia en un espectrómetro de absorción siguiendo la ley de Lambert-Beer. Imagen creada con BioRender.

La ley de Lambert-Beer se cumple únicamente para disoluciones diluidas, es decir, cuya absorbancia sea menor de 1 u.a.

$$Abs = -\log \frac{P}{P_0} = \epsilon bc \quad (2)$$

La espectroscopía de absorción molecular vis-UV es muy útil para determinar nanopartículas metálicas en disolución. Las nanopartículas metálicas poseen una banda plasmónica característica que es resultado de la resonancia colectiva de los electrones de valencia de las nanopartículas con la onda electromagnética de la radiación incidente. La banda plasmónica es dependiente del tamaño, de la forma y del origen del metal del que está formado la nanopartícula.

De esta forma, podremos estudiar la presencia y/o ausencia de nanopartículas metálicas en muestras de clústeres con el fin de determinar la pureza, estabilidad y reactividad de las muestras de AQC's sintetizados en el presente trabajo.

Además, los AQC's de baja atomicidad, tal como vimos en la introducción, poseen absorción tipo molecular debido al HOMO-LUMO *gap* que presentan. Al igual que ocurre con las nanopartículas metálicas, la longitud de onda de absorción de los AQC's es dependiente de su tamaño y del origen del metal^{66,67}.

A lo largo de la presente tesis, todos los espectros de absorción se realizaron en cubetas de cuarzo *Hellma* 111-QS con un paso óptico de 1 cm. Los espectros se realizaron en un espectrofotómetro Thermo Evolution 300.

2. ELECTRODO SELECTIVO DE IONES DE PLATA

Un electrodo selectivo de iones (ISE) es un sensor específico que mide la actividad de los iones en disolución y la convierte en potencial eléctrico. El electrodo se conecta a un voltímetro o a

pH-metro y, a través de la ecuación de Nernst, se relaciona el potencial con la actividad del ión libre en disolución:

$$E = E_0 + S \text{Log}(A) \quad (3)$$

donde E es el potencial eléctrico medido, E_0 es el potencial de referencia, S es la pendiente de la ecuación (RT/nF , R=cte de los gases, T=temperatura en K, n=número de electrones intercambiados y F=cte de Faraday), que en el caso de la plata su valor es de 59,1 mV a temperatura ambiente (n=1) y, por último, A es la actividad del ión en disolución.

En concreto, en esta tesis doctoral se utilizaron electrodos selectivos de iones de $\text{Ag}^+/\text{S}^{2-}$ de estado sólido. Estos electrodos son una variedad de ISE que se diferencia del resto por el origen sólido de la membrana selectiva de iones que poseen. Un electrodo de estado sólido combinado es una celda potenciométrica en sí misma (ver Figura 16), ya que posee el electrodo de referencia Ag/AgCl y el electrolito en el interior de un cuerpo de polieterimida y en la parte inferior del cuerpo plástico se encuentra el sensor a través del cual se produce el intercambio iónico.

Los electrodos selectivos de iones están generalmente diseñados para la detección de iones en aguas. La matriz de la disolución y la fuerza iónica de la misma afectan enormemente a la movilidad de los iones en disolución y, por tanto, a su actividad.

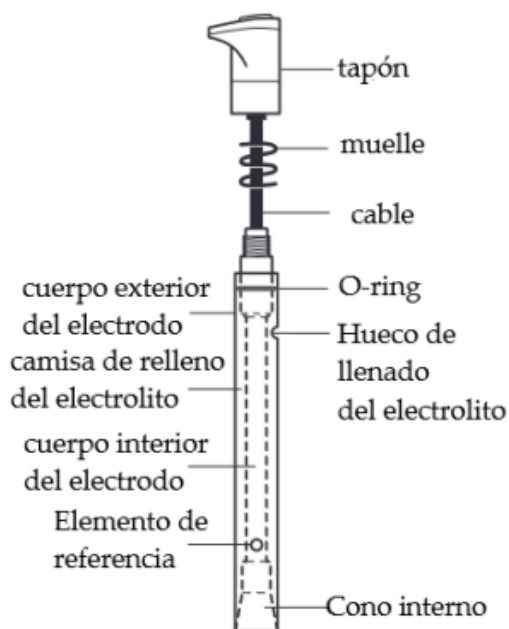


Figura 16. Esquema del electrodo sólido combinado del electrodo PerfectIon de Mettler Toledo.

Por este motivo, en la presente tesis las muestras se midieron siempre en matrices acuosas (o con un porcentaje acuoso mayoritario) y los calibrados se realizaron en la misma matriz que la de las muestras a medir. De esta forma garantiza la robustez y exactitud de la medida del sensor electroquímico.

Todas las medidas de la concentración de iones de plata se realizaron por calibración directa del electrodo mediante un ajuste por mínimos cuadrados de los puntos obtenidos. Los patrones y muestras se midieron en una celda de vidrio termostaticada a 25°C con un baño termostático Julabo. Los electrodos utilizados fueron el HI4115 de Hanna Instruments y el electrodo perfectION de $\text{Ag}^+/\text{S}^{2-}$ de Mettler Toledo, con sus

correspondientes electrolitos y soluciones estabilizadoras de la fuerza iónica proporcionados por las casas comerciales de los electrodos. Todas las medidas se realizaron con un pH-metro CRISON GLP 22+.

3. ESPECTROSCOPIA DE MASAS CON PLASMA ACOPLADO INDUCITVAMENTE

Esta técnica analítica (ICP-MS) es una técnica destructiva que sirve para analizar de manera cuantitativa o semicuantitativa los componentes de una muestra. Mediante esta técnica se pueden detectar la mayoría de los elementos de la tabla periódica a excepción de unos pocos, como C, N, H, O, F, gases nobles, tierras raras y aquellos elementos que no posean isótopos naturales.

La muestra se introduce en disolución en el ICP-MS y pasa a través de un nebulizador. Las gotas de aerosol generadas en el nebulizador se ionizan en el plasma y se dirigen al espectrómetro de masas. La mayoría de los ICP-MS poseen un espectrómetro de masas con cuadrupolo. El cuadrupolo es el encargado de filtrar las masas que llegan al analizador de forma que solo llegarán aquellos iones cargados que posean una relación masa/carga determinada. Por ejemplo, en el caso de la plata, el cuadrupolo filtraría los iones masa/carga de 107/1 y 108/1 que se corresponden con los dos isótopos de la plata. Los iones salen del espectrómetro de masas y llegan a un tubo fotomultiplicador convirtiéndose en pulso eléctrico medible. El software del equipo compara los pulsos medidos de los patrones de calibración y de las muestras para determinar la concentración del elemento.

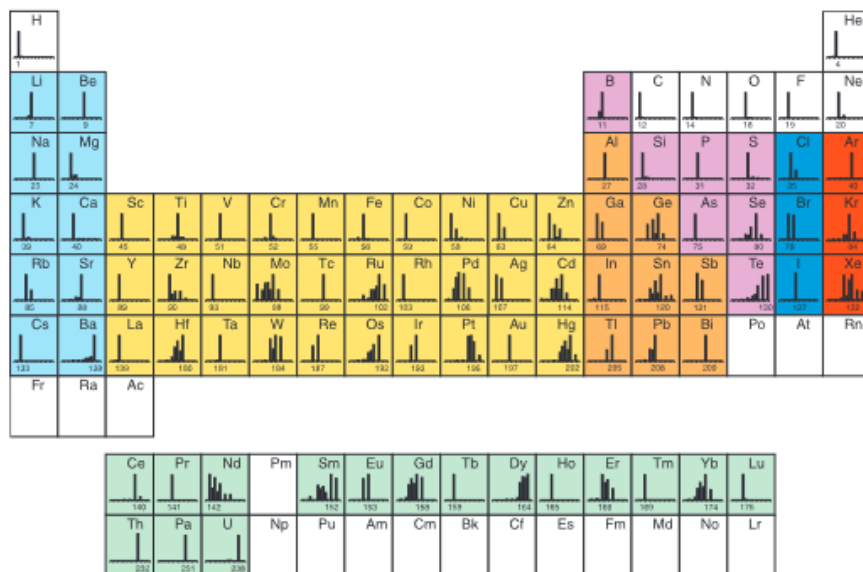


Figura 17. Tabla periódica de los elementos con sus isótopos y abundancias que pueden ser determinados (en color) y los que no (en blanco) mediante ICP-MS.

Las muestras de plata obtenidas en este trabajo se caracterizaron con un espectrómetro de masas con acoplamiento de plasma inducido NexION 2000. Todas las muestras se midieron con un calibrado multipatrón en ácido nítrico al 2% en el intervalo de 1 a 60 ppb. El alcohol isopropílico, así como otros disolventes orgánicos, interfieren en la medida del ICP-MS ya que apagan el plasma, por lo que es preciso realizar una dilución de las muestras a analizar de, al menos, tres órdenes de magnitud, para minimizar las interferencias de la matriz de la muestra con el plasma.

4. ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA CON PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE

Esta técnica analítica (ICP-OES) es una de las más utilizadas para determinar trazas y ultratrazas de elementos en una gran variedad de matrices, previa digestión de las muestras. Al igual que en el ICP-MS, se pueden determinar la mayoría de los elementos de la tabla periódica.

El funcionamiento del ICP-OES y el ICP-MS es similar, lo que cambia es la forma de detectar los iones. En el ICP-OES la muestra líquida se introduce en el equipo, se nebuliza y se dirige al plasma donde se atomiza. Hasta este punto el funcionamiento es análogo al del ICP-MS. La diferencia es que los electrones de las moléculas ionizadas han pasado del estado fundamental al excitado. La permanencia de los electrones en un estado excitado no es un proceso favorable por lo que se produce rápidamente la vuelta del electrón a su estado fundamental. Al regresar, se emite una radiación con una longitud de onda determinada que es característica de cada elemento de la tabla periódica y, es precisamente esta radiación la que se mide en el ICP-OES.

Una ventaja del uso de un ICP-OES respecto a un ICP-MS es la detección simultánea de los elementos. En algunos casos como, por ejemplo, el O₂ molecular y el azufre, hay una interferencia de masa y esto provoca errores en la medida. Por este motivo, para medir ciertos elementos es más adecuado utilizar un ICP-OES.

Las muestras de plata obtenidas en la presente tesis se midieron en colaboración con el grupo de investigación GETEE de la Universidad de Santiago de Compostela, mediante un

equipo ICP-OES Optima 3300 DV, provisto de un auto-muestreador AS91 de Perkin-Elmer.

5. ESPECTROMETRÍA DE MASAS

La espectrometría de masas es una técnica analítica destructiva que nos permite obtener información acerca de la estructura química de las moléculas presentes en una muestra.

El objetivo de esta técnica es ionizar los componentes químicos de una muestra, generando moléculas cargadas (o clústeres cargados en nuestro caso) o fragmentos de ésta, dando lugar a un espectro de masas donde se muestren las relaciones masa-carga de los componentes analizados y, de esa forma, se puede llegar a elucidar la estructura molecular de los componentes de la muestra.

Existen distintos métodos de ionización que se pueden dividir en métodos de ionización fuerte o suave. La ionización suave es aquella que no provoca la fragmentación de las moléculas o la provoca parcialmente, lo que resulta muy interesante para la determinación de biomoléculas de elevada masa molecular o para moléculas pequeñas o clústeres⁶⁸, donde la ruptura de la molécula en secciones de menor tamaño no nos interesa, ya que su identificación sería mucho más compleja.

Algunos de los métodos de ionización suave más utilizados para la determinación de clústeres son:

- FAB (Bombardeo atómico rápido)

La muestra se bombardea con un haz de átomos de Xe o Ar acelerados hasta alcanzar energías del orden de kilovoltios (kV). La muestra se mezcla con una matriz, generalmente un ácido orgánico, para favorecer su enfriamiento y evitar la ionización directa y la consecuente fragmentación de la muestra.

- SIMS (Espectrometría de masas de iones secundarios)

Este método de ionización es igual al de bombardeo atómico con la diferencia de que la muestra se bombardea con un haz de iones de Cesio.

- MALDI (Absorción/Desorción láser asistida por matriz)

La muestra se introduce una matriz y se ioniza la muestra con un láser de luz pulsada a vacío. La matriz absorbe la radiación láser y le transfiere un protón a la muestra. Generalmente este tipo de ionización genera iones con una sola carga. Esta técnica es una variación de la desorción láser, donde la muestra se ioniza en ausencia de la matriz.

- ESI⁶⁹ (Ionización por electrospray)

Esta ionización ocurre a presión atmosférica. La muestra se introduce, en disolución acuosa junto con un disolvente volátil, mediante una jeringa de acero inoxidable en un

capilar cargado a un elevado potencial eléctrico. Los iones se repelen en el interior del capilar debido a la ley de Coulomb y se origina un *spray* formado por pequeñas gotas cargadas que se evaporan rápidamente. Los iones pueden estar protonados de forma múltiple formando diferentes especies para una misma molécula.

Las técnicas de ionización más utilizadas para determinar la estructura molecular de los clústeres son ESI y MALDI. Ambas se suelen acoplar con el analizador de tiempo de vuelo (*Time of flight*, TOF), que es el más utilizado para la determinación de clústeres de metales nobles. Además, para la caracterización de los clústeres se utilizan tanto la ionización en modo negativo como en modo positivo.^{70,71}

El analizador de tiempo de vuelo consiste en un campo eléctrico que aumenta la energía cinética de los iones y los dirige hacia el tubo de vuelo. Los iones que posean la misma carga serán separados por su tamaño, ya que los más ligeros volarán más que los más pesados. De esta forma, los iones llegan al detector en función de su relación masa/carga, que es proporcional al tiempo de vuelo. La resolución de los picos de masas será mejor cuanto mayor sea la longitud del tubo de vuelo y cuanto menor sea la dispersión de energías de los iones generados en la fuente de ionización.

En la presente tesis se analizaron las muestras de clústeres mediante un espectrómetro de masas ESI-TOF de la casa comercial Waters, modelo Acquity QDa. Las muestras se introducen en ocasiones mediante inyección directa, sin diluir, y

en otras ocasiones se diluye en una mezcla de metanol y ácido fórmico. Las muestras se miden mediante ionización por electrospray en modo negativo. Este método de medida fue optimizado por el Dr. Darío de la Iglesia a lo largo de su tesis doctoral⁷².

6. DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS)

La dispersión de luz dinámica es una técnica no destructiva que se utiliza para medir la distribución de tamaños de partículas micro y nanométricas (10 μm hasta ≈ 1 nm) en disolución.

La técnica se basa en medir el movimiento Browniano o aleatorio de las partículas en disolución. Las partículas sólidas colisionan constantemente con las moléculas de disolvente que las rodean induciendo un movimiento aleatorio de las partículas en las diferentes direcciones del espacio⁷³. Las partículas de menor tamaño se mueven más rápidamente que las de mayor tamaño. Esto se debe a que la energía transferida a la partícula, por las colisiones con el disolvente, afecta en mayor medida a una partícula de menor tamaño. De esta forma, se puede relacionar el coeficiente de difusión con el diámetro hidrodinámico de la partícula a través de la ecuación Stokes-Einstein:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_H} \quad (4)$$

donde D es el coeficiente de difusión, k_B es la constante de Boltzmann, T la temperatura, η la viscosidad de la muestra y R_H el radio hidrodinámico de la partícula⁷⁴.

Tal como se ve en la ecuación anterior, el coeficiente de difusión es inversamente proporcional al tamaño hidrodinámico de la partícula, es decir, las partículas de menor tamaño se moverán más rápido. Además, el coeficiente de difusión es directamente proporcional a la temperatura, por lo que las medidas se realizan a temperatura constante.

La luz láser atraviesa la muestra, interacciona con las partículas suspendidas en disolución y dispersa la luz en distintas direcciones. El equipo recoge la cantidad de luz dispersada a un determinado ángulo y en un intervalo de tiempo determinado, relacionándose esta cantidad con el coeficiente de difusión. Las partículas de menor tamaño, que se mueven más rápido, dispersarán mayor cantidad de luz que aquellas que posean un tamaño mayor.

Esta técnica se utiliza generalmente para medir la distribución de tamaños y el índice de polidispersidad de una muestra de nanopartículas dispersada en un disolvente. En la distribución de tamaños podremos observar si en la muestra se encuentran una o varias poblaciones de nanopartículas de diferentes tamaños. El índice de polidispersidad es una variable adimensional que varía de 0 a 1, siendo 0 el valor para una muestra totalmente monodispersa y 1 para el de una de muy alta polidispersidad.

Las medidas realizadas en la presente tesis, para conocer la distribución de tamaños de las nanopartículas presentes en las muestras, se llevaron a cabo en un DLS Malvern Z-sizer, a una

temperatura de 25°C, en cubetas de PMMA (polimetilmetacrilato).

7. CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía de gases es una técnica analítica utilizada para analizar y cuantificar los componentes volátiles de una muestra. También se puede utilizar para analizar y cuantificar los componentes en fase gas.

En el cromatógrafo de gases hay dos maneras de inyectar la muestra, la primera, es inyectar una porción de muestra con analitos volátiles y calentarla hasta vaporizarla, mientras que en el segundo se inyectan directamente los analitos en fase gas. Este segundo procedimiento es el que se ha utilizado para las medidas cromatográficas realizadas en esta tesis. De forma más concreta, la cromatografía de gases se ha utilizado para determinar la cantidad de hidrógeno fotogenerado en la catálisis de reducción del agua por los AQCs. La reacción se llevaba a cabo en una cubeta cerrada de cuarzo de 3,5 mL, dejándose 0,5 mL de espacio de cabeza, es decir, del espacio de la cubeta que queda por encima de la disolución. El gas del espacio de cabeza, que contiene los gases a analizar, se introduce directamente en el cromatógrafo de gases para su estudio. El espectro mostrará los tiempos de retención correspondientes a los gases que se pueden determinar⁷⁵ y, analizando el área del pico, podremos conocer la cantidad del gas a analizar presente en nuestra muestra.

El cromatógrafo usado, Clarus 580 de Perkin Elmer, posee un detector de conductividad térmica (TCD) que es el más

utilizado para la detección de $H_2^{76,77}$. El analito se introduce en el cromatógrafo y pasa a través de una columna donde se queda retenido y, un gas de arrastre o *carrier gas*, que en este caso es el Argón, lo dirige hacia el detector. El detector consiste en un filamento metálico calentado eléctricamente que se encuentra en una celda a una temperatura constante. El detector posee un gas de calibración que coincide con el gas de arrastre, el Argón. Cuando el eluyente sale de la columna junto con el analito se reduce la conductividad térmica del gas de arrastre y el filamento se calienta, lo que produce una señal en el detector.^{78,79}

Se dice que el detector TCD es el detector universal ya que se puede utilizar para determinar la presencia de todos los gases inorgánicos y orgánicos. Esto se debe a que todos, o la mayoría de ellos, poseen una conductividad térmica menor a la del gas de arrastre.

CONCLUSIONES GENERALES

A raíz de los resultados obtenidos en esta tesis, se pone de manifiesto la estabilidad de los clústeres de pequeño tamaño en disolución y cómo sus propiedades catalíticas y su interacción con los iones del medio influyen la síntesis de AQC's, los métodos de purificación y sus aplicaciones catalíticas y biomédicas.

Las principales conclusiones de este trabajo se resumen como sigue:

1. Se ha desarrollado un método de síntesis de clústeres de Ag_5 mediante el que se producen 0.1 g/L de AQC's, una concentración cinco ordenes de magnitud superior a la obtenido mediante la síntesis electroquímica ($\approx 1 \mu\text{g/L}$).
2. Se ha logrado caracterizar los AQC's obtenidos mediante espectrometría de masas de alta resolución.
3. Se observó que los clústeres de Ag_5 sintetizados mediante el método fotoquímico no exhibían las propiedades catalíticas atribuidas a clústeres de 5 átomos, debido a la interferencia de los iones de plata, en el caso de las aplicaciones en fotocatalisis y catalisis heterogénea y debido también al IPA y a los nitratos en el caso de las aplicaciones biomédicas.
4. Se descubrió la influencia del silicato de sodio en la interacción $\text{Ag}_5\text{-Ag}^+$. El silicato sódico es un agente caotrópico que desplaza a los iones de Ag^+ de la esfera de

coordinación del clúster mejorando los rendimientos de la purificación.

5. Se consiguió purificar clústeres de Ag_5 en presencia de silicato sódico 0.2 mM con una resina de intercambio catiónico (Dowex) y determinar la presencia de Ag_5 a través de su actividad biológica en células tumorales, aun obteniendo pérdidas en la purificación del 94-97% de los clústeres previamente sintetizados.
6. Se observó que las muestras inhibían completamente el crecimiento celular de las células tumorales cuando eran sometidas a una fuerte sonicación tras el proceso de concentración. Esto se traduce en que los AQC_s, al concentrarse, forman aglomerados y se inactivan de forma que las muestras dejan de presentar actividad sino se aplica sobre ellas una energía suficiente como para romper dichos aglomerados.
7. Se consiguió, por primera vez, liofilizar muestras de clústeres de Ag_5 , sin perder clústeres en el proceso, debido a la presencia del silicato de sodio en disolución.
8. Además, se logró mediante el proceso de liofilización eliminar completamente el IPA y el HNO_3 , permitiendo que las muestras sintetizadas puedan ser redispersadas en medio acuoso.
9. Se purificaron, por primera vez, clústeres de Ag_5 en presencia de 0.2 mM de silicato sódico en disolución acuosa (1 mM HNO_3) obteniendo pérdidas de tan solo el 60% de los clústeres previamente sintetizados, haciendo pasar la muestra a través de cartuchos SPE de Sílica pretratados con NaOH 2 mM.
10. Se determinó la actividad biológica de estas muestras, demostrando la inequívoca presencia de Ag_5 a través de

los experimentos realizados en ensayos biológicos con células tumorales en presencia de DTT. Los clústeres de Ag_5 oxidan los grupos glutatión y cisteína de las células tumorales provocando su apoptosis, mientras que el DTT es capaz de revertir dicho efecto.

11. Se demostró que, en presencia de EDTA 92.5 y 185 mM, los clústeres de Ag_5 son capaces de catalizar la reducción de los iones de Ag a NPs metálicas, mientras que esta reacción no tiene lugar en su ausencia.
12. Se desarrolló un método para la caracterización de clústeres catalíticos en muestras liofilizadas a través de la catálisis de NPs metálicas en presencia de citrato sódico y ácido tánico.
13. Se logró caracterizar -mediante este método- clústeres catalíticos en menos de 10 min con un límite de detección de ≈ 25 mM de Ag_5 -AQC (45 $\mu\text{g}/\text{L}$ de Ag_5 -AQC).

En resumen, en esta tesis doctoral se ha logrado sintetizar, purificar, caracterizar y determinar la actividad catalítica de clústeres de Ag_5 . Estos clústeres presentan unas novedosas propiedades que abren un nuevo mundo de posibilidades en el ámbito de la catálisis y la biomedicina, entre otros, y es por esta razón por la que continuarán siendo el foco de nuestra investigación científica.

MAIN CONCLUSIONS

Due to the results shown in this thesis we can conclude that small clusters are highly stable in solution and that the synthesis of AQC_s, the purification methods, and the catalytical and biomedical applications are strongly influenced by the catalytic properties of AQC_s and the interaction of AQC_s with ions in solution.

The main conclusions of this thesis are summarized as follow:

1. We have developed a Ag₅-AQC_s synthesis method that produces 0.1 g/L of AQC_s. This concentration is five orders of magnitude higher than that obtained by electrochemical synthesis ($\approx 1 \mu\text{g/L}$).
2. It has been possible to characterize the AQC_s obtained by high resolution mass spectrometry.
3. It was observed that the Ag₅ clusters synthesized by the photochemical method did not exhibit the catalytic properties attributed to clusters of 5 atoms, due to the interference of silver ions, in the case of applications in photocatalysis and heterogeneous catalysis and due to the IPA, Ag⁺ and nitrates in the case of biomedical applications.
4. The influence of sodium silicate on the Ag₅-Ag⁺ interaction was observed. Sodium silicate is a chaotropic agent that removes Ag⁺ ions from the coordination sphere of the cluster, improving purification yields.

5. It was possible to purify Ag_5 clusters in the presence of 0.2 mM sodium silicate with a cation exchange resin (Dowex) and determine the presence of Ag_5 by biological activity in tumor cells even the losses in the purification step were of 94-97 % of synthesized clusters.
6. Samples were found to completely inhibit cell growth of tumor cells when they have been sonicated after the concentration process. This means that AQC's form agglomerates during the concentration step. For this reason, the samples become inactive, and they must be sonicated to recover their activity.
7. For first time it was possible to lyophilize samples of Ag_5 clusters without losing clusters in the process due to the presence of sodium silicate in solution.
8. In addition, the IPA and HNO_3 were completely removed by the lyophilization process, allowing the synthesized samples to be redispersed in an aqueous solution.
9. Ag_5 clusters were purified for the first time in the presence of 0.2 mM sodium silicate in aqueous solution (1 mM HNO_3) with a loss yield of 60%. The samples were purified by SPE Silica cartridges pretreated with 2 mM NaOH.
10. The biological activity of these samples was determined by biological assays with tumor cells in the presence of DTT and It was demonstrated that the presence of Ag_5 because of this clusters oxidize the glutathione and cysteine groups of tumor cells causing their apoptosis and DTT can reverse this effect.
11. It was shown that in the presence of 92.5 and 185 mM EDTA Ag_5 clusters catalyze the reduction of Ag ions to

metal NPs. This reaction does not take place without AQC_s.

12. A method based in the catalysis of metallic NPs in the presence of sodium citrate and tannic acid was developed for the characterization of catalytic clusters in lyophilized samples.
13. We can use this method to characterize catalytic clusters in less than 10 min with a detection limit of ≈ 25 mM of Ag₅-AQC_s (45 $\mu\text{g/L}$ of Ag₅-AQC_s).

In summary, in this thesis it has been possible to synthesize, purify, characterize, and determine the catalytic activity of Ag₅ clusters. These clusters have novel properties that a huge field of possibilities in some applications as catalysis or biomedicine and for this reason they will continue to be the focus of our scientific research.

REFERENCIAS

1. Freestone, I., Meeks, N., Sax, M. & Higgitt, C. The Lycurgus Cup - A Roman nanotechnology. *Gold Bull.* **40**, 270–277 (2008).
2. Barber, D. J. & Freestone, I. C. An Investigation of the Origin of the Colour of the Lycurgus Cup By Analytical Transmission Electron Microscopy. *Archaeometry* **32**, 33–45 (1990).
3. Faraday, M. On the Relations of Gold and other Metals to Light. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. I* 356–360 (1857).
4. Einstein, A. On the movement of small particles suspended in stationary liquids required by molecular-kinetic theory of heat. *Ann. Phys.* **17**, 549–560 (1905).
5. Feynman, R. There's plenty of room at the bottom. *Eng. Sci.* **23**, 22–36 (1960).
6. Taniguchi, N. On the basic concept of 'Nano-Technology'. in *Proceedings of the International Conference on Production Engineering Tokyo, Part II, Japan Society of Precision Engineering, Tokyo* 5–10 (1974).
7. Binnig, G., Rohrer, H., Gerber, C. & Weibel, E. Surface Studies by Scanning Tunneling Microscopy. *Phys. Rev. Lett* **49**, 57–60 (1982).
8. Binnig, G. & Rohrer, H. Scanning Tunneling Microscopy - From Birth to Adolescence. *Nobel Lect.* 389–409 (1986).
9. Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S. C., Curl, R. F. & Smalley, R. E. C60: Buckminsterfullerene. *Nature* **318**, 162–163 (1985).
10. Curl, R. F., Kroto, H. W. & Smalley, R. E. The Nobel Prize

- in Chemistry 1996. *Press Release* (1996).
11. Srinivas, P. R. *et al.* Nanotechnology research: Applications in nutritional sciences. *J. Nutr.* **140**, 119–124 (2010).
 12. Panayotov, D. A., Frenkel, A. I. & Morris, J. R. Catalysis and Photocatalysis by Nanoscale Au/TiO₂: Perspectives for Renewable Energy. *ACS Energy Lett.* **2**, 1223–1231 (2017).
 13. Ramos, A. P., Cruz, M. A. E., Tovani, C. B. & Ciancaglini, P. Biomedical applications of nanotechnology. *Biophys. Rev.* **9**, 79–89 (2017).
 14. Piñeiro, Y., Rivas, J. & López-Quintela, M. A. The Emergence of Quantum Confinement in Atomic Quantum Clusters. in *Colloidal Foundations of Nanoscience* 81–105 (2014). doi:10.1016/B978-0-444-59541-6.00004-7.
 15. Buceta Fernandez, D. Caracterización y propiedades catalíticas de clústeres cuánticos subnanométricos. 203 (2011).
 16. Calvo Fuentes, J., Rivas Rey, J. & López-Quintela, M. A. Synthesis of Subnanometric Metal Nanoparticles. *Encycl. Nanotechnol.* 4037–4051 (2016) doi:10.1007/978-94-017-9780-1_55.
 17. Buceta, D., Piñeiro, Y., Vázquez-Vázquez, C., Rivas, J. & López-Quintela, M. A. Metallic clusters: Theoretical background, properties and synthesis in microemulsions. *Catalysts* **4**, 356–374 (2014).
 18. Liu, L. & Corma, A. Metal Catalysts for Heterogeneous Catalysis: From Single Atoms to Nanoclusters and Nanoparticles. *Chem. Rev.* **118**, 4981–5079 (2018).
 19. Rodríguez Arias, I. Estudio de las propiedades catalíticas de los clústeres cuánticos atómicos. (2021).
 20. Zheng, J., Zhang, C. & Dickson, R. M. Highly fluorescent,

- water-soluble, size-tunable gold quantum dots. *Phys. Rev. Lett.* **93**, 5–8 (2004).
21. Roduner, E. Size matters: Why nanomaterials are different. *Chem. Soc. Rev.* **35**, 583–592 (2006).
 22. Jin, R. Quantum sized, thiolate-protected gold nanoclusters. *Nanoscale* **2**, 343–362 (2010).
 23. Edwards, P. P., Johnston, R. L. & Rao, C. N. R. On the Size-Induced Metal-Insulator Transition in Clusters and Small Particles. *Met. Clust. Chem.* 1454–1481 (2008).
 24. Knight, W. D., de Heer, W. A. & Saunders, W. A. Shell structure and response properties of metal clusters. *Zeitschrift für Phys. D Atoms, Mol. Clust.* **3**, 109–114 (1986).
 25. Chou, M. Y., Cleland, A. & Marvin, L. C. Total Energies Abundances, and electronic shell structure of lithium, sodium and potassium clusters. *Solid State Commun.* **52**, 645–648 (1984).
 26. Yamada, Y. & Castleman, A. W. The magic numbers of metal and metal alloy clusters. *J. Chem. Phys.* **97**, 4543–4548 (1992).
 27. Heer, W. de. The physics of simple metal clusters: experimental aspects and simple models. *Rev. Mod. Phys.* **65**, 611–676 (1993).
 28. Huda, M. N. & Ray, A. K. Electronic structures and magic numbers of small silver clusters: A many-body perturbation-theoretic study. *Phys. Rev. A - At. Mol. Opt. Phys.* **67**, 13 (2003).
 29. Tsuneda, T. Theoretical investigations on geometrical and electronic structures of silver clusters. *J. Comput. Chem.* **40**, 206–211 (2019).
 30. Fournier, R. Theoretical study of the structure of silver clusters. *J. Chem. Phys.* **115**, 2165–2177 (2001).

31. Campbell, D. J. & Xia, Y. Plasmons : Why Should We Care? *J. Chem. Educ.* **84**, 91–96 (2007).
32. Cifuentes-Rius, A. *et al.* Gold Nanocluster-Mediated Cellular Death under Electromagnetic Radiation. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9**, 41159–41167 (2017).
33. Chen, Y. *et al.* Shortwave Infrared in Vivo Imaging with Gold Nanoclusters. *Nano Lett.* **17**, 6330–6334 (2017).
34. Wang, H. H. *et al.* Fluorescent gold nanoclusters as a biocompatible marker for in vitro and in vivo tracking of endothelial cells. *ACS Nano* **5**, 4337–4344 (2011).
35. Han, X. *et al.* A gold nanocluster chemical tongue sensor array for Alzheimer’s disease diagnosis. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **173**, 478–485 (2019).
36. Buceta, D. *et al.* Ag₂ and Ag₃ Clusters: Synthesis, Characterization, and Interaction with DNA. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **54**, 7612–7616 (2015).
37. Cuerva, M. *et al.* Self-Assembly of Silver Metal Clusters of Small Atomicity on Cyclic Peptide Nanotubes. *ACS Nano* **9**, 10834–10843 (2015).
38. Attia, Y. A. *et al.* Structure-directing and high-efficiency photocatalytic hydrogen production by Ag clusters. *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 1182–1185 (2014).
39. Halder, A., Curtiss, L. A., Fortunelli, A. & Vajda, S. Perspective: Size selected clusters for catalysis and electrochemistry. *J. Chem. Phys.* **148**, (2018).
40. Neissa, J. *et al.* Interaction of silver atomic quantum clusters with living organisms: bactericidal effect of Ag₃ clusters mediated by disruption of topoisomerase-DNA complexes. *Chem. Sci.* **6**, 6717–6724 (2015).
41. Porto González, V. Importancia de las interacciones de los clusters de plata en células tumorales. (2017).

42. Domínguez Loidi, B. Synthesis and Biological Properties of Monodisperse Atomic Quantum Clusters. (2021).
43. Lillich, H. *et al.* Production and characterization of noble metal clusters by laser ablation. *J. Phys. Chem.* **99**, 12413–12421 (1995).
44. 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.* **1**, 333–340 (2008).
45. Li, J., Zhu, J. J. & Xu, K. Fluorescent metal nanoclusters: From synthesis to applications. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **58**, 90–98 (2014).
46. Petty, J. T., Ganguly, M., Rankine, I. J., Chevrier, D. M. & Zhang, P. A DNA-Encapsulated and Fluorescent Ag₁₀₆₊ Cluster with a Distinct Metal-Like Core. *J. Phys. Chem. C* **121**, 14936–14945 (2017).
47. González-Rosell, A., Cerretani, C., Mastracco, P., Vosch, T. & Copp, S. M. Structure and luminescence of DNA-templated silver clusters. *Nanoscale Adv.* **3**, 1230–1260 (2021).
48. Yu, J., Patel, S. A. & Dickson, R. M. In vitro and intracellular production of peptide-encapsulated fluorescent silver nanoclusters. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **46**, 2028–2030 (2007).
49. Guo, C. & Irudayaraj, J. Fluorescent Ag clusters via a protein-directed approach as a Hg(II) ion sensor. *Anal. Chem.* **83**, 2883–2889 (2011).
50. Mohanty, J. S., Baksi, A., Lee, H. & Pradeep, T. Noble metal clusters protected with mixed proteins exhibit intense photoluminescence. *RSC Adv.* **5**, 48039–48045 (2015).
51. Ye, R., Zhukhovitskiy, A. V., Deraedt, C. V., Toste, F. D. &

- Somorjai, G. A. Supported Dendrimer-Encapsulated Metal Clusters: Toward Heterogenizing Homogeneous Catalysts. *Acc. Chem. Res.* **50**, 1894–1901 (2017).
52. Qu, F., Li, N. B. & Luo, H. Q. Transition from nanoparticles to nanoclusters: Microscopic and spectroscopic investigation of size-dependent physicochemical properties of polyamine-functionalized silver nanoclusters. *J. Phys. Chem. C* **117**, 3548–3555 (2013).
53. Ledo, A., Martínez, F., López-Quintela, M. A. & Rivas, J. Synthesis of Ag clusters in microemulsions: A time-resolved UV-vis and fluorescence spectroscopy study. *Phys. B Condens. Matter* **398**, 273–277 (2007).
54. Vázquez-Vázquez, C., Bañobre-López, M., Mitra, A., López-Quintela, M. A. & Rivas, J. Synthesis of small atomic copper clusters in microemulsions. *Langmuir* **25**, 8208–8216 (2009).
55. Brust, M., Walker, M., Bethell, D., Schiffrin, D. J. & Whyman, R. Synthesis of Thiol-derivatised Gold Nanoparticles in a Two-Phase Liquid-Liquid System. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 801–802 (1994).
56. Brust, M., Fink, J., Schiffrin, D. B. D. J. & Kiely, C. Synthesis and Reactions of Functionalised Gold Nanoparticles. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1655–1656 (1995).
57. Dou, X., Wang, X., Qian, S., Liu, N. & Yuan, X. From Understanding the Roles of Tetraoctylammonium Bromide in the Two-Phase Brust-Schiffrin Method to Tuning the Size of Gold Nanoclusters. *Nanoscale* **12**, 19855–19860 (2020).
58. Reetz, M. T. & Helbig, W. Size-Selective Synthesis of Nanostructured Transition Metal Clusters. *J. Am. Chem.*

- Soc.* **116**, 7401–7402 (1994).
59. Bönemann, H. & Nagabhushana, K. S. Chapter 2. Metal Nanoclusters: Synthesis and Strategies for their Size Control. in *Metal Nanoclusters in Catalysis and Materials Science: The Issue of Size Control* 21–49 (2008).
 60. Blanco Trillo, J. M. Síntesis Electroquímica y Propiedades Químico-físicas de Clústeres Cuánticos Subnanométricos. (Santiago de Compostela, 2017).
 61. Huseyinova, S. Electrochemical / chemical synthesis , purification , characterization and properties of atomic quantum clusters of different sizes. (2017).
 62. Zhang, J., Xu, S. & Kumacheva, E. Photogeneration of Fluorescent Silver Nanoclusters in Polymer Microgels. *Langmuir* **17**, 2336–2340 (2005).
 63. Borodko, Y., Ercius, P., Pushkarev, V., Thompson, C. & Somorjai, G. From single Pt atoms to Pt nanocrystals: Photoreduction of Pt²⁺ inside of a PAMAM dendrimer. *J. Phys. Chem. Lett.* **3**, 236–241 (2012).
 64. Liu, L. *et al.* Generation of subnanometric platinum with high stability during transformation of a 2D zeolite into 3D. *Nat. Mater.* **16**, 132–138 (2017).
 65. Shard, A. G., Schofield, R. C. & Minelli, C. Chapter 3.2.3. Ultraviolet-visible spectrophotometry. in *Characterization of Nanoparticles: Measurement Processes for Nanoparticles* vol. 1 185–196 (Elsevier Inc., 2020).
 66. Anak, B., Bencharif, M. & Rabilloud, F. Time-dependent density functional study of UV-visible absorption spectra of small noble metal clusters (Cu, Ag, Au, n = 2-9, 20). *RSC Adv.* **4**, 13001–13011 (2014).
 67. Lecoultre, S. *et al.* Ultraviolet-visible absorption of small silver clusters in neon: Ag_n (n = 1-9). *J. Chem. Phys.* **134**, 1–

- 7 (2011).
68. Lu, Y. & Chen, W. Application of Mass Spectrometry in the Synthesis and Characterization of Metal Nanoclusters. *Anal. Chem.* **87**, 10659–10667 (2015).
 69. Fenn, J. B., Mann, M., Meng, C. K. & Wong, S. F. Electrospray ionization - principle and practice. *Mass Spectrom. Rev.* **9**, 37–70 (1990).
 70. Chen, T., Yao, Q., Nasaruddin, R. R. & Xie, J. Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Powerful Platform for Noble-Metal Nanocluster Analysis. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **58**, 11967–11977 (2019).
 71. Comby-Zerbino, C. *et al.* The emergence of mass spectrometry for characterizing nanomaterials. Atomically precise nanoclusters and beyond. *Mater. Adv.* **2**, 4896–4913 (2021).
 72. de la Iglesia Rodríguez, D. Estudio de la Caracterización, Purificación y Propiedades Catalíticas de los Clústeres Cuánticos Atómicos de Cobre y Plata. (2021).
 73. Stetefeld, J., McKenna, S. A. & Patel, T. R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophys. Rev.* **8**, 409–427 (2016).
 74. Babick, F. Chapter 3.2.1. Dynamic light scattering (DLS). in *Characterization of Nanoparticles: Measurement Processes for Nanoparticles* 137–172 (Elsevier Inc., 2019). doi:10.1016/B978-0-12-814182-3.00010-9.
 75. Light Hydrocarbons / Fixed Gases by TCD Model 4019. 10984 (2014).
 76. Martín-Gómez, J., Hidalgo-Carrillo, J., Estévez, R. C., Urbano, F. J. & Marinas, A. Hydrogen photoproduction on TiO₂-CuO artificial olive leaves. *Appl. Catal. A Gen.* **620**, 118178–118197 (2021).

-
77. Speltini, A. *et al.* Photocatalytic hydrogen evolution assisted by aqueous (waste)biomass under simulated solar light: Oxidized g-C₃N₄ vs. P25 titanium dioxide. *Int. J. Hydrogen Energy* **44**, 4072–4078 (2019).
 78. Kitson, G., Larsen, B. S. & McEwen, C. N. Chapter 1.What Is GC/MS? in *Gas Chromatography and Mass Spectrometry - A practical guide* 3–23 (1996). doi:10.1016/B978-0-12-483385-2.50002-6.
 79. Poole, C. F. Gas Chromatography - Detectors. in *Encyclopedia of Analytical Science: Second Edition* 95–105 (2004). doi:10.1016/B0-12-369397-7/00222-3.

DECLARACIONES DE USO DE IMÁGENES Y CONTENIDO PUBLICADO

Permiso Figura 2



This is a License Agreement between Nerea Borja González ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the CCC Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the CCC Terms and Conditions below.

Order Date	04-May-2022	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1218117.1	Publisher	Springer
ISSN	2190-7579	Portion	Image/photo/illustration

LICENSED CONTENT

Publication Title	Gold Bulletin	Rightsholder	Springer Nature BV
Article Title	The Lycurgus Cup — A Roman nanotechnology	Publication Type	e-journal
Author/Editor	World Gold Council	Start Page	270
Date	01/01/1996	End Page	277
Language	English	Issue	4
Country	Germany	Volume	40

REQUEST DETAILS

Portion Type	Image/photo/illustration	Distribution	Worldwide
Number of Images / photos / illustrations	1	Translation	Original language plus one translation
Format (select all that apply)	Print, Electronic	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Academic institution	Minor editing privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental promotional use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR
Rights Requested	Main product		

NEW WORK DETAILS

Title	Síntesis fotoquímica de clústeres de plata de baja atomicidad	Institution name	Universidad de Santiago de Compostela
Instructor name	Nerea Borja González	Expected presentation date	2022-07-01

ADDITIONAL DETAILS

The requesting person / organization to appear on the license: Nerea Borja González

REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	Lycurgus cup	Title of the article/chapter the portion is from	The Lycurgus Cup — A Roman nanotechnology
Editor of portion(s)	Freestone, Ian; Meeks, Nigel; Sax, Margaret; Higgitt, Catherine	Author of portion(s)	Freestone, Ian; Meeks, Nigel; Sax, Margaret; Higgitt, Catherine
Volume of serial or monograph	40	Publication date of portion	2007-12-01
Page or page range of portion	270-277		

RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

If you are placing a request on behalf of for a corporate organization, please use RightsLink. For further information visit http://www.nature.com/reprints/permissions_requests.html and https://www.springer.com/journal/permissions/obtaining_permissions/882. If the content you are requesting to reuse is under a CC-BY 4.0 licence (or previous version), you do not need to seek permission from Springer Nature for this reuse as long as you provide appropriate credit to the original publication. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Permiso Figura 4 y 6

CCC Marketplace™

This is a License Agreement between Nerea Borja Gonzalez/ USC ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the CCC Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the CCC Terms and Conditions below.

Order Date	04-May-2022	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1218118-1	Publisher	Elsevier
ISBN-13	9780444595416	Portion	Image/photo/illustration

LICENSED CONTENT

Publication Title	Colloidal Foundations of Nanoscience	Rightsholder	Elsevier Science & Technology Journals
Article Title	Chapter 4 - The Emergence of Quantum Confinement in Atomic Quantum Clusters	Publication Type	Book
Author/Editor	Berti, Debora., Falazzo, Gerardo.	Start Page	81
Date	01/01/2014	End Page	105
Language	English	URL	http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii...
Country	Netherlands		

REQUEST DETAILS

Portion Type	Image/photo/illustration	Distribution	Worldwide
Number of Images / photos / illustrations	2	Translation	Original language plus one translation
Format (select all that apply)	Print, Electronic	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Academic Institution	Minor editing privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental promotional use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR
Rights Requested	Main product		

NEW WORK DETAILS

Title	Síntesis fotoquímica de clústeres de plata de baja atomicidad	Institution name	Universidad de Santiago de Compostela
Instructor name	Nerea Borja González	Expected presentation date	2022-07-01

ADDITIONAL DETAILS

Order reference number	N/A	The requesting person / organization to appear on the license	Nerea Borja Gonzalez/ USC
------------------------	-----	---	---------------------------

REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	Figure 4.5 and 4.9	Title of the article/chapter the portion is from	Chapter 4 - The Emergence of Quantum Confinement in Atomic Quantum Clusters
Editor of portion(s)	López-Quintela, M.A.; Rivas, J.; Piñeiro, Y.	Author of portion(s)	López-Quintela, M.A.; Rivas, J.; Piñeiro, Y.
Volume of serial or monograph	1	Issue, if republishing an article from a serial	N/A
Page or page range of portion	81-105	Publication date of portion	2014-01-01

RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

Elsevier publishes Open Access articles in both its Open Access journals and via its Open Access articles option in subscription journals, for which an author selects a user license permitting certain types of reuse without permission. Before proceeding please check if the article is Open Access on <http://www.sciencedirect.com> and refer to the user license for the individual article. Any reuse not included in the user license terms will require permission. You must always fully and appropriately credit the author and source. If any part of the material to be used (for example, figures) has appeared in the Elsevier publication for which you are seeking permission, with credit or acknowledgement to another source it is the responsibility of the user to ensure their reuse complies with the terms and conditions determined by the rights holder. Please contact permissions@elsevier.com with any queries.

Declaraciones del uso de imágenes y contenido publicado

Figuras 5, 7 y 9

CCC Marketplace™

This is a License Agreement between Nerea Borja Gonzalez/USC ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the CCC Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the CCC Terms and Conditions below.

Order Date	04-May-2022	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1218118-5	Publisher	Springer
ISBN-13	9789048197514	Portion	Image/photo/illustration

LICENSED CONTENT

Publication Title	Encyclopedia of Nanotechnology	Country	Netherlands
Article Title	Synthesis of Subnanometric Metal Nanoparticles	Rightsholder	Springer
Author/Editor	Bhushan, Bharat	Publication Type	e-Book
Date	01/01/2012	Start Page	2639
Language	English	End Page	2648

REQUEST DETAILS

Portion Type	Image/photo/illustration	Distribution	Worldwide
Number of images / photos / illustrations	3	Translation	Original language plus one translation
Format (select all that apply)	Print, Electronic	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Academic Institution	Minor editing privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental promotional use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR
Rights Requested	Main product		

NEW WORK DETAILS

Title	Síntesis fotoquímica de clústeres de plata de baja atomicidad	Institution name	Universidad de Santiago de Compostela
Instructor name	Nerea Borja Gonzalez	Expected presentation date	2022-07-01

ADDITIONAL DETAILS

Order reference number	N/A	The requesting person / organization to appear on the license	Nerea Borja Gonzalez/USC
------------------------	-----	---	--------------------------

REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	Band gap clusters, uv-vis absorption of clusters and diagrama energías	Title of the article/chapter the portion is from	Synthesis of Subnanometric Metal Nanoparticles
Editor of portion(s)	Calvo Fuentes, J., Rivas Rey, J. & López-Quintela, M. A.	Author of portion(s)	Calvo Fuentes, J., Rivas Rey, J. & López-Quintela, M. A.
Volume of serial or monograph	N/A	Issue, if republishing an article from a serial	N/A
Page or page range of portion	2639-2648	Publication date of portion	2012-01-01

RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

A maximum of 10% of the content may be licensed for republication. The user is responsible for identifying and seeking separate licenses for any third party materials that are identified anywhere in the work. Without a separate license, such third party materials may not be reused.

If you are placing a request on behalf of a corporate organization, please use [RightsLink](#). For further information visit

<http://www.nature.com/nprinfo/permissions/requests.html> and

<https://www.springer.com/gp/rights-permissions/obtaining-permissions/882>. If the content you are requesting to reuse is under a CC-BY 4.0 license (or previous version), you do not need to seek permission from Springer Nature for this reuse as long as you provide appropriate credit to the original publication. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Figura 8

CCC Marketplace™

This is a License Agreement between Nerea Borja González/USC ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the CCC Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the CCC Terms and Conditions below.

Order Date	04-May-2022	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1218118-2	Publisher	JOHN WILEY & SONS, INC.
ISSN	0192-8651	Portion	Image/photo/illustration

LICENSED CONTENT

Publication Title	Journal of computational chemistry	Publication Type	Journal
Article Title	Theoretical investigations on geometrical and electronic structures of silver clusters.	Start Page	206
Date	01/01/1980	End Page	211
Language	English	Issue	1
Country	United States of America	Volume	40
Rightsholder	John Wiley & Sons - Books		

REQUEST DETAILS

Portion Type	Image/photo/illustration	Distribution	Worldwide
Number of images / photos / illustrations	1	Translation	Original language plus one translation
Format (select all that apply)	Print, Electronic	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Academic institution	Minor editing privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental promotional use?	No
Lifetime Limit Quantity	Up to 499	Currency	EUR
Rights Requested	Main product		

NEW WORK DETAILS

Title	Síntesis fotoquímica de clústeres de plata de baja atomicidad	Institution name	Universidade de Santiago de Compostela
Instructor name	Nerea Borja González	Expected presentation date	2022-07-01

ADDITIONAL DETAILS

The requesting person / organization to appear on the license	Nerea Borja González/USC
---	--------------------------

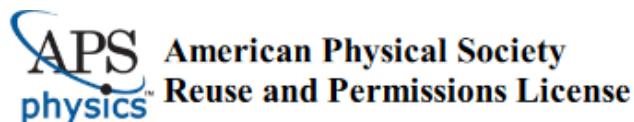
REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	Geometrical structures of silver clusters	Title of the article/chapter the portion is from	Theoretical investigations on geometrical and electronic structures of silver clusters.
Editor of portion(s)	Tsuneda, Takao	Author of portion(s)	Tsuneda, Takao
Volume of serial or monograph	40	Publication date of portion	2019-01-05
Page or page range of portion	206-211		

RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

No right, license or interest in any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto. You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley material. This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process. In no instance may the total amount of Wiley Materials used in any Main Product, Compilation or Collective work comprise more than 5% (if figures/tables) or 15% (if full articles/chapters) of the (entirety of the) Main Product, Compilation or Collective Work. Some titles may be available under an Open Access license. It is the Licensors' responsibility to identify the type of Open Access license on which the requested material was published, and comply fully with the terms of that license for the type of use specified. Further details can be found on Wiley Online Library <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/uri,4170895.html>

Figura 10



04-May-2022

This license agreement between the American Physical Society ("APS") and Nerea Borja Gonzalez ("You") consists of your license details and the terms and conditions provided by the American Physical Society and SciPris.

Licensed Content Information

License Number: RNP/22/MAY/053304
License date: 04-May-2022
DOI: 10.1103/PhysRevLett.93.077402
Title: Highly Fluorescent, Water-Soluble, Size-Tunable Gold Quantum Dots
Author: Jie Zheng, Caiwei Zhang, and Robert M. Dickson
Publication: Physical Review Letters
Publisher: American Physical Society
Cost: USD \$ 0.00

Request Details

Does your reuse require significant modifications: No
Specify intended distribution locations: Worldwide
Reuse Category: Reuse in a thesis/dissertation
Requestor Type: Student
Items for Reuse: Figures/Tables
Number of Figure/Tables: 1
Figure/Tables Details: Fluorescence of quantum dots from UV to IR
Format for Reuse: Print and Electronic
Total number of print copies: Up to 1000

Information about New Publication:

University/Publisher: Universidad of Santiago de Compostela
Title of dissertation/thesis: Síntesis fotoquímica de clústeres de plata de baja atomicidad
Author(s): Nerea Borja González
Expected completion date: Jul. 2022

License Requestor Information

Name: Nerea Borja Gonzalez
Affiliation: Individual
Email Id: nerebg91@gmail.com
Country: Spain

Figura 11

Structure-Directing and High-Efficiency Photocatalytic Hydrogen Production by Ag Clusters

Author: Yasser A. Attia, David Buceta, Carmen Blanco-Varela, et al
Publication: Journal of the American Chemical Society
Publisher: American Chemical Society
Date: Jan 1, 2014

Copyright © 2014, American Chemical Society

PERMISSION/LICENSE IS GRANTED FOR YOUR ORDER AT NO CHARGE

This type of permission/license, instead of the standard Terms and Conditions, is sent to you because no fee is being charged for your order. Please note the following:

- Permission is granted for your request in both print and electronic formats, and translations.
- If figures and/or tables were requested, they may be adapted or used in part.
- Please print this page for your records and send a copy of it to your publisher/graduate school.
- Appropriate credit for the requested material should be given as follows: "Reprinted (adapted) with permission from (COMPLETE REFERENCE CITATION). Copyright (YEAR) American Chemical Society." Insert appropriate information in place of the capitalized words.
- One-time permission is granted only for the use specified in your RightsLink request. No additional uses are granted (such as derivative works or other editions). For any uses, please submit a new request.

If credit is given to another source for the material you requested from RightsLink, permission must be obtained from that source.

[BACK](#) [CLOSE WINDOW](#)

Declaraciones del uso de imágenes y contenido publicado

Figura 12

CCC Marketplace™

This is a License Agreement between Nerea Borja González/USC ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the CCC Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the CCC Terms and Conditions below.

Order Date	04-May-2022	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1218118-3	Publisher	WILEY - VCH VERLAG GMBH & CO. KGAA
ISSN	1433-7851	Portion	Image/photo/illustration

LICENSED CONTENT

Publication Title	Angewandte Chemie	Rightsholder	John Wiley & Sons - Books
Article Title	Ag2 and Ag3 clusters: synthesis, characterization, and interaction with DNA.	Publication Type	Journal
Author/Editor	Gesellschaft Deutscher Chemiker.	Start Page	7612
Date	01/01/1962	End Page	7616
Language	English	Issue	26
Country	Germany	Volume	54

REQUEST DETAILS

Portion Type	Image/photo/illustration	Distribution	Worldwide
Number of Images / photos / illustrations	1	Translation	Original language of publication
Format (select all that apply)	Print, Electronic	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Academic institution	Minor editing privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental promotional use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR
Rights Requested	Main product		

NEW WORK DETAILS

Title	Síntesis fotoquímica de clústeres de plata de baja atómica	Institution name	Universidad de Santiago de Compostela
Instructor name	Nerea Borja González	Expected presentation date	2022-07-01

ADDITIONAL DETAILS

The requesting person / organization to appear on the license	Nerea Borja González/USC
---	--------------------------

REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	DNA-Ag3 Interaction	Title of the article/chapter the portion is from	Ag2 and Ag3 clusters: synthesis, characterization, and interaction with DNA.
Editor of portion(s)	Dr. Buceta, David; Dr. Busto, Natalia; Dr. Barone, Giampaolo; Prof. Dr. Leal, José M.; Prof. Dr. Domínguez, Fernando; Dr. Giovanetti, Lisandro J.; Prof. Dr. Requejo, Félix G.; Prof. Dr. García, Begoña; Prof. Dr. López-Quintela, M. Arturo	Author of portion(s)	Dr. Buceta, David; Dr. Busto, Natalia; Dr. Barone, Giampaolo; Prof. Dr. Leal, José M.; Prof. Dr. Domínguez, Fernando; Dr. Giovanetti, Lisandro J.; Prof. Dr. Requejo, Félix G.; Prof. Dr. García, Begoña; Prof. Dr. López-Quintela, M. Arturo
Volume of serial or monograph	54	Publication date of portion	2015-06-22
Page or page range of portion	7612-7616		

RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

No right, license or interest in any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto. You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley material. This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process. In no instance may the total amount of Wiley Materials used in any Main Product, Compilation or Collective work comprise more than 5% (if figures/tables) or 15% (if full articles/chapters) of the (entirety of the) Main Product, Compilation or Collective Work. Some titles may be available under an Open Access license. It is the Licensors' responsibility to identify the type of Open Access license on which the requested material was published, and comply fully with the terms of that license for the type of use specified. Further details can be found on Wiley Online Library <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>.

Figura 13

Two distinct fluorescent quantum clusters of gold starting from metallic nanoparticles by pH-dependent ligand etching

Author: Madathumpady Abubaker Habeeb Muhammed et al

SPRINGER NATURE

Publication: Nano Research

Publisher: Springer Nature

Date: Apr 8, 2010

Copyright © 2010, Tsinghua University Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Creative Commons

The request you have made is considered to be non-commercial/educational. As the article you have requested has been distributed under a Creative Commons license (Attribution-Noncommercial), you may reuse this material for non-commercial/educational purposes without obtaining additional permission from Springer Nature, providing that the author and the original source of publication are fully acknowledged (please see the article itself for the license version number). You may reuse this material without obtaining permission from Springer Nature, providing that the author and the original source of publication are fully acknowledged, as per the terms of the license. For license terms, please see <http://creativecommons.org/>

BACK

CLOSE WINDOW

Figura 18

Artículo con acceso libre, atribución no comercial.

CC BY-NC 3.0

Declaraciones del uso de imágenes y contenido publicado

Figura 20 y 21



This is a License Agreement between Nerea Borja Gonzalez/USC ("User") and Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC") on behalf of the Rightsholder identified in the order details below. The license consists of the order details, the CCC Terms and Conditions below, and any Rightsholder Terms and Conditions which are included below. All payments must be made in full to CCC in accordance with the CCC Terms and Conditions below.

Order Date	04-May-2022	Type of Use	Republish in a thesis/dissertation
Order License ID	1218118-4	Publisher Portion	ACADEMIC PRESS
ISSN	0021-9797		Image/photo/illustration

LICENSED CONTENT

Publication Title	Journal of colloid and Interface science	Rightsholder	Elsevier Science & Technology Journals
Article Title	Large stability and high catalytic activities of sub-nm metal (0) clusters: Implications into the nucleation and growth theory.	Publication Type	Journal
Author/Editor	KERKER, M	Start Page	279
Date	01/01/1966	End Page	285
Language	English	Volume	449
Country	United States of America		

REQUEST DETAILS

Portion Type	Image/photo/illustration	Distribution	Worldwide
Number of Images / photos / Illustrations	2	Translation	Original language of publication
Format (select all that apply)	Print, Electronic	Copies for the disabled?	No
Who will republish the content?	Academic institution	Minor editing privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental promotional use?	No
Lifetime Limit Quantity	Up to 499	Currency	EUR
Rights Requested	Main product		

NEW WORK DETAILS

Title	Síntesis fotoquímica de clústeres de plata de baja atomicidad	Institution name	Universidad de Santiago de Compostela
Instructor name	Nerea Borja Gonzalez	Expected presentation date	2022-07-01

ADDITIONAL DETAILS

Order reference number	N/A	The requesting person / organization to appear on the license	Nerea Borja Gonzalez/USC
------------------------	-----	---	--------------------------

REUSE CONTENT DETAILS

Title, description or numeric reference of the portion(s)	Cluster stability and energies	Title of the article/chapter the portion is from	Large stability and high catalytic activities of sub-nm metal (0) clusters: implications into the nucleation and growth theory.
Editor of portion(s)	Piñeiro, Yolanda; Buceta, David; Calvo, Javier; Huszinyova, Shahana; Cuerva, Miguel Pérez, Ángel; Domínguez, Blanca; López-Quintela, M. Arturo	Author of portion(s)	Piñeiro, Yolanda; Buceta, David; Calvo, Javier; Huszinyova, Shahana; Cuerva, Miguel Pérez, Ángel; Domínguez, Blanca; López-Quintela, M. Arturo
Volume of serial or monograph	449	Issue, if republishing an article from a serial	N/A
Page or page range of portion	279-285	Publication date of portion	2015-07-01

RIGHTSHOLDER TERMS AND CONDITIONS

Elsevier publishes Open Access articles in both its Open Access journals and via its Open Access articles option in subscription journals, for which an author selects a user license permitting certain types of reuse without permission. Before proceeding please check if the article is Open Access on <http://www.sciencedirect.com> and refer to the user license for the individual article. Any reuse not included in the user license terms will require permission. You must always fully and appropriately credit the author and source. If any part of the material to be used (for example, figures) has appeared in the Elsevier publication for which you are seeking permission, with credit or acknowledgement to another source it is the responsibility of the user to ensure their reuse complies with the terms and conditions determined by the rights holder. Please contact permissions@elsevier.com with any queries.

Términos y condiciones licencias CCC (Figuras 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 20 y 21)

8. CCC TERMS AND CONDITIONS

- 1. DESCRIPTION OF SERVICE; DEFINED TERMS. THIS REPUBLICATION LICENSE ENABLES THE USER TO OBTAIN LICENSES FOR REPUBLICATION OF ONE OR MORE COPYRIGHTED WORKS AS DESCRIBED IN DETAIL ON THE RELEVANT ORDER CONFIRMATION (THE "WORK(S)"). COPYRIGHT CLEARANCE CENTER, INC. ("CCC") GRANTS LICENSES THROUGH THE SERVICE ON BEHALF OF THE RIGHTSHOLDER IDENTIFIED ON THE ORDER CONFIRMATION (THE "RIGHTSHOLDER"). "REPUBLICATION", AS USED HEREIN, GENERALLY MEANS THE INCLUSION OF A WORK, IN WHOLE OR IN PART, IN A NEW WORK OR WORKS, ALSO AS DESCRIBED ON THE ORDER CONFIRMATION. "USER", AS USED HEREIN, MEANS THE PERSON OR ENTITY MAKING SUCH REPUBLICATION.**
- 2. THE TERMS SET FORTH IN THE RELEVANT ORDER CONFIRMATION, AND ANY TERMS SET BY THE RIGHTSHOLDER WITH RESPECT TO A PARTICULAR WORK, GOVERN THE TERMS OF USE OF WORKS IN CONNECTION WITH THE SERVICE. BY USING THE SERVICE, THE PERSON TRANSACTING FOR A REPUBLICATION LICENSE ON BEHALF OF THE USER REPRESENTS AND WARRANTS THAT HE/SHE/IT (A) HAS BEEN DULY AUTHORIZED BY THE USER TO ACCEPT, AND HEREBY DOES ACCEPT, ALL SUCH TERMS AND CONDITIONS ON BEHALF OF USER, AND (B) SHALL INFORM USER OF ALL SUCH TERMS AND CONDITIONS. IN THE EVENT SUCH PERSON IS A "FREELANCER" OR OTHER THIRD PARTY**

INDEPENDENT OF USER AND CCC, SUCH PARTY SHALL BE DEEMED JOINTLY A "USER" FOR PURPOSES OF THESE TERMS AND CONDITIONS. IN ANY EVENT, USER SHALL BE DEEMED TO HAVE ACCEPTED AND AGREED TO ALL SUCH TERMS AND CONDITIONS IF USER REPUBLISHES THE WORK IN ANY FASHION.

3. SCOPE OF LICENSE; LIMITATIONS AND OBLIGATIONS.

0. ALL WORKS AND ALL RIGHTS THEREIN, INCLUDING COPYRIGHT RIGHTS, REMAIN THE SOLE AND EXCLUSIVE PROPERTY OF THE RIGHTSHOLDER. THE LICENSE CREATED BY THE EXCHANGE OF AN ORDER CONFIRMATION (AND/OR ANY INVOICE) AND PAYMENT BY USER OF THE FULL AMOUNT SET FORTH ON THAT DOCUMENT INCLUDES ONLY THOSE RIGHTS EXPRESSLY SET FORTH IN THE ORDER CONFIRMATION AND IN THESE TERMS AND CONDITIONS, AND CONVEYS NO OTHER RIGHTS IN THE WORK(S) TO USER. ALL RIGHTS NOT EXPRESSLY GRANTED ARE HEREBY RESERVED.

1. GENERAL PAYMENT TERMS: YOU MAY PAY BY CREDIT CARD OR THROUGH AN ACCOUNT WITH US PAYABLE AT THE END OF THE MONTH. IF YOU AND WE AGREE THAT YOU MAY ESTABLISH A STANDING ACCOUNT WITH CCC, THEN THE FOLLOWING TERMS APPLY: REMIT PAYMENT TO: COPYRIGHT CLEARANCE CENTER, 29118 NETWORK PLACE, CHICAGO, IL 60673-1291. PAYMENTS DUE: INVOICES ARE PAYABLE UPON THEIR DELIVERY TO YOU (OR UPON OUR NOTICE TO YOU THAT THEY ARE AVAILABLE TO YOU FOR DOWNLOADING). AFTER 30 DAYS, OUTSTANDING AMOUNTS WILL BE SUBJECT TO A SERVICE CHARGE OF

1-1/2% PER MONTH OR, IF LESS, THE MAXIMUM RATE ALLOWED BY APPLICABLE LAW. UNLESS OTHERWISE SPECIFICALLY SET FORTH IN THE ORDER CONFIRMATION OR IN A SEPARATE WRITTEN AGREEMENT SIGNED BY CCC, INVOICES ARE DUE AND PAYABLE ON "NET 30" TERMS. WHILE USER MAY EXERCISE THE RIGHTS LICENSED IMMEDIATELY UPON ISSUANCE OF THE ORDER CONFIRMATION, THE LICENSE IS AUTOMATICALLY REVOKED AND IS NULL AND VOID, AS IF IT HAD NEVER BEEN ISSUED, IF COMPLETE PAYMENT FOR THE LICENSE IS NOT RECEIVED ON A TIMELY BASIS EITHER FROM USER DIRECTLY OR THROUGH A PAYMENT AGENT, SUCH AS A CREDIT CARD COMPANY.

- 2. UNLESS OTHERWISE PROVIDED IN THE ORDER CONFIRMATION, ANY GRANT OF RIGHTS TO USER (I) IS "ONE-TIME" (INCLUDING THE EDITIONS AND PRODUCT FAMILY SPECIFIED IN THE LICENSE), (II) IS NON-EXCLUSIVE AND NON-TRANSFERABLE AND (III) IS SUBJECT TO ANY AND ALL LIMITATIONS AND RESTRICTIONS (SUCH AS, BUT NOT LIMITED TO, LIMITATIONS ON DURATION OF USE OR CIRCULATION) INCLUDED IN THE ORDER CONFIRMATION OR INVOICE AND/OR IN THESE TERMS AND CONDITIONS. UPON COMPLETION OF THE LICENSED USE, USER SHALL EITHER SECURE A NEW PERMISSION FOR FURTHER USE OF THE WORK(S) OR IMMEDIATELY CEASE ANY NEW USE OF THE WORK(S) AND SHALL RENDER INACCESSIBLE (SUCH AS BY DELETING OR BY REMOVING OR SEVERING LINKS OR OTHER LOCATORS) ANY FURTHER COPIES OF**

THE WORK (EXCEPT FOR COPIES PRINTED ON PAPER IN ACCORDANCE WITH THIS LICENSE AND STILL IN USER'S STOCK AT THE END OF SUCH PERIOD).

3. IN THE EVENT THAT THE MATERIAL FOR WHICH A REPUBLICATION LICENSE IS SOUGHT INCLUDES THIRD PARTY MATERIALS (SUCH AS PHOTOGRAPHS, ILLUSTRATIONS, GRAPHS, INSERTS AND SIMILAR MATERIALS) WHICH ARE IDENTIFIED IN SUCH MATERIAL AS HAVING BEEN USED BY PERMISSION, USER IS RESPONSIBLE FOR IDENTIFYING, AND SEEKING SEPARATE LICENSES (UNDER THIS SERVICE OR OTHERWISE) FOR, ANY OF SUCH THIRD PARTY MATERIALS; WITHOUT A SEPARATE LICENSE, SUCH THIRD PARTY MATERIALS MAY NOT BE USED.
4. USE OF PROPER COPYRIGHT NOTICE FOR A WORK IS REQUIRED AS A CONDITION OF ANY LICENSE GRANTED UNDER THE SERVICE. UNLESS OTHERWISE PROVIDED IN THE ORDER CONFIRMATION, A PROPER COPYRIGHT NOTICE WILL READ SUBSTANTIALLY AS FOLLOWS: "REPUBLISHED WITH PERMISSION OF [RIGHTSHOLDER'S NAME], FROM [WORK'S TITLE, AUTHOR, VOLUME, EDITION NUMBER AND YEAR OF COPYRIGHT]; PERMISSION CONVEYED THROUGH COPYRIGHT CLEARANCE CENTER, INC. " SUCH NOTICE MUST BE PROVIDED IN A REASONABLY LEGIBLE FONT SIZE AND MUST BE PLACED EITHER IMMEDIATELY ADJACENT TO THE WORK AS USED (FOR EXAMPLE, AS PART OF A BY-LINE OR FOOTNOTE BUT NOT AS A SEPARATE ELECTRONIC LINK) OR IN THE PLACE WHERE SUBSTANTIALLY ALL OTHER CREDITS OR NOTICES FOR THE NEW WORK

CONTAINING THE REPUBLISHED WORK ARE LOCATED. FAILURE TO INCLUDE THE REQUIRED NOTICE RESULTS IN LOSS TO THE RIGHTSHOLDER AND CCC, AND THE USER SHALL BE LIABLE TO PAY LIQUIDATED DAMAGES FOR EACH SUCH FAILURE EQUAL TO TWICE THE USE FEE SPECIFIED IN THE ORDER CONFIRMATION, IN ADDITION TO THE USE FEE ITSELF AND ANY OTHER FEES AND CHARGES SPECIFIED.

5. USER MAY ONLY MAKE ALTERATIONS TO THE WORK IF AND AS EXPRESSLY SET FORTH IN THE ORDER CONFIRMATION. NO WORK MAY BE USED IN ANY WAY THAT IS DEFAMATORY, VIOLATES THE RIGHTS OF THIRD PARTIES (INCLUDING SUCH THIRD PARTIES' RIGHTS OF COPYRIGHT, PRIVACY, PUBLICITY, OR OTHER TANGIBLE OR INTANGIBLE PROPERTY), OR IS OTHERWISE ILLEGAL, SEXUALLY EXPLICIT OR OBSCENE. IN ADDITION, USER MAY NOT CONJOIN A WORK WITH ANY OTHER MATERIAL THAT MAY RESULT IN DAMAGE TO THE REPUTATION OF THE RIGHTSHOLDER. USER AGREES TO INFORM CCC IF IT BECOMES AWARE OF ANY INFRINGEMENT OF ANY RIGHTS IN A WORK AND TO COOPERATE WITH ANY REASONABLE REQUEST OF CCC OR THE RIGHTSHOLDER IN CONNECTION THEREWITH.
4. INDEMNITY. USER HEREBY INDEMNIFIES AND AGREES TO DEFEND THE RIGHTSHOLDER AND CCC, AND THEIR RESPECTIVE EMPLOYEES AND DIRECTORS, AGAINST ALL CLAIMS, LIABILITY, DAMAGES, COSTS AND EXPENSES, INCLUDING LEGAL FEES AND EXPENSES, ARISING OUT OF ANY USE OF A WORK BEYOND THE SCOPE OF THE RIGHTS

GRANTED HEREIN, OR ANY USE OF A WORK WHICH HAS BEEN ALTERED IN ANY UNAUTHORIZED WAY BY USER, INCLUDING CLAIMS OF DEFAMATION OR INFRINGEMENT OF RIGHTS OF COPYRIGHT, PUBLICITY, PRIVACY OR OTHER TANGIBLE OR INTANGIBLE PROPERTY.

5. **LIMITATION OF LIABILITY. UNDER NO CIRCUMSTANCES WILL CCC OR THE RIGHTSHOLDER BE LIABLE FOR ANY DIRECT, INDIRECT, CONSEQUENTIAL OR INCIDENTAL DAMAGES (INCLUDING WITHOUT LIMITATION DAMAGES FOR LOSS OF BUSINESS PROFITS OR INFORMATION, OR FOR BUSINESS INTERRUPTION) ARISING OUT OF THE USE OR INABILITY TO USE A WORK, EVEN IF ONE OF THEM HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. IN ANY EVENT, THE TOTAL LIABILITY OF THE RIGHTSHOLDER AND CCC (INCLUDING THEIR RESPECTIVE EMPLOYEES AND DIRECTORS) SHALL NOT EXCEED THE TOTAL AMOUNT ACTUALLY PAID BY USER FOR THIS LICENSE. USER ASSUMES FULL LIABILITY FOR THE ACTIONS AND OMISSIONS OF ITS PRINCIPALS, EMPLOYEES, AGENTS, AFFILIATES, SUCCESSORS AND ASSIGNS.**
6. **LIMITED WARRANTIES. THE WORK(S) AND RIGHT(S) ARE PROVIDED "AS IS". CCC HAS THE RIGHT TO GRANT TO USER THE RIGHTS GRANTED IN THE ORDER CONFIRMATION DOCUMENT. CCC AND THE RIGHTSHOLDER DISCLAIM ALL OTHER WARRANTIES RELATING TO THE WORK(S) AND RIGHT(S), EITHER EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING WITHOUT LIMITATION IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS**

FOR A PARTICULAR PURPOSE. ADDITIONAL RIGHTS MAY BE REQUIRED TO USE ILLUSTRATIONS, GRAPHS, PHOTOGRAPHS, ABSTRACTS, INSERTS OR OTHER PORTIONS OF THE WORK (AS OPPOSED TO THE ENTIRE WORK) IN A MANNER CONTEMPLATED BY USER; USER UNDERSTANDS AND AGREES THAT NEITHER CCC NOR THE RIGHTSHOLDER MAY HAVE SUCH ADDITIONAL RIGHTS TO GRANT.

- 7. EFFECT OF BREACH. ANY FAILURE BY USER TO PAY ANY AMOUNT WHEN DUE, OR ANY USE BY USER OF A WORK BEYOND THE SCOPE OF THE LICENSE SET FORTH IN THE ORDER CONFIRMATION AND/OR THESE TERMS AND CONDITIONS, SHALL BE A MATERIAL BREACH OF THE LICENSE CREATED BY THE ORDER CONFIRMATION AND THESE TERMS AND CONDITIONS. ANY BREACH NOT CURED WITHIN 30 DAYS OF WRITTEN NOTICE THEREOF SHALL RESULT IN IMMEDIATE TERMINATION OF SUCH LICENSE WITHOUT FURTHER NOTICE. ANY UNAUTHORIZED (BUT LICENSABLE) USE OF A WORK THAT IS TERMINATED IMMEDIATELY UPON NOTICE THEREOF MAY BE LIQUIDATED BY PAYMENT OF THE RIGHTSHOLDER'S ORDINARY LICENSE PRICE THEREFOR; ANY UNAUTHORIZED (AND UNLICENSABLE) USE THAT IS NOT TERMINATED IMMEDIATELY FOR ANY REASON (INCLUDING, FOR EXAMPLE, BECAUSE MATERIALS CONTAINING THE WORK CANNOT REASONABLY BE RECALLED) WILL BE SUBJECT TO ALL REMEDIES AVAILABLE AT LAW OR IN EQUITY, BUT IN NO EVENT TO A PAYMENT OF LESS THAN THREE TIMES THE RIGHTSHOLDER'S ORDINARY LICENSE PRICE FOR THE MOST CLOSELY ANALOGOUS LICENSABLE USE PLUS**

RIGHTSHOLDER'S AND/OR CCC'S COSTS AND EXPENSES INCURRED IN COLLECTING SUCH PAYMENT.

8. MISCELLANEOUS.

- 0. USER ACKNOWLEDGES THAT CCC MAY, FROM TIME TO TIME, MAKE CHANGES OR ADDITIONS TO THE SERVICE OR TO THESE TERMS AND CONDITIONS, AND CCC RESERVES THE RIGHT TO SEND NOTICE TO THE USER BY ELECTRONIC MAIL OR OTHERWISE FOR THE PURPOSES OF NOTIFYING USER OF SUCH CHANGES OR ADDITIONS; PROVIDED THAT ANY SUCH CHANGES OR ADDITIONS SHALL NOT APPLY TO PERMISSIONS ALREADY SECURED AND PAID FOR.**
- 1. USE OF USER-RELATED INFORMATION COLLECTED THROUGH THE SERVICE IS GOVERNED BY CCC'S PRIVACY POLICY, AVAILABLE ONLINE HERE:<HTTPS://MARKETPLACE.COPYRIGHT.COM/RS-UI-WEB/MP/PRIVACY-POLICY>**
- 2. THE LICENSING TRANSACTION DESCRIBED IN THE ORDER CONFIRMATION IS PERSONAL TO USER. THEREFORE, USER MAY NOT ASSIGN OR TRANSFER TO ANY OTHER PERSON (WHETHER A NATURAL PERSON OR AN ORGANIZATION OF ANY KIND) THE LICENSE CREATED BY THE ORDER CONFIRMATION AND THESE TERMS AND CONDITIONS OR ANY RIGHTS GRANTED HEREUNDER; PROVIDED, HOWEVER, THAT USER MAY ASSIGN SUCH LICENSE IN ITS ENTIRETY ON WRITTEN NOTICE TO CCC IN THE EVENT OF A TRANSFER OF ALL OR SUBSTANTIALLY ALL OF USER'S RIGHTS IN THE NEW MATERIAL WHICH INCLUDES THE WORK(S) LICENSED UNDER THIS SERVICE.**

3. **NO AMENDMENT OR WAIVER OF ANY TERMS IS BINDING UNLESS SET FORTH IN WRITING AND SIGNED BY THE PARTIES. THE RIGHTSHOLDER AND CCC HEREBY OBJECT TO ANY TERMS CONTAINED IN ANY WRITING PREPARED BY THE USER OR ITS PRINCIPALS, EMPLOYEES, AGENTS OR AFFILIATES AND PURPORTING TO GOVERN OR OTHERWISE RELATE TO THE LICENSING TRANSACTION DESCRIBED IN THE ORDER CONFIRMATION, WHICH TERMS ARE IN ANY WAY INCONSISTENT WITH ANY TERMS SET FORTH IN THE ORDER CONFIRMATION AND/OR IN THESE TERMS AND CONDITIONS OR CCC'S STANDARD OPERATING PROCEDURES, WHETHER SUCH WRITING IS PREPARED PRIOR TO, SIMULTANEOUSLY WITH OR SUBSEQUENT TO THE ORDER CONFIRMATION, AND WHETHER SUCH WRITING APPEARS ON A COPY OF THE ORDER CONFIRMATION OR IN A SEPARATE INSTRUMENT.**
4. **THE LICENSING TRANSACTION DESCRIBED IN THE ORDER CONFIRMATION DOCUMENT SHALL BE GOVERNED BY AND CONSTRUED UNDER THE LAW OF THE STATE OF NEW YORK, USA, WITHOUT REGARD TO THE PRINCIPLES THEREOF OF CONFLICTS OF LAW. ANY CASE, CONTROVERSY, SUIT, ACTION, OR PROCEEDING ARISING OUT OF, IN CONNECTION WITH, OR RELATED TO SUCH LICENSING TRANSACTION SHALL BE BROUGHT, AT CCC'S SOLE DISCRETION, IN ANY FEDERAL OR STATE COURT LOCATED IN THE COUNTY OF NEW YORK, STATE OF NEW YORK, USA, OR IN ANY FEDERAL OR STATE COURT WHOSE GEOGRAPHICAL JURISDICTION**

COVERS THE LOCATION OF THE RIGHTSHOLDER SET FORTH IN THE ORDER CONFIRMATION. THE PARTIES EXPRESSLY SUBMIT TO THE PERSONAL JURISDICTION AND VENUE OF EACH SUCH FEDERAL OR STATE COURT. IF YOU HAVE ANY COMMENTS OR QUESTIONS ABOUT THE SERVICE OR COPYRIGHT CLEARANCE CENTER, PLEASE CONTACT US AT 978-750-8400 OR SEND AN E-MAIL TO SUPPORT@COPYRIGHT.COM.

Términos y condiciones APS Physics (Figura 10)

TERMS AND CONDITIONS

The American Physical Society (APS) is pleased to grant the Requestor of this license a non-exclusive, non-transferable permission, limited to Print and Electronic format, provided all criteria outlined below are followed.

1. You must also obtain permission from at least one of the lead authors for each separate work, if you haven't done so already. The author's name and affiliation can be found on the first page of the published Article.

2. For electronic format permissions, Requestor agrees to provide a hyperlink from the reprinted APS material using the source material's DOI on the web page where the work appears. The hyperlink should use the standard DOI resolution URL, <http://dx.doi.org/{DOI}>. The hyperlink may be embedded in the copyright credit line.

3. For print format permissions, Requestor agrees to print the required copyright credit line on the first page where the

material appears: "Reprinted (abstract/excerpt/figure) with permission from [(FULL REFERENCE CITATION) as follows: Author's Names, APS Journal Title, Volume Number, Page Number and Year of Publication.] Copyright (YEAR) by the American Physical Society."

4. Permission granted in this license is for a one-time use and does not include permission for any future editions, updates, databases, formats or other matters. Permission must be sought for any additional use.

5. Use of the material does not and must not imply any endorsement by APS.

6. APS does not imply, purport or intend to grant permission to reuse materials to which it does not hold copyright. It is the requestor's sole responsibility to ensure the licensed material is original to APS and does not contain the copyright of another entity, and that the copyright notice of the figure, photograph, cover or table does not indicate it was reprinted by APS with permission from another source.

7. The permission granted herein is personal to the Requestor for the use specified and is not transferable or assignable without express written permission of APS. This license may not be amended except in writing by APS.

8. You may not alter, edit or modify the material in any manner.

9. You may translate the materials only when translation rights have been granted.

10. APS is not responsible for any errors or omissions due to translation.

11. You may not use the material for promotional, sales, advertising or marketing purposes.

12. The foregoing license shall not take effect unless and until APS or its agent, Aptara, receives payment in full in accordance with Aptara Billing and Payment Terms and Conditions, which are incorporated herein by reference.

13. Should the terms of this license be violated at any time, APS or Aptara may revoke the license with no refund to you and seek relief to the fullest extent of the laws of the USA. Official written notice will be made using the contact information provided with the permission request. Failure to receive such notice will not nullify revocation of the permission.

14. APS reserves all rights not specifically granted herein.

15. This document, including the Aptara Billing and Payment Terms and Conditions, shall be the entire agreement between the parties relating to the subject matter hereof.



La presente tesis doctoral está dirigida hacia la obtención de clústeres de Ag a gran escala en ausencia de surfactantes o grupos protectores. Para ello, se estudiará la optimización de una síntesis fotoquímica que nos permita obtener estas especies subnanométricas en concentraciones elevadas mediante un método fácilmente escalable a nivel industrial, lo que supone sin duda un gran desafío. Además, se realizará una amplia investigación acerca de los métodos de caracterización y purificación de estos materiales cuyas propiedades, estrictamente dependientes de su tamaño, representan una gran novedad en diversas aplicaciones como catálisis, fotocatalisis y biomedicina, entre otras.