

TESIS DE DOCTORADO

**CLÚSTERES CUÁNTICOS
SUBNANOMÉTRICOS: SÍNTESIS Y
PROPIEDADES**

Miguel Cuerva Vidales

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA DE MATERIALES

SANTIAGO DE COMPOSTELA

AÑO 2018



DECLARACIÓN DEL AUTOR DE LA TESIS

Clústeres cuánticos subnanométricos: síntesis y propiedades

D. Miguel Cuerva Vidales

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) *En su caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.*
- 3) *La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.*
- 4) *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.*

En Santiago de Compostela, de Maio de 2018

Fdo Miguel Cuerva Vidales



AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR

Clusteres Cuánticos Subnanométricos: Síntesis y propiedades

D. M. Arturo López Quintela

D. Carlos Vázquez Vázquez

INFORMAN:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D. Miguel Cuerva Vidales baixo a nosa dirección, e autorizamos a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como directores desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En Santiago de Compostela, de Maio de 2018

Asdo. M. Arturo López Quintela

Asdo. Carlos Vázquez Vázquez





A mi familia, especialmente a

Fati y a mi hermano





"You can't possibly be a scientist if you mind people thinking that you're a fool"

-Douglas Adams



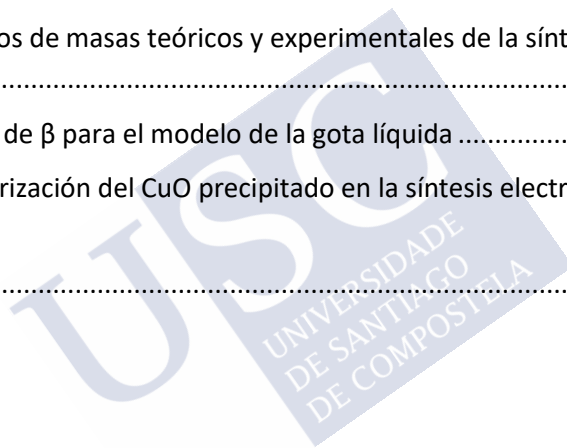
ÍNDICE

1. Objetivos.....	1
2. Introducción.....	5
2.1 Nano: una breve introducción.....	7
2.2 ¿Qué implica la palabra “nano”?.....	15
2.3 Clústeres metálicos y sus propiedades.....	16
2.4 Estructura electrónica de los clústeres: Estabilidad y números mágicos.....	22
2.5 Estructura geométrica.....	24
2.6 Propiedades de los clústeres y aplicaciones.....	27
2.6.1 Fotoluminiscencia.....	27
2.6.2 Catálisis.....	29
2.6.3 Actividad biomédica.....	33
2.7 Síntesis de clústeres.....	36
2.7.1 Técnicas top-down.....	37
2.7.2 Técnicas bottom-up.....	40
2.7.3 Síntesis de clústeres sin ligandos mediante control cinético.....	42
3. Materiales, métodos y técnicas.....	47
3.1 Reactivos.....	49
3.2 Síntesis electroquímica.....	51
3.2.1 Procedimiento general.....	51
3.2.2 Eliminación de iones.....	52
3.2.3 Concentración de la muestra.....	53
3.3 Técnicas de caracterización.....	53

3.3.1	Caracterización por espectroscopia ultravioleta-visible (UV-VIS)	53
3.3.2	Caracterización por espectroscopia de fluorescencia	57
3.3.3	Caracterización por espectrometría de masas	59
3.3.4	Caracterización por espectroscopias de rayos X	63
3.3.5	Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)	66
3.3.6	Espectroscopia de adsorción de rayos X (XAS)	67
3.3.7	Caracterización mediante microscopia de fuerzas atómicas (AFM)	71
3.4	Experimentación sobre estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu ₅	76
3.4.1	Estudios en disolución	76
3.4.2	Estudios en deposición	77
3.4.3	Estudios en sincrotrón	77
3.4.4	Descripción del sincrotrón y la línea de experimentación....	78
3.5	Experimentación con nanotubos peptídicos	83
3.5.1	AFM de los clústeres Ag ₃ autoensamblados sobre nanotubos peptídicos	83
3.5.2	Fluorescencia de la valoración de los nanotubos con los clústeres	84
3.5.3	Cálculos computacionales	85
4.	Síntesis y caracterización de clústeres.....	87
4.1	Introducción.....	89
4.2	Síntesis electroquímica de clústeres.....	90
4.3	Caracterización de clústeres	94
4.3.1	Espectroscopia UV-Vis y de fluorescencia	94

4.3.2	Microscopía fuerzas atómicas (AFM)	96
4.3.3	Espectrometría de masas	99
4.3.4	Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)	101
4.3.5	XANES y EXAFS.....	102
4.4	Estudio de la influencia de la superficie de los electrodos de trabajo en la síntesis electroquímica de clústeres.	105
4.5	Síntesis Química.....	109
4.5.1	Experimental.....	110
4.6	Síntesis Fotoquímica.....	116
4.7	Conclusiones.....	128
5.	Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu ₅	131
5.1	Introducción.....	133
5.2	Efecto de la temperatura en las propiedades de nanopartículas de plata	133
5.3	Experimentos en disolución.....	138
5.4	Experimentos de clústeres soportados	143
5.4.1	Clústeres soportados sobre HOPG.....	149
5.4.2	Clústeres soportados sobre Mica	157
5.5	Experimentos de sincrotrón.	161
5.6	Estudio de clústeres soportados mediante la técnica NAPP	161
5.7	Conclusiones.....	175
6.	Autoensamblaje de clústeres metálicos de baja atomicidad sobre nanotubos peptídicos cíclicos.....	177
6.1	Introducción.....	179
6.2	Experimental.....	179

6.2.1	Estructuras híbridas AQC/SCPNs.....	183
6.2.2	Fluorescencia del pireno y estudios de dicroísmo en disolución de la mezcla Ag ₃ /SCPNs	186
6.3	Cálculos computacionales	190
6.4	Conclusiones	193
7.	Referencias bibliográficas	197
8.	Anexos	215
8.1	Estructura geométrica de clústeres calculadas por DFT.....	217
8.2	Espectros de masas teóricos y experimentales de la síntesis fotoquímica.....	219
8.3	Valores de β para el modelo de la gota líquida	226
8.4	Caracterización del CuO precipitado en la síntesis electroquímica 227	
	Agradecimientos.....	237



Abreviaturas:

ADN:	Ácido desoxirribonucleico
AFM:	Microscopio de fuerzas atómicas
AQC:	Clústeres cuánticos subnanométricos
CP:	Ciclopéptido
CTAB:	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
DFT:	Teoría del funcional de densidad
DOS:	Densidad de estados
EDTA:	Ácido etilendiaminotetraacético
Eg:	<i>Band gap</i>
ESI:	Ionización por electrospray
HOMO:	Orbital ocupado de mayor energía
HOPG:	Carbono Piroclítico Altamente Ordenado
HV:	Alto vacío
LUMO:	Orbital desocupado de menor energía
MALDI:	Desorción/ionización laser asistida por matriz
MD:	Dinámica molecular
MM:	Material masivo
m/z:	Relación masa carga
NPs:	Nanopartícula
NGT:	Teoría clásica de nucleación y crecimiento
SCPN:	Nanotubos peptídicos autoensamblados
STM:	Microscopio de Efecto Tunel
TBAN:	Nitrato de tetrabutilamonio
UV-Vis:	Ultravioleta visible
XAS:	Espectroscopia de absorción de rayos X
XPS:	Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X





1. Objetivos



El estudio de los clústeres cuánticos subnanométricos es un campo relativamente nuevo, pues sus propiedades se diferencian mucho de las nanopartículas a causa principalmente de los efectos cuánticos asociados a su pequeño tamaño. Estos efectos se manifiestan especialmente por la aparición de estados de energía discretizados que implican la aparición de una banda de energías prohibida (*band gap*) o, mejor dicho, HOMO-LUMO gap (ya que por su tamaño molecular la densidad de niveles es muy pequeña), que depende del número de átomos del clúster y del elemento metálico del que están formados. Por tanto, al variar el tamaño y el elemento del clúster, uno puede modificar sus propiedades. Esa capacidad de realizar, lo que podríamos denominar ingeniería de *band gaps* hace que cada clúster sea único y con propiedades muy diferentes de los demás, por lo que abren un nuevo campo en los límites del área de los nanomateriales. El objetivo básico de la presente tesis doctoral será la de tratar de profundizar, tanto en los métodos de síntesis como en el de la elucidación de algunas de sus propiedades fisicoquímicas.

Más concretamente, los objetivos específicos de esta tesis son:

1. Extender los conocimientos existentes de la síntesis y caracterización de clústeres de Cu sintetizados electroquímicamente y hacer un estudio preliminar de vías alternativas de síntesis.
2. Estudiar la estabilidad térmica y el punto de fusión de clústeres de cobre Cu₅, tanto en disolución como depositados sobre un sustrato, en diferentes condiciones experimentales.
3. Estudiar la interacción de clústeres de plata (Ag₃) con anillos aromáticos de pireno al objeto de su utilización en la formación de nanotubos peptídicos.





2. Introducción



2.1 Nano: una breve introducción

Se puede definir la nanotecnología como “tecnología de los materiales y de las estructuras en la que el orden de magnitud se mide en nanómetros, con aplicaciones en física, química y biología”¹, siendo un nanómetro la milmillonésima parte de un metro ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$) o, comparado con otros objetos, un glóbulo rojo tiene un tamaño de unos diez mil nanómetros, un virus unos 100 nm y el ADN, que como sabemos codifica toda la información genética de una persona, tiene $\approx 2 \text{ nm}$ de espesor. El ser humano ha acuñado el concepto de nanotecnología recientemente, pero los sistemas nanoscópicos llevan con nosotros desde el inicio de los tiempos y, ya en la antigüedad, aunque sin saberlo, se tienen ejemplos de nanotecnología, como por ejemplo la conocida como la Copa de Licurgo, del siglo IV (Figura 2-1), procedente de la antigua Roma, que es verde a la luz externa y roja si la luz se emite desde su interior. Hoy sabemos que esos colores son producidos por la dispersión de luz provocada por la presencia de nanopartículas de plata y oro coloidal, que se formaron a partir de las correspondientes sales introducidas en el momento de su fabricación realizado en atmósferas reductoras



Figura 2-1 Copa de Licurgo del Siglo IV

También entre los siglos VI y XVII tenemos ejemplos de cerámicas y vidrieras conteniendo nanopartículas de plata, oro o cobre de diferentes tamaños (obtenidas con diferentes proporciones en el proceso por los maestros artesanos, aunque sin saberlo) que aportan vistosos y diferentes colores a las vidrieras de las catedrales europeas (Figura 2-2). Otro ejemplo son las espadas de “Damasco” famosas por su dureza y su filo “casi eterno” que se debe, como se sabe hoy día, a la presencia de nanotubos de carbono en la hoja que se generan en el forjado del acero a altas temperaturas.



Figura 2-2 Vidrieras de la Catedral de Notre Dame, París

Pero, el primer paso hacia el conocimiento de los procesos y fenómenos en la nanoescala, lo dio Michael Faraday en 1857, preparando una disolución coloidal de oro cuyas propiedades ópticas son diferentes del material masivo (la disolución coloidal es color rubí, mientras que el oro como metal, es dorado) demostrando que las propiedades de los materiales son dependientes del tamaño de las partículas. Es de destacar que la disolución original de Faraday sigue siendo estable y se conserva en la Royal Institution de Londres, sin haberse oxidado y siendo perfectamente estable a la luz (Figura 2-3).



Figura 2-3 Disolución de oro coloidal preparada por Faraday

Más recientemente, en el siglo XX, tuvo lugar la miniaturización de los materiales para su aplicación en transistores y demás componentes electrónicos, al objeto de crear circuitos electrónicos de reducido tamaño. Este desarrollo en “microtecnología” llevó a una verdadera revolución científico-técnica y a despertar un mayor interés por desarrollar elementos y técnicas a escalas más pequeñas.

El 29 de diciembre de 1959, en el Instituto de Tecnología de California (Caltech), el Dr. Richard P. Feynman (Premio Nobel de física), dio un discurso en la reunión anual de la Sociedad Americana de Física, que se ha vuelto un clásico en las charlas sobre nano-ciencia del Siglo XX. Su charla titulada “There’s plenty of Room at the Bottom²” (que se puede traducir por: “Hay mucho espacio todavía en el fondo”), trataba sobre la capacidad de miniaturizar todavía mucho más la tecnología, así como la posibilidad de manipular y controlar objetos a pequeña escala. Feynman elucubró sobre la capacidad futura de construir objetos átomo a átomo o molécula a molécula, mostrando que eso era perfectamente posible desde el punto de vista físico y que,

cuando eso fuera posible, se podría contener toda la información de la Gran Enciclopedia Británica en la simple cabeza de un alfiler.

El científico japonés Nori Taniguchi introdujo por primera vez el término "Nanotecnología" en 1974, en una conferencia Internacional en Tokyo sobre ingeniería de precisión, definiéndola como sigue: "La nanotecnología consiste principalmente en los procesos de separación, consolidación y deformación de materiales por un átomo o una molécula".

Aunque la idea ya estaba presente, tuvo que esperarse a que la tecnología sobrepasase sus limitaciones para el estudio y caracterización de los materiales a nivel atómico. No es hasta la década de los 80, cuando el alemán Gerd Binnig y el suizo Heinrich Röhrer, en los laboratorios de IBM en Zurich, inventaron el microscopio de efecto túnel (STM), que permite la visualización y manipulación de los materiales a nivel atómico (Figura 2-4).

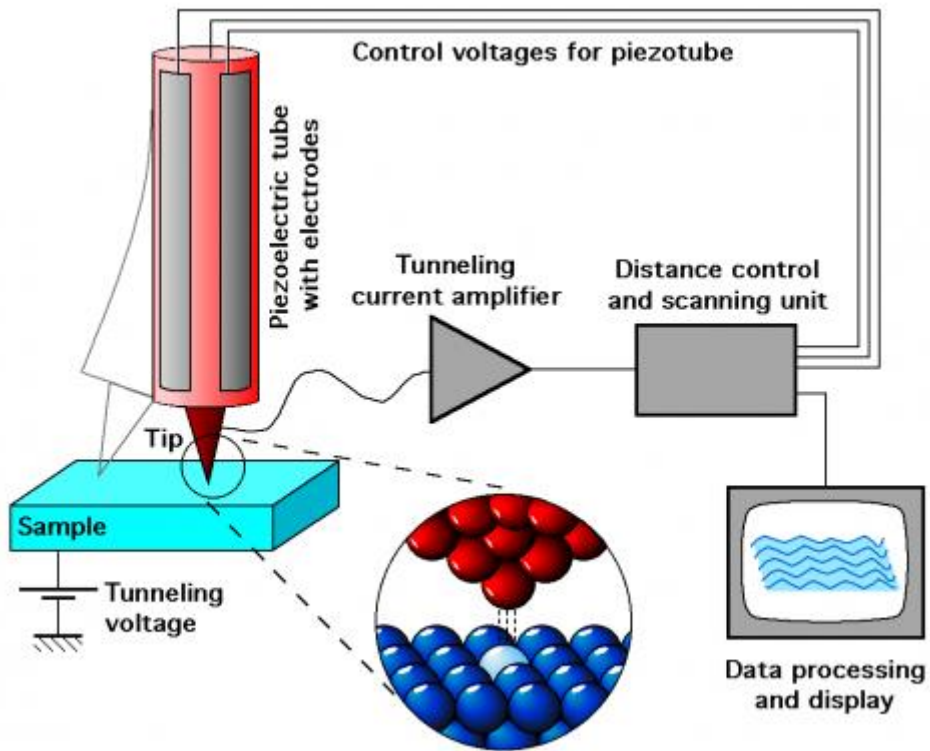


Figura 2-4 Vista esquemática de un STM (cortesía de Michael Schmid de la universidad técnica de Viena)

La técnica de STM consiste en una punta muy fina de un metal que, al acercarlo a un sustrato conductor, permite el paso de corriente por efecto túnel pudiendo no solo visualizar la superficie, sino también proporcionando información de su estructura con precisión atómica y permitiendo su manipulación³ (Figura 2-5).

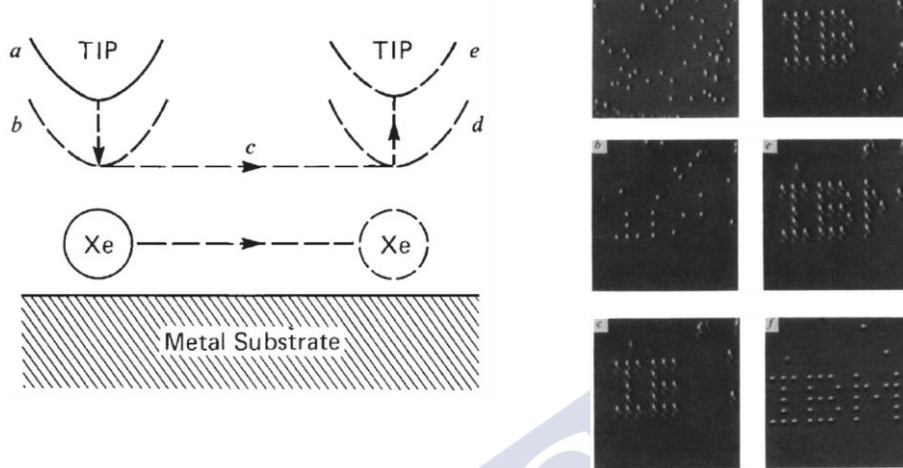


Figura 2-5 A la izquierda un esquema del proceso de mover un átomo de Xenón y a la derecha imágenes de STM durante la formación del logo de IBM con átomos de Xenón sobre Níquel (extraído de la referencia ³)

Es de resaltar que el 14 de Julio 1986 se celebró en Santiago de Compostela el primer congreso internacional sobre STM (Figura 2-6) para poner de manifiesto frente a la comunidad científica las capacidades de esta técnica. Tan solo unos meses más tarde Röhrrer y Binnig ganarían el Premio Nobel de Física por su invención.⁴



Figura 2-6 Fotografía del primer congreso sobre Microscopía de Efecto Túnel STM'86 celebrado en Santiago

Un año antes, en 1985, se inventó en la Universidad de Stanford el Microscopio de Fuerzas Atómicas (AFM), expandiendo las capacidades y tipos de materiales que podían ser investigados. La técnica STM solamente vale para superficies conductoras o semiconductoras, en cambio el AFM puede medir cualquier superficie, independientemente de sus propiedades electrónicas, a diferentes presiones y temperaturas, etc. De estas técnicas surgió la microscopía de sonda de barrido (scanning probe microscopy, SPM), y, desde entonces, se han venido desarrollando diferentes técnicas similares para el estudio de propiedades muy diferentes a escala nanométrica. Además, las técnicas más antiguas -como la microscopía electrónica- fueron también evolucionando hasta la actualidad en la

que se pueden tomar imágenes con precisiones atómicas, incluso en condiciones ambientales.

Todo esto permitió que la nanotecnología pudiera comenzar a desarrollarse de forma muy rápida en la última década del siglo XX y, con ello, los ingenieros y científicos han conseguido crear materiales en la nanoescala con propiedades mucho mejores que los materiales macroscópicos (más resistencia, más ligereza, diferente reactividad química, etc.). Esto motivó una gran inversión en la década de los 90 en empresas y proyectos de I+D en nanotecnología, que ha seguido creciendo hasta convertirse en una disciplina de trillones de dólares, que produce más de 1.800 bienes de consumo, desde cremas solares o productos para bebés hasta procesadores informáticos. Y, hoy en día, esta lista sigue en aumento.

2.2 ¿Qué implica la palabra “nano”?

Hemos comentado anteriormente que la reducción del tamaño de los materiales a la escala nano permite obtener cambios importantes en sus propiedades. Este hecho se debe al incremento de la relación superficie-volumen del material. Para ilustrar este aumento, imaginemos un cubo sólido de 1 cm de lado (tal como el representado en la Figura 2-7; el área superficial de los seis lados del cubo es 6cm^2 . Si ese cubo fuese reducido a cubos de 1mm de lado, habría mil de ellos y la superficie total sería de 60 cm^2 . En caso de que fuese reducido a cubitos de 1 nm, habría 10^{21} partículas y la superficie total sería de 6.000 m^2 . Este aumento drástico de la relación superficie/volumen tiene una importante repercusión en las propiedades del nanomaterial, respecto al material masivo, lo que

puede resultar de gran interés en determinadas aplicaciones, como por ejemplo en catálisis.

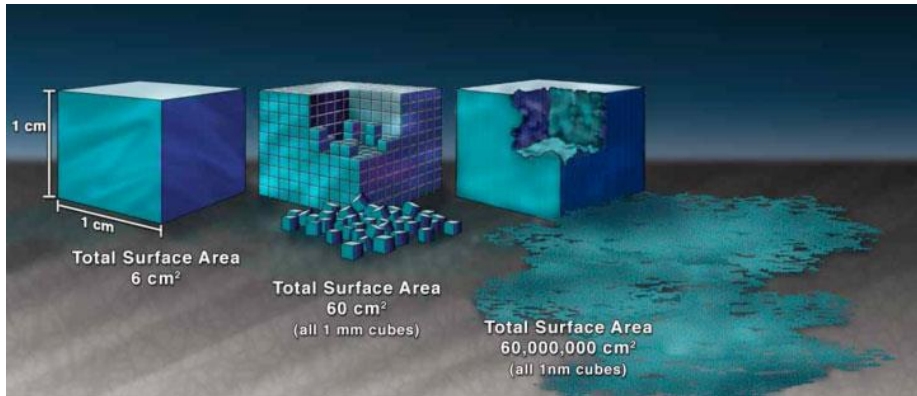


Figura 2-7 Ilustración demostrando el efecto de incremento de área superficial al descomponer una estructura en unidades nanométricas (imagen tomada de la ref:⁵)

2.3 Clústeres metálicos y sus propiedades

Los clústeres metálicos se definen como agregados de un número pequeño de átomos metálicos ($< 100\text{-}150$ átomos) en estado de oxidación (0), con tamaños menores de $1\text{-}2 \text{ nm}$. Estas especies representan un nuevo estado de la materia, con propiedades diferentes tanto de las del material masivo (MM) o las nanopartículas (NP), como de las de los correspondientes átomos. Representan los bloques más elementales de la naturaleza – después de los átomos- y se caracterizan por su pequeño tamaño, comparable a la longitud de onda de Fermi de un electrón ($\sim 0,52 \text{ nm}$ para la plata y el oro). Debido a su pequeño tamaño los electrones sufren un fuerte confinamiento cuántico, por lo que muchos de los efectos que ocurren en esta escala no se pueden describir a partir de las leyes de escalado en función del tamaño que se obtienen para tamaños mayores del

material; y han de ser descritos mediante la mecánica cuántica. En estas especies subnanométricas, los efectos cuánticos son responsables de las nuevas propiedades (químicas, físicas, ópticas, catalíticas, etc.) observadas en esta escala

Las peculiares propiedades de los clústeres de átomos metálicos se deben a que, como consecuencia del aludido confinamiento cuántico, poseen diferentes estructuras geométricas/electrónicas que las del MM o las NP. Tanto en el MM con las NP la estructura electrónica está formada por un elevado número de átomos, con sus respectivos orbitales moleculares solapándose y formando una banda de conducción continua, donde los electrones pueden moverse libremente a orbitales desocupados cuando se excitan. En las NP la estructura electrónica es similar al material masivo, aunque cambia la frecuencia de los plasmones, lo que origina un comportamiento plasmónico superficial de importancia para muchas aplicaciones, como por ejemplo, SERS, propagación de la luz por debajo del límite de difracción, etc. En cambio, en el intervalo de tamaños correspondiente a los clústeres (por debajo de $\approx 2\text{nm}$), el número de átomos está comprendido entre 2 y 100/200 átomos aproximadamente, por lo que –tal como se ha indicado– las dimensiones de la partícula conducen al confinamiento cuántico de los electrones y la aparición de niveles discretos de energía, altamente dependiente del número de átomos, así como la aparición de una zona de energías prohibida, cuya magnitud es inversamente proporcional al número de átomos del clúster. Esta discretización de energías es similar a la de los semiconductores o, también, a la diferencia HOMO-LUMO (HOMO: orbital ocupado de mayor energía; LUMO: orbital desocupado de menor energía) en átomos y moléculas^{6,7} (Figura 2-8).

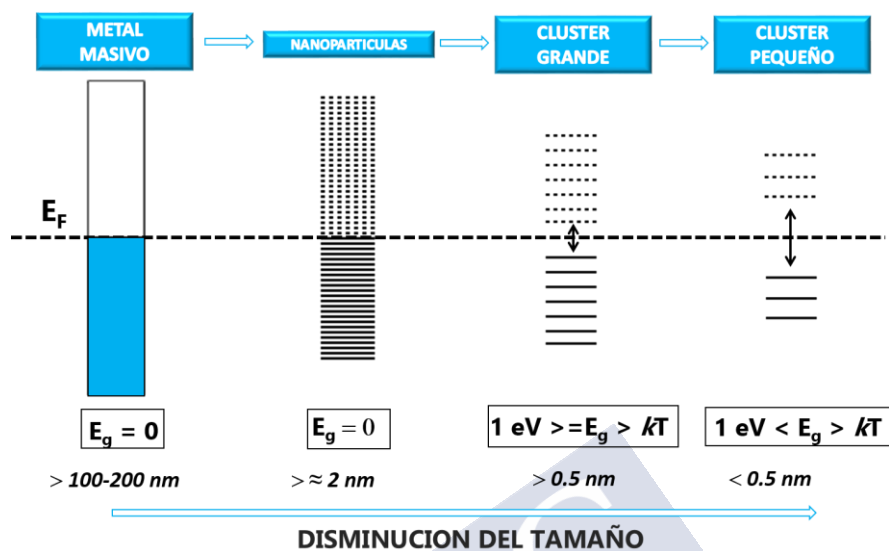


Figura 2-8 Evolución del “band gap” y la densidad de estados ocupados con el número de átomos de una partícula, desde el material masivo hasta los clústeres de pequeño tamaño (Imagen tomada de la referencia:⁸)

La dependencia de la energía de la zona prohibida (E_g , que aquí denominaremos *band gap*) con el número de átomos (N) del clúster se puede aproximar, mediante el modelo del *Jellium* (véase Estructura electrónica de los clústeres, sección 2.4), por la simple relación:

$$E_g = \frac{E_f}{N^{1/3}}$$

Ecuación 1 Modelo de Jellium

siendo E_f el nivel de Fermi del metal correspondiente. El hecho de que se pueda variar así, de forma sencilla, la energía de la zona prohibida dentro de un mismo tipo de material, variando el número de átomos y que, al mismo tiempo, se pueda variar la posición de las bandas de valencia y conducción (HOMO y LUMO en moléculas)

cambiando de metal, hacen de la familia de clústeres atómicos una extraordinaria herramienta de ingeniería de zonas de energía prohibidas a nivel atómico, frente a los semiconductores clásicos, véase la Figura 2-9.

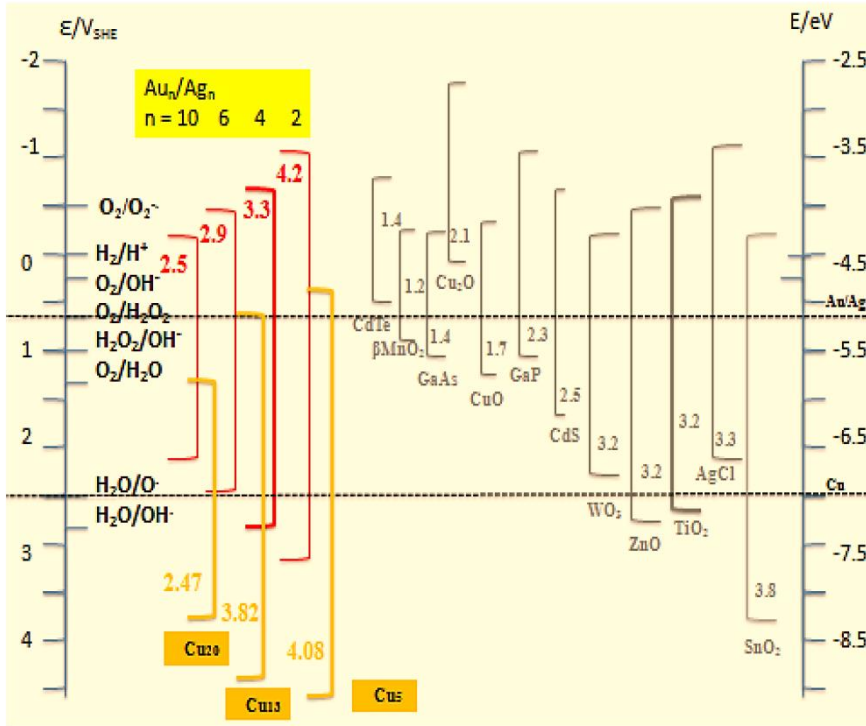


Figura 2-9 Comparación esquemática entre *band gaps* de algunos clústeres de plata y cobre frente algunos semiconductores bien conocidos (imagen tomada de la referencia:⁹).

En general los clústeres presentan niveles discretos de energía y un incremento del *band gap* con la disminución o del tamaño, pudiendo dividirse en “clústeres grandes”, que consisten en un núcleo formado por un número de átomos en el intervalo aproximado 10/20 a 100/200, con un *band gap* no muy grande, por lo que necesitan normalmente

ser estabilizados con ligandos (tales como dendrímeros, fosfinas o tioles); y “clústeres pequeños” formados por un reducido número de átomos (≈ 2 a $10/20$), con un *band gap* mayor, lo que les confieren una gran estabilidad no necesitando estabilizantes y con todos sus átomos en superficie (Figura 2-10).

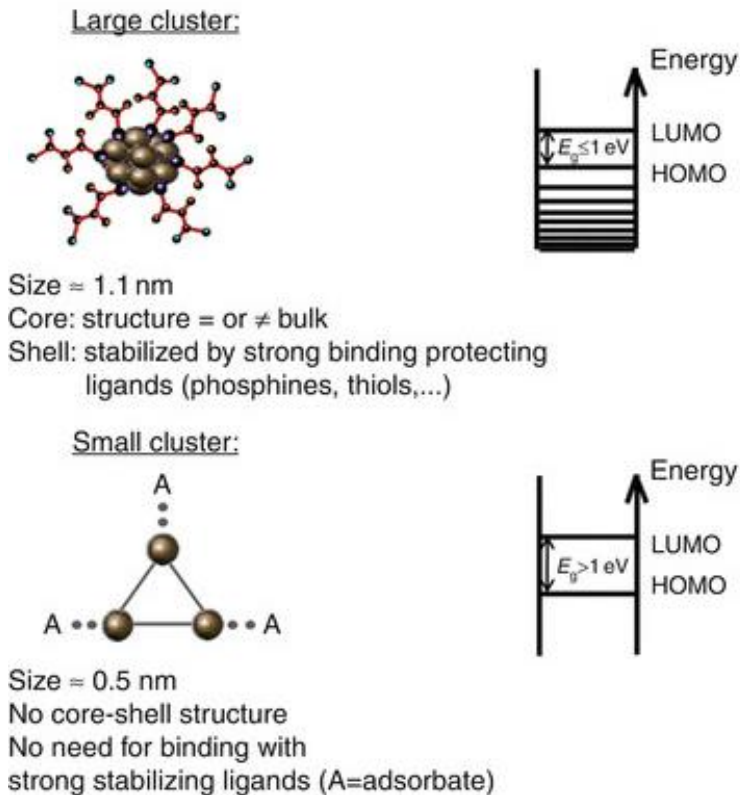


Figura 2-10 Diferencias entre tipos de clústeres (imagen extraída de la referencia ¹⁰).

En resumen, existen importantes diferencias entre las propiedades de nanopartículas y clústeres. Además, la presencia de efectos cuánticos en estos últimos hace que las mismas no varíen con el tamaño de la

Introducción

forma en que lo hacían en las nanopartículas y que dependan de una manera mucho más drástica del número de átomos. Este hecho puede representarse en una tabla periódica en 3D (Figura 2-11)¹⁰, en la que, entre los átomos y el material masivo de cada elemento, surge un nuevo número de materiales con diferentes propiedades dependientes del tamaño.

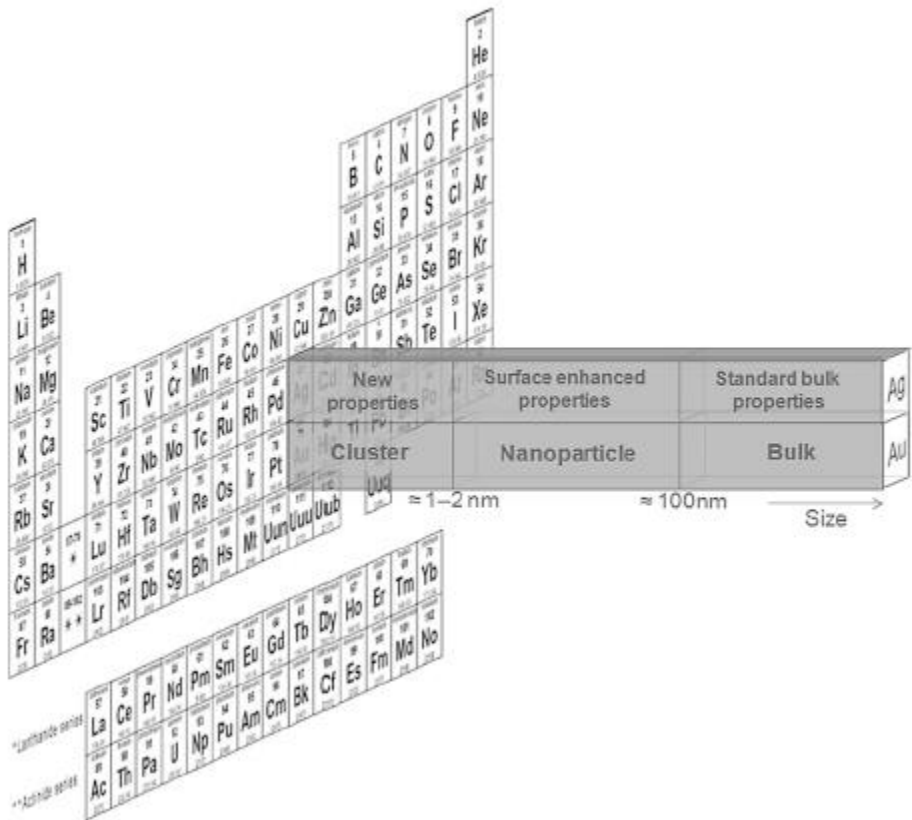


Figura 2-11 Tabla periódica en 3D, para poner de manifiesto las diferentes propiedades de la materia según el tamaño (imagen extraída de la referencia ¹⁰)

2.4 Estructura electrónica de los clústeres: Estabilidad y números mágicos.

Los primeros estudios sobre la estructura de los clústeres, fueron reportados por Knight y colaboradores¹¹ a principios de 1980, estudiando clústeres de sodio. Los clústeres fueron sintetizados vaporizando sodio y se caracterizaron inyectándolos en un espectrómetro de masas, observándose que los picos más intensos eran los compuestos por clústeres de $N = \{2, 8, 20, 43, 58 \text{ y } 92\}$ átomos. Sucesivos experimentos con otros metales alcalinos daban un patrón similar de números de átomos que parecían ser más estables y se refirieron a estos números como “números mágicos”. El concepto se tomó prestado de la física nuclear, donde algunos núcleos atómicos, con estructura en capas, son estables cuando presentan estos números mágicos en su composición de neutrones y protones, como puede ser $N = \{8, 20, 50, 82, 126\}$.

Es complicado hacer cálculos precisos de la estructura electrónica de los clústeres, particularmente cuando sólo están formados por más de unos pocos átomos y, sobre todo, cuando se encuentran en disolución estabilizados por moléculas orgánicas. Estas dificultades pueden evitarse, usando modelos simples como el “modelo del *Jellium*”¹², usado inicialmente para clústeres en fase gas.

En este modelo el clúster se reemplaza por una estructura electrónica en capas que consiste en un “*jellium*” esférico cargado positivamente rodeado de los electrones de valencia, en donde la energía total del clúster se expresa como función de la densidad local electrónica y del potencial del fondo de carga positiva. La aplicación de este modelo suele realizarse conjuntamente con cálculos DFT (Teoría del

Introducción

Funcional de la densidad) y la LDA (Aproximación Local de Densidad), para una simetría esférica cuyos pozos de potencial puedan ajustarse a las de un pozo infinitamente profundo y a las del pozo armónico 3D. Resolviendo la ecuación de Schrödinger en estas condiciones, se puede obtener un potencial efectivo total donde los electrones ocupan una estructura en capas, ordenadas en niveles de energía de acuerdo con el principio de Aufbau ($1S^2 \mid 1P^6 \mid 1D^{10} \mid 2S^2 \mid 1F^{14} \mid 2P^6 \mid 1G^{18} \mid \dots$), como se representa en la imagen. (Figura 2-12)¹³.

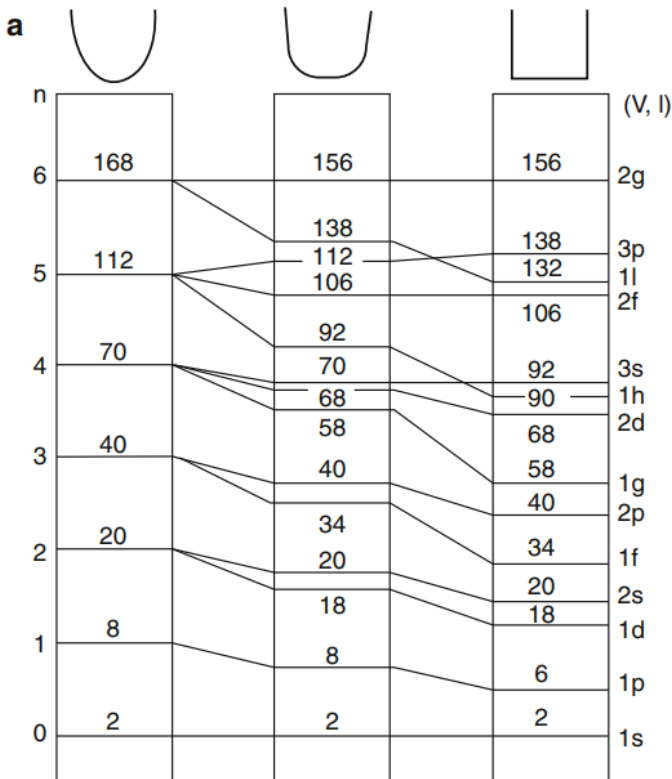


Figura 2-12 Ocupación de niveles de energía para Esferas 3D, armónicos, intermedios y de pozo cuadrado (Imagen extraída de la referencia ¹⁰)

Este modelo permite hacer buenas aproximaciones y reproducir muchas de las características físicoquímicas de los clústeres. La energía total en función del tamaño del clúster, calculada mediante esta aproximación, presenta discontinuidades asociadas a los niveles electrónicos llenos y que se corresponden con los clústeres más estables que poseen un número de átomos “mágico” (8, 18, 20, 34, 40, 58, 92, 138, etc. para metales alcalinos o que aporten un electrón a la capa de valencia como la de la plata, el oro, etc.).

2.5 Estructura geométrica

La estructura cristalina de las nanopartículas grandes es la misma que la de los cristales de tamaños microscópicos, salvo pequeñas diferencias en los parámetros de red. Pero para pequeñas partículas con diámetros $<5\text{nm}$, pueden darse estructuras diferentes. Por ejemplo, se ha demostrado que partículas de oro, con diámetros de 2-3nm, tienden a presentar una estructura icosaédrica en vez de la FCC (cúbica centrada en las caras) de los cristales microscópicos. Este hecho es importante, ya que una estructura diferente puede dar como resultado el cambio en muchas de sus propiedades¹⁴.

Haciendo uso del modelo del *Jellium* y la teoría del funcional de la densidad (DFT: alternativo a la solución de la ecuación de Schrödinger, donde el funcional de la energía electrónica es minimizado con respecto a la densidad electrónica.)¹⁵ que permite optimizar la geometría de mínima energía se ha podido comprobar que, en general, la geometría triangular es la más estable para clústeres en dos dimensiones, mientras que en tres dimensiones lo más usual es encontrar clústeres icosaédricos. No obstante, también

se pueden dar otros tipos de geometrías. En general, es importante destacar que cada clúster tiene una geometría bien definida estrictamente dependiente del tamaño y del elemento que lo compone. Como particularidad es de notar que existen numerosos estudios teóricos que muestran que los clústeres de Au de menos de 13 átomos y los de Ag y Cu de menos de $\approx 6/7$, tienen una geometría plana^{16,17}. En la Figura 2-13 se representan algunas de las estructuras predichas para clústeres de Au. (Ver sección Anexo 8.1 para estructuras de clústeres de cobre y plata)



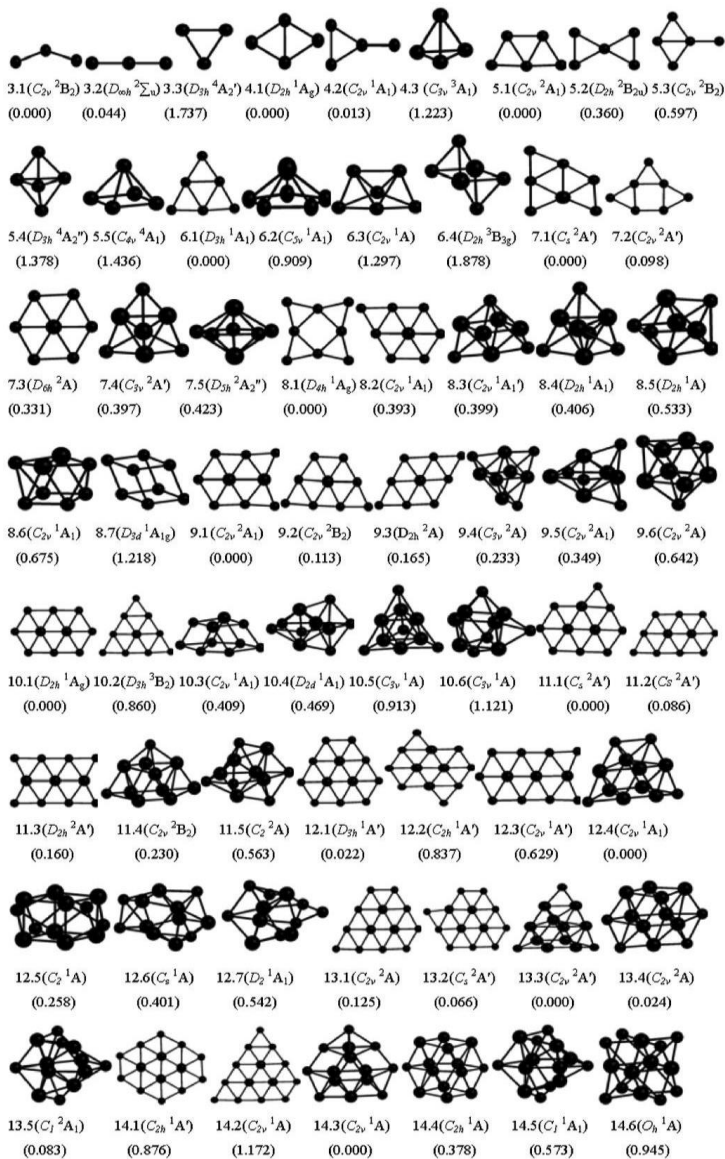


Figura 2-13 Estructuras calculadas teóricamente para clústeres de Au de hasta 14 átomos. Se muestran los datos de simetría, estados electrónicos y energías relativas (eV) de la estructura de mínima energía

2.6 Propiedades de los clústeres y aplicaciones

Los efectos de confinamiento cuántico (HOMO-LUMO Gap), el reducido tamaño (comparable a la longitud de onda de Fermi) y sus específicas geometrías dotan a los clústeres de nuevas y fascinantes propiedades. Tales como:

2.6.1 Fotoluminiscencia

El comportamiento similar a moléculas de unos pocos átomos en clústeres de metales nobles, y la presencia de un *band gap* similar a los semiconductores, que permite transiciones energéticas entre el orbital ocupado de mayor energía (HOMO) y el orbital desocupado de menor energía (LUMO) abre la puerta a la aparición de transiciones ópticas desde el UV-Visible al Infrarrojo cercano, convirtiendo a los clústeres en potenciales candidatos para aplicaciones en marcadores biológicos con fluorescencia, emisores de luz en nanoelectrónica, etc. Se ha estudiado que esta propiedad es estrictamente dependiente del *band gap* y por tanto del número de átomos que forman el clúster. Así clústeres grandes con un *band gap* pequeño emitirán fotones con mayor longitud de onda (menos energéticos) mientras que los clústeres pequeños, con un *band gap* mayor, emitirán fotones con menor longitud de onda (más energéticos). Otros factores que afectan son el tipo de metal puesto que, cambiando el metal del clúster, se cambia el nivel de Fermi, y relacionándolo con el modelo del *Jellium* ya visto, se ve que cambia la emisión para el mismo número de átomos si el metal varía, por poner un ejemplo Ag_3 y Cu_3 no tienen la misma emisión pese a estar formados por 3 átomos.

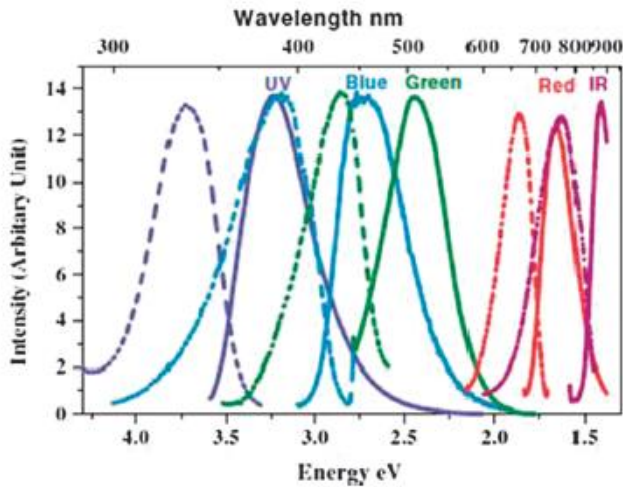


Figura 2-14 Espectros de excitación (líneas discontinuas) y emisión (líneas continuas) de diferentes clústeres de oro¹⁵

La principal aplicación de esta propiedad se puede encontrar en sensores químicos, frente a especies que *suprimen* (*quenching* en inglés, dicese de un proceso que decrece la intensidad de fluorescencia de una sustancia dada) su fluorescencia tales como cianuro¹⁸ o metales pesados como el mercurio¹⁹⁻²² o el plomo²³. También se han conseguido sintetizar un complejo de clústeres de oro, compuestos por un clúster pequeño unido a uno más grande (Au₆-Au₁₆ y Au₅-Au₁₄)²⁴, en nanosomas con capacidad de exhibir luminiscencia de larga duración y producir desplazamiento de Stokes (gracias a su capacidad de transferencia de carga entre los dos tipos de clústeres), resistentes al fotoblanqueo y con un rendimiento cuántico alrededor del 1-5% , que permiten su aplicación en variedad de sensores en áreas como el biodiagnóstico con mejoras en imagen, sensibilidad, detección, terapias y monitorización de cambios estructurales en biomoléculas^{25,26}.

2.6.2 Catálisis

En el campo de la catálisis de clústeres podemos hacer referencia a dos capacidades catalíticas características derivadas de sus propiedades más importantes^{27,28}, por un lado la alta relación de átomos superficiales en un clúster donde casi todos sus átomos están en superficie, a diferencia de las nanopartículas, y por otro la presencia de un *band gap* y una estructura electrónica que los hace altamente útiles en procesos de catálisis al tener orbitales HOMO-LUMO con los niveles energéticos adecuados para ayudar en transiciones energéticas en procesos de Reducción-Oxidación (Figura 2-15).

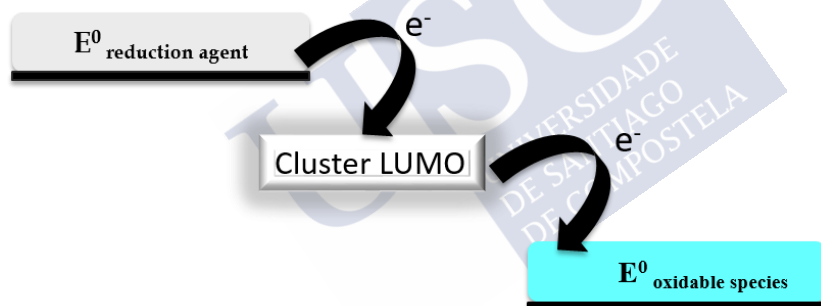


Figura 2-15 Esquema de la capacidad de los clústeres de transferir electrones a Temperatura ambiente

Las nuevas propiedades surgidas en el rango subnanométrico han hecho que por ejemplo, Haruta y colaboradores hayan reportado clústeres de oro²⁹ altamente estables, con tamaños inferiores a los dos nanómetros, que muestran alta actividad catalítica y selectividad de óxido de propileno (aproximadamente 82%) en la epoxidación de propeno con una mezcla de $O_2 + H_2$, que no sucede en nanopartículas de oro de más de 2nm y también clústeres tiolados de Au que

presentan actividad selectiva para oxidación e hidrogenación bajo condiciones suaves³⁰. Así mismo en el grupo de investigación se ha estudiado como clústeres de Oro con 5-10 átomos catalizan la oxidación aeróbica de tioles³¹ (Figura 2-16), todo esto a pesar de ser el oro en su condición de *bulk* un metal noble, bastante inerte a los procesos catalíticos.

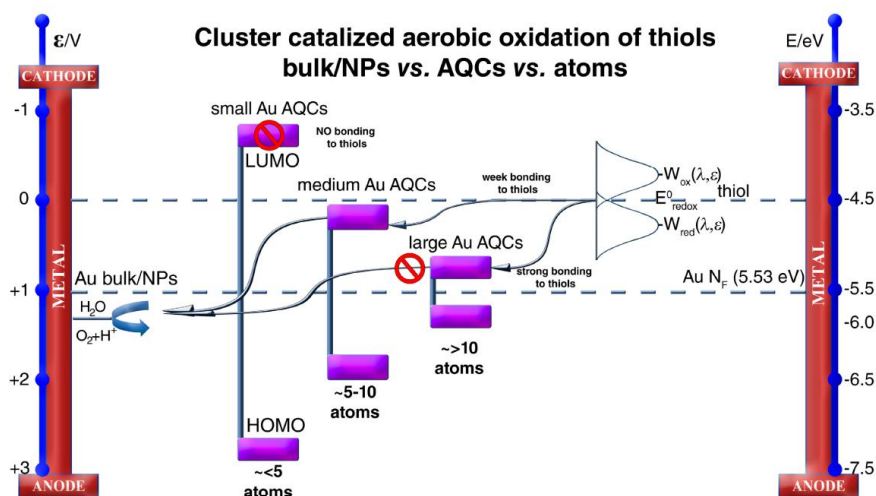


Figura 2-16 Representación esquemática de las rutas de oxidación de los tioles según tamaño de clústers, NPs u Oro *bulk*.

Por otra parte los clústeres de cobre (CuAQC < 20 átomos) presentan actividad catalítica en reacciones redox, como puede ser la reducción de azul de metileno a leucoazul de metileno⁹; clústeres de platino (PtAQC \approx 1,0nm) en procesos de electrooxidación de metanol³² o clústeres de plata en la oxidación de alcoholes (ver sección 2.6.3).

Todas estas capacidades catalíticas en clústeres no son debidas a su incremento en la relación superficie/volumen, si no al confinamiento cuántico y a los estados discretos de energía con aparición de un

HOMO-LUMO gap, cuya posición respecto a la especie frente a la que actúen es el factor determinante.

A mayores, clústeres de plata pequeños (2 o 3 átomos), tienen tendencia a ir a las interfases y adsorberse a planos preferenciales de nanosemillas de oro y catalizar de este modo su crecimiento anisotrópico hacia la formación de nanorods³³ (Figura 2-17). Este fenómeno también se da en presencia de sales de plata con la diferencia que la concentración entre clústeres y sales es del orden de tres órdenes de magnitud mayor para las sales frente a los clústeres, lo que sugeriría que durante la reacción con sales de plata se formarían clústeres que serán los encargados de dirigir el crecimiento, de tal forma que empleando clústeres desde el inicio se reduce la cinética del proceso y la cantidad de plata que se usa es mínima.

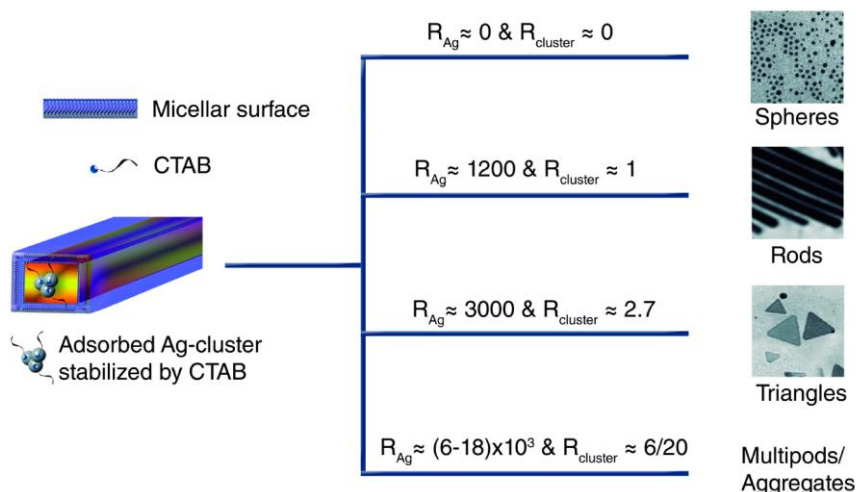


Figura 2-17 Crecimiento anisotrópico de Nanoestructuras de Oro, catalizadas por clústeres de plata

Una vez que estos clústeres de plata están unidos a los nanorods de Oro, puede generarse la producción de Hidrógeno³⁴ o fotodisolución

de los mismos según las especies implicadas en disolución³⁴ (Figura 2-18).

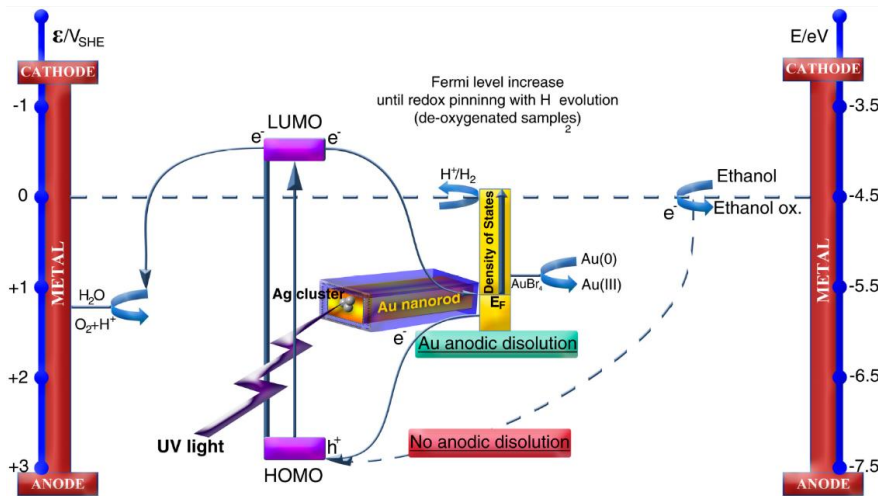


Figura 2-18 Representación esquemática de fotodisolución de Nanorods de Oros y producción de Hidrógeno por clusters de Plata

Si el oxígeno (aceptor de electrones) se elimina de la disolución, la irradiación de los clústeres en presencia de un dador de electrones genera una acumulación de electrones en el nanorod de oro que incrementan su nivel de Fermi, hasta llegar al nivel de potencial redox del H_2/H^+ haciendo que se genere hidrógeno.

Fenómenos similares a este, hacen de los clústeres prometedoros nanocatalizadores en conversión de energía limpia y los plantean como alternativa a los combustibles fósiles al poder aplicarse en células de combustible de hidrógeno. Los desafíos principales son sustituir al platino que es costoso y contaminante al producir CO como subproducto de la reacción³⁵, la degradación del catalizador y el sobrepotencial de reducción de la Reacción de Reducción de Oxígeno (ORR). En este sentido la oxidación de CO y la electroreducción de

oxígeno (ORR) catalizadas por clústeres de oro han sido dos de las reacciones más ampliamente estudiadas³⁶⁻⁴² mientras que, aunque menos estudiados, existen también casos reportados para clústeres de Ag⁴³ y Cu⁴⁴ que también presentan actividad catalítica en dicha reacción. Es necesaria más investigación, pero la alta estabilidad de los clústeres, su capacidad para depositarse bien en superficies y la ingeniería de *band gap* que poseen para jugar con los potenciales (Figura 2-16), postula a los clústeres cuánticos subnanométricos como unos de los posibles candidatos a substituir el platino y solventar así los problemas tecnológicos actuales, en busca de un mundo más limpio y eficiente energéticamente.

2.6.3 Actividad biomédica

Debido a su biocompatibilidad y su reducido tamaño que les permite atravesar las membranas celulares, se han realizado estudios biológicos en busca de nuevas aplicaciones, como por ejemplo la prevención de toxicidad por parte del alcohol en células de mamíferos con clústeres de plata⁴⁵ (Figura 2-19). Esta protección es posible primero por la capacidad de los clústeres de ser activos para la electro-oxidación de alcoholes a potenciales bajos (próximos a 0 V) a pH fisiológico y segundo por la tendencia de los clústeres de ir a las interfaces⁴⁶ que los hace interaccionar con la membrana celular. El potencial de membrana es suficiente para que los clústeres oxiden el etanol, metanol y butanol, protegiendo la célula de estos agentes tóxicos. Esto podría resultar de extrema importancia en el tratamiento de enfermedades asociadas a la ingesta excesiva de alcohol como es el síndrome de alcoholismo fetal (FAS)⁴⁷ y además abre la posibilidad de usar las células como fuente de energía para en conjunción con los clústeres realizar otras reacciones bioelectrocatalíticas.

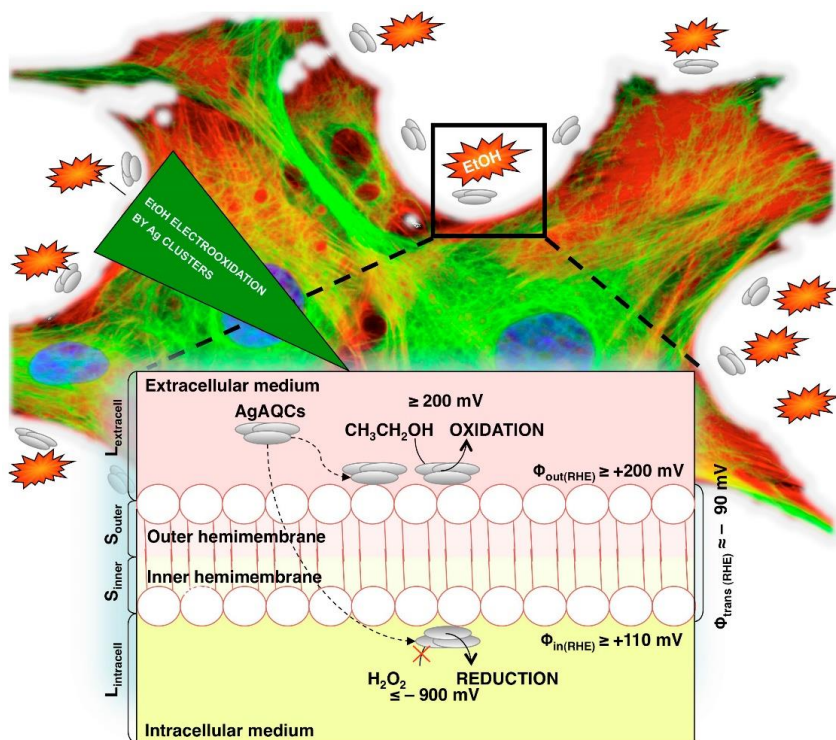


Figura 2-19 Esquema de la citoprotección de los clústeres de plata frente a etanol en células de mamíferos.

Las propiedades bactericidas de la plata son conocidas desde tiempos antiguos, sin embargo el mecanismo de acción no está claro. En este sentido, es de resaltar el estudio realizado recientemente por Neissa y colaboradores⁴⁸ en donde describen que clústeres de Ag pueden ser los responsables de esa gran actividad bactericida. Se ha visto que dichos clústeres son capaces de intercalarse en el ADN⁴⁹ (Figura 2-20) inhibiendo la interacción con las topoisomerasas, enzimas capaces de actuar sobre la topología del ADN y necesarias para la replicación del mismo y, por tanto, de las bacterias. Esta capacidad de interactuar con el ADN para evitar su replicación hace pensar en que puedan

usarse en un futuro como nuevos tipos de antibióticos, debido a la resistencia de las bacterias a los antibióticos actuales. También abre la puerta a futuras terapias contra el cáncer, ya que en el mismo estudio se observa como la interacción de los clústeres de 2 a 3 átomos de plata⁴⁹, presentan unos tiempos de interacción mayores que los intercaladores de ADN actuales, lo que hace pensar que podrían impedir que las células cancerígenas -con mayor velocidad de replicación que las células sanas- se puedan replicar, mientras que las células sanas, con menores tasas de replicación, se verían poco afectadas por la lenta disociación del complejo AgAQCs-ADN.

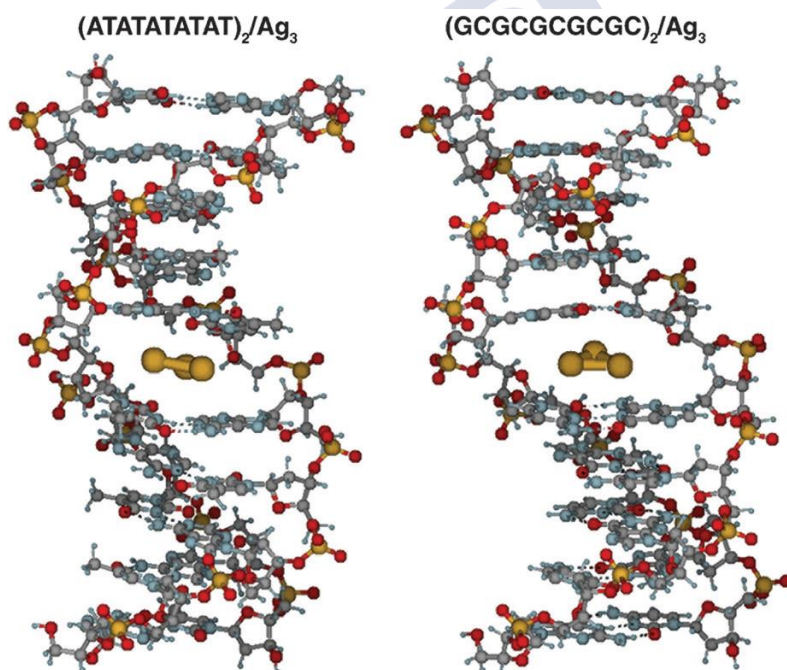


Figura 2-20. Estructuras de mínima energía de complejos $d(ATATATATAT)_2/Ag_3$ y $d(GCGCGCGCGC)_2/Ag_3$ obtenidos mediante cálculos QM/MM (combinación de mecanocuánticos y de mecánica molecular), mostrando la intercalación de un clúster Ag_3 entre el 5º y el 6º pares de bases (imagen tomada de la referencia:⁴⁹).

2.7 Síntesis de clústeres

Ya se ha hablado de las propiedades de los clústeres y de cómo cambiando el número de átomos se puede observar un cambio en las mismas, siendo posible pensar en la realización de una química a “la carta”, según las necesidades del experimento o de las reacciones químicas utilizadas en las industrias, lo que constituye un verdadero desafío para la química actual. Para ello se precisaría realizar síntesis de clústeres monodispersos que pudieran diferir en solamente 1 o 2 átomos. Una de las primeras síntesis de clústeres realizadas es un método físico, conocido como técnica de agregación en fase gas (Figura 2-21), En esta técnica se calienta, a altas temperaturas y a vacío, una lámina del metal del que se quieren formar los clústeres, produciéndose la evaporación de los átomos del metal. A continuación, los átomos se mezclan con una corriente de un gas inerte a bajas temperaturas, colisionando y perdiendo energía, y formando agregados de átomos que, después, se separaran con el empleo de campos magnéticos y se analizan en un espectrómetro de masas.

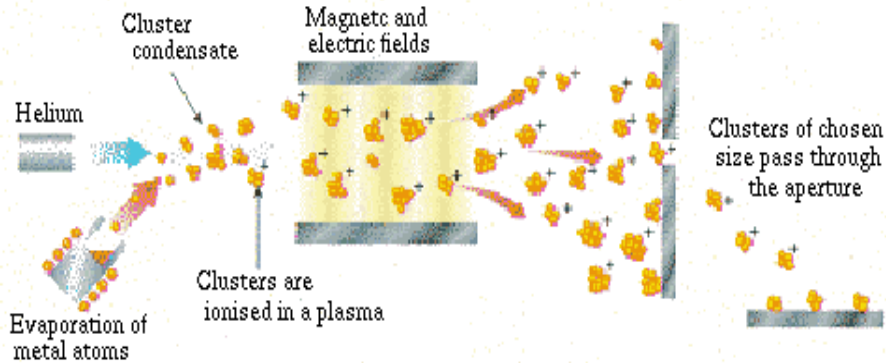


Figura 2-21 Ejemplo gráfico y resumido de la técnica de agregación en fase gas (imagen tomada de la referencia:⁵⁰)

Esta técnica permitió el estudio de clústeres a nivel experimental y la confirmación de los modelos desarrollados, como el de Jellium ya comentado. Sin embargo, debido a que – a pesar de su sofisticación – solo permite obtener cantidades pequeñísimas de clústeres depositados sobre sustratos, fue necesario buscar otras técnicas de síntesis escalables que no necesitasen de un sistema tan complejo de producción. Se optó entonces por métodos químicos que ofrecen síntesis más sencillas y un mayor grado de eficiencia. Estas técnicas pueden clasificarse en dos tipos: “*top down*” y “*bottom-up*”

2.7.1 Técnicas top-down

Técnicas “*top-down*” del inglés, que traducido al castellano significa de arriba abajo, implica que la síntesis de clústeres comienza a partir de partículas grandes, tales como micro/nanopartículas e incluso directamente a partir del material masivo. Dentro de este tipo de técnicas, el método más usado es el de *etching* (traducido como

troceado o corrosión) de nanopartículas, donde los clústeres son obtenidos mediante la acción corrosiva de ciertos agentes químicos, como pueden ser los tioles, capaces de eliminar átomos de la superficie de la estructura de la nanopartícula (ruta 1) o directamente provocar la ruptura de éstas en fragmentos de menor tamaño (ruta 2). Un típico ejemplo es usar ácido mercaptosuccínico⁵¹ (Figura 2-22), donde se puede controlar relativamente el tamaño de los clústeres obtenidos a partir del tamaño de la nanopartícula inicial y mediante el control del pH en el proceso de *etching*, obteniéndose así clústeres de 8 átomos empleando un pH de 7-8 y de alrededor de 25 átomos usando un pH de 3.



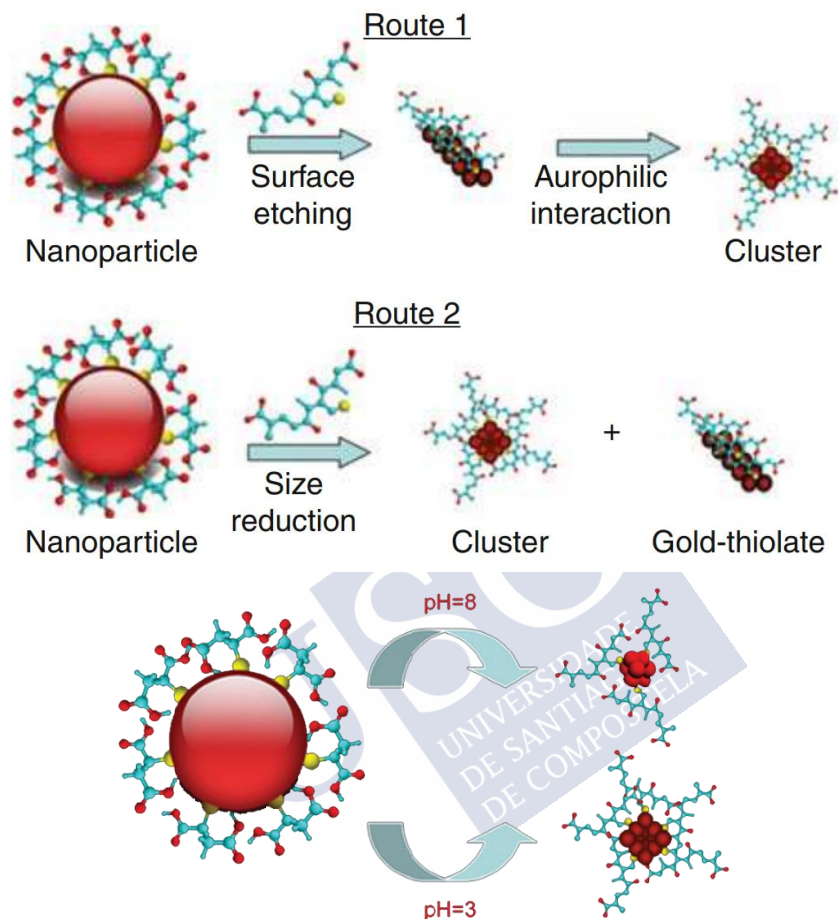


Figura 2-22. Esquema representativo de los dos tipos de ataques posibles en la formación de clústeres por etching de nanopartículas protegidas con ácido mercaptosuccínico⁵¹

Una de las consecuencias de este proceso, es que los clústeres quedan protegidos por una capa de ligandos tiolados, lo que puede enmascarar sus propiedades, lo que condiciona enormemente el método de síntesis. Así mismo, con esta técnica es complicado obtener clústeres de un número muy reducido de átomos ($\approx \leq 8$

átomos) ya que no suelen interactuar con este tipo de agentes corrosivos^{52,53}.

2.7.2 Técnicas bottom-up

En las técnicas “*bottom-up*”, traducido como de abajo a arriba, los clústeres se construyen desde los bloques más elementales, es decir, átomos o iones. Para ello se busca una reducción de los cationes del metal del que se quiere formar los clústeres, por diferentes métodos, entre los que destacan:

2.7.2.1 Reducción química por el método de Brust-Schiffrin

Esta síntesis consiste en la reducción química del precursor metálico del clúster que se quiera sintetizar. Para ello se suele utilizar una sal metálica y agentes reductores y ligandos protectores para conseguir crecer y estabilizar los clústeres. Estas reacciones pueden realizarse en una o dos fases. En el caso de realizar la reacción en dos fases, el precursor metálico se transfiere a la fase orgánica usando agentes de transferencia como el bromuro de tetraoctilamonio o largas cadenas de tioles. El tamaño y propiedades de los clústeres obtenidos por este método son consecuencia de optimizar y controlar factores tales como el ratio molar metal-ligando, el tipo de agente reductor, la estructura de los ligandos protectores, tiempo, temperatura, pH, etc.

2.7.2.2 Síntesis mediante plantillas (*template synthesis*)

Este método se basa en usar elementos que guíen y limiten el crecimiento y formación de los clústeres, usando como modelo diferentes elementos como polímeros⁵⁴, proteínas^{25,55-57}, dendrímeros^{58,59} o ADN⁶⁰⁻⁶³, obteniéndose diferentes tipos de clústeres dependiendo del proceso empleado.

2.7.2.3 Síntesis por microemulsión

Consiste en el uso de nanogotas de un disolvente insoluble en otro disolvente (por ejemplo, agua en aceite o, viceversa, aceite en agua). Para lograr la estabilidad termodinámica de las gotas (que luego se pueden utilizar como nanoreactores) se estabilizan con surfactantes o copolímeros de bloque. Controlando la concentración de reactivos en las gotas y la velocidad de reducción se es capaz de realizar la síntesis de clústeres, cuyo crecimiento se ve restringido por el tamaño de la gota. Mediante este método se han sintetizado, en el grupo de investigación al que pertenece la presente tesis doctoral, clústeres de plata menores de 10 átomos⁶⁴ y clústeres de cobre menores de 13 átomos con propiedades fluorescentes⁶⁵.

2.7.2.4 Síntesis mediante fotoreducción

Este método se basa en reducir una sal metálica por acción de la luz ultravioleta en presencia de ligandos. La ventaja de esta técnica es que no es necesario el empleo de agentes reductores, habiéndose reportado síntesis de clústeres de plata entre 2 y 8 átomos⁶⁶ y también usando dendrímeros como ligandos⁶⁷. Así mismo se han sintetizado clústeres de oro, plata y cobre con microgeles poliméricos⁶⁸ y otros ligandos como *template*⁶⁹.

2.7.2.5 Síntesis electroquímica

La síntesis electroquímica es una modificación del método de Reetz y Helbig⁷⁰, que fueron los primeros en utilizarla para la síntesis de nanopartículas. Desde entonces esta síntesis se ha optimizado para producir nanopartículas⁷¹, y pequeños clústeres de Au, Ag y Cu en el intervalo entre los 2 y \approx 20 átomos. La síntesis electroquímica tiene la ventaja de que permite un gran control cinético teniendo un excelente

control sobre los productos obtenidos. La síntesis consiste en una celda electroquímica, a temperatura controlada y bajo atmósfera de gas inerte (Nitrógeno, Argón, etc.) donde se enfrentan cara a cara un electrodo de una lámina metálica del mismo material del que se desean obtener los clústeres (electrodo de trabajo) y un contraelectrodo donde tiene lugar la reducción de los cationes. El electrodo de trabajo funciona como ánodo y el contraelectrodo de cátodo.

2.7.3 Síntesis de clústeres sin ligandos mediante control cinético

En los métodos presentados en el apartado anterior, casi todos coinciden en el empleo de diferentes agentes estabilizantes como surfactantes, polímeros anfifílicos, ligandos orgánicos, etc., con la finalidad de detener el crecimiento, estabilizando y evitando la agregación y evolución hacia nanopartículas, de mayores tamaños. Sin embargo, el empleo de estos ligandos protectores puede interferir en las propiedades de los clústeres al pasivar su superficie y/o modificando su *band gap*. Por eso es necesario disponer de métodos de síntesis de clústeres libres de ligandos, lo que se puede realizar mediante el control cinético.

Según la teoría clásica de nucleación y crecimiento (NGT) los núcleos formados, menores a un radio denominado crítico (r_{crit}) y menor a una energía libre crítica (ΔG_{crit}) que es la energía libre necesaria para formar esos núcleos, deberían ser inestables y disolverse en disolución. Por encima de estos valores el crecimiento es favorable dando lugar a NPs.

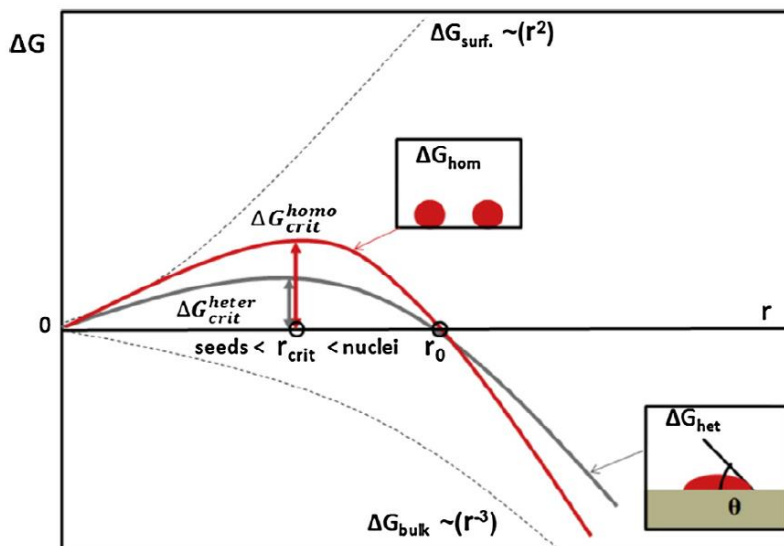


Figura 2-23 Diagrama de energía libre para nucleación homogénea y heterogénea, explicando la existencia de un radio crítico, en términos de competencia entre la energía para la formación de la nueva fase MM y la energía superficial (imagen tomada de la referencia:⁷²).

Sin embargo, ya hemos comentado anteriormente que los clústeres son especies muy estables debido a su confinamiento cuántico y con propiedades físicas que no pueden ser explicadas desde un punto de vista de la termodinámica clásica. Una vez que los clústeres se forman no pueden ser disueltos lo que contradice la base de la NGT, que no tiene en cuenta ni su formación ni su capacidad catalítica. La presencia de los clústeres obliga, pues, a modificar la NGT, entendiendo que es necesario modificar la variación de la energía libre de Gibbs en la síntesis de NPs, de forma que en vez de existir una única energía de activación en el paso de reactivos a productos (Figura 2-23) la curva de energía potencial ha de presentar varios pozos de estabilidad (Figura 2-24) correspondientes a los clústeres más estables que, para reacciones en fase gas, debería coincidir con un

número mágico de átomos (C_1, C_2, \dots).

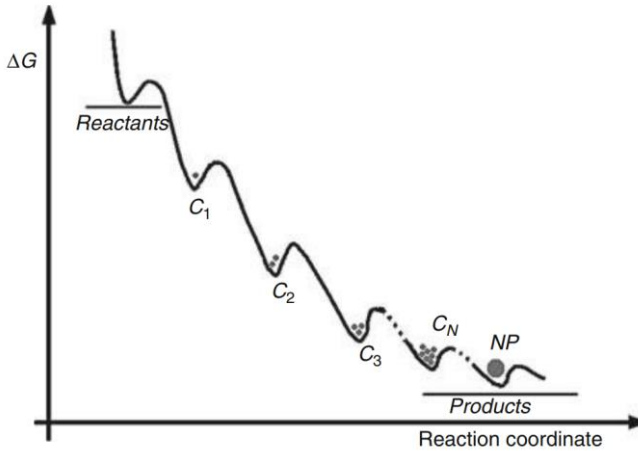


Figura 2-24 Representación esquemática de la variación de energía libre durante la síntesis química de nanopartículas asumiendo la formación de clústeres de diferentes estabilidades⁵²

El hecho que la síntesis transcurra a través de pozos de estabilidad, sugiere que los clústeres no desaparecen después de haberse formado (como se mencionó anteriormente), porque los clústeres no obedecen la hipótesis que establece la NGT clásica de formarse y disolverse continuamente⁵². Recientemente Kudera y Manna⁷³ han combinado los diagramas de energía (extraídos de las Figura 2-23 y Figura 2-24) en un único esquema (Figura 2-25) cualitativo de la evolución de la energía libre derivada de la nucleación clásica y la teoría del crecimiento en el que se incluye la existencia de clústeres catalíticos estables.

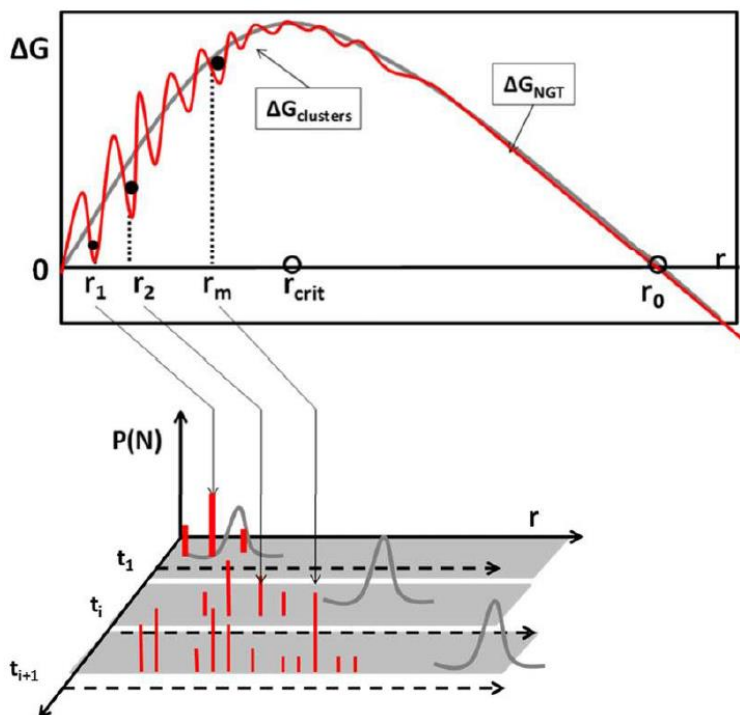


Figura 2-25 (A: figura superior) Comparación cualitativa de la evolución de la energía libre derivada de la teoría clásica NGT (ΔG_{NGT}) y la que incluye la existencia de clústeres estables ($\Delta G_{clúster}$). (B: figura inferior) Distribución de tamaños, $P(N)$, en el clásico proceso de nucleación, que evoluciona en el tiempo como una función continua del tamaño y distribución de tamaños en el proceso considerando la formación de clústeres, que favorece la presencia de un conjunto discreto de tamaños debido a su gran estabilidad (imagen tomada de la referencia:⁷²).

El proceso de síntesis debe transcurrir a través de varios pozos de estabilidad correspondientes a clústeres de átomos más estables junto con otros pozos menos profundos correspondientes a otros clústeres menos estables (Figura 2-25). De esta forma, mediante el control cinético de la reacción empleando condiciones suaves de síntesis (como por ejemplo en las condiciones utilizadas en los métodos electroquímicos) se puede detener la reacción en un punto determinado y producir de esa forma los clústeres estables

intermedios precursores de las nanopartículas. En principio, este esquema podría ser aplicado para la preparación de clústeres estables de cualquier tamaño, por debajo de la formación del primer núcleo estable, el cual correspondería ya a especies con estructura y propiedades similares a las del metal masivo.





3. Materiales, métodos y técnicas



3.1 Reactivos

Nombre	Fórmula química	Pureza (%)	Marca
Electrodo de cobre	Cu	99,9%	GoodFellow
Electrodo de plata	Ag	99,99%	GoodFellow
Electrodo de platino	Pt	99,95%	GoodFellow
Alambre de platino	Pt	99,95%	GoodFellow
Hidróxido de sodio	NaOH	98%	Sigma-Aldrich
Hidróxido de potasio	KOH	98%	Sigma-Aldrich
Ácido clorhídrico	HCl	36.5%	Sigma-Aldrich
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄	97%	Sigma-Aldrich
Ácido perclórico	HClO ₄	70%	Sigma-Aldrich
Ácido nítrico	HNO ₃	69.5%	Sigma-Aldrich
Cloruro de sodio	NaCl	99%	Sigma-Aldrich
Etanol	EtOH	99.8%	Fisher Scientific
Nitrato de cobre	Cu(NO ₃) ₂ ·3H ₂ O	98%	Sigma-Aldrich

Nitrato de plata	AgNO_3	99.9%	Sigma-Aldrich
Borohidruro de sodio	NaBH_4	98%	Sigma-Aldrich
Hipofosfito de sodio monohidratado	$\text{NaPO}_2\text{H}_2\text{H}_2\text{O}$	99%	Sigma-Aldrich
Ácido ascórbico	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	99%	Sigma-Aldrich
Ácido cítrico	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	99,5%	Sigma-Aldrich
Nitrato de tetrabutilamonio	$[\text{N}(\text{C}_4\text{H}_9)_4]\text{NO}_3$	99%	Sigma-Aldrich
Ácido etilendiaminotetraacético	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$	99.4%	ACS reagent
Bromuro de cetiltrimetilamonio	$((\text{C}_{16}\text{H}_{33})\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Br})$	99%	Sigma-Aldrich
Ag_3 (NGAP AQC Ag-1102-2)	Ag_3		Nanogap
Mica Moscovita	$\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_2$	Grado V-1	SPI Supplies
Carbono pirolítico altamente ordenado (HOPG)	C	ZYA	NT-MDT

3.2 Síntesis electroquímica

3.2.1 Procedimiento general

Los clústeres de cobre se obtienen usando un Autolab PGSTAT 20, una celda Methrom de 3 electrodos termostatizada, un electrodo de trabajo de cobre del 99,5% de pureza y con un área de 2,5cm², un contraelectrodo de platino (de las mismas dimensiones y pureza) y un electrodo de hidrógeno como electrodo de referencia. Los electrodos se sitúan verticalmente a una distancia de 1 cm. El electrolito de la síntesis es agua Mili-Q pura (conductividad ≈6,26 μΩ/cm) para tener poca conductividad y lograr un mayor control cinético, burbujeándose N₂ gas durante 30min para desoxigenar la disolución y evitar la formación de óxidos de cobre. La síntesis se lleva a cabo a temperatura constante (12 o 50°C), a un potencial de 1V durante 1000s (o 3000s) y con fuerte agitación magnética.

Los electrodos de trabajo y contraelectrodo requieren una limpieza previa para eliminar óxidos y posibles impurezas. Para la limpieza del electrodo de trabajo se lija con lija de grano 600 seguido de un pulido con alúmina (óxido de aluminio de 50nm), se limpia abundantemente con agua Mili-Q y se sónica para eliminar el exceso de alúmina. El electrodo de platino se pule sólo con alúmina y se realiza una limpieza electroquímica (voltametría cíclica) en una disolución al 50% de metanol 1M e hidróxido de sodio también 1M. A continuación, se repite la voltametría cíclica en ácido sulfúrico (H₂SO₄ 1M) y se comprueba que la voltametría sea la correcta.

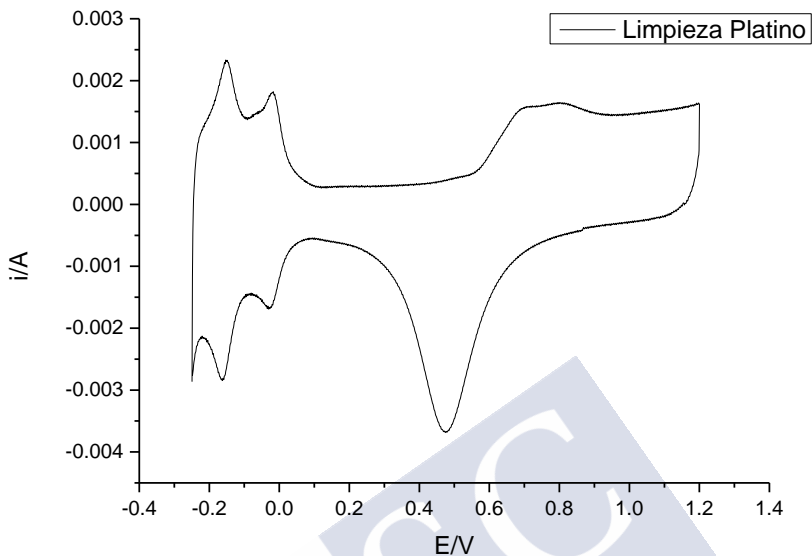


Figura 3-1 Voltametría cíclica de platino para comprobar su limpieza

En la voltametría de platino se observa la formación del óxido y posterior reducción del metal en el intervalo de potencial entre +0.3V y +1.2V, y los picos de adsorción/desorción de hidrógeno a potenciales bajos. Además, a corrientes positivas en el intervalo entre +0.0 y +0.6V la relación i/E es plana, indicando la ausencia de contaminantes en la superficie del platino.

3.2.2 Eliminación de iones

Para eliminar el exceso de iones Cu^{2+} generados durante la síntesis se empleó una disolución de NaOH 1 M, basificando el medio hasta pH 12, y precipitando los iones en forma de hidróxidos de cobre. El precipitado de cobre formado tras la adición del NaOH fue filtrado a vacío usando un kitasato de 1000 mL y una placa filtrante de 65 mm

de diámetro con filtros de marca MF-Millipore VCWP04700 (de ésteres de celulosa, hidrófilos) de 47 mm de diámetro y 0,1 μm de tamaño de poro. Posteriormente la disolución es neutralizada a pH 7 con ácido perclórico 1M.

3.2.3 Concentración de la muestra

Después de la etapa de purificación todas las muestras fueron concentradas a vacío usando un rotavapor BÜCHI R-210 provisto de una bomba de vacío Fisherbrand ILMVAC FB65454.

3.3 Técnicas de caracterización

3.3.1 Caracterización por espectroscopia ultravioleta-visible (UV-VIS)

La caracterización por espectroscopia UV-Vis se basa en la interacción de la materia con las ondas electromagnéticas de la luz, aportando tanto un análisis cualitativo como cuantitativo. La materia está constituida por átomos y moléculas, cuya energía es una combinación de energía de rotación, vibración y electrónica.

$$E_T = E_{e-} + E_{vib} + E_{rot} \text{ (Para las especies moleculares)}$$

$$E_T = E_{e-} \text{ (Para las especies atómicas)}$$

Las energías de vibración y rotación son específicas de las moléculas ya que los átomos neutros y los iones monoatómicos no pueden ni vibrar ni rotar, por lo que solo presentarán energía electrónica.

Según la mecánica cuántica, las energías están cuantizadas por lo que cada especie contiene un número determinado de niveles energéticos,

siendo el más poblado el de menor energía. Cuando la radiación electromagnética (un fotón) interacciona con la materia, ésta se absorbe, causando la promoción de un electrón del estado fundamental a un estado excitado. La especie puede absorber un fotón, incrementando su energía siempre y cuando la energía del fotón sea equivalente a la diferencia de energía entre los estados energéticos involucrados. De forma inversa, una molécula puede emitir un fotón disminuyendo la energía, al pasar desde un estado excitado al estado fundamental.

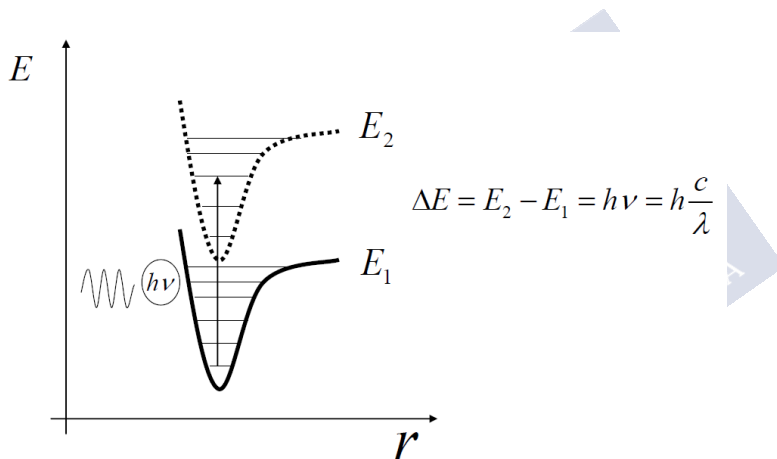


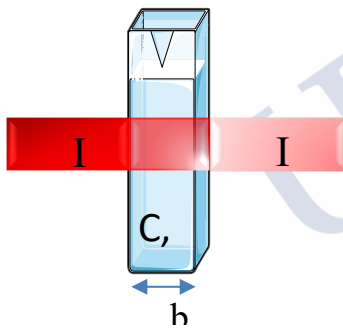
Figura 3-2 Proceso de absorción molecular, donde E1 representa el estado electrónico fundamental y E2 el primer estado excitado

Otro tipo de interacción de la radiación electromagnética con la materia, pero que no involucra transiciones entre estados cuantizados es la dispersión, que es una difusión multidireccional debido al choque con partículas de tamaño menor o mayor que la longitud de onda de la radiación. Si el tamaño de la partícula es mucho menor que la longitud de onda de la radiación dispersada (aproximadamente $d < \lambda/10$) se conoce como dispersión Rayleigh y si

la partícula es mayor (aproximadamente $d > \lambda/10$) se conoce como la dispersión Mie.

La absorción en la región UV-Visible está relacionada con las transiciones electrónicas.

Cuando se hace pasar un haz de luz a través de una muestra, ésta disminuye su intensidad en función del número de especies absorbentes, su capacidad de absorción y el trayecto recorrido por el haz en el medio. La Ley de Lambert-Beer establece que, con condiciones experimentales fijas, tales como la longitud de onda de la radiación, el camino óptico, la temperatura, etc., la absorbancia de la especie química varía directamente con la concentración.



I_0 = Intensidad inicial del haz de luz

I_1 = Intensidad final del haz de luz

C = concentración de la muestra

α = absorptividad molar de la especie presente

b = camino óptico en el medio absorbente

$$A = \log \frac{I_0}{I_1} = abc$$

La espectroscopia UV-Vis es extremadamente útil en la caracterización de nanopartículas metálicas debido a la absorción de resonancia plasmónica de los electrones libres en la superficie de las NPs. Por ejemplo, las nanopartículas esféricas de Au, Ag y Cu de

tamaños aproximados entre 2-5nm presentan bandas plasmónicas a 520nm, 420nm y 570 nm respectivamente. Pero, al reducirse el tamaño de la partícula, esta resonancia plasmónica desaparece por debajo de los 2nm debido a la pérdida del carácter metálico y al confinamiento cuántico de los electrones, apareciendo en su lugar bandas de absorción más definidas. Para clústeres grandes con *band gaps* similares a los semiconductores presentan un continuo aumento de la absorción con la energía al disminuir la longitud de onda de la radiación. Clústeres más pequeños, con un *band gap* HOMO-LUMO similar a átomos o moléculas, presentan bandas discretas en la región UV-VIS, con mayor *band gap* a menor tamaño del clúster. Por todos estos motivos la técnica UV-VIS es muy útil ya que nos permite distinguir de forma sencilla la presencia de clústeres, determinar de forma aproximada si se trata de clústeres grandes o pequeños y colegir además la presencia de NPs, tal como se muestra en las Figura 3-3 y 3-4.

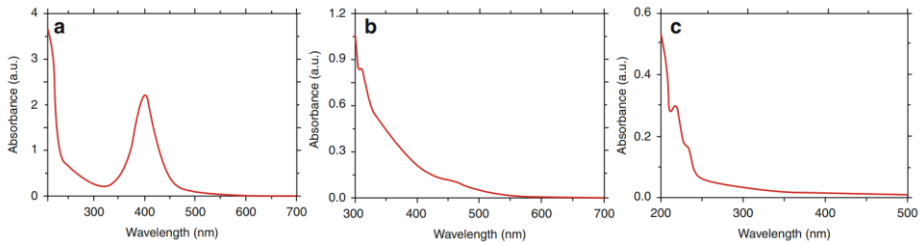


Figura 3-3 Espectros de absorción UV-visible de (A) nanopartículas de plata, (B) clústeres de plata de tamaño grande y (C) clústeres de plata de tamaño pequeño (ref:¹⁰).

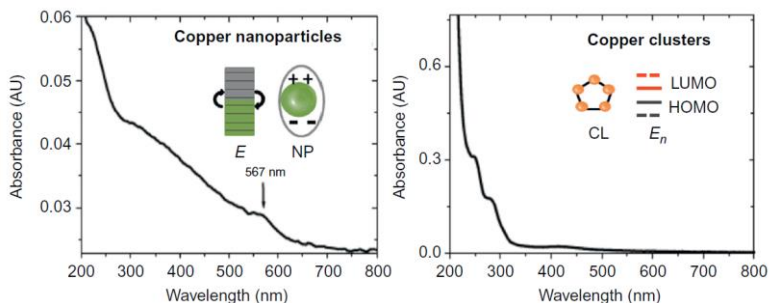


Figura 3-4 Espectros de absorción UV-visible de nanopartículas y clústeres de cobre (ref:⁷⁴).

Los espectros UV-Visible se han realizado con un espectrofotómetro Thermo Evolution 300. Para la medición de los espectros se utilizaron cubetas de cuarzo modelo Hellma 111-QS con un paso óptico de 1cm.

3.3.2 Caracterización por espectroscopia de fluorescencia

La fluorescencia es un método espectroscópico de análisis donde las moléculas de la muestra son irradiadas a una determinada longitud de onda, excitándose y emitiendo radiación a otra longitud de onda. El espectro de emisión provee información cualitativa y cuantitativa y, además, en el caso concreto de los clústeres nos permitirá deducir el número de átomos aproximado del clúster. Como se muestra en el siguiente diagrama, cuando la luz de una determinada longitud de onda es absorbida por una molécula el estado electrónico de la molécula cambia de un estado fundamental a otro excitado, pudiendo acabar en diferentes estados vibracionales del estado excitado. Generalmente el electrón en el estado S_0 es excitado al estado S_1 y, una vez que está en el estado excitado la relajación del sistema puede ocurrir de varias formas. La fluorescencia es uno de esos procesos y tiene como resultado la emisión de luz (Figura 3-5).

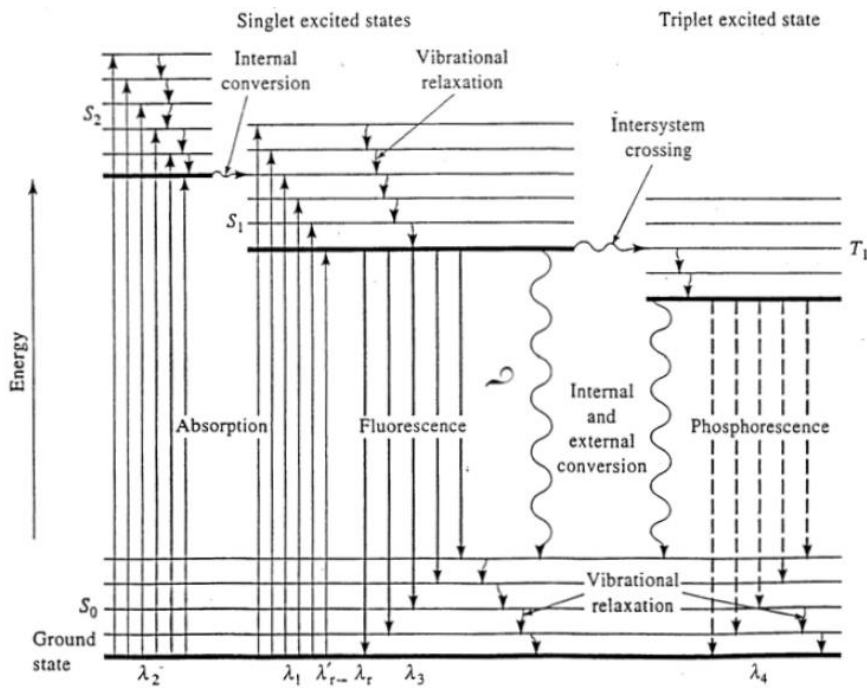


Figura 3-5 Diagrama de Jablonski, presentando los diferentes niveles energéticos y las posibles transiciones energéticas

Uno de los aspectos más interesantes de esta técnica, es su sensibilidad, con límites de detección mucho mayores que la espectroscopia UV-VIS, lo que facilita mucho el poder trabajar con muestras muy diluidas o de baja concentración. Por otra parte, se ha visto también que la luminiscencia de los clústeres es una propiedad que depende del tamaño de los mismos, por lo que, a partir de la energía del máximo de emisión observado en los experimentos de fluorescencia y, tomando esta energía como una aproximación de la energía del *band gap* (E_g) y utilizando la ecuación del modelo de "Jellium" (*Error! Reference source not found.*) se puede determinar el número promedio de átomos de los clústeres que componen una muestra y estimar así la monodispersidad de la misma.

Zheng y colaboradores⁷⁵ comprobaron esta relación para la emisión de fluorescencia en clústeres pequeños de oro observando que la energía de emisión (E_g) decrece a medida que se incrementa el número de átomos del clúster. Esta relación ha demostrado ser una buena aproximación para clústeres pequeños de menos de 20 átomos, especialmente cuando se encuentran sin ligandos protectores.

Los estudios de fluorescencia (emisión y excitación) se realizaron en un fluorímetro Varian Cary Eclipse (Lámpara de Xenón 80Hz y 75W) a las longitudes de onda requeridas en cada caso. Para la medición de los espectros se utilizaron cubetas de cuarzo modelo Hellma 111-QS con un paso óptico de 1cm.

3.3.3 Caracterización por espectrometría de masas

La espectrometría de masas (mass spectrometry, MS) surge como necesidad en el análisis de biomoléculas al final de la década de los años 70, con la aparición de diversas técnicas de ionización suave, como la desorción por plasma (PD) y la ionización por bombardeo con átomos rápidos (FAB) (Roepstorff y Richter, 1992). Estas técnicas permitían la ionización de moléculas termolábiles de gran tamaño, como los péptidos y las proteínas, sin producir la extensiva degradación característica de las denominadas técnicas de ionización dura, cuyo representante de referencia es el impacto electrónico. En especial el FAB (Barber et al., 1981), desarrollado a partir de las técnicas de espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS), constituyó la herramienta básica para el análisis y secuenciación de péptidos durante más de una década. Posteriormente, en el inicio de los años 90, otros dos métodos de ionización suave, el electrospray (ESI) y la desorción por láser asistida por matriz (MALDI), tomaron el

relevo al FAB y se constituyeron en los pilares básicos de la espectrometría de masas en la proteómica contemporánea.

La espectrometría de masas es un método microanalítico para determinar el peso atómico o molecular con la ventaja de que necesita muy poca cantidad de muestra, y permite determinar la información básica para determinar la estructura de las muestras.

La espectrometría de masas depende de las reacciones químicas en fase gas donde la muestra se consume durante la formación (más bien fragmentación) de especies iónicas y neutras, para su posterior detección, identificación y cuantificación basada en la relación masa/carga de las especies presentes. La formación de especies iónicas se lleva a cabo con diferentes tipos de métodos de ionización como, por ejemplo:

- Electro Ionización (EI): Una de las primeras técnicas de ionización para espectrometría de masas⁷⁶, donde las moléculas de la muestra son bombardeadas por un haz de electrones formado al calentar un filamento metálico con un voltaje negativo respecto al de la fuente. El haz de electrones propulsa un ion desde la fase gas a la molécula produciendo un ion radicalario. Esta técnica se considera ionización fuerte y no es, por lo tanto, útil para caracterización de pequeños clústeres, ya que causa su fragmentación en iones más pequeños.
- Bombardeo por átomos rápidos (FAB): Técnica muy popular en los 80s (desarrollado por Barber y col.^{77,78}) y principios de los 90s ya que fue la primera técnica que permitió la ionización de compuestos no volátiles. Funcionaba mediante bombardeo de la muestra a vacío con un haz de átomos,

generalmente argón o xenón (aunque se ha visto que con átomos de cesio el proceso es más efectivo), acelerados hasta alcanzar energías de Kilovoltios. La muestra, suele mezclarse con una matriz (generalmente un ácido orgánico) que actúa como transmisor de la energía del haz, protegiendo a la muestra de los efectos del bombardeo directo y que, además, actúa como medio prótico polar necesario para la ionización.

- Desorción por láser asistida por matriz (MALDI): En MALDI la muestra se introduce mezclada con una matriz (al igual que FAB, un ácido orgánico que absorbe radiación UV) y se deposita en una superficie donde se evaporará el disolvente. A continuación, un láser UV volatiliza la muestra que reacciona con iones en el plasma para formar moléculas catiónicas. Es una técnica de ionización suave (salvo que el láser sea de muy alta energía) y funciona con compuestos ionizados o compuestos que pueden ser protonados o sodiados y es especialmente útil para grandes moléculas como proteínas o polímeros, ya que su primera aplicación fue en los 70 para determinar microorganismos⁷⁹.
- Ionización por electrospray (ESI): La técnica ESI fue desarrollada simultáneamente por los grupos de Fenn⁸⁰ y Aleksandrov⁸¹ durante los años 80. Es una técnica de ionización a presión atmosférica en la que, mediante la aplicación de un fuerte campo eléctrico, se produce la nebulización de una disolución del analito a su salida de un tubo capilar. En este proceso los iones presentes en fase líquida pueden ser desorbidos a la fase gaseosa de una forma tan suave que se pueden conservar incluso complejos moleculares derivados de interacciones no covalentes existentes en la solución. La ionización por ESI genera iones

multicargados siendo la extensión de la carga dependiente del pH de la disolución y del número de grupos básicos (o ácidos) de la molécula.

- Ionización química a presión atmosférica (APCI): el APCI es un método que normalmente se realiza con una fuente similar a ESI, pero en lugar de aplicar un voltaje al aerosol, el voltaje se aplica a una aguja que crea una descarga corona a presiones atmosféricas. Esta descarga crea iones, en teoría, principalmente H_3O^+ o clústeres de agua. La muestra se inyecta en la cámara de descarga mediante un spray creado por un flujo de líquido combinado con un gas calentado que volatiliza la muestra. Los iones se forman por transferencia de protones desde el H_3O^+ o los clústeres de agua a la muestra. Estos iones se extraen luego en el mismo vacío de apertura que se utiliza para electrospray. Otra variante de esta técnica es la fotoionización a presión atmosférica (APPI), donde los fotones de luz ultravioleta se utilizan para ionizar moléculas de muestra. La técnica funciona bien con compuestos no polares o de baja polaridad no ionizados eficientemente por otras fuentes de ionización.

La precisión en las medidas de masas es imprescindible para la determinación de la fórmula empírica molecular, especialmente para pequeñas moléculas y clústeres. Hasta ahora diferentes técnicas de espectrometría de masas tales como LDI-TOF⁸², MALDI-TOF⁸³ y ESI⁸⁴, se han venido usando para el estudio de los clústeres. En esta tesis nos hemos centrado en la espectroscopia ESI-TOF por ser la que mejores resultados ha dado en nuestro laboratorio a lo largo de los últimos años.

Los espectros de masas han sido realizados usando un equipo de espectrometría de masas BRUKER MicroTOF operando en modo de ionización negativa. Se empleó control de temperatura y flujo de nitrógeno seco (1 $\mu\text{L}/144$ min) en la fuente de ESI para ayudar en el proceso de ionización. Todos los espectros se adquirieron en modo de Reflectron del espectrómetro de masas TOF equipado con detección acumulativa para obtener una máxima sensibilidad, 15000 (fwhm); se observó una resolución isotópica en todo el intervalo de masas detectado. Los espectros se registraron en modo de iones negativos y se promediaron a partir de la realización de 300 medidas. Para un análisis de exploración de MS completo, los espectros se registraron en el intervalo de 100m/z a 1000 m/z.

Los espectros de masas de la síntesis fotoquímica fueron realizados con un equipo de espectrometría de masas WATERS ACQUITY QDa Mass Detector, operando en modo de ionización negativa. También se empleó control de temperatura y flujo de nitrógeno seco en la fuente de ESI para ayudar al proceso de ionización.

3.3.4 Caracterización por espectroscopias de rayos X

La espectroscopia fotoelectrónica es una técnica analítica superficial que puede aportar información sobre la estequiometría, el estado químico y la estructura electrónica de los elementos. La técnica se basa en el efecto fotoeléctrico explicado por Einstein a principios de 1900, refiriéndose a la emisión de electrones debido a la incidencia sobre la superficie de un fotón (Figura 3-6). La técnica fue desarrollada por Siegbahn y colaboradores a mediados de los 60, y consiste en analizar una superficie mediante irradiación con fotones de rayos X. Debido al breve camino libre medio del fotoelectrón en los sólidos,

esta técnica solo permite dar información de la composición desde la superficie hasta aprox. 1-5nm de profundidad.

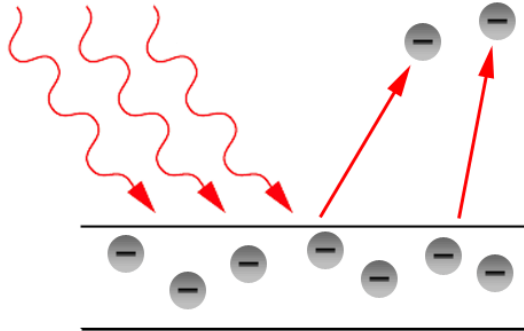


Figura 3-6 Diagrama simplificado del efecto fotoeléctrico

En la espectroscopia de rayos X, las transiciones involucradas pueden ser de absorción (XAS, espectroscopia de absorción de Rayos X) o de emisión (XPS, espectroscopia fotoelectrónica de rayos X). La principal diferencia en ambas técnicas es que en XPS se excita un electrón del “core” al vacío, y en XAS se estudian transiciones desde el estado fundamental al estado excitado (Figura 3-7).

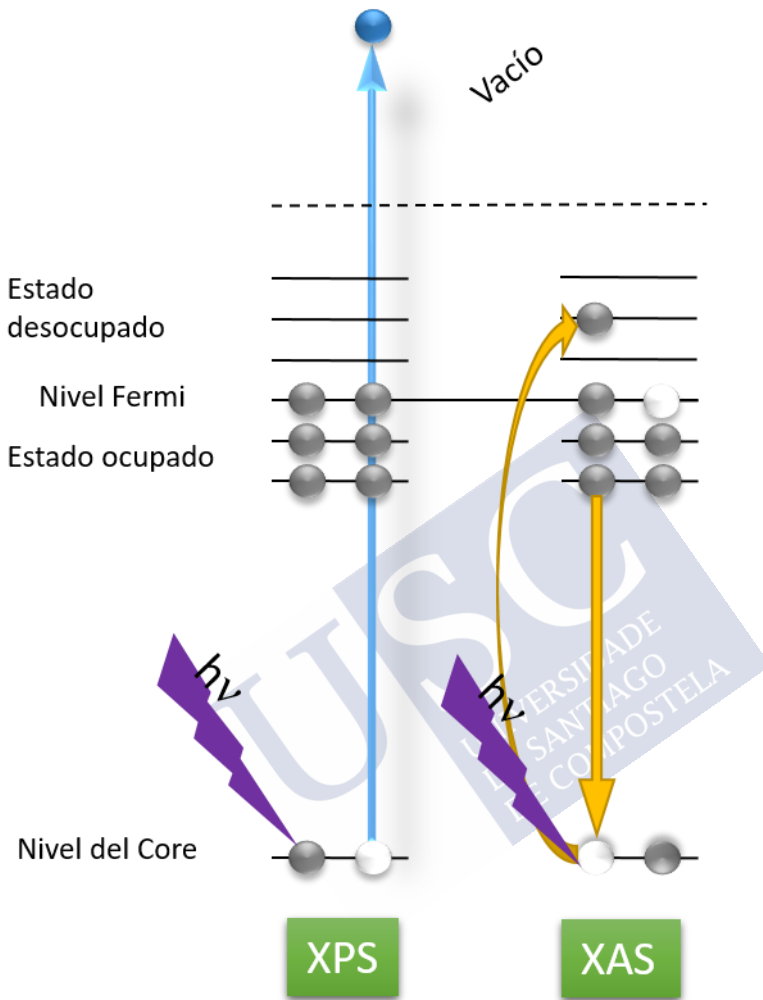


Figura 3-7 Diagrama simple que muestra las diferencias entre XPS y XAS

Aunque ambas técnicas se basan en la interacción “absorción fotón”/ “emisión electrón”, para XPS la energía del fotón incidente está fijada para el elemento a analizar, y el resultado es un espectro donde se

representa un barrido de la energía cinética de los electrones emitidos frente al número de electrones con esa energía. Para el XAS, el espectro es un barrido de la energía incidente de los fotones frente a la suma de los electrones emitidos cuando la muestra se irradia con el fotón de una energía determinada (Figura 3-8).

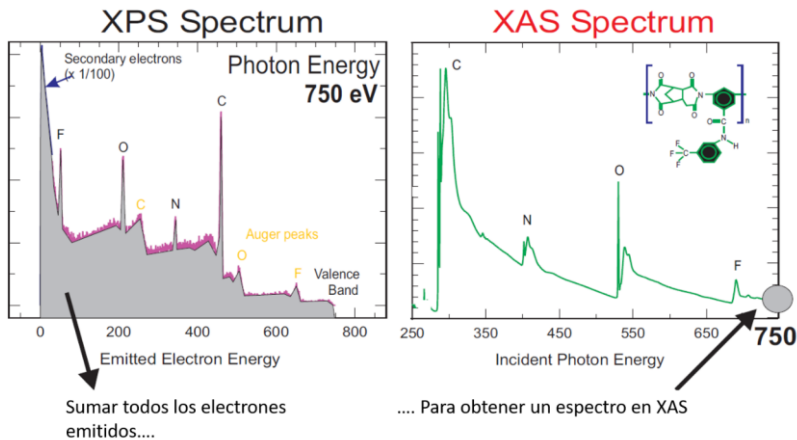


Figura 3-8 Relación entre XPS y XAS. La intensidad en XAS dada a un fotón incidente es equivalente a la energía integrada del espectro de XPS (Ref. ⁸⁵)

3.3.5 Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)

La caracterización por XPS se basa en el cálculo de la energía de enlace o energía de ionización para cierto nivel, permitiendo identificar desde qué orbital el electrón es emitido (1S, 2S, 2P, etc.)

El fotoelectrón emitido tiene una energía cinética (KE) dada por la ecuación:

$$KE = h\nu - BE - \varphi_{spec}$$

Siendo BE = energía de enlace del electrón y φ_{spec} = función de trabajo del material utilizado en el espectrofotómetro.

Cada átomo en la muestra tiene energías de enlace características para los electrones de las capas internas, conocidas como bordes de absorción. Para excitar esos electrones los fotones incidentes deben de tener como mínimo esa energía, y cuando se consigue se produce una gran absorción seguida de la liberación de un fotoelectrón con exceso de energía cinética para relajar el átomo a su estado fundamental. La posibilidad de discriminar los diferentes estados de oxidación y entornos químicos a partir de las energías registradas es lo que hace que el XPS sea una técnica muy importante en la caracterización de materiales

3.3.6 Espectroscopia de adsorción de rayos X (XAS)

La absorción por espectroscopia de Rayos X se obtiene controlando la energía del fotón usando un monocromador cristalino, donde los electrones del núcleo pueden ser excitados con energías en el intervalo 0,1-100 keV. Los bordes de absorción se nombran según el número cuántico principal del electrón, siendo $n= 1, 2$ y 3 , que se corresponden con los bordes K, L y M respectivamente.

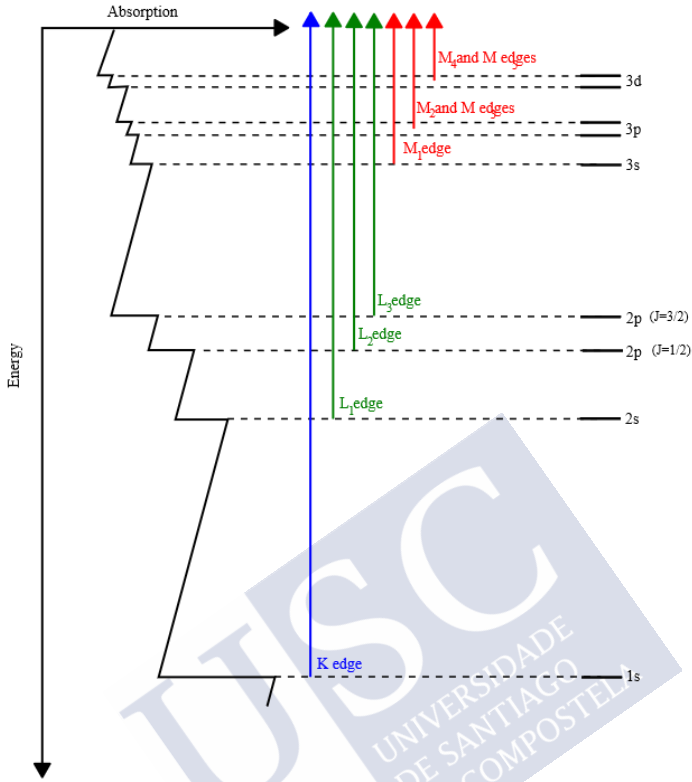


Figura 3-9 Diagrama de las transiciones de los bordes de absorción en XAS. (Figura cortesía de Wikipedia)

Por ejemplo, una transición de un electrón en el 1s ocurre en el borde K, mientras que en los orbitales 2s o 2p ocurren en el borde L.

En un espectro de XAS, podemos distinguir 2 zonas (Figura 3-10):

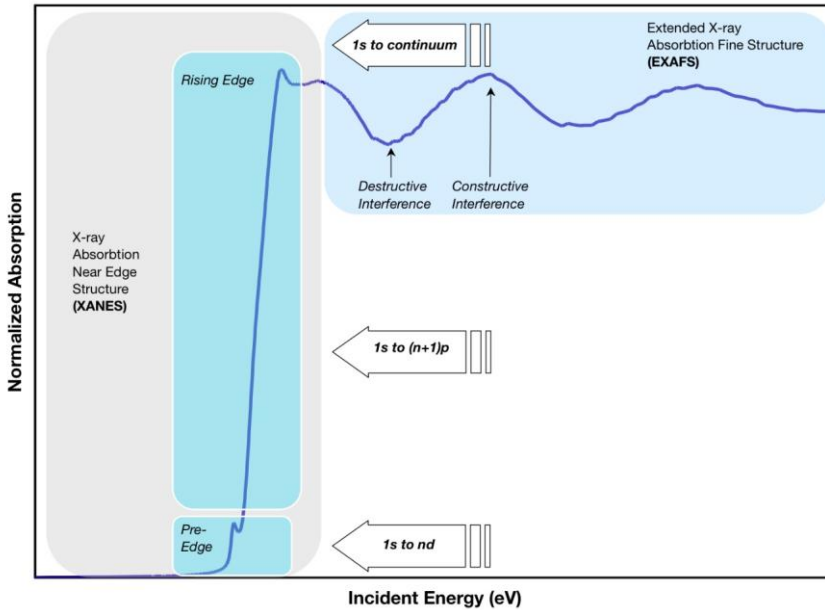


Figura 3-10 Ilustración esquemática del borde de absorción de Rayos-X. (Figura cortesía de Wikipedia)

- La región de XANES o NEXAFS, del inglés X-Ray Absorption Near-Edge Spectroscopy o Near-Edge X-ray Absorption Fine Structure, que se extiende desde el borde de absorción hasta 50eV por encima debido a efectos de scattering.
- Región de EXAFS, del inglés Extended X-ray Absorption Fine Structure, que se debe principalmente a scattering simple.

Para los trabajos realizados en esta tesis, utilizamos la técnica de NEXAFS, puesto que nos permite conocer el estado de oxidación y el entorno químico de los átomos, determinando la adsorción de moléculas sobre una superficie. Como punto negativo cabe decir que la interpretación de la estructura electrónica es indirecta, haciendo

difícil una interpretación cuantitativa, por lo que se han utilizado los resultados solamente desde un punto de vista cualitativo, comparándose con los espectros de materiales de referencia como el Cu_2O , el CuO o una lámina de Cu , tal como se indican en la Figura 3-11.

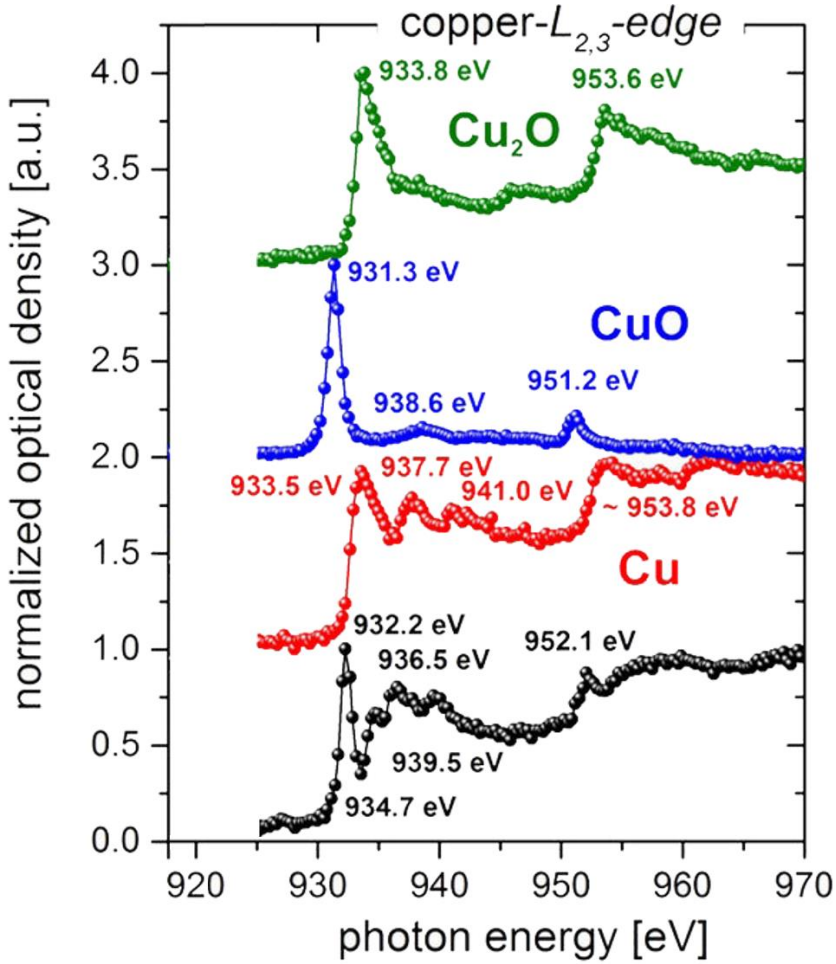


Figura 3-11 Espectro NEXAFS del borde $L_{2,3}$ de Cu (imagen modificada de la referencia: ⁸⁶)

3.3.7 Caracterización mediante microscopía de fuerzas atómicas (AFM)

La microscopía de fuerzas atómicas es una técnica que permite la caracterización de muestras desde el nivel microscópico ($100\mu\text{m}$ - $1\mu\text{m}$) hasta la escala atómica ($0,1\text{ nm}$). A pesar de no proporcionar una imagen real de la muestra es una técnica muy útil para analizar su superficie, ya que al contrario que las microscopías electrónicas, en la técnica de AFM no se utiliza ningún haz de electrones, y por tanto, la superficie de la muestra no se ve afectada. Por otra parte, presenta la ventaja de que no es necesario ningún tratamiento previo de la muestra y permite realizar las medidas sin necesidad de emplear vacío.

El microscopio de fuerzas atómicas (AFM) consiste en un alero o cantiléver con una fina punta o *tip* al final que se usa para barrer la superficie de la muestra. El cantiléver es usualmente de algún derivado de silicio y la punta (Figura 6) se encuentra formando una curvatura de radio del orden de nanómetros.

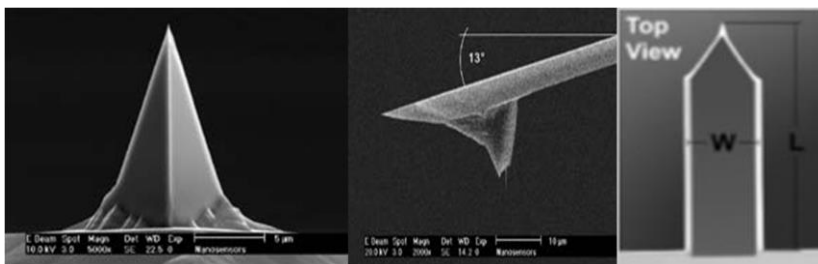


Figura 6 Imágenes de la punta de Silicio del orden de micras, desde el frontal, lateral y superior (Imagen cortesía de Park Systems)

La técnica se basa en la medida de las fuerzas de interacción entre la punta y la muestra. Cuando la punta se aproxima a la superficie de la

muestra, las fuerzas existentes entre ellos crean una deformación en el cantiléver de acuerdo con la ley de Hook (Figura 7). Con los equipos actuales de AFM, pueden medirse con precisión fuerzas mecánicas de contacto, fuerzas de Van der Waals, capilares, electrostáticas, de enlace, magnéticas o de solvatación entre otras. También es posible medir otras magnitudes utilizando tipos especiales de sondas.



Figura 7 Ejemplo de deformación en el *Cantilever* debido a la aproximación de la punta a la muestra (Imagen cortesía de Park Systems)

La deformación del cantiléver, y por tanto la magnitud de la fuerza, se mide usualmente utilizando un láser puntual que se refleja desde la superficie del cantiléver a un detector con un conjunto de fotodiodos. Otras variantes de detección son por interferometría óptica o el de *cantilevers* piezoselectivos pero que son menos sensibles.

La técnica de AFM tiene diferentes modos de operación, de los cuales los más usuales son los modos de “contacto” y “no contacto”, M-AFM, que da información de las fuerzas magnéticas e I-AFM, que da información sobre las características electrostáticas de la muestra.

3.3.7.1 *AFM de contacto*

En este modo de aplicación de la técnica AFM la punta mantiene un contacto físico suave con la muestra. La punta se une al final del cantiléver con una baja constante de resorte, menor que la constante de resorte efectiva que mantienen los átomos de la muestra.

Conforme la punta barre la superficie, la fuerza de contacto origina la flexión del cantilever de modo que éste se adapta a la superficie topográfica de la muestra (Figura 8)

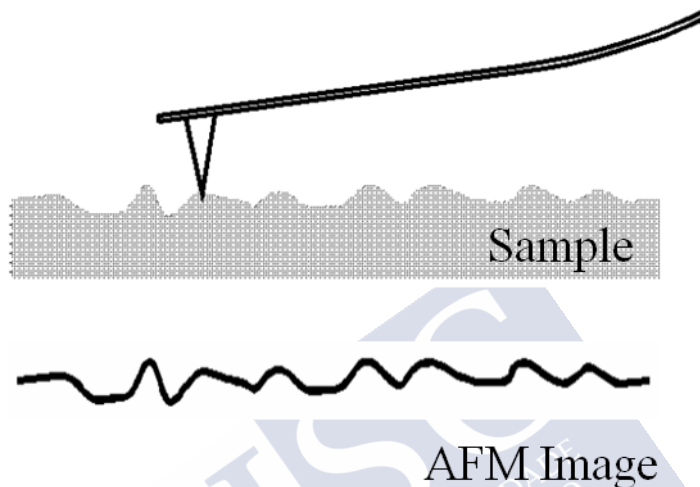


Figura 8 Esquema de la generación de imagen en modo de contacto (Imagen cortesía de Park Systems)

Como resultado, en el modo de AFM de contacto, la fuerza de van der Waals se equilibra con cualquier otra fuerza que intente mantener juntos a los átomos. Por tanto, cuando el cantilever empuja a la punta contra la muestra, este se flexiona forzando a los átomos de la punta y la muestra a permanecer juntos.

Otras dos fuerzas han de considerarse también en la técnica de AFM de contacto:

- La fuerza de capilaridad ejercida sobre una delgada lámina de agua que a menudo está presente en el medio ambiente.
- La fuerza ejercida por el mismo cantilever.

La fuerza total que ejerce la punta sobre la muestra es la suma de las fuerzas de capilaridad y del *cantilever*, y debe equilibrar a la fuerza repulsiva de van der Waals. La magnitud de la fuerza total que se ejerce sobre la muestra varía entre 10^{-8}N y 10^{-7} – 10^{-6}N .

Se puede trabajar en modo de fuerza constante o modo de altura constante (Figura 9).

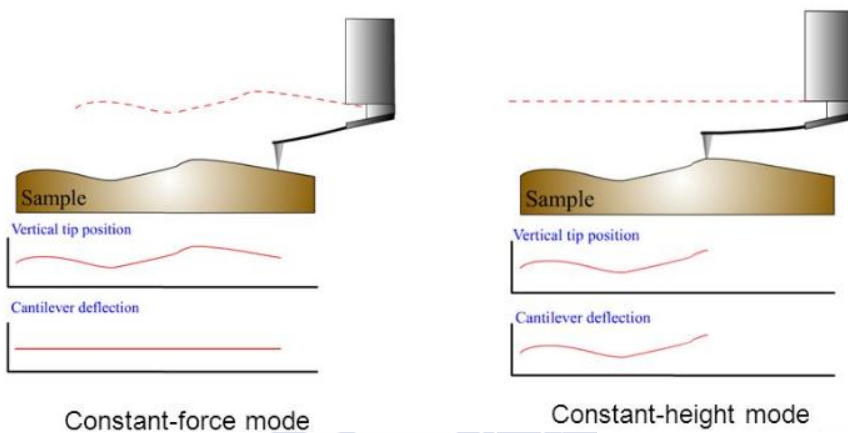


Figura 9 Comparación de (a) modo de altura constante y (b) modo de fuerza constante (Imagen cortesía de NT-MDT)

Entre las ventajas y desventajas de la técnica AFM de contacto, se encuentran:

- Ventajas: amplia gama de muestras a analizar; se pueden realizar medidas de elasticidad; medidas in situ en una celda líquida o electroquímica; resoluciones verticales y horizontales
- Desventajas: la punta está en contacto con la superficie; esto conlleva: problemas de destrucción de la punta o modificación de la superficie, arrastre de partículas, capas de agua absorbidas que

generen fuerzas de capilaridad, cargas electrostáticas que influyen en la punta, etc.

3.3.7.2 AFM de no-contacto (NC-AFM)

En esta técnica se excita el *cantilever* cerca de su frecuencia de resonancia de modo que vibre cerca de la superficie de la muestra, a una distancia comprendida entre 10 y 100 Å. Esta vibración responde a la interacción de la punta con los átomos de la muestra en relación a las fuerzas de Van der Waals según se aproxime o no a la superficie, y midiendo la variación de la vibración, se obtiene la imagen de la superficie (Figura 10). La técnica NC-AFM se utiliza cuando no se quiere deteriorar la superficie a medir. La fuerza que ejerce la punta sobre la muestra es muy baja, 10^{-12}N , y, al ser tan débil, hace imposible usar el modo de fuerza constante.

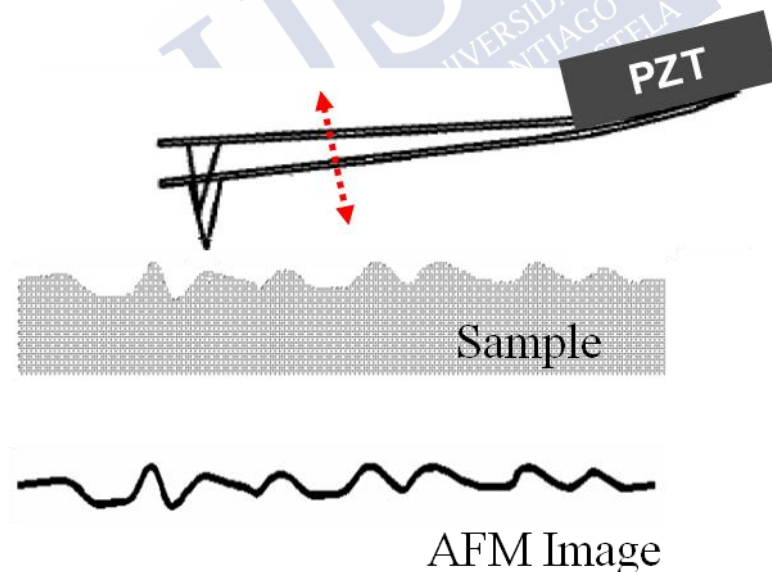


Figura 10 Esquema de la generación de imagen en modo de contacto (Imagen cortesía de Park Systems)

La sensibilidad de la técnica proviene de la frecuencia de resonancia del *cantilever*. El *cantilever* vibra a frecuencias de 100 a 400 kHz y amplitudes de 10 a 100 Å y, a medida que se acerca la punta a la superficie, se detectan cambios en la frecuencia de resonancia o en la amplitud, con una resolución vertical por debajo de los Å.

- Ventajas: no existe modificación ni contaminación de la superficie de la muestra; se pueden medir diferentes gradientes de fuerza (magnética, electrostática, etc.).
- Desventajas: resoluciones altas requieren que la punta se sitúe muy cerca de la superficie, el barrido ha de ser muy lento para no perder la interacción con la superficie; la oscilación de la punta se puede ver frenada por la existencia de capas de agua/contaminación; las gotas de agua se confunden con la topografía de la muestra.

3.4 Experimentación sobre estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu₅

3.4.1 Estudios en disolución

Las muestras de clústeres de Cu₅, fueron sintetizados en el laboratorio siguiendo el método electroquímico descrito en la sección 3.2. Las muestras recibieron un tratamiento térmico en un reactor hidrotérmico 4744 de Parr Instrument Company, situado en un horno de convección J.P. Selecta S.A. entre 25 y 200°C. Las muestras se caracterizaron por espectroscopia UV-Vis con un espectrofotómetro Thermo Evolution 300 y espectroscopia de fluorescencia con un Fluorímetro Varian Cary Eclipse utilizando una cubeta Hellma de

cuarzo (111-QS, paso óptico de 1 cm), al inicio y al final de cada etapa térmica.

3.4.2 Estudios en deposición

Las muestras de Cu_s de diferentes concentraciones comprendidas entre 5,64 y 564 mg/L se depositaron sobre sustratos de grafito pirolítico, HOPG (de 7mm x 7mm x 0,4mm de grado ZYA de NT-NMT), y mica (de 10mm x 10mm x 0,5mm, moscovita grado V-1 de SPI Supplies). La caracterización por microscopía de fuerzas atómicas se llevó a cabo con un AFM XE-100 de Park Systems, en modo de no contacto, con una punta de silicio tipo sonda ACTA, (n=330 kHz) y una platina de control de temperatura (Park Systems)

3.4.3 Estudios en sincrotrón

Los experimentos se realizaron en la línea Circe (BL 24) en el Sincrotrón ALBA, perteneciente a la red de Infraestructura Científico y Técnica Singular (ICTS) española situado en Barcelona. La línea Circe está especialmente diseñada para realizar experimentos de espectroscopia de emisión de fotones desde presión ambiente a ultra alto vacío (UHV). El sistema está equipado con un analizador Phoibos NAP150 XPS (SPECS) y un sistema de bombeo diferencial para operar a una presión dada en la cámara de análisis. El tamaño del haz en la posición de la muestra está en torno a 20x20µm². Las muestras fueron excitadas a 1350eV.

Las muestras estudiadas fueron muestras de Cu_s depositadas sobre sustratos de HOPG (de 7mm x 7mm x 0,4mm de grado ZYA)

3.4.4 Descripción del sincrotrón y la línea de experimentación

El Sincrotrón ALBA es un Sincrotrón de 3ª generación, operativo desde mayo de 2012 cuyas principales características son:

Sincrotrón ALBA	
Energía	3 GeV
LinAc (acelerador Lineal)	100 MeV
Anillo almacenamiento	270 m
Intensidad	100 mA
Líneas instaladas	8

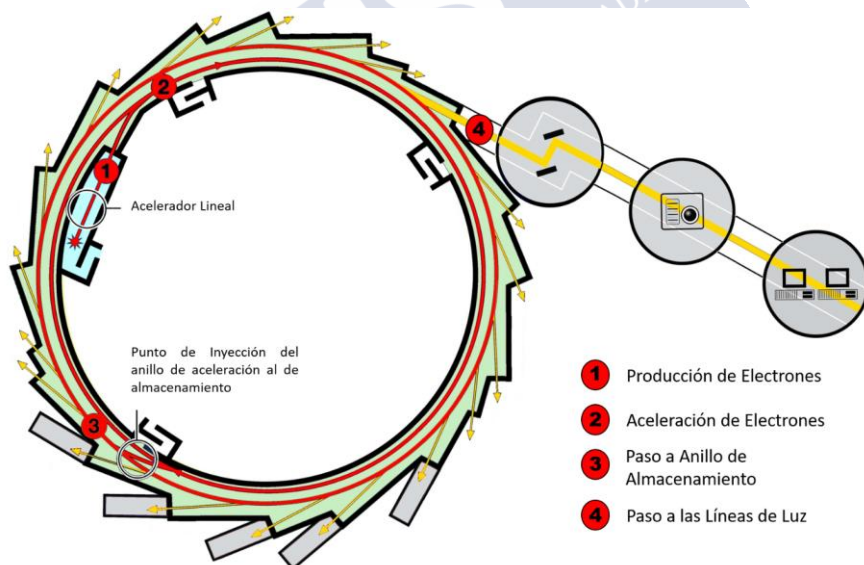


Figura 3-12 Diagrama esquemático del anillo del Sincrotrón ALBA (Imagen simplificada de cells.es)

La energía de 3 GeV se consigue mediante la combinación de un acelerador lineal y un propulsor de baja emitancia colocado en el mismo túnel que el anillo de almacenamiento, cuyo perímetro es de 270 metros y consta de imanes para la curvatura del haz o para la focalización y desfocalización del mismo, tal como puede verse en la Figura 3-13.

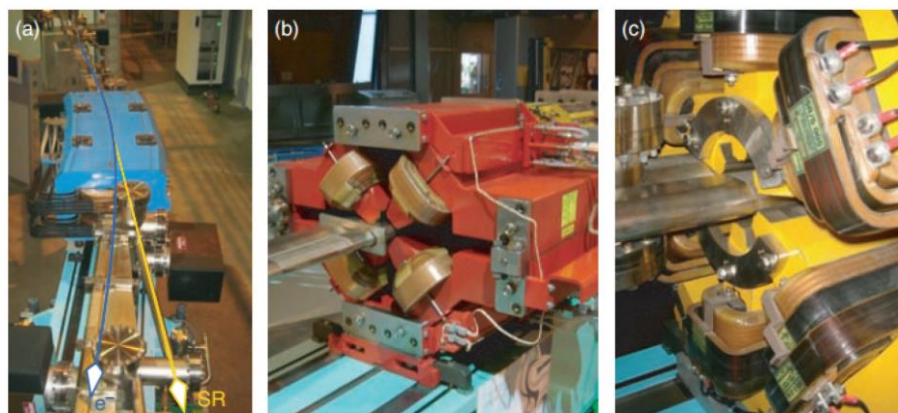


Figura 3-13 Principales partes del anillo de almacenamiento. (a) Imán usado para curvar la trayectoria del haz de electrones. (b) cuadrupolo y (c) sextupolo para focalizar y desfocalizar el haz de electrones⁸⁷.

El Sincrotrón ALBA consta de 8 Líneas de luz, que comprenden tanto Rayos X blandos (mayor longitud de onda, próximos a banda UV) como Rayos X duros (menor longitud de onda, próximos a rayos gamma). Los experimentos han sido llevados a cabo en la Línea CIRCE, línea con polarización variable de Rayos X blandos, dedicados a experimentos avanzados de fotoemisión, cuyas principales características son:

Línea Circe	
Energía Fotón	100 – 2000eV
Polarización	Variable

Resolución Energía	~ 8000
Flujo Fotones	~ 10^{13} ph/s
Tamaño del área del haz	~ 20×100 m ²
Fuente del Haz	Ondulador Apple II
Analizador	SPECS Phoibos 150 NAP
Temperatura	De 100K a 1000K
Presión	De UHV a 20mbar

La espectroscopia de fotoemisión requiere ultra alto vacío (UHV, $\approx 10^{-10}$ mbar), pero la espectroscopia de fotoemisión a presión ambiental permite que, gracias al bombeo de una serie de volúmenes separados por pequeñas aperturas, se deje pasar el haz de fotoelectrones con muy poco gas, consiguiendo mantener una diferencia de presión entre la muestra y el detector (un factor 10^9), gracias al sistema de la Figura 3-14.

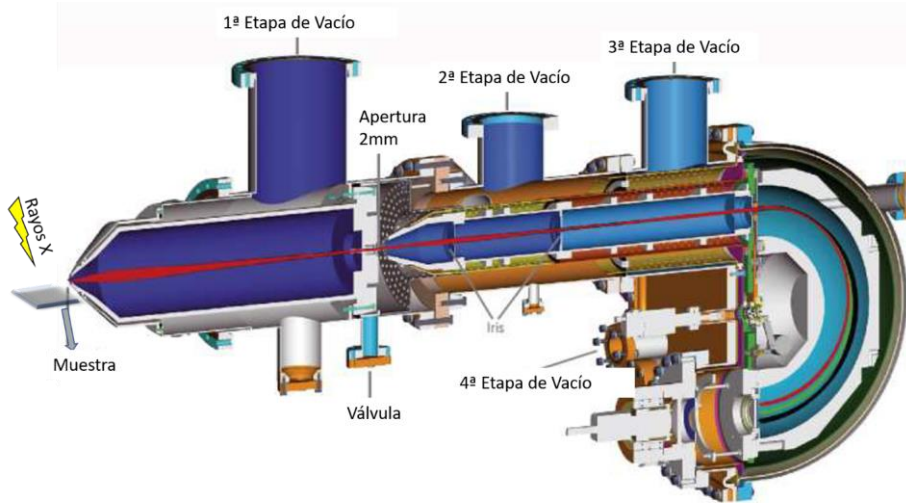


Figura 3-14 Sistema NAPP de Detección Phoibos 150 NAP de la Línea Circe, que permite control de la presurización a niveles de casi alto vacío. (las secciones en diferentes azules indican diferentes zonas de presión) (imagen extraída de la referencia ⁸⁸).

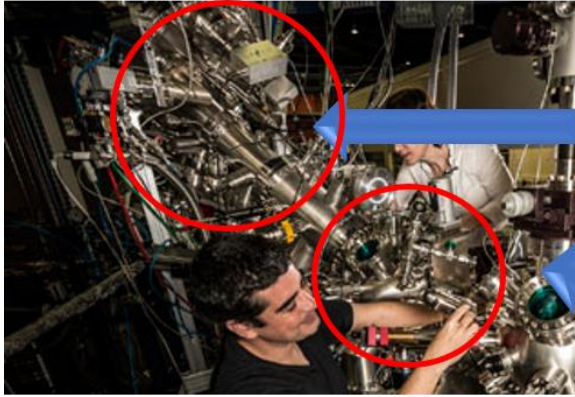
Para acabar con la descripción de la línea CIRCE, las figuras siguientes muestran componentes instrumentales de la línea, así como un esquema de la misma.



Figura 3-15 Sistema de Espejos que actúa como monocrómador del haz procedente del sincrotrón. (Imagen extraída de cells.es)



Figura 3-16 Imagen General de la Estación NAPP (Imagen extraída de cells.es)



Detector
Phoibos 150
NAPP

Cámara de
Medida de
la Muestra

Figura 3-17 Imagen Frontal de la Línea donde se puede observar parte de la coraza externa del detector, así como las cámaras de introducción de la muestra



Detector Phoibos
150 NAPP

Cámara de
Preparación
de Muestra

Figura 3-18 Imagen Frontal de la estación NAPP con otra perspectiva del Detector y la cámara de preparación de la muestra, donde se pretratan con temperatura y vacío antes de realizar las medidas a modo de limpieza

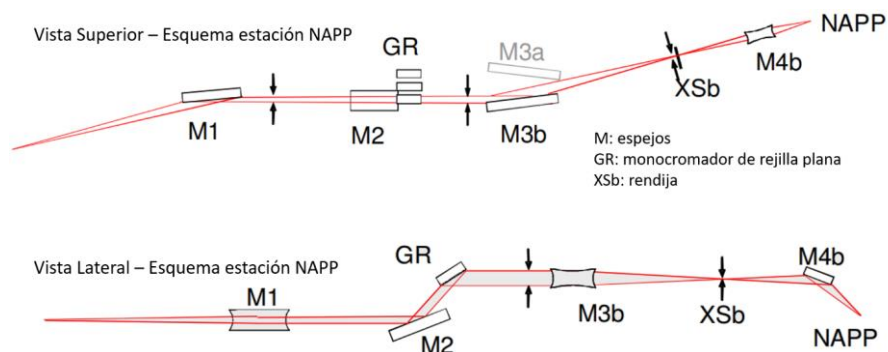


Figura 3-19 Esquema de la línea Circe (vista superior y lateral) (imagen tomada de la referencia ⁸⁸)

3.5 Experimentación con nanotubos peptídicos

Se realizó una colaboración con el grupo del Prof. Juan Granja y el Dr. Javier Montenegro del Centro de Investigaciones Químicas Singulares (CIQUS) de la Universidad de Santiago de Compostela, para estudiar la interacción entre los clústeres sintetizados en nuestro laboratorio y los nanotubos peptídicos sintetizados en el CIQUS.

3.5.1 AFM de los clústeres Ag₃ autoensamblados sobre nanotubos peptídicos

El pH de las soluciones madre purificadas de ciclopeptido CP-1 (200 μM o 100 μM) en agua Milli-Q se ajustó a $\sim 2,5$ con ácido trifluoroacético, TFA (100 mM en agua Milli-Q). Los clústeres de Ag₃ dispersos en agua (1 mg/l) se adquirieron en Nanogap, España (NGAP AQC Ag-1102-W) y se usaron sin purificación adicional. La disolución inicial de Ag₃ se diluyó con agua Milli-Q a 100 $\mu\text{g/L}$ o 10 $\mu\text{g/L}$. El protocolo general para la deposición sobre un sustrato de mica fue el siguiente: las disoluciones madre se depositaron sobre láminas de mica recién exfoliadas (SPI Supplies, moscovita grado V-

1), se lavaron inmediatamente con cantidades abundantes de agua Milli-Q y se secaron bajo un flujo de nitrógeno.

Protocolo a) Las disoluciones madre de CP-1 se depositaron, lavaron y secaron. Sobre las micas cubiertas de nanotubos resultantes se volvieron a depositar gota a gota clústeres de Ag_3 , se lavaron y secaron.

Protocolo b) Las disoluciones madre de CP-1 y Ag_3 se depositaron, gota a gota, secuencialmente sobre mica, se lavaron y se secaron.

Protocolo (c) Las disoluciones madre de CP-1 y Ag_3 se mezclaron y se incubaron durante 5 minutos. La mezcla se depositó, se lavó y se secó.

Las mediciones estándar de AFM se llevaron a cabo en condiciones ambiente de temperatura y presión, usando un instrumento XE-100 (Park Systems Corporation) en modo no contacto. Se usó un cantiléver de alta resonancia de Silicio (sonda ACTA, $n=330$ kHz).

3.5.2 Fluorescencia de la valoración de los nanotubos con los clústeres

Las disoluciones de los ciclopéptidos CP-1 a diferentes concentraciones (1600, 800, 400 μM) se valoraron con volúmenes crecientes (0-2 ml) de agua Milli-Q o disoluciones madre acuosas de Ag_3 (300 nM). El pH de cada muestra estaba por debajo de 3. Las mediciones de fluorescencia se llevaron a cabo en un sistema Jobin-Yvon Fluoromax-3 (DataMax 2.20), acoplado a un controlador de temperatura (Wavelength Electronics LFI-3751) y utilizando una cubeta semi-micro Hellma (114F-QS, paso óptico de 1 cm). Las valoraciones se llevaron a cabo a 25 $^{\circ}\text{C}$ y $\lambda_{\text{excitación}} = 340$ nm.

3.5.3 Cálculos computacionales

Los cálculos computacionales han sido realizados por la Dra. Rebeca García Fandiño, perteneciente al grupo del prof. Juan Granja del CIQUS. Las simulaciones de Dinámica Molecular (MD) se realizaron con el programa GROMACS 4.6 Molecular Dynamics. El campo de fuerza GAFF se empleó para los nanotubos peptídicos autoensamblados (self-assembled cyclic peptide nanotubes, SCPN) y los átomos neutros se modelaron como partículas de Lennard-Jones (LJ). Los parámetros LJ para los clústeres metálicos se han utilizado previamente para estudiar el crecimiento de Ag film⁸⁹ y la interacción entre clústeres Ag₁₂ y ADN monocatenario⁹⁰. Para las simulaciones MD iniciales, la concentración de Ag₃ se fijó en 200 mM para favorecer la interacción CP/Ag₃ y las interacciones intermoleculares clúster/clúster en una escala de tiempo corto. Las simulaciones MD se repitieron utilizando otro conjunto de parámetros desarrollados por Heinz⁹¹ que conducen a resultados muy similares. Todos los cálculos DFT realizados en este estudio se llevaron a cabo con el software Gaussian 09.





4. Síntesis y caracterización de clústeres



4.1 Introducción

Este capítulo se centrará en la síntesis y caracterización de clústeres pequeños de cobre, estables y monodispersos en agua sin ningún tipo de ligando o agente protector. Una síntesis de este tipo es necesaria para el correcto estudio de las aplicaciones de los clústeres, como pueden ser las catalíticas o las biológicas. El tener muestras de clústeres monodispersos es muy importante debido a la gran dependencia de las propiedades con el tamaño de clústeres (como se vio en la sección 2.6). El tener los clústeres libres de ligandos o surfactantes es importante debido a que la presencia de los mismos podría modificar, apantallar o incluso anular las propiedades de los clústeres.

Para ello la síntesis necesita de un gran control cinético y conocimiento de los parámetros implicados, por lo que el método más adecuado de síntesis, que nos permita ese control está basado en una modificación del método electroquímico basado en el propuesto por Reetz (explicado en la sección 2.7.2.5).

El método electroquímico es una poderosa herramienta cuando todas las variables son conocidas y están controladas, de forma que combinando cambios en las variables se puede obtener un tipo específico de clúster. La síntesis expuesta en este capítulo ha sido desarrollada y optimizada mayoritariamente por la Dra. Shahane Huseyinova,⁹² miembro del grupo de investigación, durante su tesis doctoral, por lo que no explicaremos la optimización completa de la síntesis sino que describiremos una imagen general del proceso y los parámetros experimentales más importantes a tener en cuenta. La caracterización de los clústeres sintetizados se realizó mediante el empleo de diversas técnicas de caracterización, como espectroscopias

ultravioleta-visible y de fluorescencia, espectrometría de masas, microscopia de fuerzas atómicas, etc., con la intención de facilitar la discusión sobre la estabilidad o evolución de los clústeres expuestos en capítulos posteriores.

Por su parte y considerando el trabajo que conlleva la síntesis electroquímica y los rendimientos del proceso, se intentará aplicar los conocimientos obtenidos a partir de la síntesis electroquímica, para intentar desarrollar procesos de síntesis alternativos, basados en síntesis química y/o fotoquímica, que nos permitan una mayor facilidad de escalado y obtener mayores rendimientos.

4.2 Síntesis electroquímica de clústeres

Los clústeres son sintetizados usando un método electroquímico, que consiste en la reducción de un catión metálico -en nuestro caso producido por oxidación de una lámina de cobre que se utiliza como ánodo- sobre la superficie de un contraelectrodo, generalmente de platino, que se utiliza como cátodo. El mecanismo de la síntesis consta de 4 pasos: (Figura 4-1)

- Oxidación del metal, $\text{Cu}^0 \rightarrow \text{Cu}^{2+}$
- Migración de los cationes metálicos hacia el ánodo
- *Formación de agregados de átomos (adátomos) metálicos reducidos en la interfase del cátodo.*
- Agregación de los *adátomos* y formación del clúster metálico.

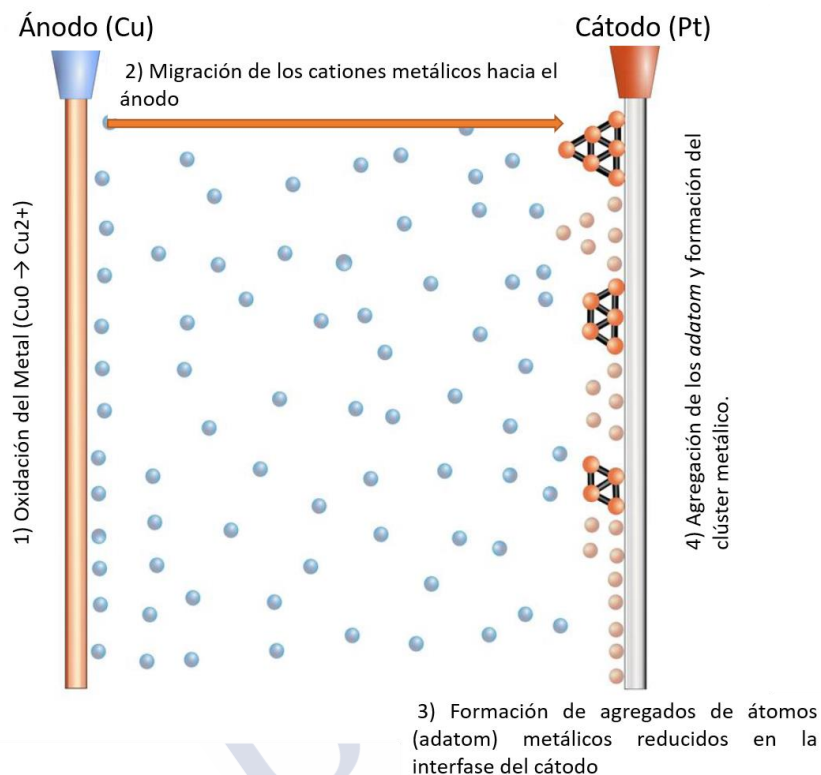


Figura 4-1 Esquema del mecanismo de la síntesis electroquímica de clústeres

La síntesis electroquímica es ideal para la preparación de clústeres pequeños monodispersos por el gran control que se tiene de todas las variables del proceso, permitiendo ajustar la cinética del proceso para obtener clústeres de tamaños diferentes. A modo de resumen, las variables más importantes en la síntesis de clústeres por el método electroquímico son:

a) Disolvente empleado: normalmente es agua Milli-Q, que es un disolvente ecológico, barato y además permite su uso directo en numerosas aplicaciones importantes, tales como las catalíticas y las biológicas. No se usa electrolito soporte, ya que se busca la menor

conductividad posible para tener un mayor control cinético y obtener muestras de mayor pureza.

b) Atmósfera de la síntesis: normalmente se utiliza atmósfera inerte (N_2 , Ar...), puesto que el oxígeno presente en disolución puede hacer precipitar óxidos de cobre complicando la síntesis. Para comprobar este aspecto se realizaron síntesis de clústeres de Cu, tanto en atmósfera de aire como de N_2 . Se observó que en la síntesis en aire aparece un precipitado marrón, que fue caracterizado como CuO (ANEXO: Caracterización del CuO precipitado en la síntesis electroquímica, pág 227), mientras que en la síntesis con N_2 la muestra permanece transparente y pudiendo observarse la formación de clústeres de Cu_5 muy monodispersos.

c) Potencial aplicado o la intensidad de corriente: se pudo observar que la densidad de corriente afecta directamente al tamaño del clúster, puesto que este parámetro influye en el voltaje aplicado que afecta directamente a la reacción electroquímica. Por una parte, con voltajes muy pequeños el cobre del electrodo de trabajo apenas se electrodisuelve y, por ello, la cantidad de Cu que se electroreduce en el contraelectrodo es extremadamente pequeña. Por otra parte, a voltajes muy elevados la cinética es muy rápida, de forma que el electrodo de trabajo se oxida muy deprisa y precipitan los óxidos de cobre.

d) Tiempo de síntesis: aun controlando la cinética del proceso, el tiempo de síntesis es clave, ya que interesa parar la reacción en el momento adecuado, puesto que la síntesis produce iones y clústeres que, a su vez, presentan gran capacidad catalítica para la formación de nanopartículas, por lo que la duración óptima de la síntesis se

estableció en el intervalo 1000s-3000s, controlando el proceso mediante el seguimiento del amperograma durante la reacción.

e) Superficie de los electrodos de trabajo: se observó que la superficie de los electrodos de trabajo es crucial a la hora de obtener clústeres monodispersos en ausencia de nanopartículas. Por ser este aspecto poco conocido, en esta tesis se presentará un estudio exhaustivo, mediante técnicas de microscopia de fuerzas atómicas, de la influencia de la superficie de los electrodos en la síntesis de clústeres.

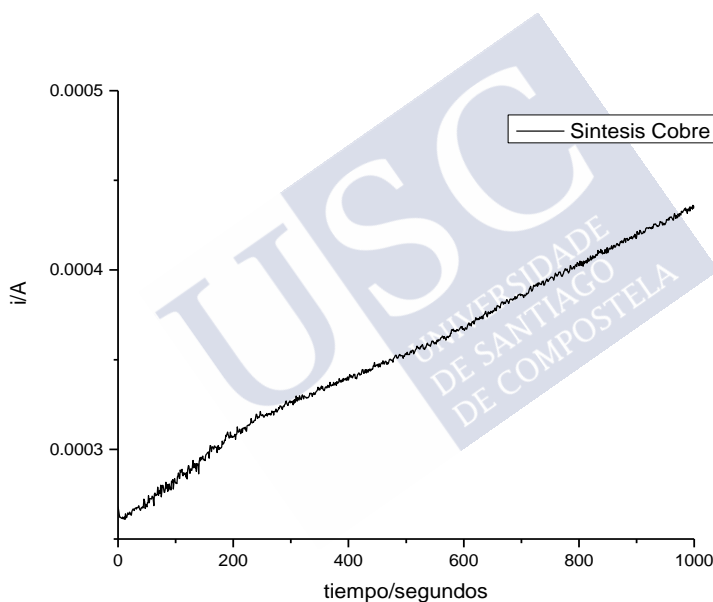


Figura 4-2 Cronoamperometría de síntesis de clústeres de Cu.

Un ejemplo de un cronoamperograma típico de una síntesis de clústeres de Cu se presenta en la Figura 4.2 que muestra el registro de la corriente frente al tiempo. Se puede ver que las intensidades de corriente aumentan con el tiempo, debido a la generación de iones Cu^{2+} que aumentan la conductividad eléctrica de la disolución.

4.3 Caracterización de clústeres

En esta sección se explicará la caracterización de clústeres de cobre mediante espectroscopias UV-Vis y de fluorescencia, AFM, espectrometría de masas, XPS y XAS (XANES y EXAFS)

4.3.1 Espectroscopia UV-Vis y de fluorescencia

Un ejemplo de la caracterización por espectroscopia UV-Visible puede verse en la Figura 4-3 para una síntesis típica. En dicha figura puede observarse la absorción creciente al disminuir la longitud de onda con varios hombros, característica de los clústeres de Cu. Es de notar la similitud de esta absorción con la observada en los semiconductores, así como también la ausencia de nanopartículas u óxidos de cobre.

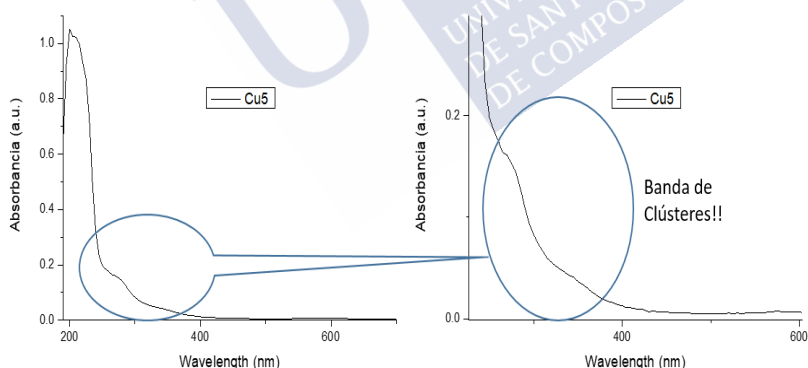


Figura 4-3 Espectro UV-Vis mostrando bandas de absorción típicas del comportamiento de clústeres de Cu (izquierda) y una ampliación del mismo espectro (derecha).

En la caracterización por espectroscopia de fluorescencia (Figura 4-4) puede observarse el espectro de excitación (en negro, para el máximo de emisión a 305nm) con dos picos máximos situados a 230nm y

270nm, así como los correspondientes espectros de emisión al excitar la muestra a 230nm (en rojo) y a 277nm (en azul).

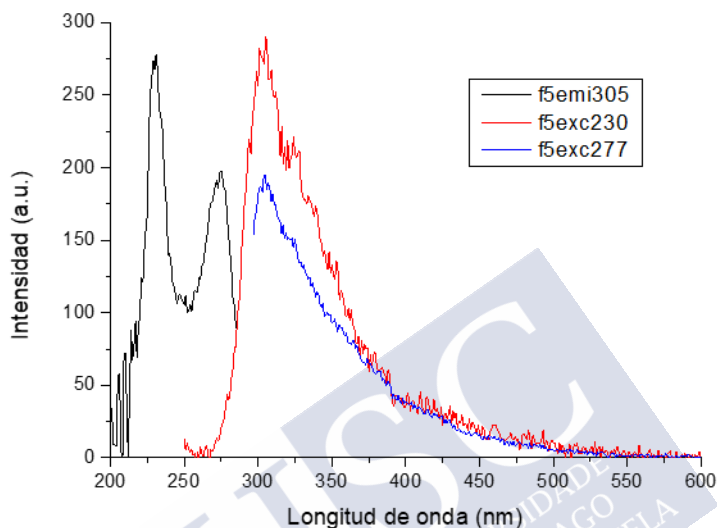


Figura 4-4 Espectros de emisión y excitación de una muestra de clústeres de Cu.

A partir del valor obtenido para la emisión de los clústeres (305nm = 4.06eV) y la ecuación derivada del modelo del *Jellium*: $E_g = E_F/N^{1/3}$, utilizando el valor de 7eV para el nivel de Fermi (E_F) del Cu, se puede deducir el número de átomos del clúster de Cu, obteniéndose el valor de $5,1 \approx 5$ átomos, es decir, de los resultados de la emisión de los clústeres se puede deducir la formación de clústeres de Cus.

4.3.2 Microscopía fuerzas atómicas (AFM)

La microscopía de fuerzas atómicas es una técnica muy útil para la caracterización de clústeres desnudos de pequeño tamaño. Aunque la resolución XY de dicha técnica a temperatura ambiente no es suficiente para determinar el tamaño de un clúster (ya que la anchura de la punta es mayor que el clúster en sí), sí permite resolución atómica en el eje Z para poder determinar la presencia de clústeres cuando los clústeres son planos. Esto es especialmente relevante cuando los clústeres no tienen surfactantes o ligandos (que aumentan el tamaño de los clústeres) y son suficientemente pequeños para ser planos, pues como hemos visto en la sección 2.5 los clústeres de Au mantienen su planaridad hasta 13 átomos y los de Ag y Cu hasta 6-7 átomos. Los clústeres de Cu₅ presentan una estructura geométrica plana, por tanto, la altura de los clústeres debería estar por debajo del nanómetro.

La



Figura 4-5 obtenida por AFM permite observar la presencia de entidades en torno a 500 pm, que confirma la presencia de clústeres planos (y por tanto, menores de 7 átomos), lo que concuerda con los resultados obtenidos anteriormente mediante medidas de fluorescencia.

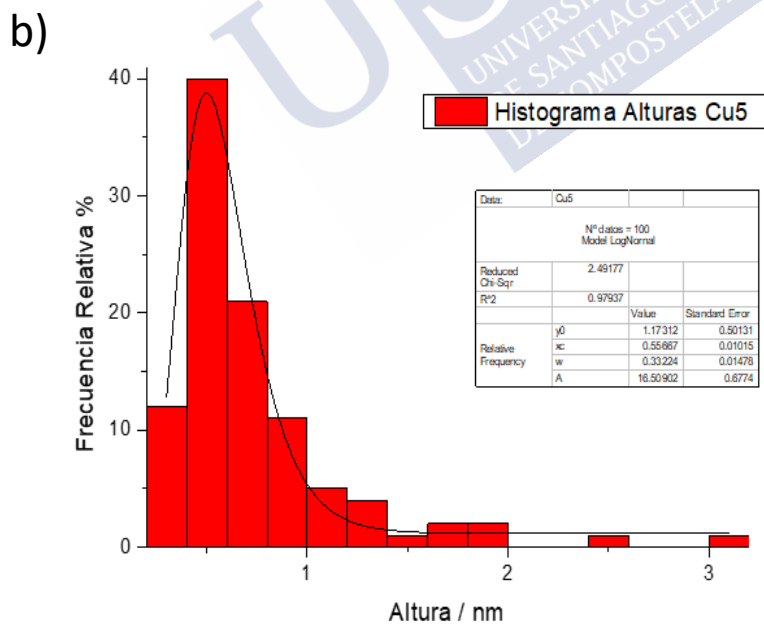
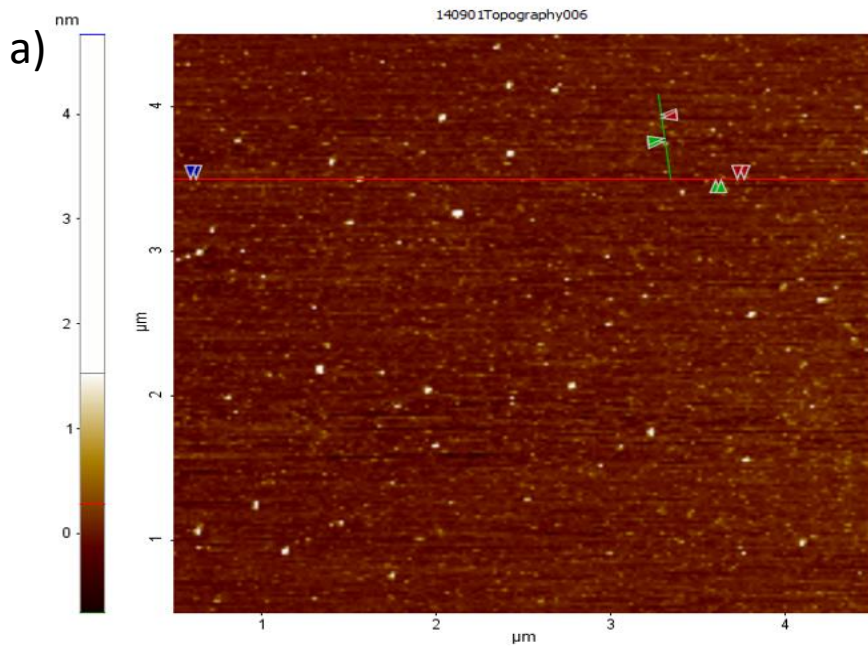




Figura 4-5 a) Imagen Topográfica 2D, b) histograma con la frecuencia relativa y c) perfiles de línea de una muestra de clústeres de Cu preparada por métodos electroquímicos

4.3.3 Espectrometría de masas

Si bien las espectroscopias de UV-Vis y de fluorescencia, así como el AFM, son técnicas muy buenas para observar de forma simple la presencia de clústeres y determinar de forma aproximada su tamaño, la forma más adecuada para su caracterización es a través de medidas de espectrometría de masas ESI-TOF. Dada la ionización suave por ESI, esta técnica es ideal para utilizar con clústeres subnanométricos, ya que podemos descartar fragmentación de los mismos, como ocurre, por ejemplo, en MALDI⁸³. Debido a su gran *band gap* los clústeres son muy difícilmente ionizables, por lo que es necesario mezclarlos con otras especies (como el metanol, cloruro amónico,

ácido fórmico, ácido acético, etc.) para que se formen aductos con carga y de esa forma poder detectarlos.

Se realizaron medidas por espectrometría de masas ESI-TOF para muestras purificadas de clústeres, encontrándose la presencia de las siguiente especies $[\text{Cu}_5(\text{OH})\text{Na}_3(\text{HCOO})_3(\text{H}_2\text{O})(\text{CH}_3\text{OH})]^-$, $[\text{Cu}_5\text{OCl}(\text{CH}_3\text{OH})_3]^-$ y $[\text{Cu}_5(\text{OH})(\text{HCOO})_4\text{Na}_3(\text{CH}_3\text{OH})]^-$, con una buena concordancia entre las distribuciones isotópicas teóricas y experimentales (Figura 4-6, Figura 4-7 y Figura 4-8)

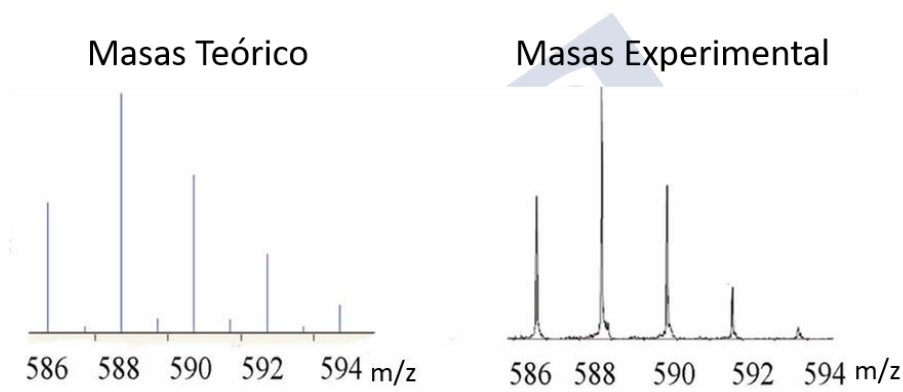


Figura 4-6 Espectro de masas ESI-TOF de clústeres de Cu, sintetizados electroquímicamente (derecha) y el espectro teórico (izquierda) para la especie ajustada $[\text{Cu}_5(\text{OH})\text{Na}_3(\text{HCOO})_3(\text{H}_2\text{O})(\text{CH}_3\text{OH})]^-$.

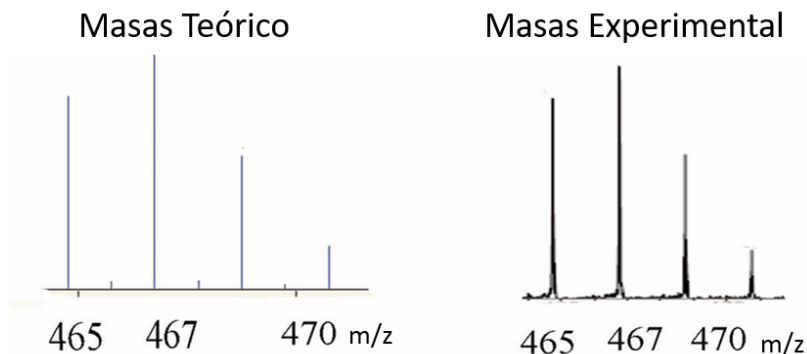


Figura 4-7 Espectro de masas ESI-TOF de clústeres de Cu, sintetizados electroquímicamente (derecha) y el espectro teórico (izquierda) para la especie ajustada $[\text{Cu}_5\text{OCl}(\text{CH}_3\text{OH})_3]^-$.

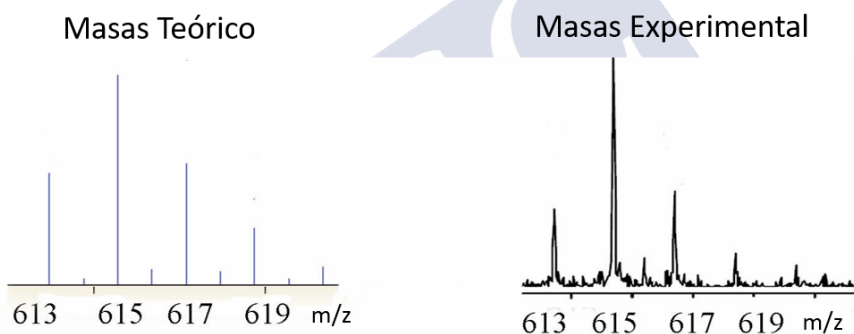


Figura 4-8 Espectro de masas ESI-TOF de clústeres de Cu, sintetizados electroquímicamente (derecha) y el espectro teórico (izquierda) para la especie ajustada $[\text{Cu}_5(\text{OH})(\text{HCOO})_4\text{Na}_3(\text{CH}_3\text{OH})]^-$.

4.3.4 Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)

Se realizaron también medidas de XPS, con el objeto de estudiar el estado de oxidación de los clústeres sintetizados. En la Figura 4-9 se pueden distinguir los picos de átomos de Cu centrados en energías de 932 eV ($\text{Cu}2p_{1/2}$) y 952eV ($\text{Cu}2p_{3/2}$), que se corresponden muy con los valores referenciados⁹³ de Cu(0) o incluso Cu_2O . La falta de definición en los picos satélite en torno a 945eV permite confirmar la ausencia de

Cu²⁺. Sin embargo, estos picos satélites sí se pudieron medir en los cationes producidos como subproducto de la síntesis y que se corresponden a Cu²⁺.

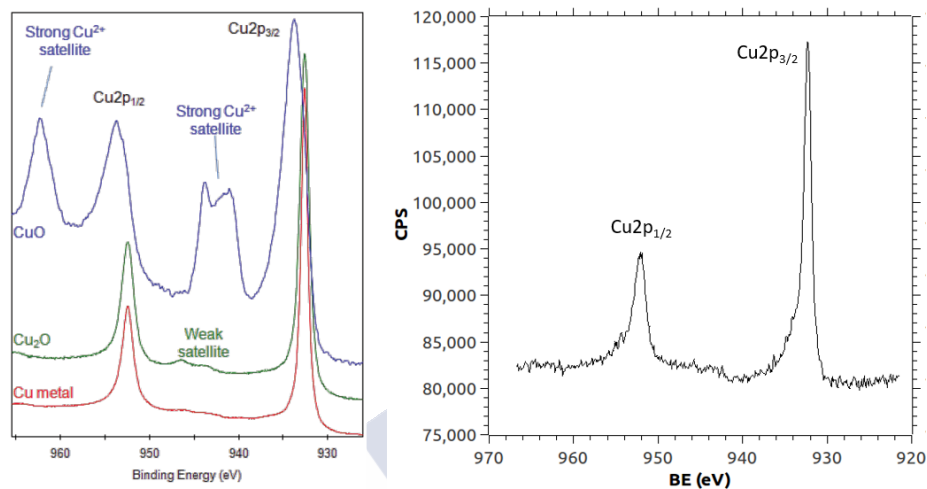


Figura 4-9 Espectros XPS de referencia de varias especies de Cu⁹³ (izquierda) y Espectro Experimental de una muestra de Cu₅ depositada en HOPG

4.3.5 XANES y EXAFS

Con el objetivo de completar la caracterización de XPS, y poder determinar si el Cu se encuentra en estado de oxidación (0) o (1) (o una mezcla) se realizaron medidas de XANES y EXAFS (sección 3.3.6), en el sincrotrón LNLS de Campinas (Brasil) en colaboración con el grupo del Dr. Felix Requejo del Instituto de investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA) de La Plata (Argentina).

La Figura 4-10a muestra un espectro de NEXAFS en el borde K del Cu, de una muestra de Cu₅ y otros compuestos de referencia. Aunque la caracterización por XANES no sea exacta, el análisis de la

estructura electrónica de los átomos de Cu indica, según la energía del borde absorción y la forma del espectro, que el estado de oxidación medio de la muestra está entre Cu^0 y Cu^{1+} , de forma similar a los resultados de XPS. Se puede ver, sin embargo, cómo el espectro que presentan los clústeres carece de oscilaciones relacionadas con el material masivo (a energías mayores), lo que corrobora su tamaño atómico. Además, viendo la información estructural aportada por el espectro de EXAFS (Figura 4-10b), donde se comparan las oscilaciones de la muestra de Cu_5 frente a una lámina de cobre (Cu^0), se puede deducir que la estructura electrónica de los átomos de Cu en ambas especies sería similar, teniendo en ambos casos Cu^0 . Por tanto, los datos experimentales vienen a confirmar, en conjunto con las técnicas reportadas previamente, que la muestra está formada por unos pocos átomos de cobre en estado de oxidación 0. De hecho, un ajuste de la señal de EXAFS propone una estructura Cu-Cu con un número de coordinación entre 2 y 3, que idealmente corresponde a un clúster de Cu con menos de 10 átomos independientemente de su geometría⁹⁴.

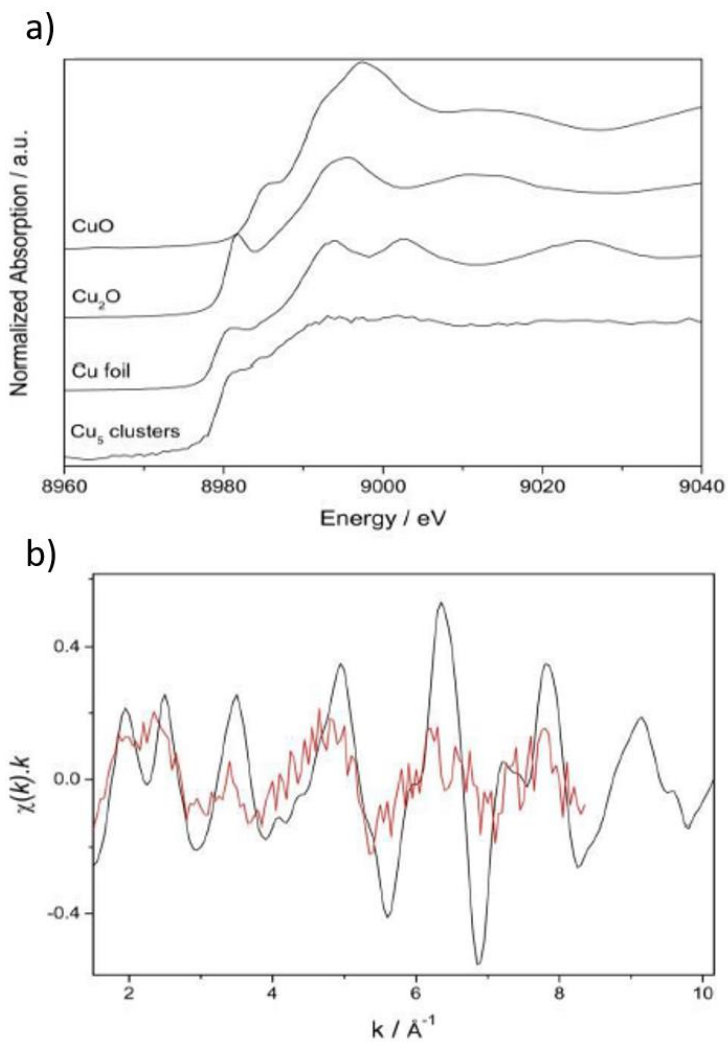


Figura 4-10 a) Espectro Normalizado de XANES para el borde K de Cu, para una muestra de Cu₅ y otros compuestos de cobre como referencia y b) Espectro Normalizado de EXAFS al borde K de cobre, para una muestra de Cu₅ (línea roja) y una lámina de cobre masivo (línea negra)

4.4 Estudio de la influencia de la superficie de los electrodos de trabajo en la síntesis electroquímica de clústeres.

Para estudiar la influencia de la superficie de los electrodos de trabajo en la síntesis electroquímica de clústeres, se utilizó la técnica de microscopia de fuerzas atómicas (AFM). En concreto se analizó la influencia de diferentes métodos de limpieza de los electrodos (pulido con alúmina -a nivel microscópico-, lijado -a nivel macroscópico- o una combinación de ambos) en el tamaño y dispersión de clústeres, así como en la eficiencia de la transformación de iones a clústeres.

Para ello se realizaron estudios mediante AFM de la superficie del electrodo. Las figuras siguientes muestran perfiles de AFM de los electrodos después de diferentes procedimientos de limpieza (lijado, pulido y lijado más pulido). Se observa en la Figura 4-11 que cuando se utiliza solo papel de lija la superficie del electrodo presenta escalones profundos de 100-200nm, mientras que con alúmina (Figura 4-12) los escalones son menores (20-60nm). En ambos casos los escalones son mayores que con el empleo del lijado y posterior pulido, tal como se ve en la Figura 4-13, donde se observan escalones de 10-30nm.

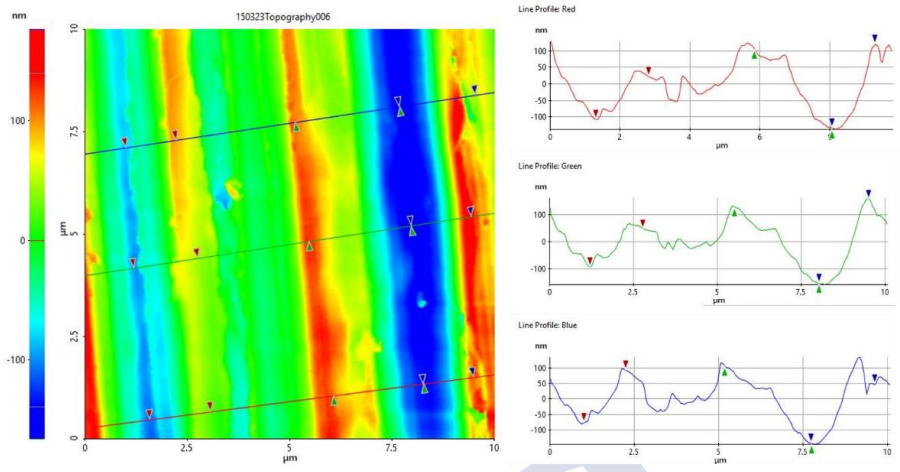


Figura 4-11 Imagen de AFM de un electrodo de Cu después del lijado (con lija de grano 1200) y perfiles de línea con la correspondiente topografía.

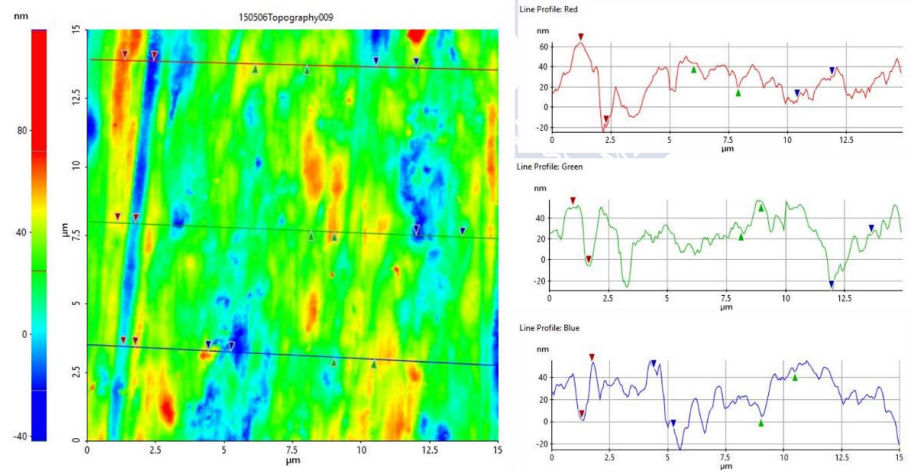


Figura 4-12 Imagen de AFM de un electrodo de Cu después del pulido con alúmina (0.05μm de tamaño) y perfiles de línea con la correspondiente topografía.

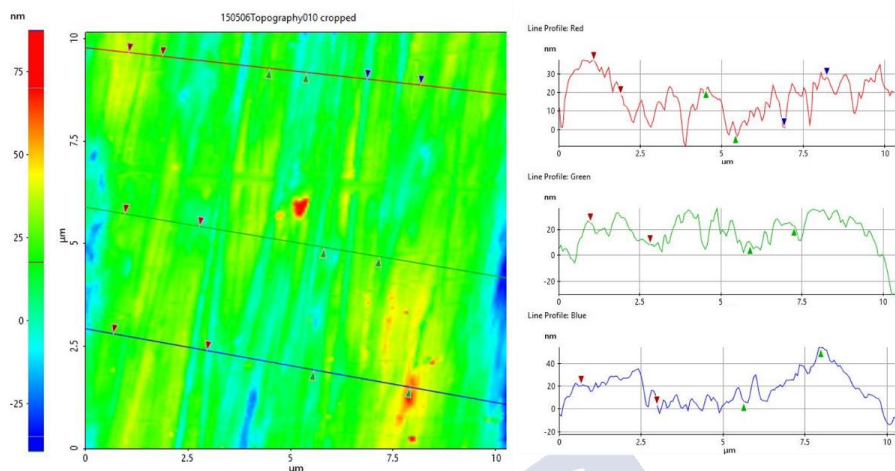


Figura 4-13 Imagen de AFM de un electrodo de Cu después del lijado (con lija de grano 1200) y posterior pulido con alúmina (0.05μm de tamaño) y perfiles de línea con la correspondiente topografía.

Concluidas las síntesis realizadas con los diferentes electrodos, se realizó la correspondiente caracterización por espectroscopias UV-Visible y de fluorescencia (Figura 4-14), así como la cuantificación del cobre total y el cobre en forma de iones.

En espectroscopia UV-Visible se puede ver que la que presenta mejores resultados de absorción de la banda de clústeres es la de lijado solo, mientras que la de sólo pulido es la peor. La fluorescencia confirma por su parte la monodispersidad del tamaño de los clústeres en todos los casos.

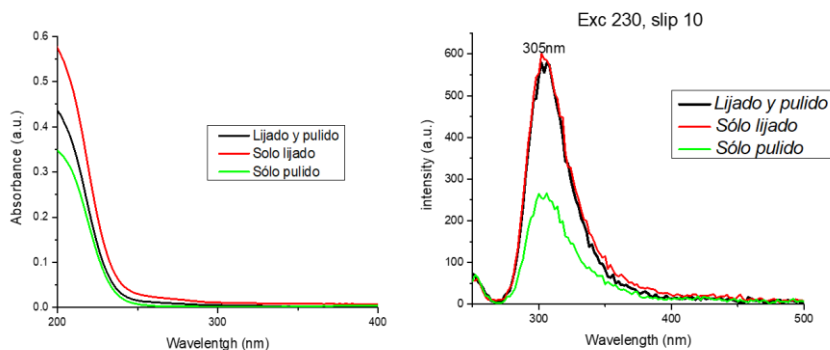


Figura 4-14 Espectro UV-Vis de absorción (izq.) y espectro de fluorescencia (derecha) de cústeres de Cu obtenidos con diferentes tratamientos de los electrodos.

Es cierto, que los resultados de UV y de fluorescencia, pese a mostrar diferencias entre ellos, no parecen indicar cambios significativos, sin embargo, es gracias a la cuantificación de iones y de cobre total que se observa en la Tabla 1, que la mejor relación [Cu AQC]/ [Cu iones] se obtiene para el electrodo de cobre con sólo lijado, mientras que el peor resultado se obtiene para el electrodo lijado y pulido.

Tabla 1 Resumen de los resultados de concentración total y de iones de cobre para el estudio del efecto de los electrodos

Método Limpieza	[Cu] AQC (mg/L)	[Cu] iones (mg/L)
Sólo Lijado	4.8 ± 0.2	1.54 ± 0.1
Sólo Pulido	2.4 ± 0.02	3.86 ± 0.1
Lijado y Pulido	1.96 ± 0.02	4.06 ± 0.01

En resumen, hay una clara correlación entre el estado del electrodo previo a la síntesis y las concentraciones de cústeres vs iones obtenidos. Este hecho podría explicarse teniendo en cuenta los perfiles obtenidos por AFM, ya que el área del electrodo cambia

claramente con cada proceso de limpieza: $A_{\text{lijado}} > A_{\text{pulido}} > A_{\text{lijado+pulido}}$. Al aplicar el mismo potencial con diferentes áreas de electrodo se varia la cinética del proceso y, por tanto, se obtienen diferencias en la producción de clústeres.

4.5 Síntesis Química

La síntesis electroquímica es muy buena desde muchos puntos de vista, como el control de las variables, la robustez, o la reproducibilidad, sin embargo, tiene un claro problema y es su escalado. La producción de clústeres es muy baja, requiriendo grandes esfuerzos de tiempo y recursos para obtener muestras suficientemente concentradas para su posterior aplicación. Por tanto, se hace necesario el diseño de nuevos métodos de síntesis que permitan un fácil escalado.

La síntesis química se ha realizado a partir de una sal de plata (en forma de sulfato o nitrato), reduciéndola con una cinética lenta mediante el uso de reductores suaves (como hipofosfito, ácido ascórbico, glucosa, etc.) y, en algunos casos, usando ligandos para estabilizar la formación de clústeres mayores, tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) y nitrato de tetrabutil amonio (TBAN). Los experimentos iniciales consistieron en la modificación selectiva de parámetros, tales como la concentración inicial de sal de plata, los equivalentes de reductores y ligandos, la temperatura y la ausencia o presencia de luz. Debido a la cantidad elevada de experimentos y cambios en los parámetros de síntesis, sólo se van a exponer aquí los resultados más relevantes de tal estudio.

La idea de estos experimentos es aproximarse lo más posible a los espectros de UV y de fluorescencia de la Figura 4-15, que representan los espectros de una muestra de AgAQCs electroquímica bien caracterizada, libre de ligandos y de alta pureza.

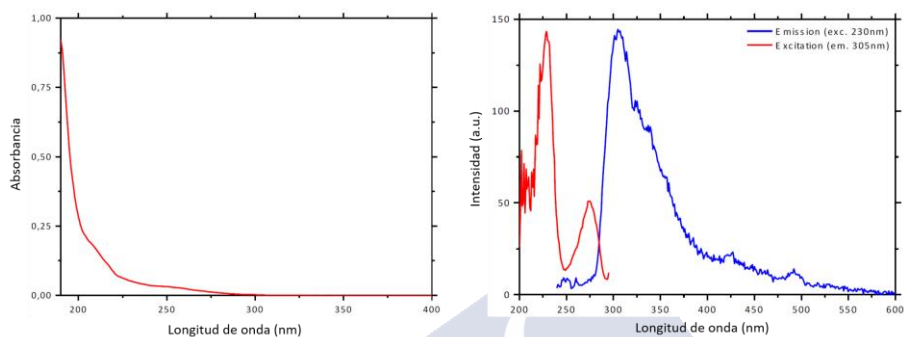


Figura 4-15 Espectro de absorción y espectros de excitación y emisión de una disolución de clústeres de Ag.

4.5.1 Experimental

Los primeros experimentos se realizarán a temperatura ambiente y en ausencia de luz, utilizando entre 1 y 10 equivalentes de ácido ascórbico como reductor y 10 mg/L de Ag (en forma de nitrato de plata). La síntesis se siguió en el tiempo mediante espectroscopia UV-Vis y fluorescencia.

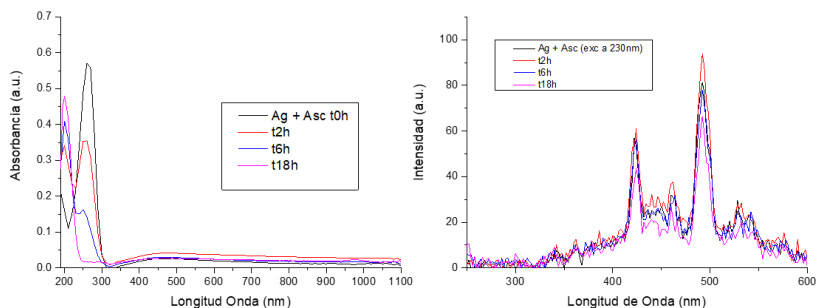


Figura 4-16 Caracterización de una muestra de reacción utilizando $[Ag^+] = 10\text{mg/L}$, con una relación molar $[Ag]/[\text{ascórbico}] = 1:1$, mediante espectroscopia UV y de fluorescencia

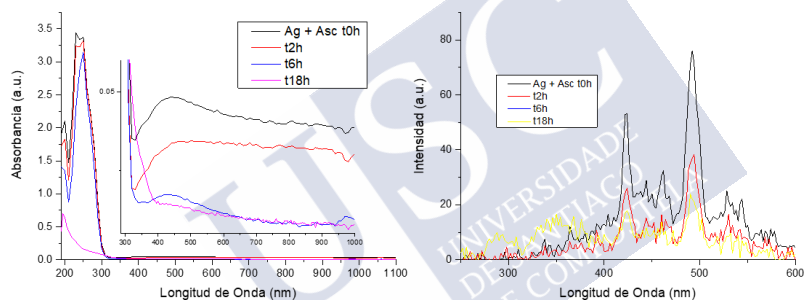


Figura 4-17 Caracterización de una muestra de reacción utilizando $[Ag^+] = 10\text{mg/L}$, con una relación molar $[Ag]/[\text{ascórbico}] = 1:10$, mediante espectroscopia UV y de fluorescencia

En ambos casos, tanto con una relación molar $[Ag]/[\text{ascórbico}] = 1:1$ (Figura 4-16) como con 1:10 (Figura 4-17), se observa la presencia de nanopartículas de plata casi desde el comienzo del experimento, como puede deducirse de las bandas de absorción en el visible, lo que indica que la reacción con el ácido ascórbico (Figura 4-18) es muy rápida y, por tanto, no apta para la síntesis de clústeres. Por su parte,

en la zona de 200-230nm, donde podría observarse la presencia de clústeres

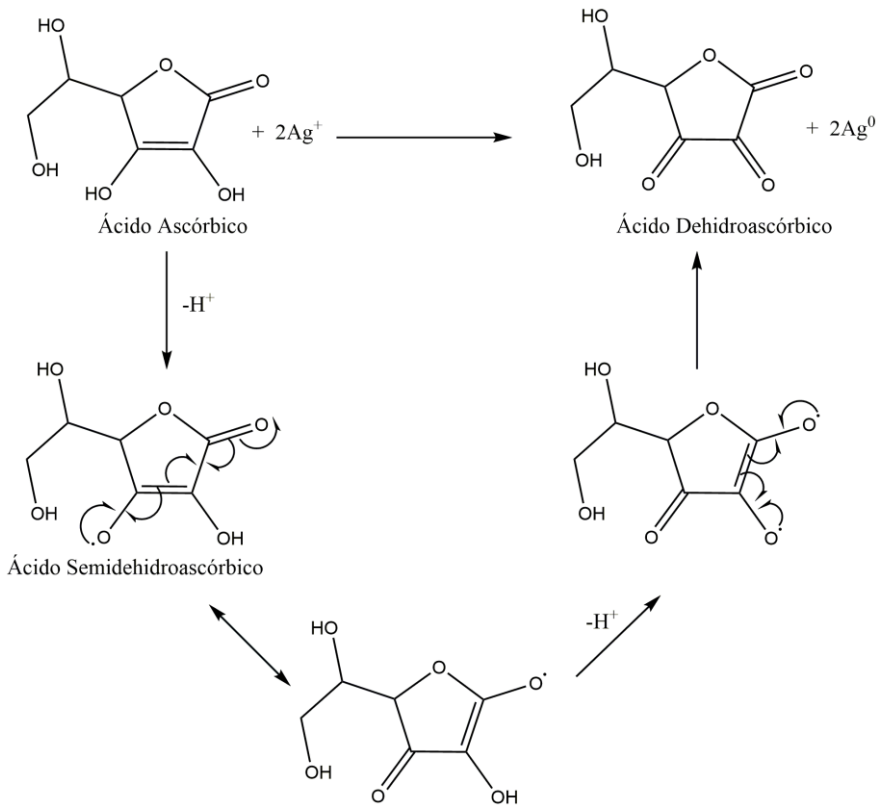


Figura 4-18 Representación esquemática del mecanismo de reducción de iones Ag mediante ácido ascórbico

de plata, se encuentra la banda de absorción del ácido ascórbico, lo que dificulta la observación de la formación de clústeres. Así mismo, la pobre fluorescencia observada es indicativa de la existencia mayoritaria de nanopartículas.

Dada la cinética rápida del proceso, el siguiente paso consistió en la utilización de dos métodos para evitar el crecimiento de los clústeres con la consiguiente producción de nanopartículas:

a) añadir algún tipo de complejante como CTAB o TBA que reducen la velocidad de reducción de la Ag, y estabilizan la formación de clústeres antes de llegar a nanopartículas. Los resultados preliminares parecen indicar la presencia de clústeres, ya que los espectros ultravioletas indican un crecimiento en torno a 300nm (al contrario que en el caso anterior, donde desciende debido al consumo de ácido ascórbico); sin embargo, sería necesaria una caracterización más completa de la muestra. Un estudio exhaustivo de esta técnica se está realizando actualmente en el grupo de investigación al que pertenece el presente trabajo.

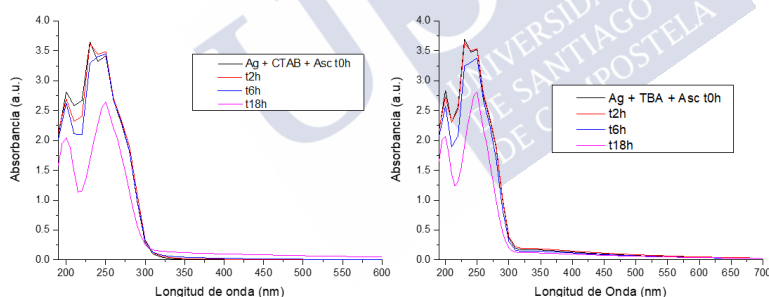


Figura 4-19 Síntesis química utilizando $[Ag^+] = 10\text{mg/L}$, con una relación molar $[Ag]/[\text{ascórbico}] = 1:10$ y $[Ag]/[\text{CTAB}]$ o $[TBA] = 1:2$.

b) Alternativamente al uso de ligandos, se optó por un reductor más suave, como el hiposfinito de sodio (NaPO_2H_2) y se observó, como cabría esperar, que la cinética del proceso era más lenta. En el espectro ultravioleta-visible se observan ahora picos claros a 280nm, así como un incremento constante de la absorbancia al disminuir la

longitud de onda, desde $\approx 600\text{-}800\text{nm}$, lo que podría ser indicativo de la formación de clústeres de diferentes tamaños, desde clústeres medianos (causantes de este incremento de absorbancia) hasta pequeños (causantes de las bandas discretas), como se explicó previamente en la sección 3.3.1 .

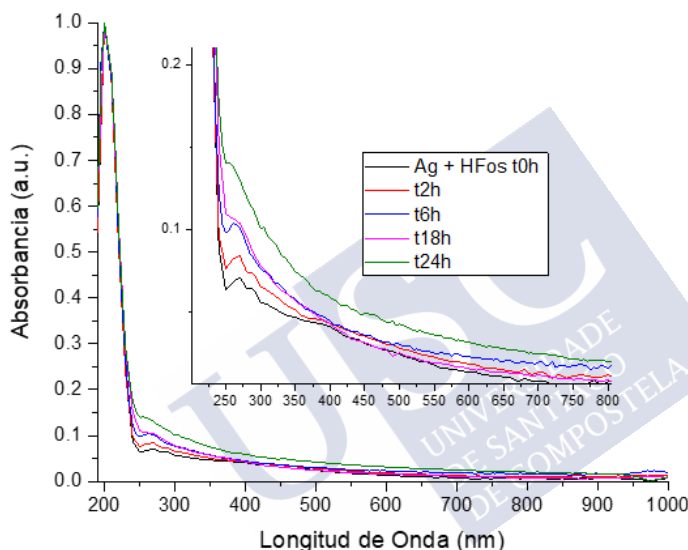


Figura 4-20 Espectro UV-vis de una muestra de plata $[\text{Ag}^+] = 10\text{mg/L}$, con una relación molar $[\text{Ag}]/[\text{hipofosfito}] = 1:10$.

Este resultado observado para la síntesis con hipofosfito es prometedor y, probablemente, se trata de la primera síntesis realizada de clústeres pequeños y medianos, libres de ligandos, por métodos químicos. Creemos que la sencillez del método permitirá, en un futuro, la producción y aplicación de los clústeres a mayor escala que la que proporciona actualmente la síntesis electroquímica.

Se ha visto experimentalmente en el grupo de investigación que el material que ha estado previamente en contacto con clústeres, así como también los electrodos de síntesis, tras repetidos usos, catalizan el proceso de crecimiento de iones a nanopartículas. Esto es debido, muy probablemente, a la formación e inserción de los clústeres en el vidrio o la adhesión en la superficie del electrodo, que posteriormente actuará de catalizador en el proceso de crecimiento.

Por ello, se realizaron experimentos para ver cómo afectaba la presencia de clústeres en el material utilizado a la cinética de la reacción, así como también si dicha presencia podría afectar a las sucesivas síntesis. Por ese motivo se realizó la síntesis química con un reductor suave (hipofosfito de sodio, NaPO_2H_2) (Ecuación 2), añadiendo previamente clústeres al medio de reacción.



Ecuación 2 Reacción de reducción del AgNO_3 en presencia de hipofosfito de sodio

Para estabilizar los clústeres obtenidos e impedir su posterior evolución a nanopartículas se añadió un ligando protector (CTAB).

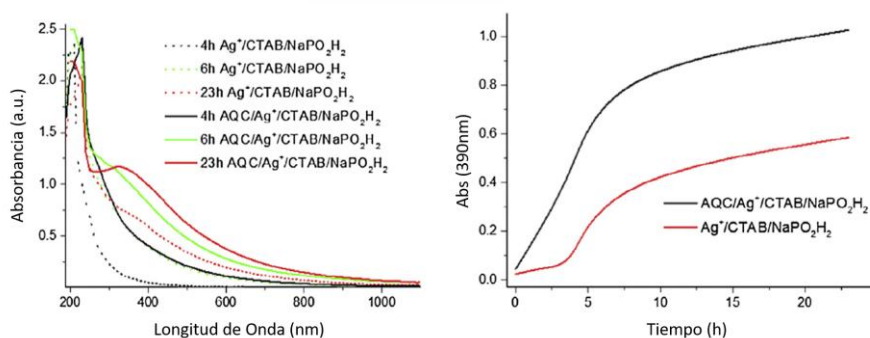


Figura 4-21. Espectro UV-Visible a diferentes tiempos durante la síntesis de NPs de Ag sin clústeres (línea punteada) y con clústeres (línea sólida) Ag clústeres añadidos al comienzo de la reacción (izq). Representación de la variación de absorbancia a 390 nm con el tiempo para la síntesis de NPs de Ag con (en rojo) y sin (negro) clústeres añadidos.

La Figura 4-21 muestra la evolución de la síntesis con el tiempo, para la muestra con clústeres (línea sólida) y en ausencia de clústeres (línea punteada). Puede observarse que la formación de nanopartículas es más rápida en presencia de clústeres. En la representación de la evolución de la absorbancia (a 390nm, correspondiente al máximo de la banda plasmónica) con el tiempo, puede observarse un período de inducción para la muestra sin clústeres (línea roja) de aprox. cinco minutos, que desaparece cuando éstos están presentes. Por lo tanto, se puede deducir que los clústeres de Ag producidos durante las etapas iniciales de la reacción actúan como catalizadores para la formación de NPs.

Debe observarse que la presencia de un período de inducción, generalmente atribuido a procesos autocatalíticos no bien definidos, es muy común en la bibliografía existente de la formación de NPs⁹⁵⁻⁹⁷. Aunque los resultados que se muestran aquí son solo para una reacción particular en condiciones experimentales concretas, sugieren que los AQC's podrían estar involucrados en muchos procesos similares, como se esperaría de sus altas actividades catalíticas.

4.6 Síntesis Fotoquímica

La síntesis fotoquímica se basa en la capacidad fotocatalítica de los clústeres³⁴. De esta forma el clúster puede actuar como un fotocatalizador en presencia de un catión metálico susceptible de fotoreducirse y un dador de electrones, susceptible de oxidarse. La síntesis fotoquímica consiste en la reducción de una sal metálica gracias a la presencia de un dador de electrones bajo la irradiación directa de una fuente de luz, en este caso una lámpara ultravioleta de 254nm, sin la necesidad de emplear ligandos o estabilizantes debido a

que puede alcanzarse un buen control cinético modificando parámetros como las concentraciones de los reactivos, y la potencia y la distancia de la lámpara.

Debido al alto número de experimentos por los diferentes parámetros a variar, sólo se presentarán en este trabajo los resultados más relevantes. A diferencia de los resultados obtenidos en la síntesis química, que no se disponía de espectrómetro de masas en el laboratorio, en el momento de la realización de los experimentos fotoquímicos, se contó en el laboratorio con un espectrómetro de masas ACQUITY QDa Mass Detector, que permitió analizar mejor las muestras y determinar la presencia de clústeres, no sólo a partir de las medidas espectroscópicas, sino también a partir de la utilización del espectrómetro de masas.

Experimental

Los experimentos que se van a resumir aquí son los realizados variando la concentración inicial de Ag (entre 0,1 g/L y 1 g/L), el tiempo de irradiación (entre 30 y 300 min), la concentración del dador de electrones (se utilizará en todos los casos 2-propanol (IPA) entre 0% y 20%) y la sal de Ag utilizada (nitrato o acetato).

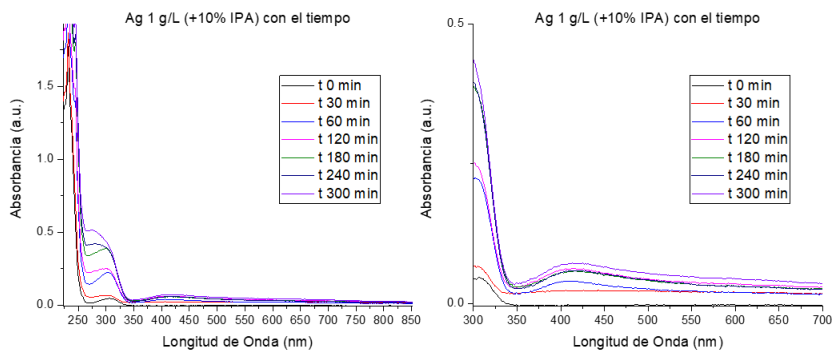


Figura 4-22 Espectro UV-Vis de una concentración de 1g/L vs tiempo (izquierda) y ampliación de la zona de bajas absorancias (derecha)

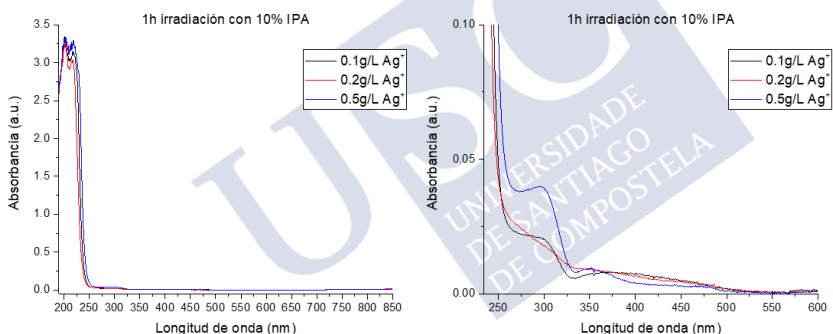


Figura 4-23 Espectro UV-Vis del efecto de la concentración en la síntesis fotoquímica (izquierda) y ampliación de la zona de bajas absorancias (derecha)

Considerando la variación de concentración inicial, para las muestras de 1g/L (Figura 4-22), se observa que la cinética es demasiado rápida, observándose la formación de nanopartículas de plata a partir de la media hora del inicio de la reacción (aparición de la banda plasmónica centrada alrededor de 400-420nm), mientras que puede verse que para concentraciones entre 0,1 y 0,5 g/L (Figura 4-23), la

cantidad de clústeres aumenta con el tiempo, sin aparecer, en principio, la banda plasmónica correspondiente a las nanopartículas.

En cuanto a la cantidad de IPA a usar, pese a que se usa en exceso, se realizaron diferentes pruebas y se observa cómo (Figura 4-24) a concentraciones inferiores al 10% de IPA, la cinética de la reacción es demasiado lenta y no se produce una cantidad significativa de clústeres, mientras que a concentraciones mayores la cinética es muy rápida, produciéndose turbidez y formación de NPs de plata.

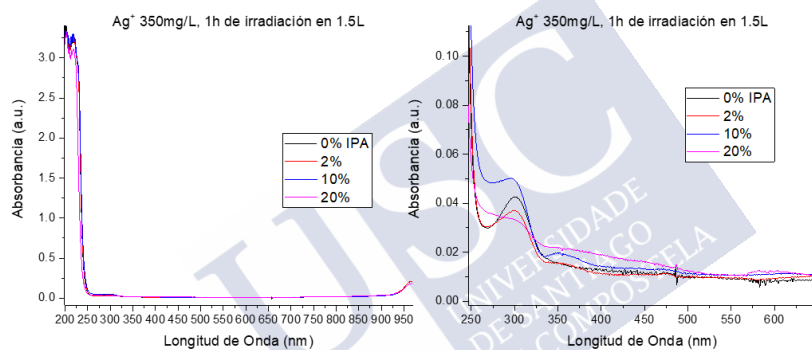


Figura 4-24 Espectro UV-Vis con el efecto de la cantidad de IPA en la síntesis fotoquímica (izquierda) y ampliación de la zona de bajas absorbancias (derecha)

Tras estos experimentos iniciales se optó por fijar unas condiciones óptimas para las muestras de plata, donde se prepara una disolución de nitrato de plata, a una concentración de 0,350g/L (3,24mM), en 1,5L de agua Milli-Q con un 10% de IPA. La disolución se irradia 1h con una lámpara UV de 254nm. Posteriormente la muestra se concentra 300 veces, hasta un volumen final de 5mL. Se mide la cantidad de iones y se precipitan con 1,5 equivalentes de NaCl, con posterior

filtrado de la muestra, con un filtro de membrana Millipore PVDF de 0.1µm de tamaño de poro.

A continuación, las muestras se caracterizaron por espectroscopia UV-Vis y espectrometría de masas.

Para los espectros UV-visible se observa un pico a 300nm que corresponde a los nitratos, y un hombro a 350nm que decae hasta 400nm, que se puede asociar a la presencia de clústeres de plata. Puede verse en la Figura 4-25 el espectro UV de la síntesis fotoquímica (izquierda), y una ampliación del espectro entre 300 y 600nm (derecha) en el que se puede observar la ausencia de AgNPs, cuya banda plasmónica debería observarse a $\approx 420\text{nm}$, por lo que se deduce que la banda entre 350 y 400nm debería corresponder con la presencia de clústeres de 4, 5 y 6 átomos, según el modelo de Jellium.

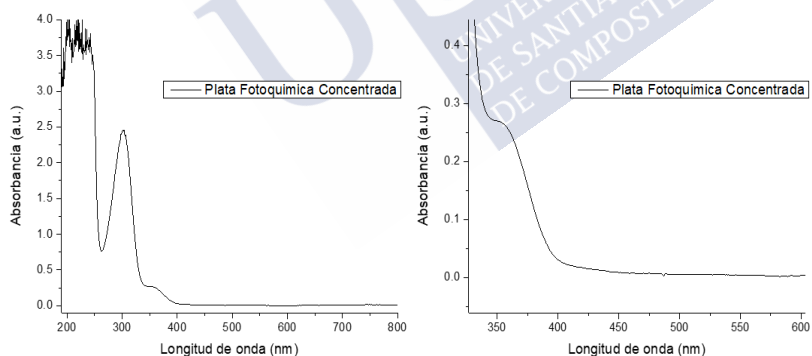


Figura 4-25 Espectro UV de la síntesis de plata por fotoquímica (izquierda), y un aumento entre 300 y 600nm para observar bien la no presencia de nanopartículas (derecha).

En cuanto a la caracterización por espectrometría de masas con ESI, puede observarse la presencia de una mezcla de clústeres de plata,

que pueden ser identificados gracias a la característica distribución isotópica de los mismos y a su relación de intensidades.

A continuación, se presentan los espectros de masas de una muestra obtenida fotoquímicamente (Figura 4-26, Figura 4-27 y Figura 4-28) y las identificaciones de las especies de clústeres presentes (véase también el anexo 8.2).

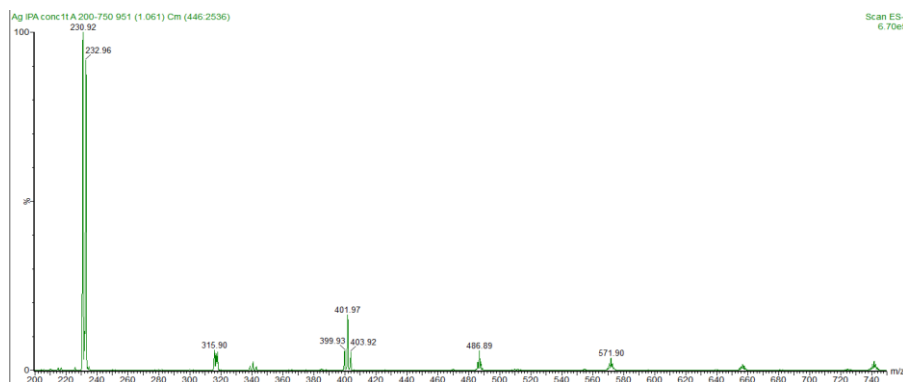


Figura 4-26 Espectro de masas en el intervalo de bajas $m/z = 200 - 750$

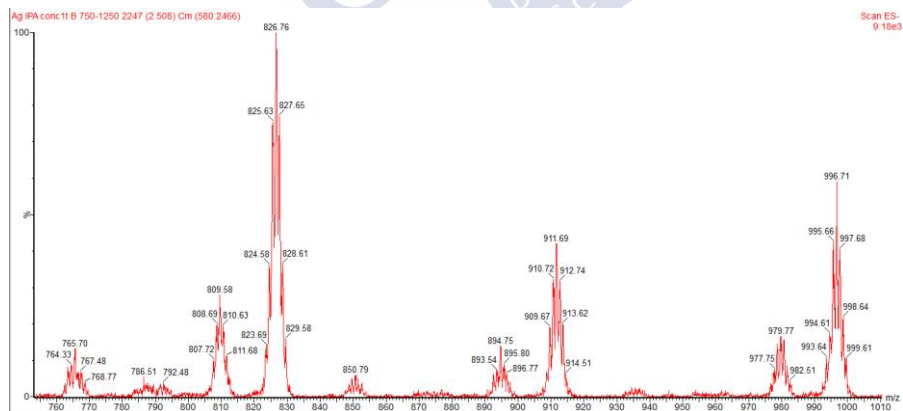


Figura 4-27 Espectro de masas en el intervalo $m/z = 760 - 1010$

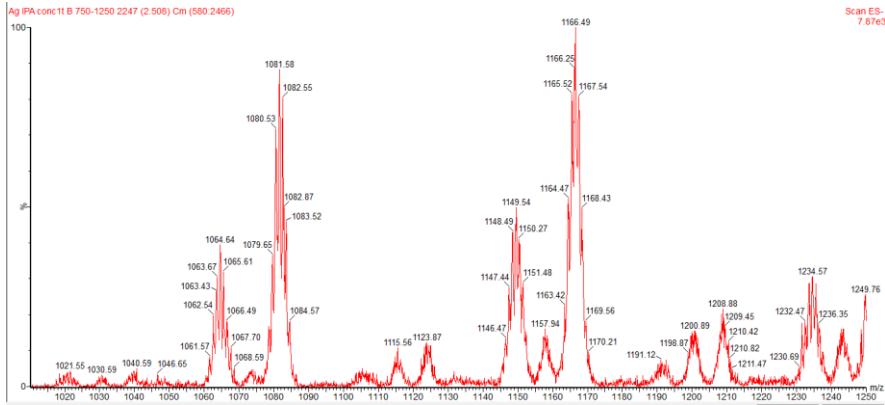


Figura 4-28 Espectro de masas en el intervalo $m/z = 1010 - 1250$

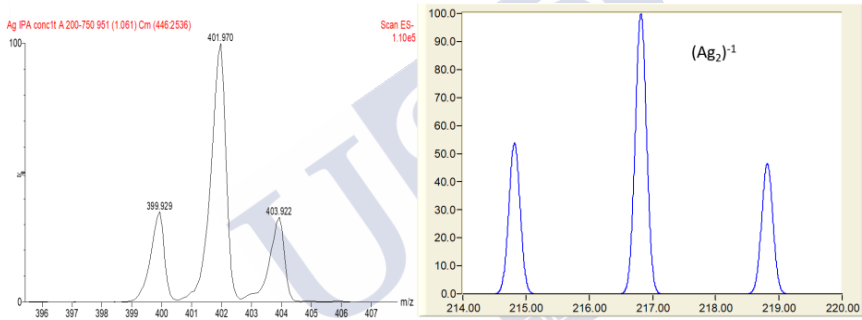


Figura 4-29 Espectro de masas (ESI en negativo) de clústeres de Ag_2 , sintetizados fotoquímicamente: experimental (izq) y teórico (der)

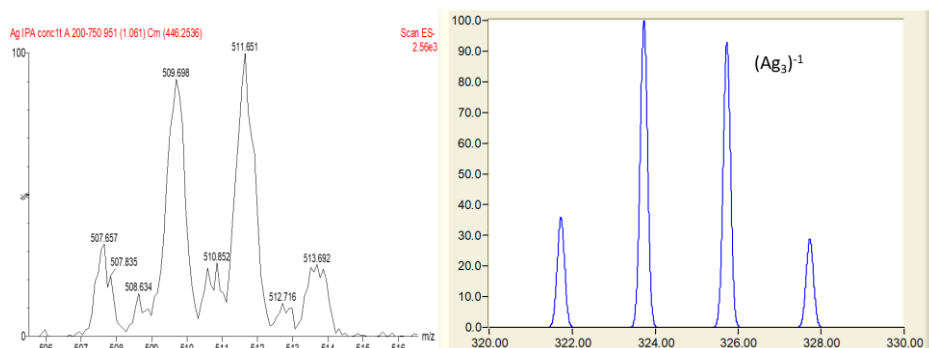


Figura 4-30 Espectro de masas (ESI en negativo) de clústeres de Ag_2 , sintetizados fotoquímicamente: experimental (izq) y teórico (der)

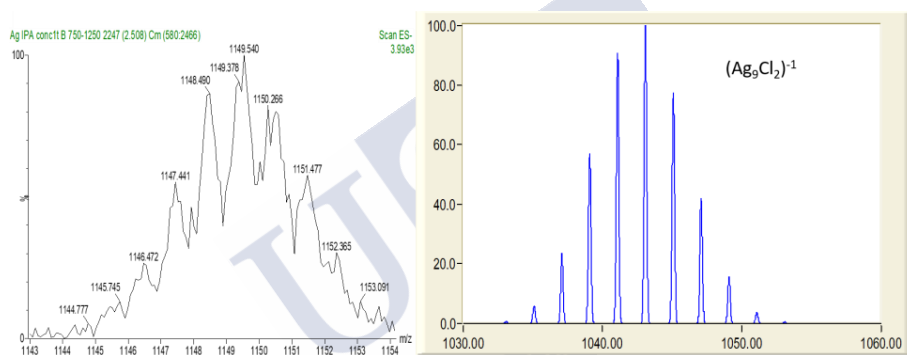


Figura 4-31 Espectro de masas (ESI en negativo) de clústeres de Ag_9 , sintetizados fotoquímicamente: experimental (izq) y teórico (der)

Queda patente por tanto que, a partir de la sal metálica en presencia de un dador de electrones, el método de síntesis fotoquímica es capaz de producir clústeres metálicos Ag_N de diferentes tamaños ($2 < n < 9$).

Se decidió extrapolar lo obtenido en las muestras de plata a muestras de cobre. Para ello se preparó una disolución de nitrato de cobre(II), con una concentración de 0,120g/L de cobre (1,88mM), en 1,5L de agua Milli-Q a la que se añadió un 10% de IPA. La disolución se irradió 3h con una lámpara UV de 254nm. Se midió la cantidad de

iones presentes y se precipitaron los iones basificando la muestra a $\text{pH} \approx 13$. Posteriormente, la muestra se concentró 300 veces hasta un volumen final de 5mL. A continuación la muestra se acidificó hasta pH neutro con perclorato de cobre(II), se filtró y se caracterizó.

Describiremos ahora la caracterización de la muestra obtenida fotoquímicamente mediante espectroscopia UV-Vis y espectrometría de masas.

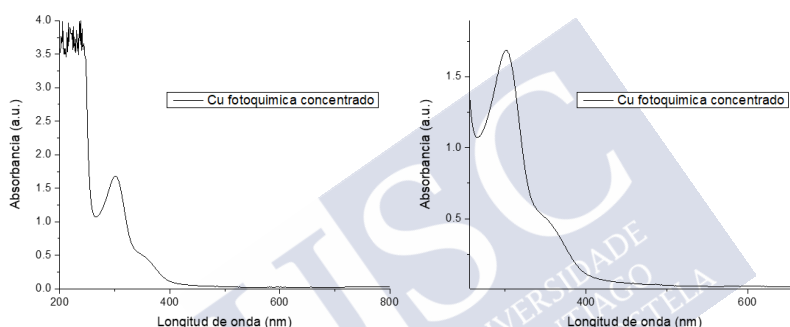


Figura 4-32 Espectro UV-Vis de la síntesis fotoquímica de Cu (izquierda) y ampliación del espectro en el intervalo 300-600nm.

En el espectro UV-Visible se observa la presencia de un pico a 300nm, que corresponde a los nitratos del medio y un hombro a 360nm que decae hasta $\approx 450\text{nm}$, que se puede asociar a la presencia de clústeres de Cu.

Por espectrometría de masas se observan distribuciones isotópicas características del Cu, asociados a varios tamaños de clústeres (ver Figura 4-33 hasta Figura 4-39 y anexo 8.2).

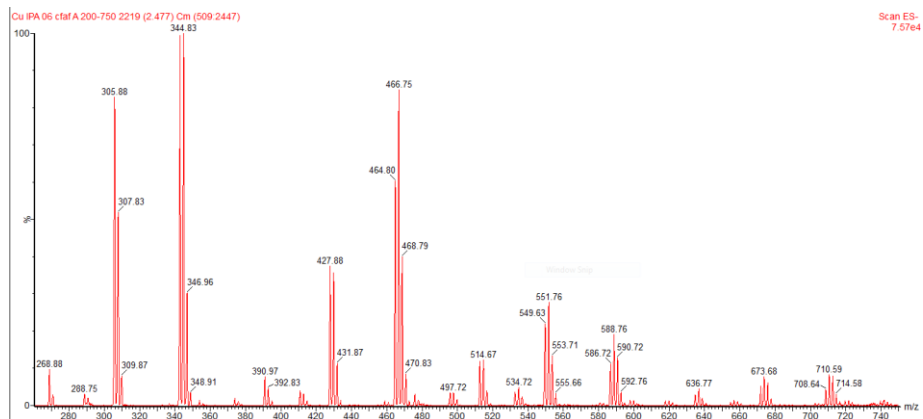


Figura 4-33 Espectro de masas de la muestra de Cu (m/z = 200-750)

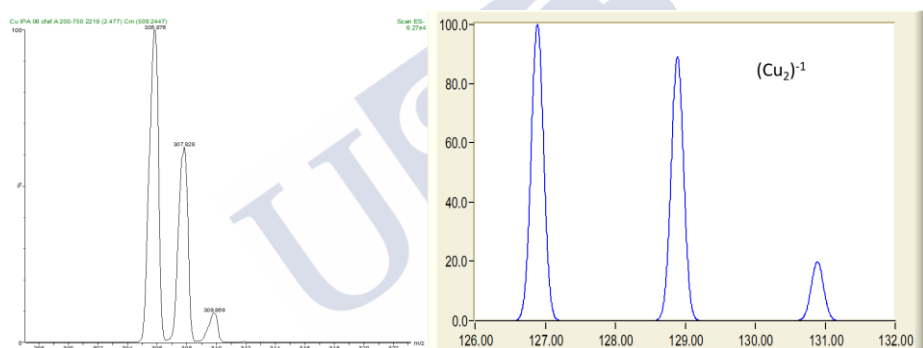


Figura 4-34 Espectro de masas (ESI en negativo) de clústeres de Cu₂ sintetizados fotoquímicamente: experimental (izq) y teórico (der)

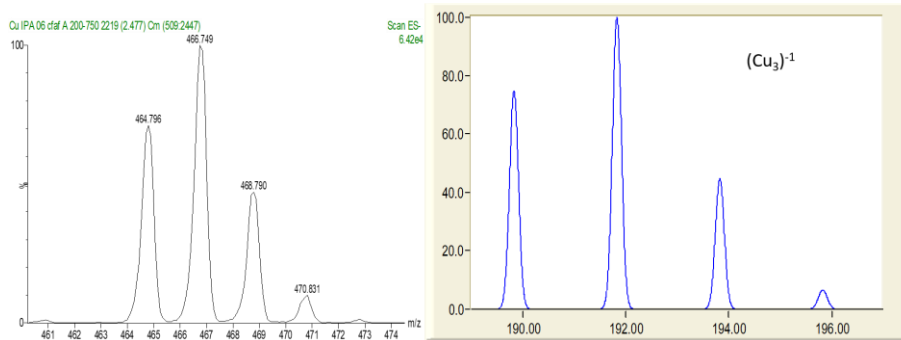


Figura 4-35 Espectro de masas (ESI en negativo) de cústeres de Cu_3 sintetizados fotoquímicamente: experimental (izq) y teórico (der)

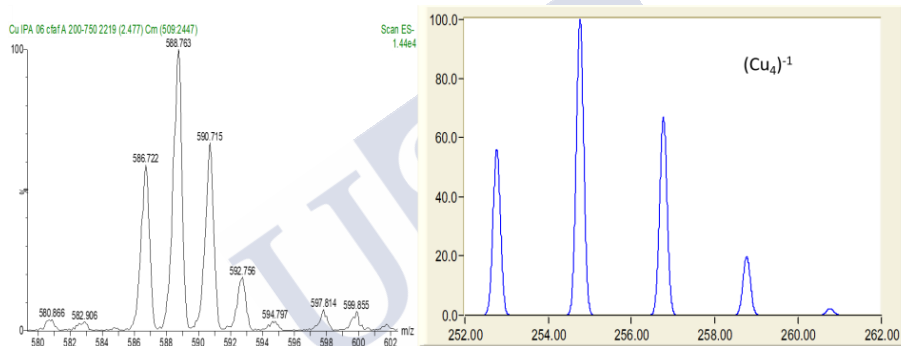


Figura 4-36 Espectro de masas (ESI en negativo) de cústeres de Cu_4 sintetizados fotoquímicamente: experimental (izq) y teórico (der)

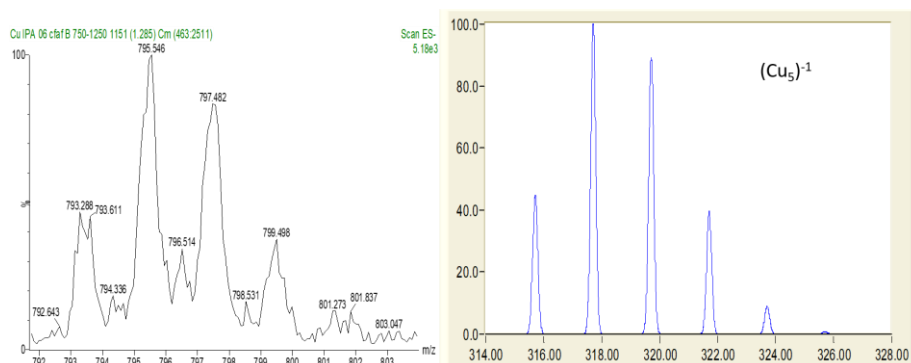


Figura 4-37 Espectro de masas (ESI en negativo) de clústeres de Cu_5 sintetizados fotoquímicamente: experimental (izq) y teórico (der)

En el intervalo de masas altas (es decir, a elevados valores de m/z) los espectros no presentan buena resolución para determinar con seguridad el tamaño exacto del clúster, puesto que la relación señal/ruido no es buena y hay solapamiento de señales.

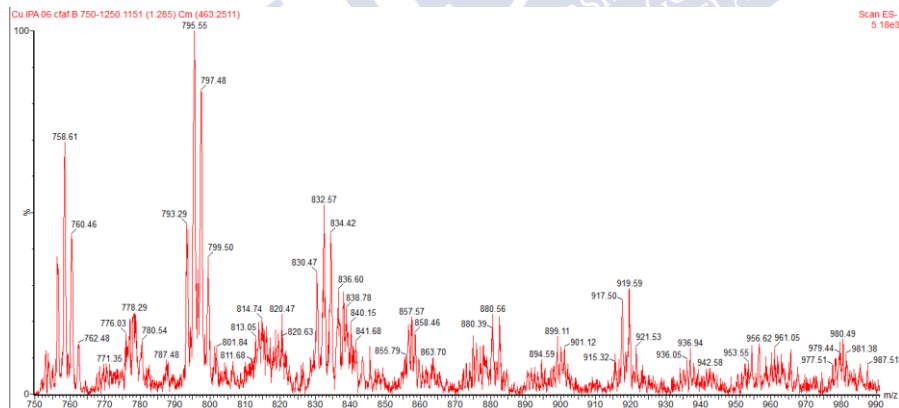


Figura 4-38 Espectro de masas de la muestra de Cu ($m/z = 750-900$)

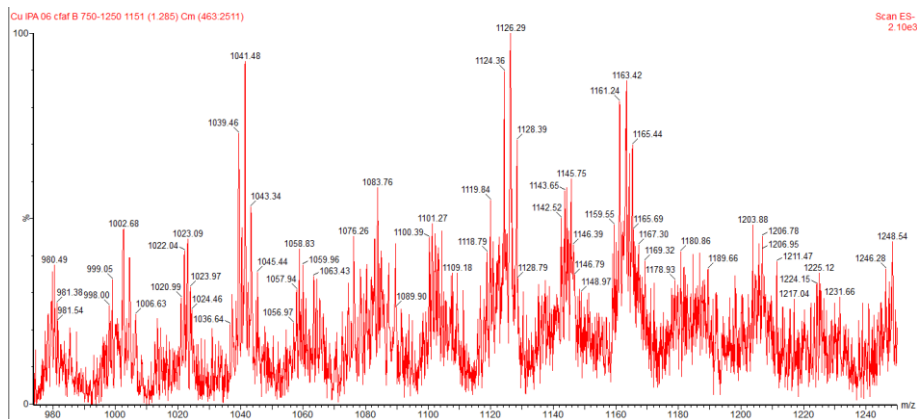


Figura 4-39 Espectro de masas de la muestra de Cu ($m/z = 900-1250$)

Se puede concluir, pues, que con este método se pueden sintetizar clústeres de Cu_N ($2 < N < 5$) –y probablemente mayores–, cuya caracterización ha de ser llevada a cabo en equipos de masas de mayor sensibilidad, pero por el momento sienta las bases para una mayor investigación en síntesis de clústeres por métodos diferentes al electroquímico y con mayor posibilidad de escalado.

4.7 Conclusiones

Se han sintetizado clústeres desnudos utilizando el control cinético por tres métodos diferentes: electroquímico, químico y fotoquímico.

La síntesis electroquímica, hasta la fecha se presenta como el mejor método de síntesis, por su gran control cinético y su buena monodispersidad en tamaño de clúster, pero plantea el problema de la pequeña concentración obtenida por síntesis, así como la laboriosidad de la perfecta limpieza y tratamiento de los electrodos.

La síntesis química ha resultado ser capaz de ofrecer resultados prometedores, especialmente cuando el control cinético es muy

preciso, como en el caso de utilizar ligandos, o en el caso de utilizar reductores muy débiles como el hipofosfito. Estos resultados ponen las premisas para el estudio y posibilidad de realizar una síntesis de clústeres pequeños sin ligandos, lo que supondría una mejora frente a la síntesis electroquímica con vistas al escalado y aplicaciones a nivel industrial.

Los clústeres sirven como catalizadores para la formación de otros clústeres y nanopartículas, como se ve tanto en la síntesis química como en la fotoquímica, y además se introducen nuevas consideraciones en las teorías de nucleación y crecimiento poniendo de manifiesto la presencia de clústeres como entidades estables y con capacidades catalíticas en síntesis.

Se ha observado que la síntesis fotoquímica es adecuada para la síntesis de clústeres de Cu y Ag, permitiendo un buen control cinético y produciendo muestras con diferente distribución de tamaños. Hasta el momento el mayor problema radica en que, pese a disminuir el número de especies presentes en el medio de reacción frente al método químico, la purificación o separación de las muestras sigue siendo compleja, pero se abren nuevos caminos para la obtención de diferentes tamaños de clústeres.

De todas formas, como las síntesis química y fotoquímica, a pesar de sus innegables ventajas, plantean todavía problemas para su optimización, en esta tesis se ha optado por el empleo del método electroquímico, debido a la mayor pureza y monodispersidades en los clústeres obtenidos, lo cual facilitará la comprensión de los resultados experimentales de los siguientes capítulos.





5. Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu₅



5.1 Introducción

Como se ha comentado en los capítulos anteriores, los clústeres subnanométricos representa un material novedoso y prometedor con un sinfín de posibilidades, cuyas aplicaciones van desde la catálisis, las celdas fotoquímicas, la producción de hidrógeno, etc., y muchas de estas aplicaciones son dependientes de la temperatura. Los catalizadores clásicos suelen tener un punto de temperatura óptima a la que la catálisis se produce más eficientemente. Las celdas solares, por muy sorprendente que pueda sonar⁹⁸, trabajan peor cuanto mayor temperatura alcanza el panel solar. Por tanto, es necesario conocer, tanto para aplicaciones posteriores y como investigación básica, la temperatura de fusión de los clústeres y en qué condiciones siguen siendo estables.

Ya hemos comentado que las propiedades de los clústeres difieren de las nanopartículas y del material masivo, por lo que vamos a intentar explicar desde un punto de vista teórico como deberían de comportarse los clústeres frente a la temperatura, para posteriormente, mediante hechos experimentales, desentrañar el comportamiento real de las partículas subnanométricas.

5.2 Efecto de la temperatura en las propiedades de nanopartículas de plata

Relaciones empíricas han permitido establecer una relación entre la energía de cohesión, la tensión superficial y el punto de temperatura de diferentes materiales sólidos. Y está muy bien establecida, tanto experimentalmente como teóricamente, la dependencia de la temperatura de fusión (T_f) de nanopartículas dependiendo del

tamaño de partícula⁹⁹. Para nanopartículas depositadas sobre un sustrato con una determinada superficie libre, la temperatura de fusión, por lo general, decrece con la disminución del tamaño de partícula. Se han encontrado sin embargo, bastantes excepciones a esta regla observándose un aumento o disminución de la temperatura de fusión dependiendo del tipo de matriz soporte^{100,101}.

Uno de los modelos desarrollados para obtener la relación de la temperatura de fusión con el tamaño es el conocido como modelo de la gota líquida⁹⁹ que, además, se puede extender su aplicación a otros fenómenos, como por ejemplo para determinar cómo afecta el sustrato en el crecimiento de las nanopartículas depositadas. Uno de los éxitos del modelo de gota líquida es la explicación intuitiva del fenómeno de fisión de algunos núcleos. Las nanopartículas son sistemas finitos y sus propiedades están dominadas por la superficie, representada tanto por el área superficial como por la cantidad de átomos en superficie. Desde este punto de vista la temperatura de fusión puede entenderse relacionándola con la energía de cohesión. De acuerdo a este modelo^{102,103} la energía de cohesión (E_b) de una nanopartícula de N átomos es igual a la energía del volumen ($a_v N$) menos la energía superficial ($4\pi r_a^2 N^{2/3} \gamma$) –Ecuación 3-

$$a_{v,d} = a_v - \frac{4\pi r_a^2 \gamma}{\frac{1}{N^{2/3}}} = a_v - a_s N^{-1/3},$$

Ecuación 3. Energía de cohesión del átomo en función del radio, el volumen y el coeficiente de energía superficial

Donde a_v representa la energía de cohesión de la materia, r_a es el radio de un átomo deducido del volumen atómico ($v_0 = 4\pi r_a^3/3$) y γ es el coeficiente de energía superficial del material. El último término de la ecuación 3 surge de la presencia de átomos en una superficie. Por

tanto, la energía de cohesión por átomo vendrá dada por la siguiente ecuación:

$$E_b/N = a_{v,d}$$

Ecuación 4. Energía de cohesión por átomo

El número de átomos en una nanopartícula esférica de diámetro “d” es:

$$N = \frac{d^3}{(2r_a)^3}$$

Ecuación 4. Numero de átomos de una partícula esférica de diámetro d

Siendo, por tanto, la expresión para la energía de cohesión por átomo:

$$a_{v,d} = a_v - \frac{6v_0\gamma}{d}$$

Ecuación 5. Energía de cohesión por átomo en función del tamaño

Ecuación que implica que la energía de cohesión por átomo decrece con el tamaño de partícula y el ratio de decrecimiento depende del valor del volumen atómico (v_0) y del coeficiente de energía superficial (γ).

Relación empírica entre la energía de cohesión y la temperatura de fusión:

Se ha demostrado que existe una relación empírica entre la energía de cohesión y la energía superficial:

$$a_s = 0.82a_v$$

Ecuación 6 relación entre energía de cohesión y energía superficial

Esta ecuación se ha obtenido experimentalmente para clústeres de Li, Na y K. Se ha obtenido asimismo una expresión para relacionar la temperatura de fusión (T_f) de la materia condensada con la energía de cohesión, basado en el criterio de Lindemann de la fusión (que tienen en cuenta que la vibración de los átomos depende de la temperatura y esto provoca la fusión de la estructura):

$$T_m = \frac{na_v f^2}{3k_B Z}$$

Ecuación 7. Temperatura de fusión según el criterio de Lindemann

Donde n es el exponente de repulsión de la interacción entre los átomos constituyentes, Z la valencia de los átomos, f el ratio del desplazamiento atómico a la T_f respecto de la separación interatómica en el equilibrio, y k_B la constante de Boltzmann. La Ecuación 7 indica la relación entre la energía de cohesión de la materia condensada y la temperatura de fusión. La variación de la temperatura de fusión de las nanopartículas con el tamaño puede obtenerse combinando la Ecuación 5 y la Ecuación 7. Pero hay que tener en cuenta que la relación obtenida sería adecuada solo para una transición líquido-gas. Si se quiere obtener una relación más acorde con el estado sólido de las nanopartículas, debería utilizarse la energía de cohesión. Eso es lo que abordaremos en el siguiente apartado.

Relación empírica entre tensión superficial y temperatura de fusión:

Existe una relación entre la energía de cohesión y energía superficial¹⁰⁴, que relaciona la energía de cohesión en función de la temperatura de fusión (T_f) de las nanopartículas y la temperatura de fusión del material masivo (T_{fb})

$$T_f = T_{fb} - \frac{6v_0\gamma}{0.0005736d} \Rightarrow \frac{T_f}{T_{fb}} = 1 - \frac{6v_0\gamma}{0.0005736d} \left(\frac{\gamma}{T_{fb}} \right) = 1 - \frac{\beta}{d} \quad (4)$$

Ecuación 8 Relación entre la Temperatura de fusión nanopartículas con la Temperatura de fusión del material masivo

Expresiones similares han sido desarrolladas desde un punto de vista termodinámico^{105,106} y a partir de diferentes modelos teóricos. Se conocen los valores para v_0 , γ , T_{fb} , y el valor de β , para diferentes elementos (presentados en la Tabla 2 del Anexo 8.3)¹⁰⁷

Para partículas de geometría esférica con un diámetro d , se puede obtener por tanto la siguiente relación⁹⁹:

$$T_f = T_{fb} \times \left(1 - \frac{\beta}{d} \right)$$

Ecuación 9 Temperatura de fusión de las NPs de diámetro d en función de la temperatura de fusión del material masivo

Gráficamente puede verse la tendencia tal como se muestra en la siguiente figura

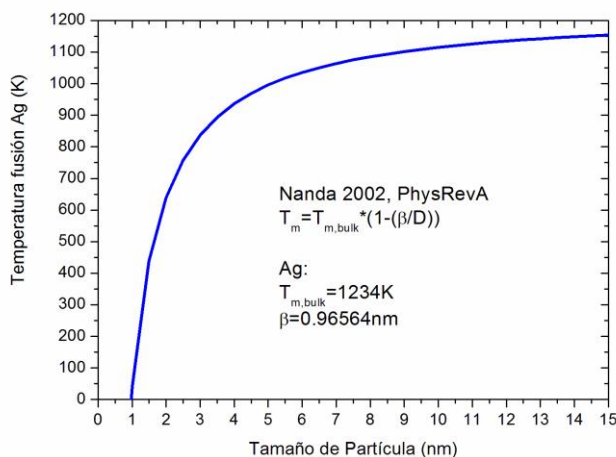


Figura 5-1 Variación de la temperatura de fusión de la plata con el tamaño de partícula

En esta gráfica se puede observar cómo la temperatura decrece según disminuye el tamaño de partículas, por lo que es de esperar que, para nanopartículas pequeñas, en torno a 1-1,5 nm, la temperatura de fusión sea mucho menor que la del material masivo, próxima a temperatura ambiente, con lo que indicaría que los clústeres no son estables a temperatura ambiente, en contra de la existencia estable de los clústeres en disolución. Además, como uno de los factores es la energía de cohesión, se harán pruebas en diferentes superficies para observar su influencia.

5.3 Experimentos en disolución

Los clústeres usados en este experimento son clústeres de Cu_{15} sintetizados por el método electroquímico, expuesto en el capítulo anterior.

Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu₅

El estudio de la estabilidad térmica se va a llevar a cabo de varias formas, primeramente en disolución, introduciendo una muestra de Cu₅, perfectamente caracterizada, en un reactor hidrotérmico de acero y una vasija de teflón (Véase Figura 5-2), que nos va a permitir calentar una muestra acuosa de clústeres hasta los 200°C y con efecto adicional de la presión autógena que se crea en el sistema, permitiendo seguir el estudio de la muestra con la temperatura más allá del límite para muestras acuosas de clústeres a presión atmosférica ($\approx 100^\circ\text{C}$).

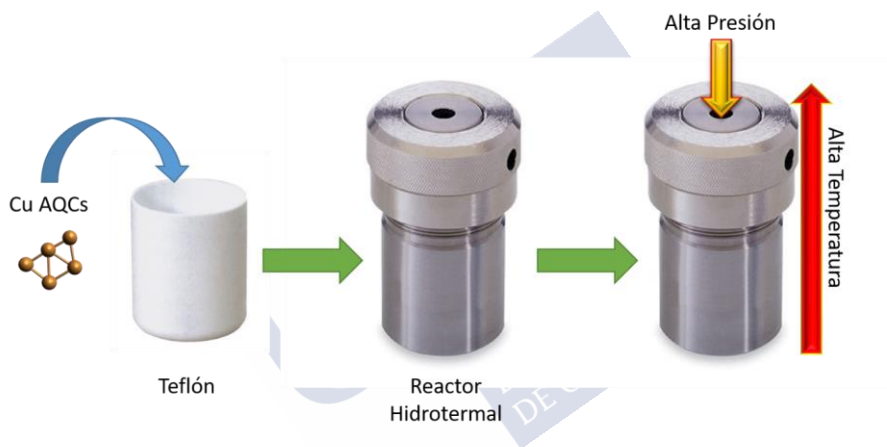


Figura 5-2 Esquema del proceso usando un reactor hidrotérmico para calentar la muestra

Como vimos en el capítulo anterior, inicialmente la muestra a temperatura ambiente presenta los siguientes espectros de ultravioleta-visible y de fluorescencia y seguiremos su evolución con estas mismas técnicas durante todo el proceso de calentamiento

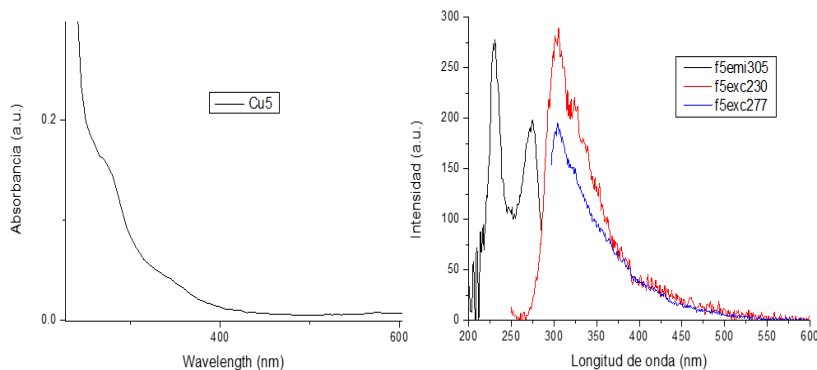


Figura 5-3 Espectro UV-Visible (izquierda) y espectros de fluorescencia (derecha) para una muestra de Cu₅

Se calienta la muestra en sucesivas etapas en el reactor hidrotérmico. Primero se introduce a 25°C para ver que no varían sus propiedades en contacto con la superficie de la vasija de teflón, y posteriormente se eleva la temperatura hasta el valor deseado y se mantiene constante en períodos de 4h, calentando el reactor, dejando enfriar y midiendo la variación de las propiedades ópticas. Las etapas de temperatura van desde los 50°C hasta los 200°C en incrementos de 50°C. El resultado de estos experimentos atendiendo a la evolución de las propiedades ópticas es el que sigue:

Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu₅

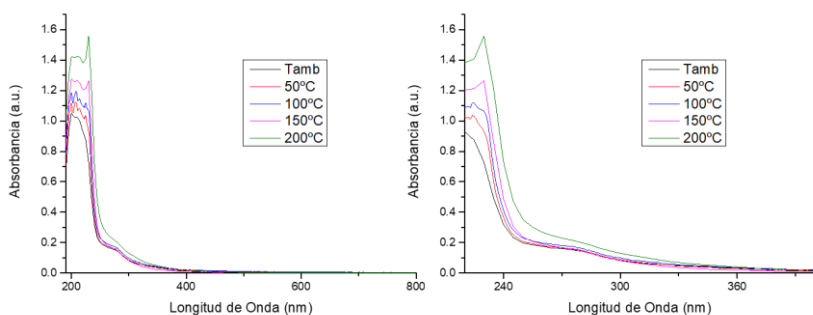


Figura 5-4 Espectro UV de Cu₅ y su evolución con la temperatura (izquierda) y ampliación a la región UV (derecha).

Podemos ver en el espectro UV-Vis, la banda correspondiente de los clústeres en torno a 270nm, y que hay incremento leve de la absorbancia con la temperatura, más pronunciado para 200°C. ¿Qué nos dice esto? Que los clústeres siguen estando presentes en la muestra tras alcanzar los 200°C, evidenciado por la banda de absorción a 270nm y, por otro lado, el incremento de la banda sobre todo entre 270 y 300nm parece indicar creación y crecimiento de clústeres, propiciado muy posiblemente por la presencia de iones en la disolución. Pese a que los iones Cu²⁺ son prácticamente eliminados precipitándolos con NaOH y medidos con un Electrodo Selectivo de Iones para comprobar que no se detectan iones, la constante de solubilidad del Cu(OH)₂ y los límites de detección del instrumental hacen posible que una pequeña cantidad pueda seguir presente. Estudios previos⁷² han demostrado que los clústeres tienen una gran capacidad de catalizar la transformación de iones para formar más clústeres y nanopartículas; en este caso, al no ver banda plasmónica, podemos concluir que los clústeres son estables hasta 200°C.

En el caso de la fluorescencia, la interpretación de los resultados es complicada, ya que claramente se observan las bandas de fluorescencia, con emisión a 300nm, lo que como hemos visto se asocia a un clúster de 5 átomos, pero también se ve como las bandas de fluorescencia cambian con la temperatura de modo que la intensidad va decayendo, para la excitación a 230nm y aproximadamente se mantiene para la excitación a 277nm. Puesto que la excitación a 230nm implica una radiación más energética y puede afectar a más elementos en disolución, se escogerá la banda a 277nm para los clústeres de Cu₅, que además apenas varía con una intensidad relativa de 200 en unidades arbitrarias, hasta 150°C.

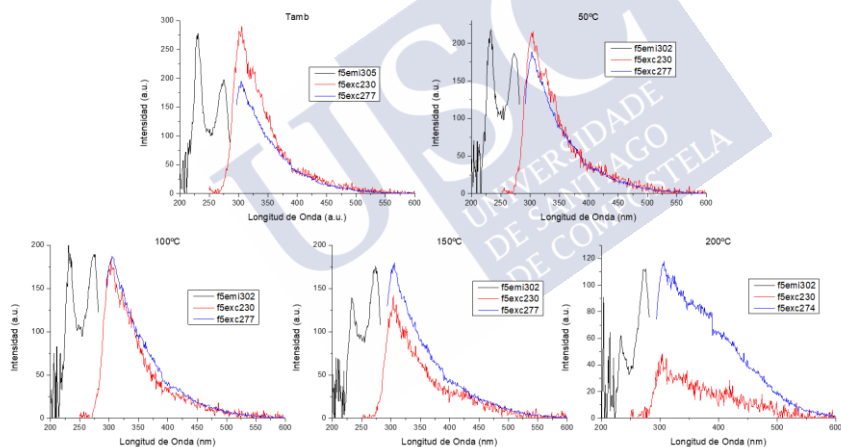


Figura 5-5 Espectros de Fluorescencia de la muestra de Cu₅ tratada a diferentes temperaturas

Como hemos visto en la muestra, el espectro UV-Vis se mantiene relativamente similar en absorbancia hasta 150°C, lo mismo que para la fluorescencia, es en los 200°C donde la fluorescencia sí cambia, pudiendo observarse cómo la banda a 300nm decae de forma diferente. Podríamos explicar esto conjuntamente con la

caracterización ultravioleta, como parte de la evolución hacia clústeres de mayor tamaño catalizados por la presencia de una pequeña proporción de iones Cu²⁺ y de clústeres de Cu₅, que vemos que siguen siendo estables a esta temperatura.

Debido a que con los medios necesarios solo podemos realizar las medidas de absorbancia UV-Visible y de fluorescencia en disolución acuosa hasta 200°C, se ha optado por estudiar la estabilidad térmica de los clústeres depositados en un sustrato, con el objeto de seguir su evolución mediante AFM y técnicas de espectroscopia de rayos X en el sincrotrón ALBA (Cerdanyola del Vallès, Barcelona).

5.4 Experimentos de clústeres soportados

Para la caracterización y estudio por AFM, la preparación de la muestra consiste en la deposición de una gota sobre la superficie deseada, en nuestro caso Mica o grafito pirolítico (HOPG) ya que presentan una superficie muy plana, y además son exfoliables, pudiendo eliminar la capa superficial para obtener un nuevo sustrato limpio. (Véase Figura 5-6)

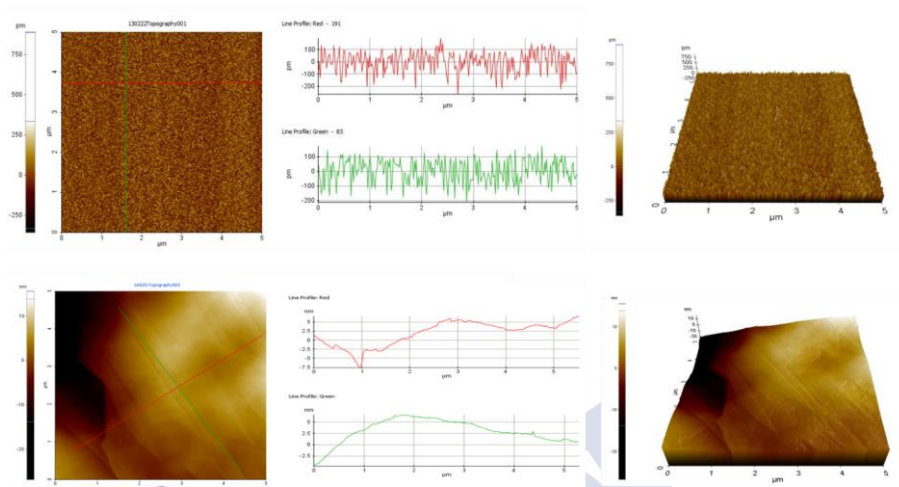


Figura 5-6 Imágenes de AFM, de las superficies limpias de mica (parte superior) y HOPG (parte inferior) con los perfiles de línea y las representaciones en 3D

La estructura de la mica es relativamente plana, con una rugosidad media de $\pm 150\text{pm}$, suficiente para el estudio del tamaño de los clústeres a estudiar ya que el tamaño de un átomo es de 300pm . La superficie del HOPG, presenta estructura en terrazas tras la exfoliación que están separadas por una altura de un tamaño de un átomo como mínimo y en caso de depositarse cualquier elemento podrá verse claramente sobre las terrazas planas, o en la interfase entre las mismas.

Otro parámetro a tener en cuenta es la concentración de la muestra a depositar, puesto que una muestra muy diluida podría ser difícil de caracterizar al no cubrir de forma homogénea la superficie y en una muestra muy concentrada podría verse un número de agregados de clústeres, excesivo. Se han repetido y realizado diferentes deposiciones con sus respectivas medidas hasta averiguar las mejores

Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu₅

condiciones para la preparación de las muestras y obtener así las óptimas condiciones de deposición.

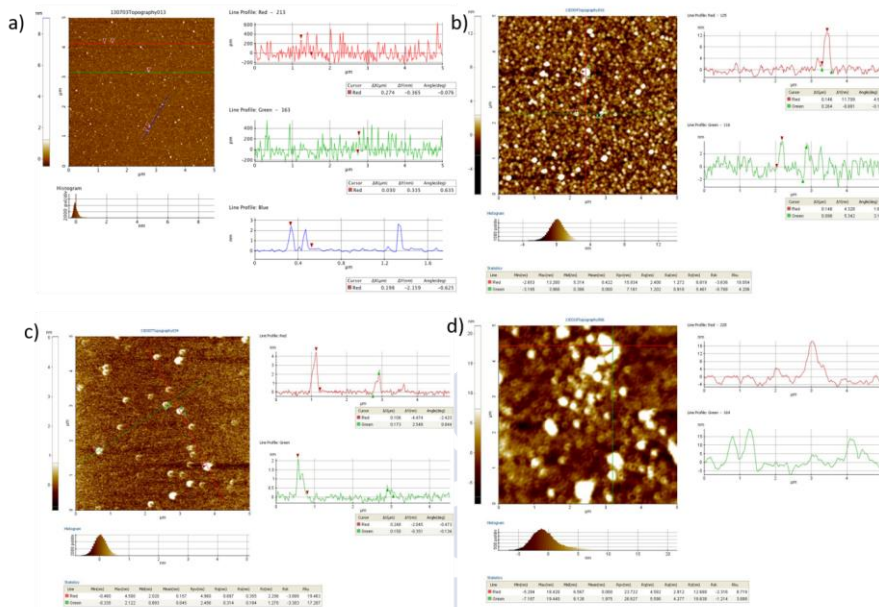
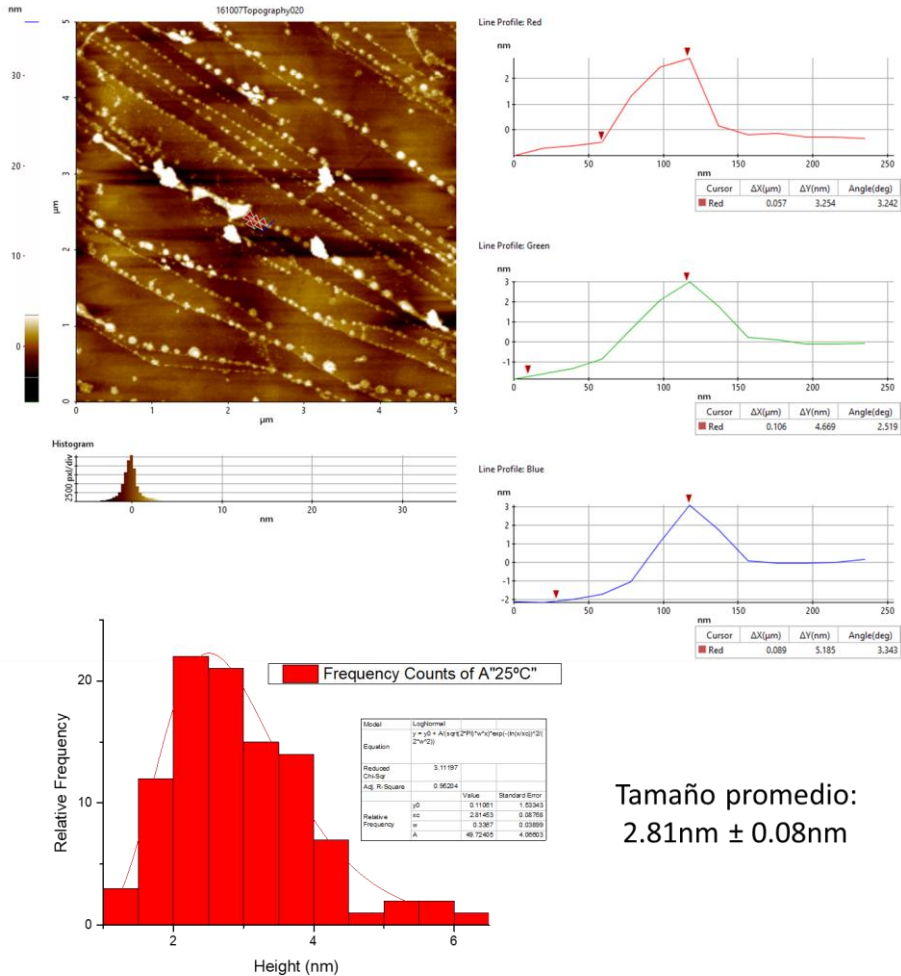


Figura 5-7 Diferentes imágenes de deposiciones de muestras de clústeres (a) diluida, (b) concentrada, (c) presencia de sales y óxidos, (d) sin lavar.

Como se observa en la Figura 5-7, la deposición óptima de las muestras no es trivial, habiendo variaciones importantes en función de la concentración (muestra (a) diluida vs muestra (b) concentrada), con la presencia incluso de contaminaciones debidas a la presencia de diferentes sales u óxidos (muestra (c)) que originan variaciones según el lavado de las muestras con agua Milli-Q ((a) muestra lavada o (d) muestra sin lavar).

Se encontró que las mejores condiciones de deposición son: la utilización de 5 a 20uL de muestras con concentraciones comprendidas entre 0,1mg/L y 100mg/L, en función de si la muestra

se deja evaporar con lentitud para mejorar la homogeneidad de la deposición (indicado para muestras más diluidas) o si se lava con agua abundantemente para limpiar la muestra (indicado para muestras más concentradas), con posterior secado bajo atmósfera de N₂.



Tamaño promedio:
2.81nm ± 0.08nm

Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu₅

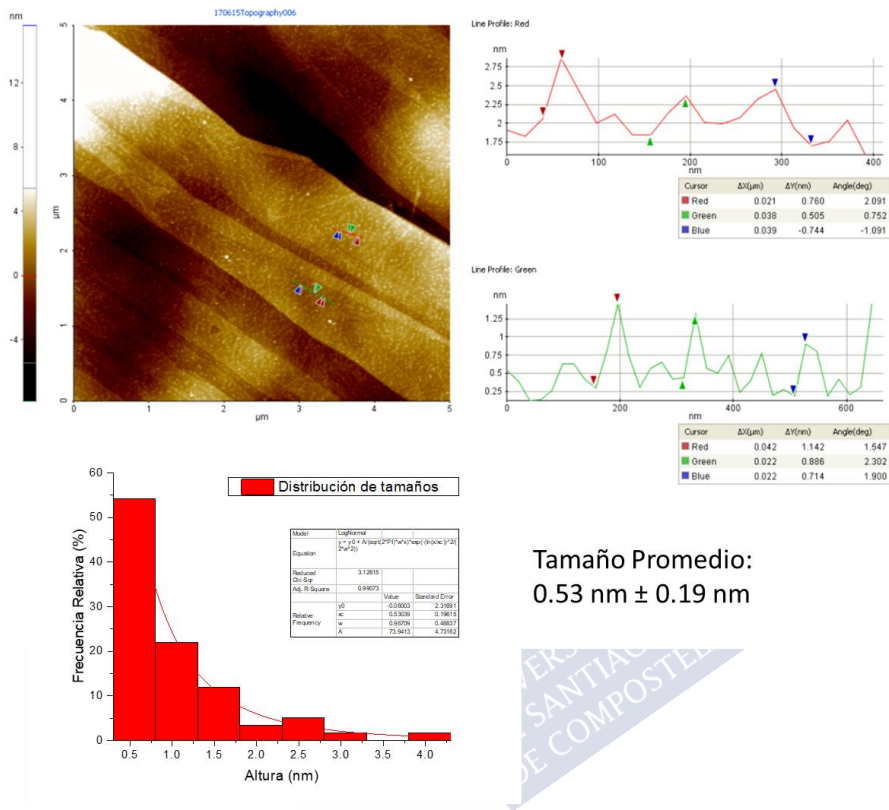
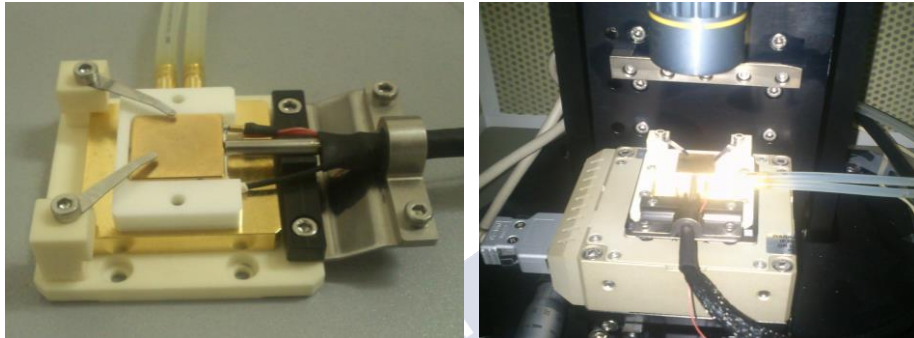


Figura 5-8 Ejemplo de dos muestras de Cu₅ depositadas, una muy concentrada con agregados (arriba) y otra más diluida y dispersada sobre el sustrato (abajo)

Optamos por caracterizar dos tipos de muestras, una más diluida con menos dispersión de tamaños (expresada como altura topográfica en el AFM) y otra más concentrada con agregados (Figura 5-8). Observamos como la diluida ocupa casi toda la superficie de la muestra con un tamaño promedio de 0.6nm, mientras que la concentrada permite ver la preferencia de los clústeres sobre las interfaces y terrazas de los escalones, donde se concentran la mayoría de los agregados, con un tamaño promedio de 2,80nm con gran

dispersión de tamaños. La configuración del experimento consiste en instalar una platina térmica en el AFM, para calentar las muestras *in situ* y así tratar de medir siempre en la misma zona (Figura 5-9), para apreciar mejor la evolución topográfica de la muestra con los clústeres depositados frente a la temperatura.



(a)

(b)

Figura 5-9 (a) Platina de temperatura para calentar “in situ”. (b) Platina de temperatura montada sobre el AFM

Para el estudio topográfico de las muestras con AFM se buscan zonas con concentraciones de clústeres lo suficientemente presentes como para observar alguna modificación *a posteriori* con el incremento de la temperatura. Una vez medida una zona extensa, se calienta la muestra durante dos horas y se repite el proceso. Como en el momento de calentar, la punta puede degradarse, se eleva unos milímetros sobre la muestra, lo que origina el problema de volver a aproximar la punta al mismo sitio (para que las imágenes se superpongan y realizar el promedio de la imagen con precisión). Por ello se invirtió suficiente tiempo en este proceso para volver a medir en la misma zona.

5.4.1 Clústeres soportados sobre HOPG

Empezamos con el estudio con una muestra de Cu₅ diluido sobre HOPG, siguiendo el método de deposición explicado anteriormente y realizamos la medida a temperatura ambiente obteniéndose el resultado que se muestra en la Figura 5-10. En ella se ve una muestra de clústeres, con un tamaño promedio de 0,60nm, pero con más del 70% de los clústeres contabilizados (de un muestreo de 600) entre 0,30nm y los 0,60nm podemos ver que tenemos una monocapa-bicapa de clústeres en la muestra sin apenas agregados mayores.

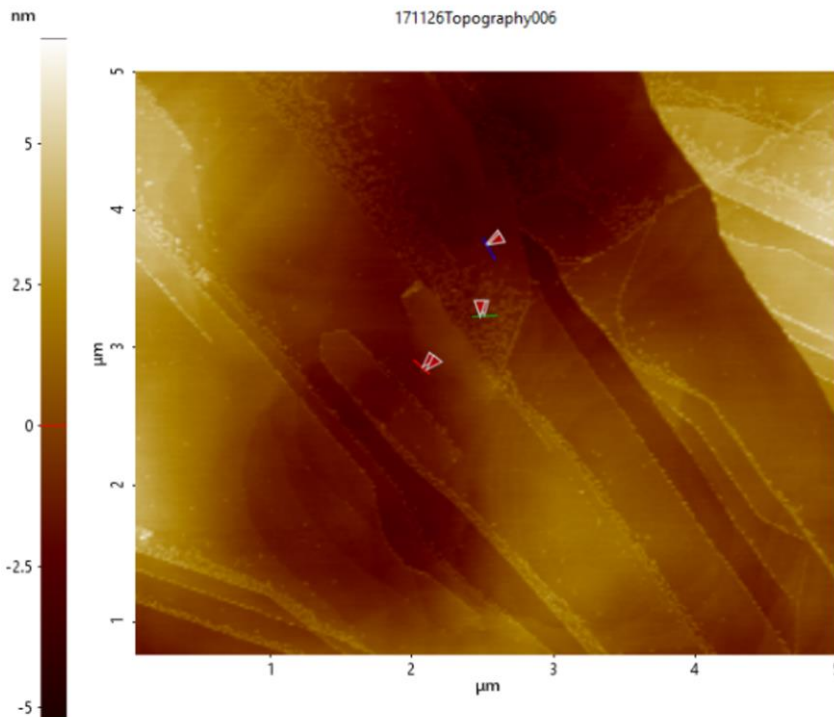


Figura 5-10 Imagen topográfica de Cu₅ diluido sobre HOPG, medido a temperatura ambiente

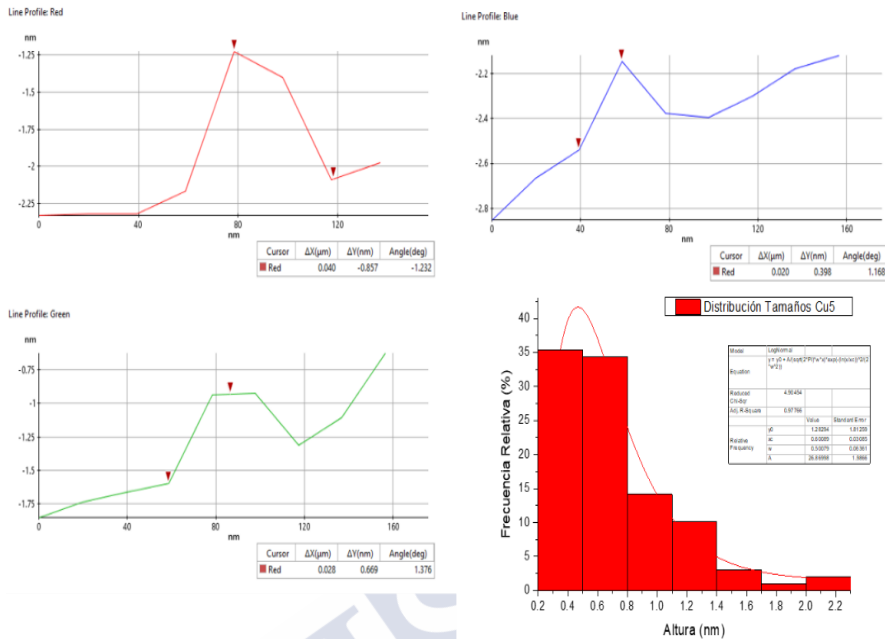


Figura 5-11 Perfiles de Línea de algunos CuAQC e histograma con la frecuencia relativa vs altura topográfica

¿Qué sucede al calentar? Si calentamos la muestra desde temperatura ambiente hasta 200°C en etapas de 50°C, se ve que la muestra sufre modificaciones principalmente en la posición de los clústeres sobre su superficie (Figura 5-12). Este hecho afecta evidentemente a la distribución de tamaños, tal como explicaremos a continuación.

Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu_5

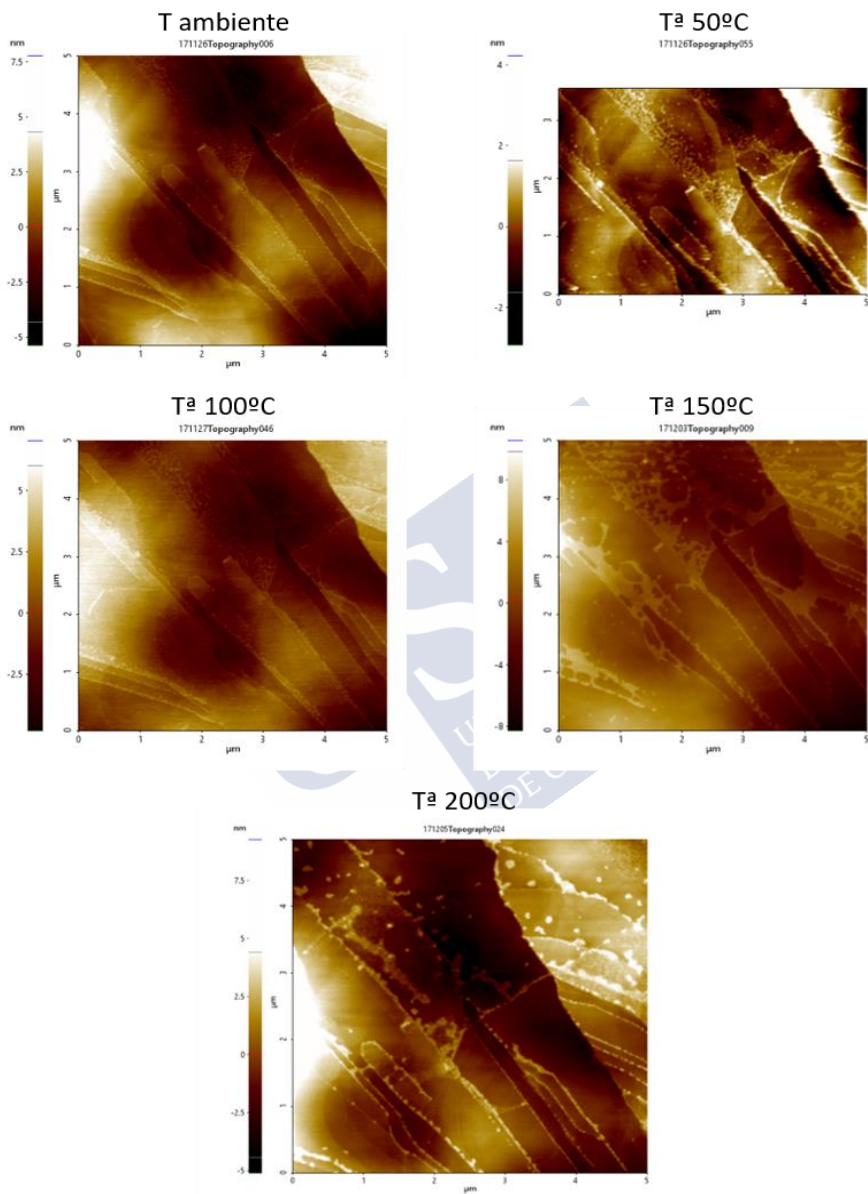


Figura 5-12 Imágenes Topográficas de AFM de la misma sección de muestra calentada a diferentes temperaturas

A nivel topográfico, no hay variaciones significativas en la altura de los clústeres o en la distribución de tamaños hasta 100°C; es a partir de 150°C donde se puede apreciar a simple vista los cambios en la topografía. Analizando la muestra a temperatura ambiente frente a la misma zona tras calentar a 200°C (Figura 5-13) se puede ver que los clústeres individuales desaparecen y se observa en su lugar islas de clústeres, cuyo tamaño está en torno a 2 nanómetros. Si teníamos clústeres metálicos antes de calentar, ¿qué es lo que vemos ahora?, si en disolución son estables hasta los 200°C, cabe pensar que lo que estamos viendo siguen siendo clústeres de Cu, y lo que mejor procede a explicar el fenómeno es la movilidad de estos sobre el HOPG. La afinidad de los clústeres por la interfase ya se había observado previamente en procesos como la síntesis de nanorods³⁴ o al depositar en superficies como HOPG donde se ve la preferencia por los escalones de las terrazas, por tanto no es de extrañar que los clústeres presenten cierta tendencia a agruparse entre ellos y en torno a los escalones de las terrazas del HOPG.

Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu₅

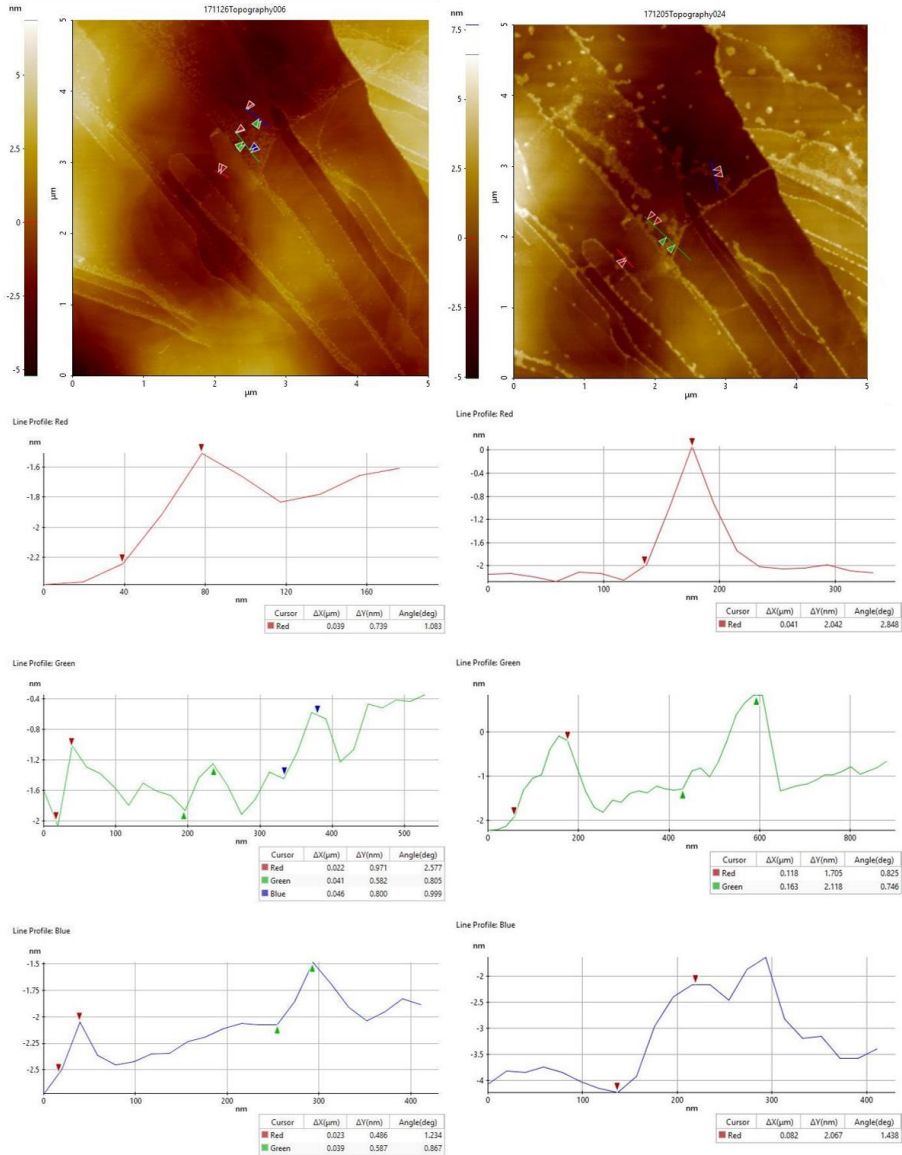


Figura 5-13 Topografía y perfiles de línea de la muestra medida a temperatura ambiente (izquierda) y tras calentar a 200°C (derecha)

Este mismo fenómeno puede observarse en otras zonas de la misma muestra (Figura 5-14):

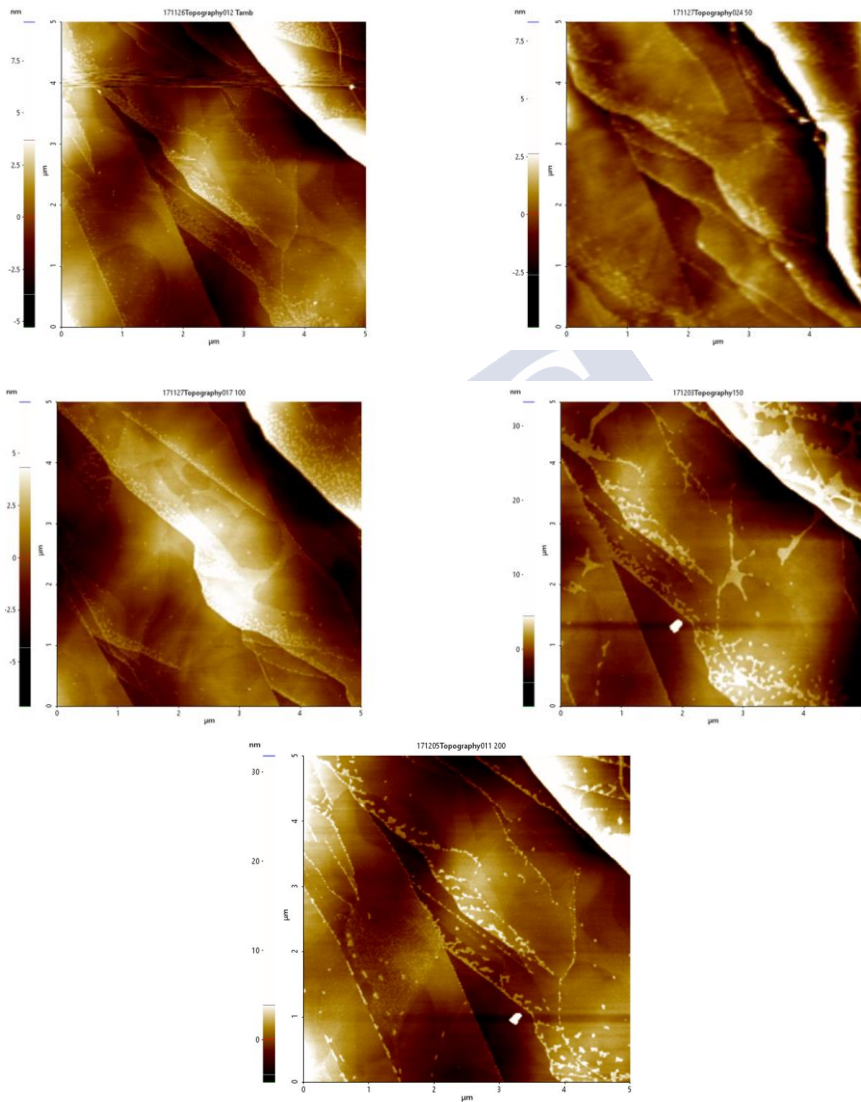


Figura 5-14 Imagen topográfica de la misma muestra (de izq. a der. y arriba a abajo) a Tamb, 50°C, 100°C, 150°C y 200°C

Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu₅

Al igual que en la anterior, en esta nueva zona, se puede ver claramente trazando un perfil de línea en la muestra inicial frente a la muestra a 200°C en la Figura 5-15, cómo un área completamente cubierta de clústeres con un tamaño menor del nanómetro, evoluciona a un área con los clústeres agregados en torno a determinados puntos con un tamaño de $\approx 2\text{nm}$.

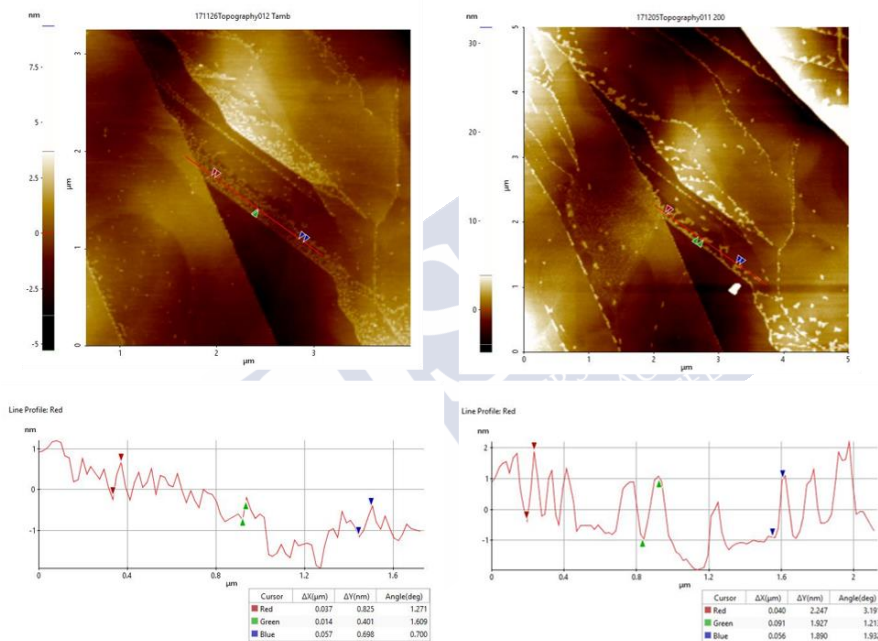


Figura 5-15 Topografía y perfiles de línea de la muestra medida a temperatura ambiente (izquierda) y tras calentar a 200°C (derecha).

¿Qué sucede si cambiamos la concentración y preparamos una muestra más concentrada? Pues, que inicialmente ya existen grandes aglomerados de clústeres (3 o 4nm) y, por lo tanto, las variaciones en las alturas que se producen al calentar pueden ser, como mucho, de ≈ 1 nanómetro o apenas existir variación (Figura 5-16 y Figura 5-17).

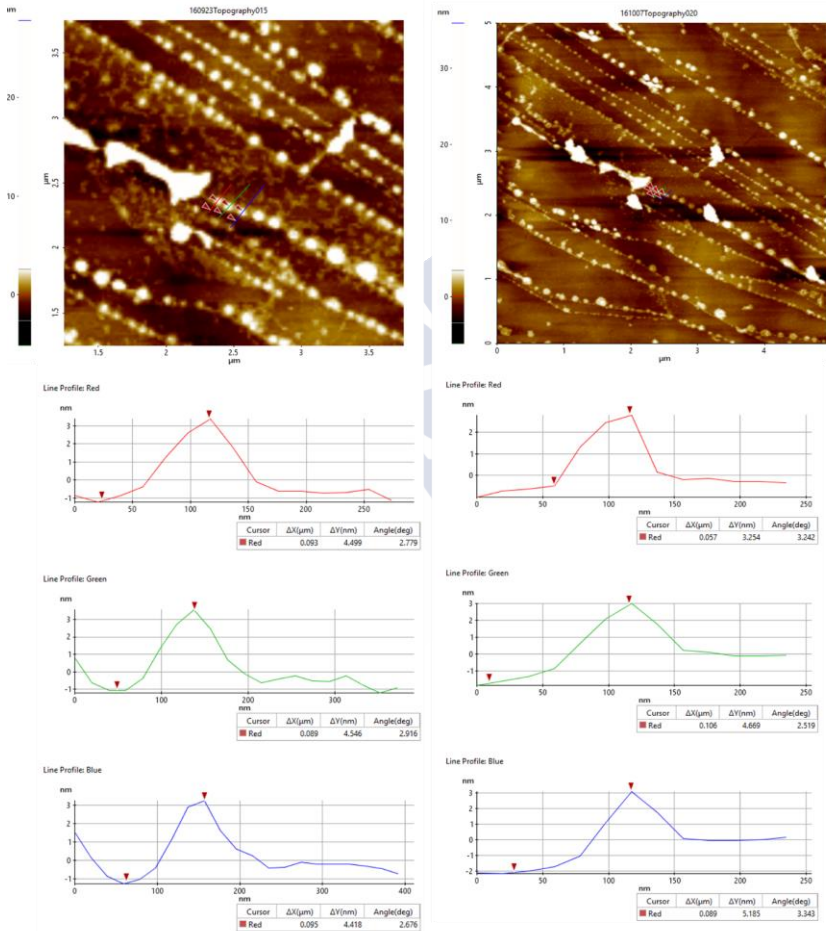


Figura 5-16 Muestra más concentrada medida a temperatura ambiente (izquierda) vs tratada a 200°C (derecha)

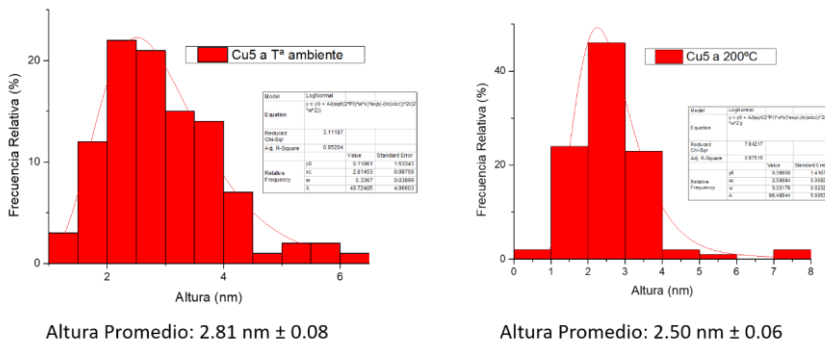


Figura 5-17 Histograma de distribución de alturas para la muestra a temperatura ambiente y a 200°C

5.4.2 Clústeres soportados sobre Mica

Se han comentado los resultados sobre HOPG, pero ¿qué sucede con otros tipos de sustratos como puede ser la mica? En este caso, los resultados que se obtienen son similares. Por ejemplo, si se observan los perfiles de línea (Figura 5-19 y Figura 5-20) y se representan los histogramas (Figura 5-21) comparativos de las muestras, tampoco se aprecia que los clústeres se aglomeren formando estructuras mayores al aumentar la temperatura.

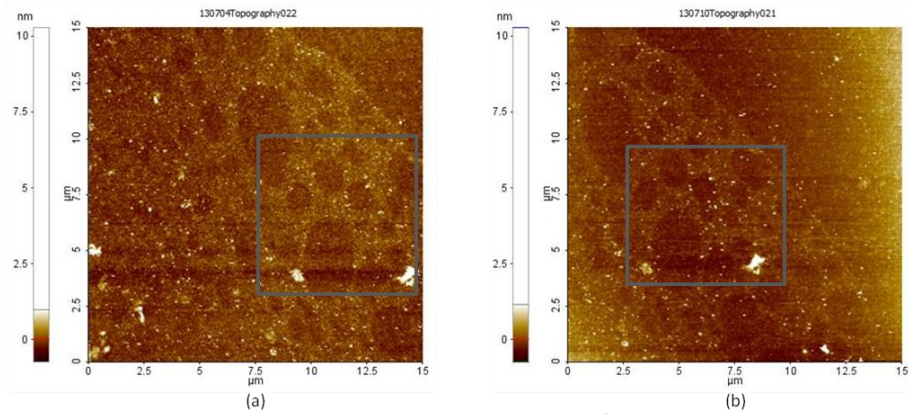


Figura 5-18 Imágenes topográficas NC-AFM de clústeres de Cu depositados sobre Mica y tratados a: (a) 25°C (b) 150°C

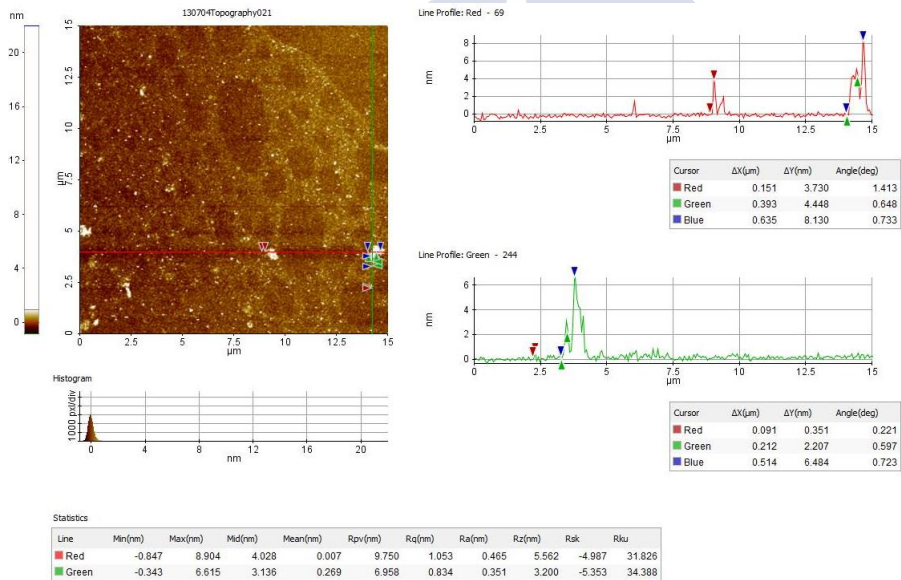


Figura 5-19 Imagen topográfica de clústeres de Cu depositados sobre mica a 25 °C (izq) y análisis de sección de líneas sólidas (der)

Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu₅

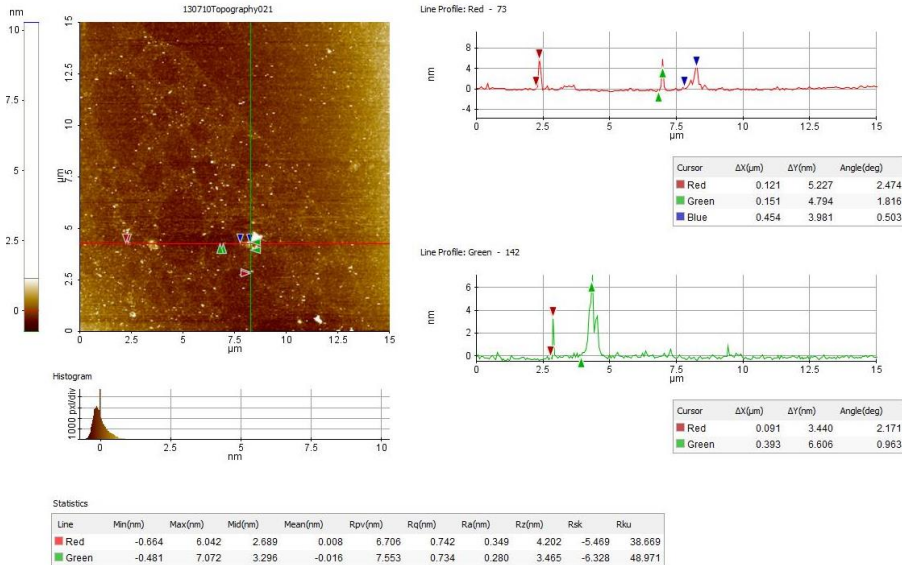


Figura 5-20 Imagen topográfica de clústeres de Cu depositados sobre Mica y tratados a 150°C (izq) y análisis de sección de líneas sólidas (der)

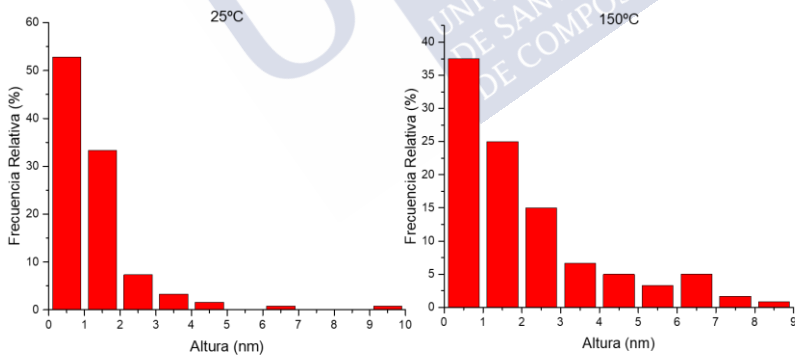


Figura 5-21 Histograma de distribución de alturas de clústeres de Cu depositados sobre Mica: (a) a 25°C (b) tratados a 150°C

Una diferencia que se observa es que, por ser la mica un silicato, y los clústeres interactúan con el oxígeno¹⁰⁸, la interacción de los clústeres con la mica parece ser más fuerte que con el HOPG,

dificultando su movilidad en la superficie y evitando su agregación, con la consiguiente formación de islas de clústeres agrupados, tal como se apreciaba en HOPG.

Hasta el momento, los datos experimentales muestran que en disolución los clústeres son estables hasta 200°C, pues sus propiedades ópticas se mantienen y hasta pueden catalizar el crecimiento de otros clústeres en presencia de iones, mientras que depositados en un soporte se mantienen estables hasta 150°C. A partir de esa temperatura empiezan a formarse agrupaciones y agregados de clústeres. Por tanto, las incógnitas que quedan presentes son principalmente dos: 1) ¿esas agrupaciones de clústeres son agregados de clústeres donde cada uno sigue manteniendo su identidad o se da un proceso de fusión para crear un clúster de mayor tamaño o incluso nanopartículas? y 2) si sigue manteniéndose su identidad, ¿hasta qué temperatura siguen siendo estables?

Para poder responder estas preguntas, se necesita recurrir a técnicas que nos permitan un estudio de las muestras a mayor temperatura y con la posibilidad de determinar mejor los estados en los que puedan encontrarse los clústeres, por lo que se optó por realizar experimentos de NEXAFS y XPS en el Sincrotrón ALBA en Barcelona.

5.5 Experimentos de sincrotrón.

Para el estudio de las muestras mediante las Técnicas de XPS y NEXAFS, las pruebas han sido realizadas en el sincrotrón ALBA, en la Línea CIRCE en la estación NAPP (Near Ambient Pressure Photoemission, espectroscopía de fotoemisión a presión ambiental).

5.6 Estudio de clústeres soportados mediante la técnica NAPP

Para los estudios en el sincrotrón se utilizaron dos muestras, una muestra diluida de Cu₅ (20uL de 5,64mg/L), con la intención de depositar solamente una monocapa, y otra mucho más concentrada para asegurarse la existencia de señal. Estas muestras son depositadas sobre HOPG, puesto que la carga negativa superficial de la mica interfiere con la técnica, motivo por el cual en el apartado anterior se centraron más esfuerzos en la caracterización con HOPG. Una vez preparadas las muestras, se montan en un soporte específico para su introducción en la cámara de preparación donde, para remover la humedad adsorbida por la superficie, se realiza un pretratamiento del sustrato a 175°C bajo ultra alto vacío durante 1h. Una vez finalizado el pretratamiento se introduce la muestra en la cámara de análisis para su posterior estudio. En la imagen (Figura 5-22) se observa el montaje de la muestra de HOPG y el cono del detector ya en la cámara de medida.

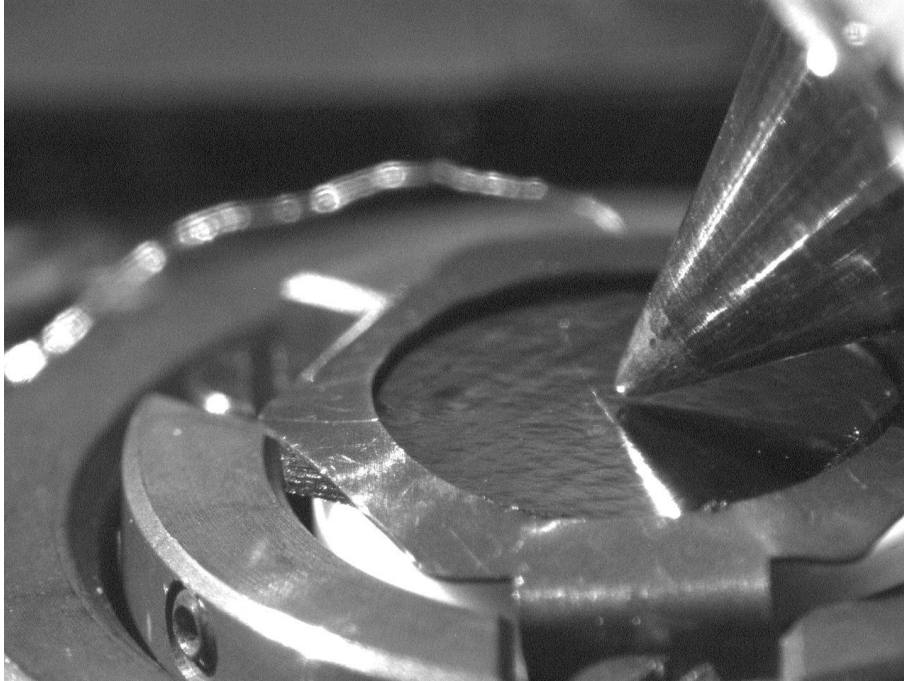


Figura 5-22 Muestra de Cu5 sobre HOPG

Primeramente se realiza un reconocimiento mediante XPS, para ver si se puede detectar cobre sobre la superficie de HOPG, obteniendo el espectro de la muestra (Figura 5-23) en donde se pueden observar las señales de cobre pertenecientes a las transiciones Cu2p en torno a 930-950 eV (Figura 5-24 izq), las señales de cobre de los electrones Auger a 433 eV (Figura 5-24 der) y el resto de señales pertenecientes al sustrato, tales como la señal de Carbono del HOPG a 284eV.

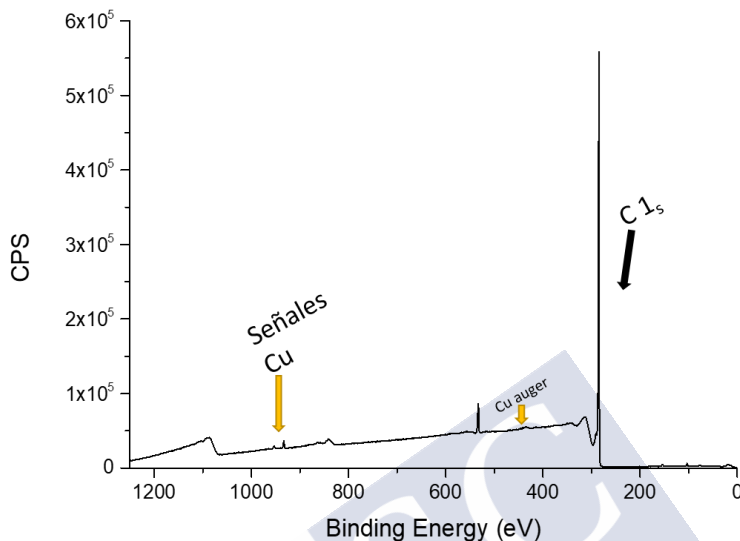


Figura 5-23 Espectro de XPS de la muestra de Cu₅ sobre HOPG, a T^o ambiente y UHV

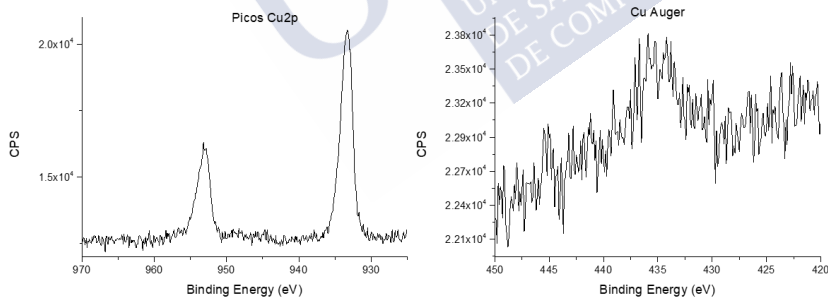


Figura 5-24 Espectro XPS de Cu_{2p} y satélites Cu+2 (izq) y Electrones Auger de Cu (der)

En el espectro de Cu_{2p} pueden verse los picos en torno a 933 y 953eV propios del Cu, que podrían asociarse a Cu⁰ o Cu⁺. Para distinguir estas especies es necesario recurrir a los satélites de las señales que se encuentran en torno a 947eV, pero al tratarse de una monocapa de

clústeres la intensidad de la señal no es suficientemente intensa para distinguir el tipo de cobre por este procedimiento. Sin embargo, la identificación pudo hacerse mediante medidas de NEXAFS, tal como se muestra a continuación.

Los estudios de NEXAFS permiten además estudiar la interacción de los clústeres de Cu₅ con el oxígeno molecular, ya que en esta técnica existe la posibilidad de inyectar o extraer oxígeno en la cámara de medida. Para ello se inyectan 100mtorr de O₂(g) y se estudia la evolución de la muestra, así como también la reversibilidad del proceso. En la Figura 5-25, se ve que la muestra se oxida en presencia de O₂, pero –sorprendentemente- se observa también que cuando se retira el O₂ y se hace de nuevo vacío el proceso parece ser reversible, aunque con una cinética relativamente lenta. Puesto que las especies de Cu tienden a oxidarse en un proceso no reversible, estos resultados nos indican que el comportamiento de los clústeres de Cu₅ son totalmente diferentes a las especies de cobre conocidas. En efecto, estos clústeres son capaces de interactuar con el oxígeno y, al poseer muy pocos átomos, todos ellos son susceptibles de interaccionar, por lo que la coordinación del clúster con el oxígeno es muy elevada, lo que se ve en el espectro de NEXAFS, con un pico a 930eV, que es característico del CuO, aunque sigue existiendo la señal de Cu⁰ (o Cu⁺) a 934.5eV. Cuando la muestra se somete de nuevo a vacío, se observa como disminuye el pico a 930eV, lo que indica que el proceso parece ser reversible (en cierta medida, pues no se ha esperado suficientemente tiempo para observar la completa reversibilidad). La existencia de esta reversibilidad nos indica que el O₂ se encuentra solamente adsorbido (si se trata de una fisi- o quimi-sorción es algo que deberá ser estudiado más detenidamente en el futuro), corroborando de esta forma la presencia de especies de Cu muy

estables, lo que coincide con los resultados ya expuestos anteriormente acerca de la gran estabilidad de los clústeres de Cu₅.

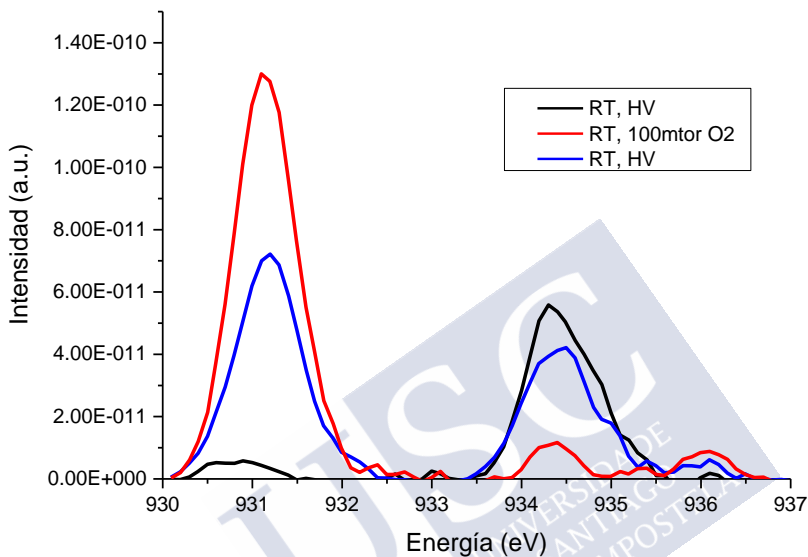


Figura 5-25 NEXAFS de Cu₅, a vacío, con O₂ en el sistema y de nuevo a vacío.

Se decide entonces calentar la muestra bajo atmósfera de O₂ con la finalidad de comprobar si los clústeres de Cu₅ funden y forman nanopartículas de Cu, que por ser fácilmente oxidables, el proceso de oxidación dejaría de ser reversible y no se recuperaría la señal del Cu⁰/Cu⁺. A partir de esas medidas también se podrá obtener la temperatura de fusión de los clústeres depositados sobre HOPG.

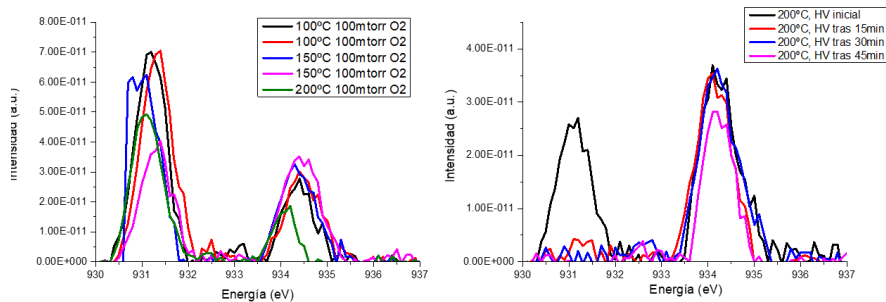


Figura 5-26 Espectro de NEXAFS, de la muestra siendo calentada en presencia de O₂ (izquierda) y, posteriormente, la muestra a 200°C bajo vacío para ver su evolución frente al tiempo. (derecha)

Inicialmente se calienta la muestra en presencia de oxígeno (100mtorr) hasta alcanzar 200°C y, tal como puede verse en la Figura 5-26 (izquierda) la muestra se oxida, y la relación $\text{Cu}^{2+}/(\text{Cu}^0 \text{ o } \text{Cu}^+)$ aumenta hacia Cu^{2+} (línea Verde, 200°C 100mtorr O₂). Aunque la técnica NEXAFS no es cuantitativa, por la variación de la relación entre los picos se puede deducir que hay más óxido de Cu^{2+} que Cu^0 (o Cu^{1+}) en la muestra final.

¿Qué pasa al retirar el oxígeno y hacer vacío en el sistema? Como puede verse en la Figura 5-26 (derecha), trascurridos quince minutos, el proceso parece revertir completamente a Cu^0/Cu^+ (que sí presenta señal), mientras la señal de Cu^{2+} desaparece por completo, indicando una total desorción del oxígeno. Puesto que este proceso sería imposible en caso de que los clústeres se fundiesen a nanopartículas y éstas se oxidasen en un proceso irreversible, se puede decir que hasta 200°C los clústeres son estables e interaccionan con el O₂ en un proceso de adsorción/desorción. Como confirmación, se vuelve a dosificar, medir y extraer el oxígeno en la cámara (Figura 5-27), obteniéndose la misma conclusión, aunque en este caso la desorción

no fue completa, quizás por no haber esperado el tiempo suficiente, puesto que la cinética de desorción es lenta.

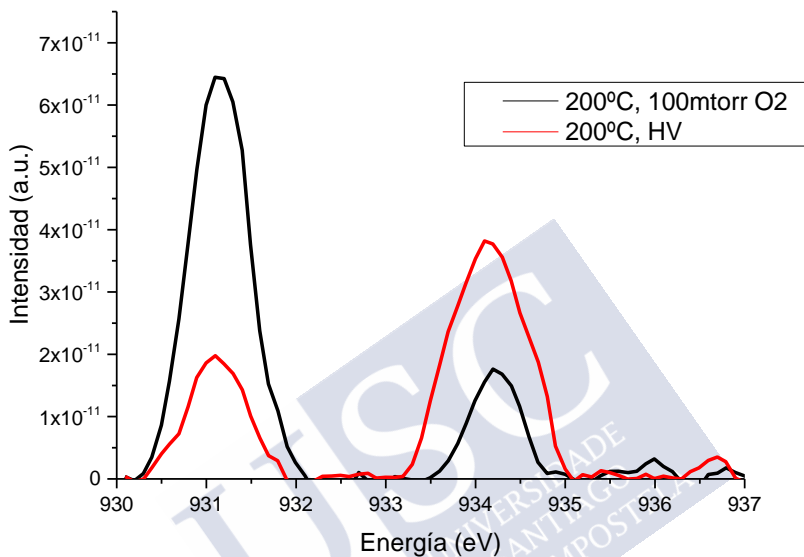


Figura 5-27 Espectro de NEXAFS, de la muestra de clústeres sobre HOPG, a 200°C en presencia y tras la eliminación del oxígeno en la cámara de medida.

Como último experimento, a continuación se deja enfriar la muestra (a vacío) hasta temperatura ambiente, comprobándose que la muestra permanecía inalterada. Elevándose a continuación la temperatura a 200°, se comprueba que se obtienen resultados similares a los descritos anteriormente (Figura 5-28).

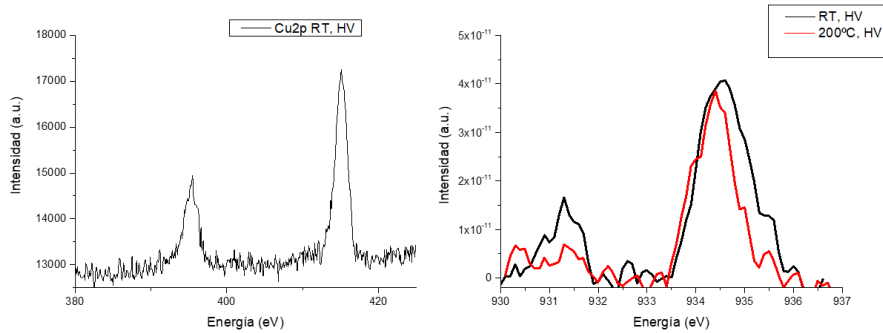


Figura 5-28 Espectro de XPS (izquierda) y NEXAFS (derecha) para comprobar la reproducibilidad de los resultados.

Una vez comprobado que la muestra sigue estable, se calienta hasta 250°C con la finalidad de seguir buscando la temperatura de fusión de estos clústeres, y se procede a inyectar oxígeno para estudiar el proceso de adsorción (Figura 5-29 izquierda, líneas negra y roja). Tras realizar la medida, se decide elevar la muestra hasta 400°C y seguir el proceso de oxidación durante un tiempo breve (Figura 5-29 izquierda, líneas azul y violeta).

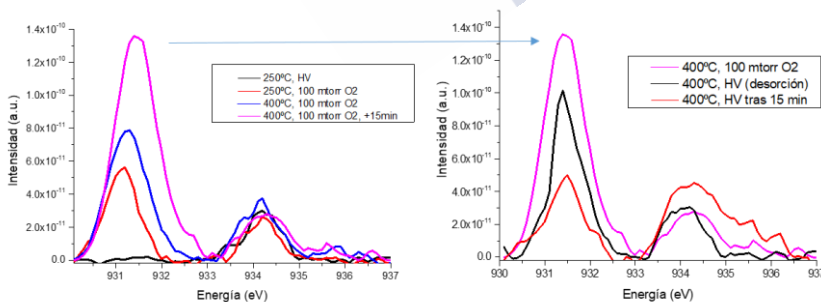


Figura 5-29 Espectro de NEXAFS, calentando y bombeando oxígeno (adsorción) (izquierda) y espectro de NEXAFS mostrando la desorción de O₂ a 400°C (derecha)

Estabilidad y efecto de la temperatura sobre clústeres cuánticos atómicos de Cu₅

Para comprobar si lo que se observa es la fusión de los clústeres (y la correspondiente oxidación irreversible de las nanopartículas de Cu obtenidas) o adsorción reversible, se bombea el oxígeno fuera de la cámara de medida y se realizan medidas de NEXAFS, pudiéndose comprobar que, efectivamente, los clústeres conservan su identidad y no evolucionan a óxido de cobre y que el proceso consiste en la desorción de oxígeno de manera reversible (Figura 5-29 derecha).

A partir de aquí se sigue aumentando la temperatura y repitiendo los procesos de adsorción/desorción para 450 y 500°C donde parecen seguir siendo estables (Figura 5-30) hasta alcanzar una temperatura de 550°C, donde resulta que la señal de cobre disminuye muchísimo, por lo que se retira la temperatura y se mide la muestra en presencia de oxígeno, pero al quitar el oxígeno no se puede medir porque no se encuentra señal de cobre en ninguno de sus estados de oxidación.

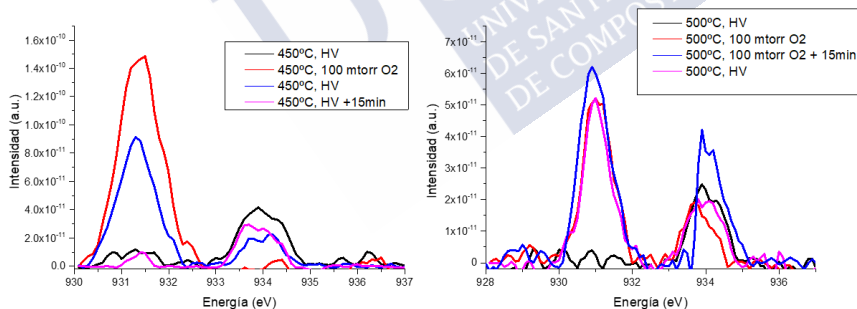


Figura 5-30 Espectros de NEXAFS de la muestra de clústeres de Cu en procesos de adsorción/desorción de O₂ entre 450 y 500°C

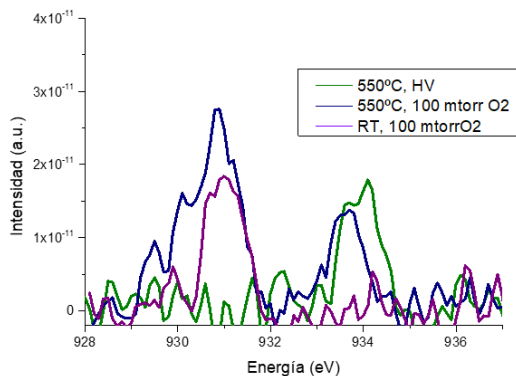


Figura 5-31 Espectro de NEXAFS para la absorción de O_2 a $550^\circ C$ y a T^a ambiente

La disminución y posterior desaparición de la señal de cobre puede ser debida a la movilidad de los clústeres de cobre sobre la muestra puesto que, como veíamos en las imágenes de AFM, los clústeres pueden difundir en HOPG e introducirse por debajo de las terrazas de carbono. Como la muestra estuvo sometida a procesos de calentamiento/enfriamiento más de 14h, con temperaturas de más de $400^\circ C$, y con varios procesos de adsorción/desorción de $O_{2(g)}$ (además de la propia irradiación de los fotones de Rayos X del haz), es muy posible que la ausencia de señal se deba a la difusión y ocultamiento de los clústeres en el soporte de HOPG.

Para el estudio de la muestra más concentrada de Cu_5 , se depositaron $20\mu L$ con una concentración de 564 mg/L . A continuación, se deja secar apreciándose bastante material sobre la superficie (Figura 5-32), muy probablemente debido a las sales de cloruro sódico procedentes de la purificación de los clústeres.

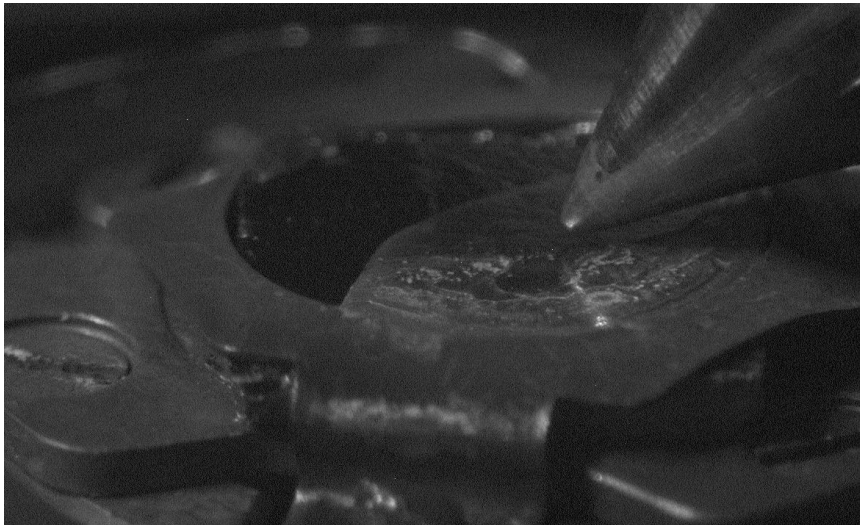


Figura 5-32 Muestra depositada y seca de Cu₅ sobre HOPG en el interior de la cámara de medida

Se repite el mismo proceso que para la muestra anterior y se hace un barrido en busca de una zona adecuada para la realización de las medidas para detectar el Cu y su estado de oxidación (Figura 5-33 y Figura 5-34).

Observamos que al depositar una cantidad mayor de clústeres de Cu las señales son más intensas, de manera que para el XPS de la señal Cu2p de cobre pueden verse claramente los picos en torno a 933eV y 953eV propios del Cu y, además, los picos satélites en torno a 945eV y 965eV característicos del Cu²⁺. Los electrones Auger del cobre (señal Cu LMM) salen muy definidos y detallados, indicando que mayoritariamente la muestra contiene Cu²⁺. También para NEXAFS los picos y señales son más intensos y definidos, lo que ayuda en la interpretación de los resultados.

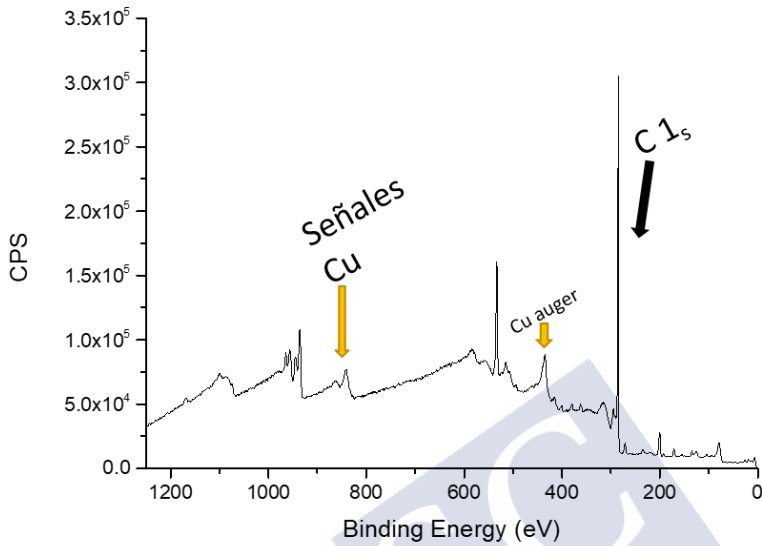


Figura 5-33 XPS de la muestra de Cu de la multicapa a T³ ambiente y alto vacío

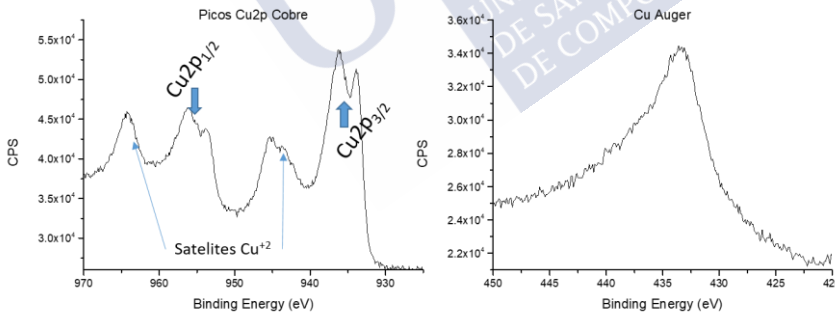


Figura 5-34 Espectro de XPS donde se muestran los picos de Cu2p y los electrones Auger Cu LMM

Inicialmente la muestra presenta la señal de Cu²⁺; esta señal puede ser debida a la presencia de CuO, pero también podría ser debida a la adsorción de oxígeno sobre los clústeres por estar la muestra expuesta

al aire durante su preparación y manipulación, tal como se comentó anteriormente. Para estudiar la estabilidad de los clústeres y su interacción con el oxígeno en estas muestras concentradas, se repitieron los procesos de calentamiento/enfriamiento con inyección y extracción de oxígeno. Debido a limitaciones de tiempo en el sincrotrón, se calienta la muestra a 200°C para ver si la señal de Cu²⁺ desaparece y se trata, por tanto, de un proceso de adsorción/desorción. En la Figura 5-35 se puede ver como al calentar la muestra, durante 45min, a 200°C el pico que se podría atribuir a la presencia de CuO disminuye, confirmando que no se trata de esta especie y representa un fenómeno de adsorción/desorción. Este proceso de desorción de oxígeno continúa hasta 400°C. En el caso de bombear oxígeno en el interior de la cámara el pico se recupera, (Figura 5-35, derecha) al igual que ocurría con la muestra monocapa, descrita anteriormente.

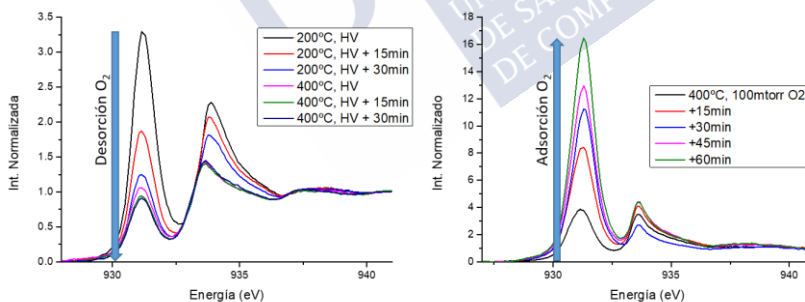


Figura 5-35 Procesos de Desorción (izquierda) y posterior Adsorción (derecha) de O₂(g) con la Temperatura de muestra de Cu₅ sobre HOPG

La confirmación de que se trata de un proceso de adsorción reversible de oxígeno, donde los clústeres mantienen su estabilidad, puede de nuevo observarse en la Figura 5-36, pues al someter la muestra a vacío (a 400°C) la señal que podría atribuirse a la presencia de Cu²⁺

disminuye. Cuando se calienta la muestra a 500°C se observa que incluso es menor la señal de Cu^{2+} , mientras que la correspondiente a Cu^0 permanece prácticamente constante.

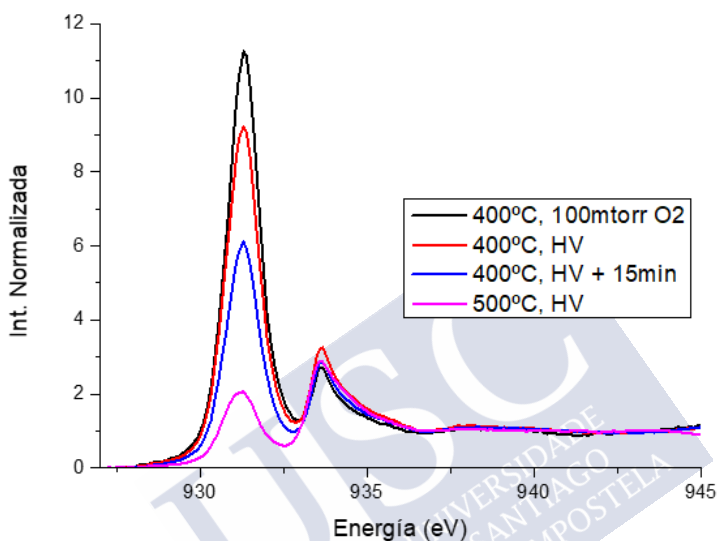


Figura 5-36 Espectros de NEXAFS durante el proceso de desorción

Finalmente, la muestra a 500°C se enfrió a temperatura ambiente en presencia de 100mtorr de O_2 , lo que origina la aparición de la señal de adsorción de oxígeno (similar a la de Cu^{2+}). Se comprobó de nuevo que, al hacer vacío, la muestra recuperaba su estado de carácter metálico, por lo que se concluye que la muestra es estable (por lo menos) hasta 500°C.

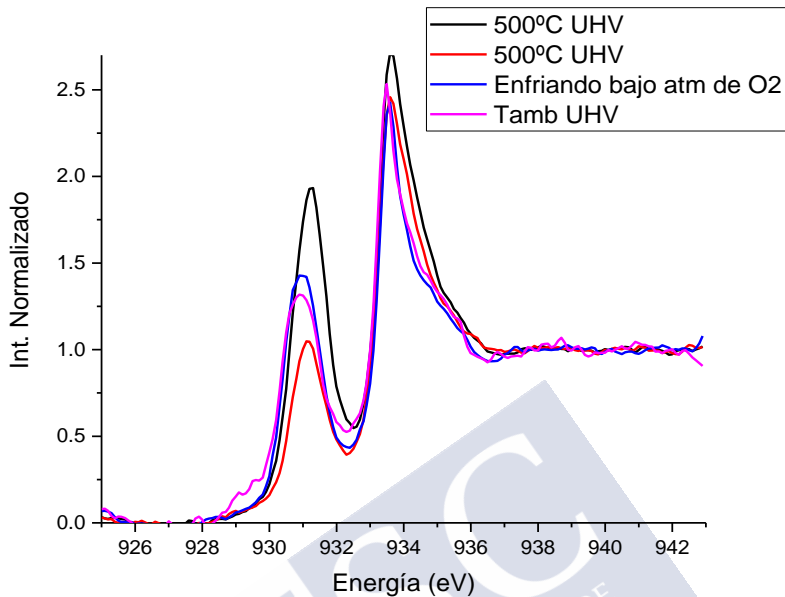


Figura 5-37 Espectros de NEXAFS al volver a T^{amb}.

5.7 Conclusiones

Se ha comprobado experimentalmente la estabilidad de clústeres de Cu₅, tanto en disolución como depositados sobre HOPG. En disolución acuosa se observa que los clústeres son estables, al menos, hasta 200°C. El estudio de la estabilidad de los clústeres depositados se realizó tanto por AFM (hasta aprox. 200°C) como por NEXAFS y XPS (500°C). Se ha comprobado la movilidad de los clústeres en HOPG a altas temperaturas mediante medidas de AFM y se confirmó por XPS y NEXAFS que, aunque los clústeres se aglomeren, mantienen su estructura electrónica, de forma que se confirma su identidad como entidades independientes y su gran estabilidad. Además, se han observado fenómenos de adsorción/desorción de

O₂(g) con la temperatura y el vacío. Esta interacción con el O₂, abre nuevas vías y posibilidades de exploración en el futuro, principalmente en el campo de la catálisis. Otros aspectos de interés que se podrían abordar son las interacciones con otros sustratos. Así mismo será de gran importancia comprobar si la gran estabilidad encontrada para los clústeres de Cu₅ puede ser extendida a otros tamaños y otros metales.





**6. Autoensamblaje de
clústeres metálicos de baja
atomicidad sobre
nanotubos peptídicos
cíclicos**



6.1 Introducción

Durante esta tesis se ha puesto de manifiesto las interesantes y novedosas propiedades fisicoquímicas de los clústeres cuánticos atómicos, derivadas de su pequeño tamaño y sus dimensiones cuánticas. Se ha mencionado también, que son el punto intermedio entre los átomos y las moléculas, y es en este último caso, su comportamiento similar a las moléculas donde nos centraremos en este capítulo.

6.2 Experimental

Los Nanotubos Peptídicos son polímeros unidimensionales supramoleculares formados por monómeros peptídicos que se apilan unos sobre otros gracias a enlaces de hidrógeno¹⁰⁹⁻¹¹¹. La agregación de estos ciclos peptídicos o ciclopeptidos (CP) con un número igual de aminoácidos y quiralidad alterna inducen la correcta conformación requerida para la formación de enlaces de hidrógeno y el posterior crecimiento del nanotubo. El ensamblaje de estos nanotubos es posible gracias al completo control sobre el diámetro tubular y la funcionalización al ajustar el número y la naturaleza de la secuencia aminoácidos¹¹⁰⁻¹¹³. En el mundo anfifílico CP1 (Figura 6-1a), la secuencia de α -aminoácidos se alterna con el ácido 3-aminociclopentanocarboxílico (γ -Acp) no natural^{110,112}. El emparejamiento iónico entre residuos ortogonales catiónicos (lisina) y aniónicos (glutamato) debería mejorar la estabilidad de las láminas β antiparalelas supuestamente unidas por enlaces de hidrógeno entre anillos peptídicos contiguos¹¹⁴ mientras que los residuos de arginina mejoran la solubilidad en agua y ofrece un anclaje perfecto para superficies aniónicas como la mica¹¹¹. El emparejamiento

mica/arginina ayuda a la propagación del autoensamblado del CP a lo largo de la superficie de la mica. La lisina modificada con pireno, colocada en el lado opuesto contribuye a la preorganización de nanotubos a través de interacciones hidrofóbicas en un medio acuoso. Por tanto, se genera un autoensamblado que predispone las cadenas laterales hidrofílicas catiónicas hacia la mica (que está cargada negativamente) favoreciendo su anclaje a la superficie, y los brazos aromáticos flexibles¹¹¹ en el lado opuesto favoreciendo el ensamblado de los ciclos peptídicos (Figura 6-1b).



Autoensamblaje de clústeres metálicos de baja atomicidad sobre nanotubos peptídicos cíclicos

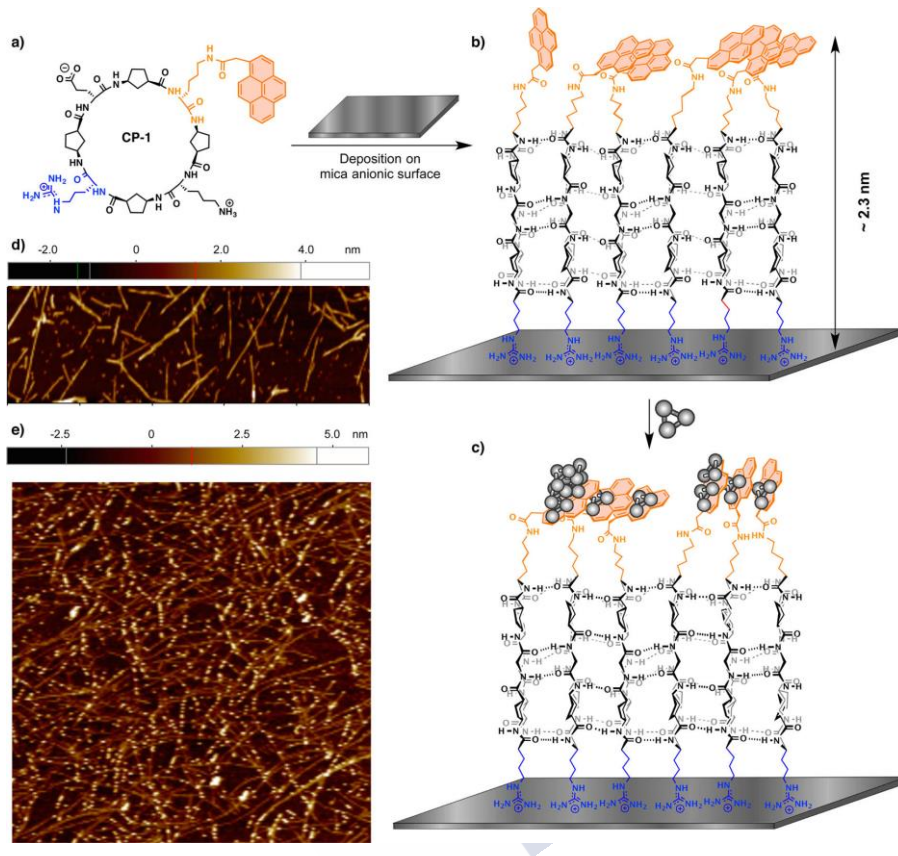


Figura 6-1 Modelo propuesto para el acoplamiento entre SCPNs y Clústeres de Ag_3 e imágenes generales de AFM para el modelo híbrido. a) Estructura de CP-1 b) Modelo esperado para el acoplamiento de un SCPN a una superficie aniónica. La arginina catiónica ($pH \approx 2,5$) interactúa con la mica y las interacciones hidrofílicas de los residuos de piperone favorecen el autoensamblaje del nanotubo. c) La incubación de estructuras nanotubulares con disoluciones acuosas de clústeres (Ag_3) da como resultado la deposición de clústeres sobre los SCPNs ($0,8 \times 2,5 \mu m^2$). d) Imagen topográfica de nanotubos puros con una altura media de $\approx 2,3$ nm ($1,65 \times 5 \mu m^2$) e) Alineación del clúster metálico que muestra aumentos puntuales de las alturas (entre 0,5 y 1nm) que representa el autoensamblaje y la agregación del clúster sobre el nanotubo peptídico ($5 \times 5 \mu m^2$)

Los clústeres cuánticos subnanométricos fueron preparados en agua siguiendo una modificación del método electroquímico⁴⁹ y están libres de ligandos y de iones Ag^+ . La ausencia de iones de plata se consigue por precipitación con NaCl , y la muestra es estable bajo condiciones estándar⁴⁹.

La caracterización se llevó a cabo con espectroscopías UV-Visible y de fluorescencia, como se observa en la Figura 6-2. En el espectro de UV-Visible se observa un espectro tipo semiconductor, con absorción en torno a 230nm, y en el espectro de fluorescencia 2 picos de emisión para la excitación a 230nm, dando como resultado emisiones a 300nm y 350nm, que según el modelo del *Jellium* da como resultado un número de átomos de plata de 2 y 3, respectivamente, indicando que la muestra está constituida mayoritariamente por Ag_3 .^{115,116}

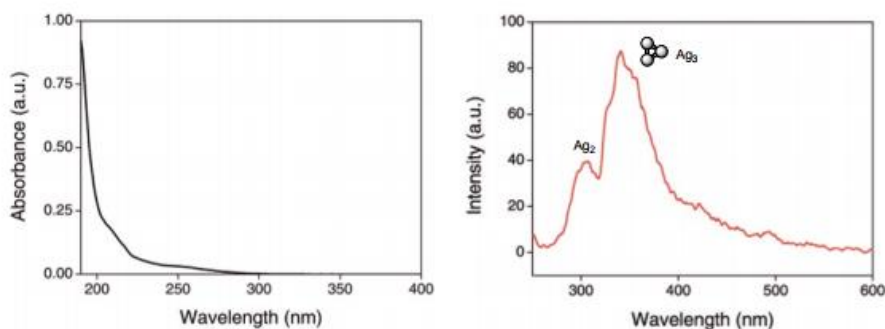


Figura 6-2 Absorbancia de una muestra de clústeres de plata (mayoritariamente Ag_3) y espectro de fluorescencia ($\lambda_{\text{exc}} = 227 \text{ nm}$) con picos de emisión de Ag_2 a 300 y Ag_3 a 350nm.

Según cálculos DFT la estructura de mínima energía para clústeres Ag_3 coincide con un triángulo isósceles con simetría C_{2v} ,^{115,117} formado por los 3 átomos de plata sin carga neta. Esta estructura plana concuerda con las imágenes de AFM con alturas entre 300-400 pm que coinciden con el doble del radio atómico de la plata.

Autoensamblaje de clústeres metálicos de baja atomicidad sobre nanotubos peptídicos cíclicos

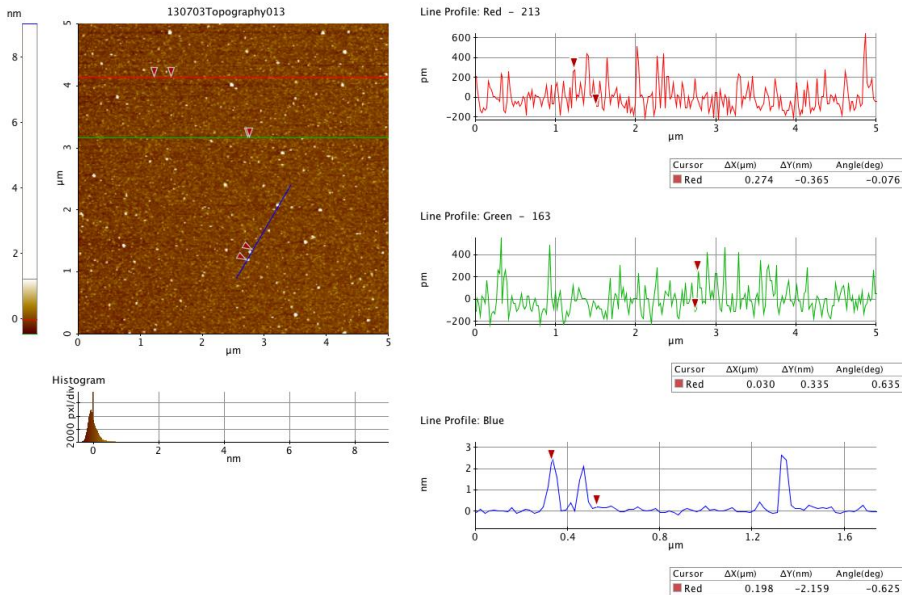


Figura 6-3 Imagen Topográfica de AFM de clústeres de Ag₃ depositados en mica (300nm). Con perfiles de línea señalando clústeres individuales con alturas en torno a 300pm y agregados que alcanzan los 2nm

6.2.1 Estructuras híbridas AQC/SCPNs.

Los ciclos peptídicos CP-1 tienen una fuerte tendencia a autoensamblarse en nanotubos (SCPNs) como se comprobó por IR, fluorescencia e imágenes de AFM por Montenegro y colaboradores¹¹¹. La deposición de la disolución acuosa CP-1 (100 μM , pH \approx 2,5) sobre una superficie de mica, con un posterior lavado con agua Milli-Q, dio lugar a estructuras tubulares ensambladas con una altura media de \approx 2,3nm y longitudes en la escala micrométrica (Figura 6-1b, Figura 6-4)

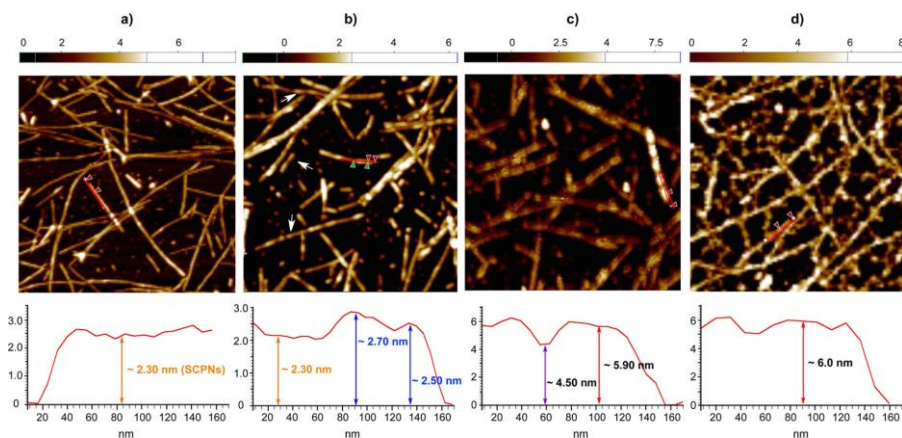


Figura 6-4 Micrografías AFM, incluidos los perfiles topográficos (líneas rojas) al aumentar las concentraciones (y/o repetir deposiciones) de muestra de clúster de Ag_3 sobre SCPNs. a) Deposición de la disolución acuosa CP-1 ($100 \mu\text{M}$, $\text{pH} \approx 2,5$) sobre una superficie de mica, con un tamaño promedio de los SCPNs en torno a $2,3\text{nm}$. b) Clústeres de Plata Ag_3 ($10 \mu\text{g/L}$) sobre los ciclos peptídicos autoensamblados SCPNs. Las flechas blancas muestran saltos en el perfil sobre $300\text{-}400 \text{ pm}$. Y la línea roja muestra variaciones en la altura promedio de $2,30\text{nm}$ del nanotubo que cuadra con el tamaño de los clústeres. c) Detalle en los agregados de clústeres ($2\text{-}3\text{nm}$) formados a lo largo de los tubos, que se observan a altas concentraciones de clústeres ($[\text{Ag}_3] = 100$ o $1000 \mu\text{g/L}$). d) SCPNs cubiertos por clústeres, con una altura promedio de 6nm . Se observan fenómenos como éste al realizar 2 o 3 deposiciones de la muestra de $[\text{Ag}_3] = 100$ o $1000 \mu\text{g/L}$. Todas las micrografías son de $1 \times 1 \mu\text{m}^2$.

Se observa que la incubación de las muestras de clústeres con los nanotubos muestra una preferencia a la deposición de los clústeres sobre los nanotubos peptídicos como se ve en la Figura 6-1e. El autoensamblaje de los clústeres y los nanotubos peptídicos se observa tanto en la deposición de la muestra de clúster sobre los nanotubos previamente depositados, como cuando se mezclan ambos juntos y se depositan. Como se representa esquemáticamente en la Figura 6-1b, la organización natural de CP-1 en nanotubos dirigido por las interacciones arginina/mica, produce un alineamiento de los residuos de pireno aromáticos alejado de la superficie, que debe ser punto de partida para la organización de los clústeres sobre el eje longitudinal

de los nanotubos, como consecuencia de las interacciones π -clúster entre la molécula plana de pireno y el clúster Ag_3 . Conociendo que el tamaño del clúster es del orden de 300-450 pm, dependiendo de la orientación y que la resolución del AFM en el eje Z, en condiciones óptimas, está en torno a 25pm, pueden deducirse que las variaciones topográficas en las imágenes de AFM de la Figura 6-4b se corresponden con clúster individuales en la punta del nanotubo. Al aumentar la concentración de clústeres también se aumenta la cantidad de los mismos sobre los nanotubos como puede verse en la Figura 6-4c. Además, sucesivas deposiciones de muestras concentradas de Ag_3 conducen también al recubrimiento de los nanotubos por los clústeres de plata (Figura 6-4d).

Así mismo, mediante experimentos de control con ciclopeptidos sin el pireno aromático (CP-2), no se observó la deposición preferencial de los clústeres sobre el nanotubo (Figura 6-5).

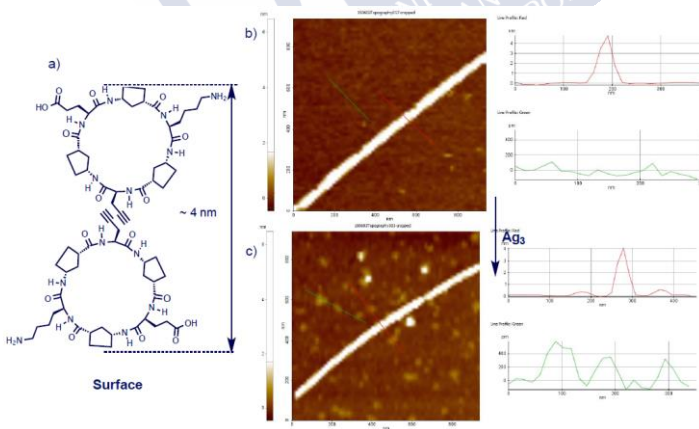


Figura 6-5 Estructura dimérica del ciclopeptido CP-2. Deposición de CP-2 (500 μ M at pH 2,5) sobre mica . b) Imagen topográfica del dímero de CP-2 c) Imagen topográfica de AFM tras la adición de clústeres de plata Ag_3 (300nM). La línea roja muestra la altura del nanotubo, y la línea verde la variación de la superficie de la mica en presencia de clústeres.

6.2.2 Fluorescencia del pireno y estudios de dicroísmo en disolución de la mezcla Ag₃/SCPNS

El autoensamblaje de los nanotubos peptídicos puede verse claramente al depositarse en mica, al igual que la interacción con los clústeres, pero en disolución no es tan sencillo de ver. Por suerte, la presencia del residuo de pireno permite seguir y estudiar las interacciones supramoleculares de los anillos del CP-1 en disolución¹¹¹, gracias a la aparición del excímero (dímero excitado) al incrementar la concentración de CP-1 confirmando una apilación (*stacking*) de los pirenos. Esto permite calcular, a grosso modo, una constante de asociación de 10^3 M^{-1} para la formación de los nanotubos en disolución.

Con el fin de obtener una idea de la interacción de los SCPNs y clústeres de Ag₃ en disolución, se estudiaron disoluciones acuosas de CP-1 (de diferentes concentraciones: 1600, 800 y 400 μM), con volúmenes crecientes de clústeres Ag₃ (Figura 6-6, Figura 6-7 y Figura 6-8). Puesto que el pireno y los clústeres de plata Ag₃ están próximos en la longitud de onda de excitación ($\lambda_{\text{exc}} = 230\text{nm}$), para ver su fluorescencia es necesario realizar un experimento control y observar cómo afecta la fluorescencia de los clústeres a la fluorescencia del pireno. Se observó que no existe interferencia de la luminiscencia de los clústeres de plata con la del pireno en el intervalo 300nm -350 nm (Figura 6-6). Este hecho se puede explicar teniendo en cuenta el intervalo de concentraciones a las que se ha trabajado, en el que la concentración de clústeres es mucho menor que la del pireno.

Autoensamblaje de clústeres metálicos de baja atomicidad sobre nanotubos peptídicos cíclicos

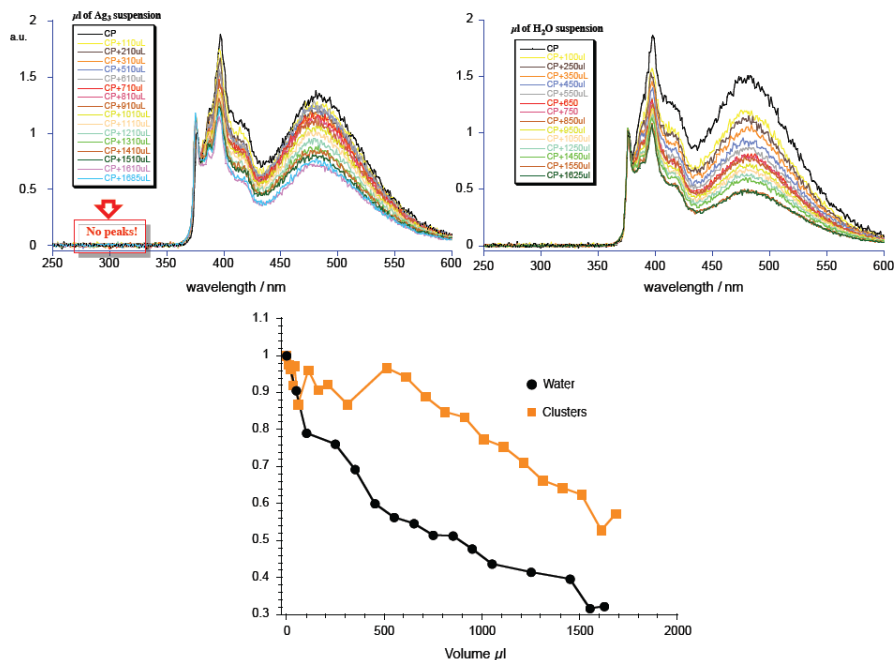


Figura 6-6 Experimento de control mostrando los datos en bruto, donde no hay interferencia en la fluorescencia de los clústeres en la fluorescencia del pireno. La longitud de onda de excitación fue $\lambda_{exc} = 227\text{nm}$ y la emisión se registró entre 250 y 600nm. La gráfica muestra, previa normalización de los datos, el descenso de la banda del excímero del pireno a 470nm.

Sin embargo, sí que se observó que la disminución del excímero del pireno ($\lambda_{em} = 470\text{nm}$) era menos marcado cuando los clústeres estaban presentes, indicando algún tipo de interacción entre los clústeres y el pireno que estabiliza más el dímero de pireno. Se procedió entonces al estudio en disolución entre los clústeres y el ciclopeptido.

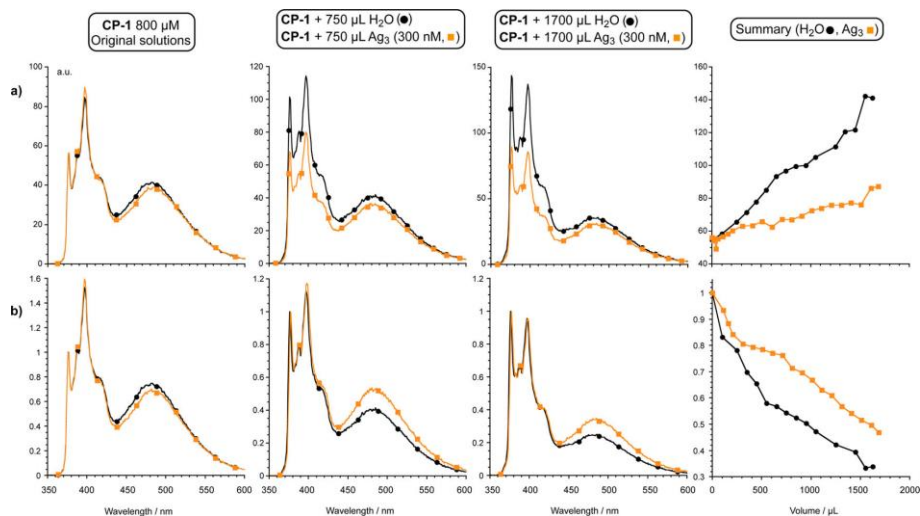


Figura 6-7 Fluorescencia del resto de pireno ($\lambda_{exc} = 340\text{nm}$) de CP-1 en a) bruto y b) normalizado (a 373nm, pico del monómero de pireno) tras incrementos de volumen de H₂O y Clústeres de Plata (Ag₃). Los espectros de la derecha muestran el resumen del incremento para (arriba:) el monómero (a 373nm) en bruto y el descenso (abajo:) para el excímero normalizado a 470nm.

En el sistema pueden observarse dos fenómenos, el primero un incremento de fluorescencia en la banda del pireno monomérico a 377nm en las diluciones crudas de las soluciones concentradas de CP-1. Curiosamente, este aumento en la intensidad de emisión se redujo significativamente cuando las disoluciones de CP-1 se diluyeron con alícuotas de disolución de Ag₃ frente a los mismos volúmenes de agua Milli-Q (Figura 6-7a). Suponemos que el aumento menos marcado de la intensidad de emisión tras la dilución (en presencia de clústeres) se debe a la estabilización de los SCPN, lo que lógicamente disminuiría la cantidad de anillos de CP-1 completamente solvatados en la solución. Por otro lado, en los espectros de emisión normalizados (377 nm) se observó que la desaparición de la banda del excímero ($\lambda_{emisión} = 470\text{ nm}$) se retrasó notablemente en presencia de clústeres de plata (Figura 6-7b). Este hecho se puede explicar

debido a una mayor interacción ajuste de los anillos de pireno aromáticos en presencia de Ag_3 . Es importante destacar que el comportamiento se mantuvo para diferentes concentraciones iniciales de CP-1 (400, 800 y 1600 μM) (Figura 6-7 y Figura 6-8).

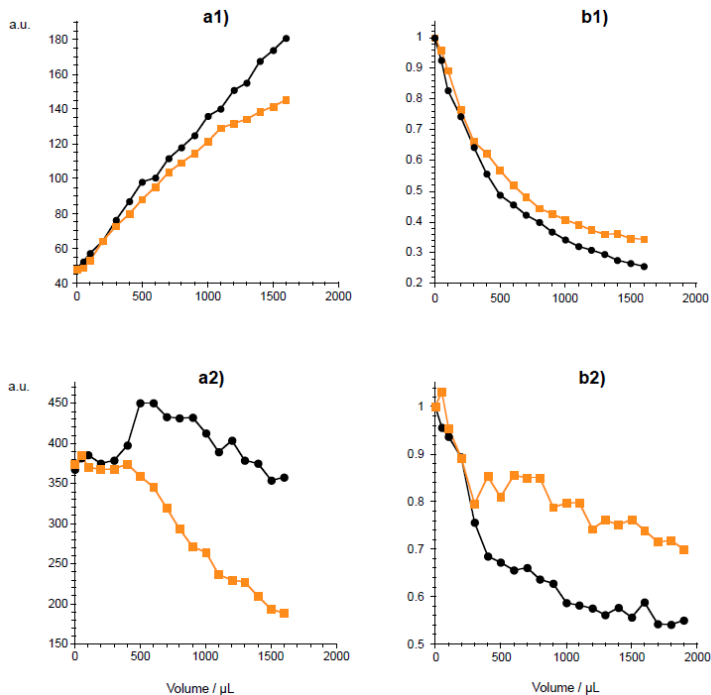


Figura 6-8 Diluciones análogas de la Figura 6-7 para dos concentraciones diferentes de CP-1 (a1 y b1 para 1600 μM y a2 y b2 para 400 μM). a) Resumen de la intensidad de fluorescencia de emisión bruta ($\lambda_{\text{excitación}} = 373 \text{ nm}$) de la solución acuosa de CP-1 después de la dilución con H_2O y Ag_3 . b) Resumen de la emisión de excímero normalizada ($\lambda_{\text{exc}} = 470 \text{ nm}$) de la solución acuosa de CP-1 después de la dilución con volúmenes de agua pura (negro) y clústeres de Ag_3 (naranja). La concentración de la solución madre de los concentrados de plata fue de 300 nM en agua. La normalización de la emisión de excímeros fue a 377 nm.

En resumen, se observa la disminución de la emisión de CP-1 en presencia de cantidades crecientes de clústeres de Ag_3 , lo que

proporciona una estabilización de los SCPN al interactuar con los clústeres en disolución acuosa (Figura 6-9).

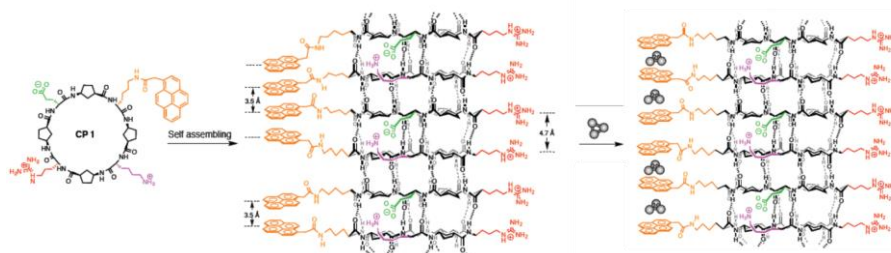


Figura 6-9 Posible mecanismo para la estabilización de los SCPNs mediante intercalación de clústeres de Ag_3 entre los pirenos aromáticos. Las interacciones entre los restos glutamato y lisina también aportan estabilización al conjunto.

6.3 Cálculos computacionales

Para los cálculos computacionales (realizados por la Dra. Rebeca García Fandiño, del grupo del Prof. Juan Granja), se ha usado un funcional B97D3, el cual incorpora correcciones de van der Waals^{115,116,118}, con las bases set 6-31 + G(d,P) y LanL2dz para Plata, identificándose una interacción con el pireno (Figura 6-10). La forma del clúster Ag_3 que interactúa con el sándwich de pireno se mantiene como un triángulo isósceles (distancias: 0.27, 0.27, 0.31 nm) con los vértices rodeados de carbonos de las unidades de pireno a distancias cortas que van desde 0.29 a 0.62 nm. La interacción del clúster Ag_3 con el sándwich de pireno supone una fuerte estabilización de 116.6 kJ / mol. La encapsulación del grupo Ag_3 entre las dos unidades de pirenos se asocia con valores negativos de energía de Gibbs (31,4 kJ / mol, o 2,9 kJ / mol, teniendo en cuenta el BSSE (error de superposición de base)). Se obtuvieron resultados similares cuando las mismas estructuras iniciales se minimizaron en presencia de agua resultando en una estabilización más fuerte del complejo.

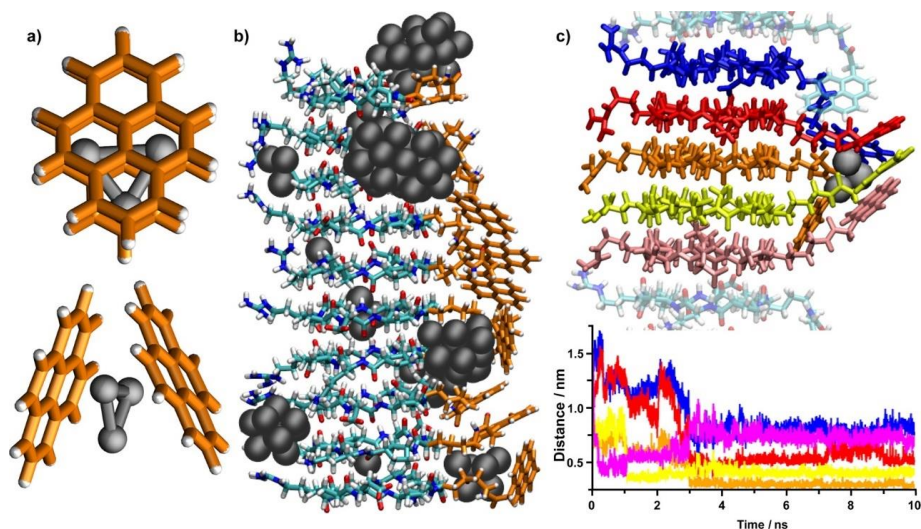


Figura 6-10 Química Computacional. a) Cálculos DFT [B97D3/6-31 + G(d,p) y LanL2dz para plata] para un clúster Ag_3 y dos moléculas de pireno. b) Imagen a 10ns de la Dinámica Molecular de clústeres Ag_3 con los ciclopeptidos, donde se ve preferencia de los clústeres por el pireno hidrofóbico del nanotubo. c) Detalle de una instantánea del entorno de un clúster Ag_3 autoensamblado en medio de un nanotubo de peptídico. (10 CPs) después de 10 ns de simulaciones MD. El gráfico representa las distancias entre los centros de masa de Ag_3 y restos de pireno en el conjunto calculado durante el tiempo de simulación. Cada anillo CP del SCPN está representado por el mismo color en el modelo tubular y en el gráfico 2D.

Aunque los métodos DFT funcionan bien para un solo clúster y moléculas pequeñas,^{115,117,119} se ha de recurrir a cálculos de dinámica molecular (MD) para las simulaciones de sistemas más complejos^{89,119,120}. Por ello, se llevaron a cabo simulaciones MD, modelando los clústeres Ag_3 como triangulares (200 mM), en presencia de unos pocos nanotubos peptídicos formados por diez monómeros peptídicos cíclicos (Figura 6-10b). Después de 10 ns de simulaciones MD se pudo confirmar el autoensamblaje de los clústeres Ag_3 sobre el lado hidrofóbico del pireno del nanotubo

(Figura 4b). Los cálculos mostraron que los clústeres interactúan principalmente con los restos de pireno. Además, también se pudo observar interacciones de los clústeres de plata con los heteroátomos del grupo funcional amida (N, O) en las proximidades del anillo aromático del pireno. Estos sitios de unión funcionan como centros de nucleación para el crecimiento de agregados de clústeres más grandes, que es consistente con los resultados experimentales de AFM (Figura 6-4c, d). Tampoco se observa su presencia en el interior del nanotubo y cálculos teóricos forzando esa situación lleva a distorsiones importantes en la estructura, que no lo hacen posible. La interacción entre Ag_3 y SCPNs se traduce en un aumento de la energía de interacción entre las diferentes unidades del ciclopéptido en varias regiones del nanotubo (Figura 6-11). La diferencia de energía (ΔE), para las interacciones entre CP contiguos de un nanotubo simulado es favorable en presencia de Ag_3 (Figura 6-11, CPs 3-4 y 5-6).

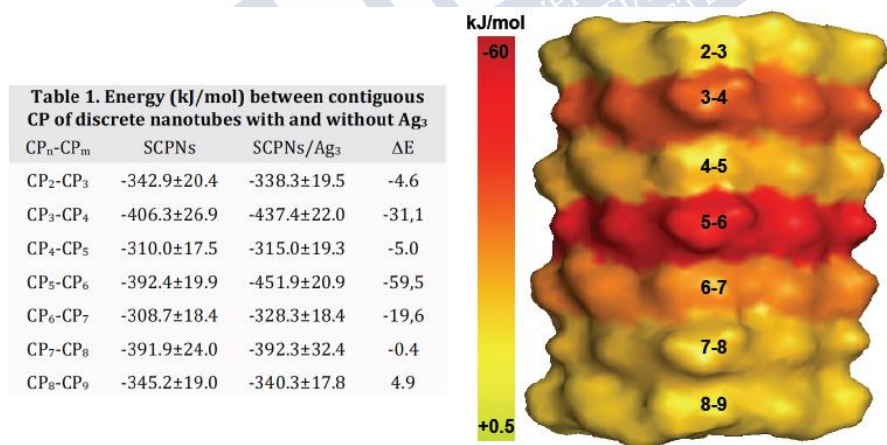


Figura 6-11 La tabla muestra las energías de interacción entre pares de ciclopéptidos, para la ausencia y presencia de clústeres. A mayor energía de interacción las zonas coloreadas son amarillas, mientras que menores niveles de energía se muestran en rojizo, e indican interacciones más estables entre pares de CPs (3-4, 5-6 y 6-7).

El conjunto híbrido se investigó adicionalmente mediante la realización de simulaciones MD a partir de una SCPN solvatada en presencia de dos clústeres de Ag_3 . Tanto el nanotubo como los clústeres, que se simularon sin ninguna restricción, se mantuvieron estables a lo largo del tiempo de simulación (10 ns). Curiosamente, a una distancia radial fija de 0,5 nm, la gran cantidad de contactos entre los clústeres y los péptidos dio como resultado una distancia mínima de alrededor de 0,2-0,3 nm entre el Ag_3 y el nanotubo. Durante estas simulaciones se observó que casi todos los monómeros cíclicos están implicados, al menos hasta cierto punto, en la interacción con los clústeres. Además, las simulaciones MD demostraron que los pirenos eran capaces de encapsular clústeres de Ag_3 , proporcionando así "cárceles de pireno" para los clústeres metálicos (Figura 6-10c). De cuatro a cinco pirenos se sitúan a una distancia de 1 nm alrededor de cada uno de los clústeres de plata (Figura 6-10). En esta disposición también fue posible identificar interacciones de la plata con los heteroátomos (N/O) de la amida. También se observó la deshidratación completa de uno de los clústeres de plata, lo que indica que el pireno puede reemplazar completamente la primera esfera de solvatación de los clústeres de Ag_3 en solución acuosa.

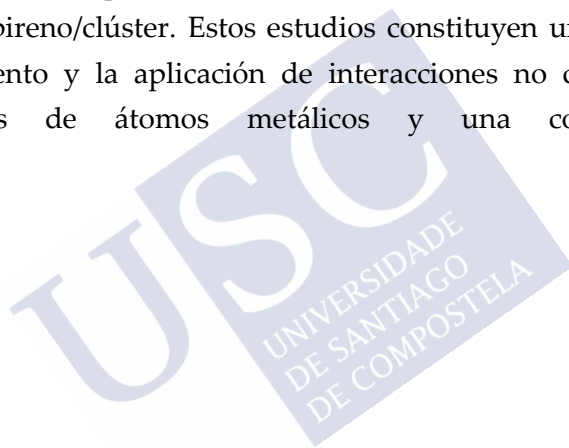
6.4 Conclusiones

Según lo visto en los datos experimentales el nanotubo peptídico se ancla en la mica aniónica a través de un residuo de arginina catiónica que proporciona nanotubos con residuos de pireno aromático hidrofóbico alineados ortogonalmente a la superficie hidrofílica (Figura 6-7C). La deposición simultánea o secuencial (sobre mica) de las mezclas CP-1/ Ag_3 proporcionaron clústeres metálicos autoensamblados a lo largo del eje longitudinal del nanotubo (Figura

6-1d, e). Fue posible identificar clústeres individuales, como lo demuestran los pequeños incrementos de altura (<0,45 nm) frecuentemente observados en imágenes AFM topográficas en la parte superior del SCPN (Figura 6-4). De igual manera, la agregación de clústeres (también observada para los clústeres de Ag₃ puros, (Figura 6-3) retenía la preferencia hacia las estructuras nanotubulares (Figura 6-4c). El uso de mayores concentraciones y/o deposiciones sucesivas de clústeres proporcionó estructuras híbridas atractivas de tipo "nanohilo" compuestas de clústeres de plata recubriendo los péptidos tubulares orgánicos (Figura 6-4d). Los experimentos de fluorescencia en disolución, en los que los SCPN se diluyeron con clústeres de Ag₃, confirmaron la existencia de interacciones no covalentes y la estabilización sinérgica de los agregados supramoleculares péptido/clúster metálico. Esta estabilización de las arquitecturas tubulares autoensambladas podría explicarse mediante la intercalación del clúster entre los excímeros de pireno. La distancia entre 2 pirenos se estimó en alrededor de 3,5Å¹²¹ mientras que la distancia péptido-péptido en la característica lámina-β antiparalela de los nanotubos peptídicos es de alrededor de 4,7 Å. Esta disparidad en la distancia restringe el apilamiento de los pirenos y fuerza la exposición de algunas superficies hidrófobas al agua, una situación que podría obstaculizar el crecimiento de los nanotubos. La incorporación de clústeres Ag₃ entre los pirenos podría ajustar las distancias del anillo aromático y ayudar a estabilizar el autoensamblaje del nanotubo híbrido (Figura 6-9).

En resumen, se ha estudiado el ensamblaje de clústeres Ag₃ de plata de pequeña atomicidad con péptidos nanotubos. Las imágenes AFM topográficas de la deposición de Ag₃ sobre SCPN en mica revelaron una clara preferencia de los clústeres de plata para depositarse y

alinearse sobre los nanotubos peptídicos. Las imágenes topográficas de AFM de concentraciones crecientes de clústeres de plata mostraron que la preferencia se mantenía desde bajas concentraciones hasta deposiciones de clústeres altamente concentradas y/o repetidas. Los estudios de fluorescencia de disoluciones de SCPN diluidas con Ag_3 revelaron la presencia de estructuras supramoleculares autoensambladas en las que cada miembro del conjunto estabiliza al otro en solución acuosa. Los cálculos computacionales con DFT y dinámica molecular permitieron corroborar las interacciones propuestas de pireno/clúster. Estos estudios constituyen un ejemplo del establecimiento y la aplicación de interacciones no covalentes entre clústeres de átomos metálicos y una contraparte supramolecular.







7. Referencias bibliográficas



- (1) Real Academia de la Lengua Española. Nanotecnología <http://dle.rae.es/?id=QEL9Org>.
- (2) Feynman, R. There's Plenty of Room at the Bottom: An Invitation to Enter a New Field of Physics. *Eng. Sci.* **1960**.
- (3) Eigler, D. M.; Schweizer, E. K. Positioning Single Atoms with a Scanning Tunnelling Microscope. *Nature* **1990**, *344*, 524–526.
- (4) Binning, G.; Rohrer, H. The Nobel Prize in Physics 1986 http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1986/ (accessed Jul 28, 2017).
- (5) Nano.gov.
- (6) Li, J.; Li, X.; Zhai, H.-J.; Wang, L.-S. Au₂₀: A Tetrahedral Cluster. *Sci. (Washington, DC, United States)* **2003**, *299*, 864–867.
- (7) Edwards, P. P.; Johnston, R. L.; Rao, C. N. R. On the Size-Induced Metal-Insulator Transition in Clusters and Small Particles. In; 1999; Vol. 3, pp. 1454–1481.
- (8) Buceta Fernandez, D. Caracterización Y Propiedades Catalíticas de Clústeres Cuánticos Subnanométricos, 2011.
- (9) Vilar-Vidal, N.; Rivas, J.; López-Quintela, M. A. Size Dependent Catalytic Activity of Reusable Subnanometer Copper(0) Clusters. *ACS Catal.* **2012**, *2*, 1693–1694.
- (10) Fuentes, J. C.; Rey, J. R.; Lopez-Quintela, M. A. Synthesis of Subnanometric Metal Nanoparticles. In; Bhushan, B., Ed.; Encyclopedia of nanotechnology; Springer Verlag, 2012; pp. 2639–2648.
- (11) Knight, W. D.; Clemenger, K.; de Heer, W. A.; Saunders, W. A.; Chou, M. Y.; Cohen, M. L. Electronic Shell Structure and Abundances of Sodium Clusters. *Phys. Rev. Lett.* **1984**, *52*, 2141–

2143.

- (12) Chou, M. Y.; Cleland, A.; Cohen, M. L. Total Energies, Abundances, and Electronic Shell Structure of Lithium, Sodium, and Potassium Clusters. *Solid State Commun.* **1984**, *52*, 645–648.
- (13) de Heer, W. A. The Physics of Simple Metal Clusters: Experimental Aspects and Simple Models. *Rev. Mod. Phys.* **1993**, *65*, 611–676.
- (14) Poole, Charles P.; Owens, F. J. Introduction a La Nanotecnologia. *Reverte S.A.* **2007**, *1*, 79–102.
- (15) Aprà, E.; Ferrando, R.; Fortunelli, A. Density-Functional Global Optimization of Gold Nanoclusters. *Phys. Rev. B* **2006**, *73*, 205414.
- (16) Lee, H. M.; Ge, M.; Sahu, B. R.; Tarakeshwar, P.; Kim, K. S. Geometrical and Electronic Structures of Gold, Silver, and Gold-Silver Binary Clusters: Origins of Ductility of Gold and Gold-Silver Alloy Formation. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 9994–10005.
- (17) Li, X.-B.; Wang, H.-Y.; Yang, X.-D.; Zhu, Z.-H.; Tang, Y.-J. Size Dependence of the Structures and Energetic and Electronic Properties of Gold Clusters. *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, 84505.
- (18) Liu, Y.; Ai, K.; Cheng, X.; Huo, L.; Lu, L. Gold-Nanocluster-Based Fluorescent Sensors for Highly Sensitive and Selective Detection of Cyanide in Water. *Adv. Funct. Mater.* **2010**, *20*, 951–956.
- (19) Guo, C.; Irudayaraj, J. Fluorescent Ag Clusters via a Protein-Directed Approach as a Hg(II) Ion Sensor. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 2883–2889.

- (20) Bootharaju, M. S.; Pradeep, T. Uptake of Toxic Metal Ions from Water by Naked and Monolayer Protected Silver Nanoparticles: An X-Ray Photoelectron Spectroscopic Investigation. *J Phys Chem C* **2010**, *114*.
- (21) Xie, J.; Zheng, Y.; Ying, J. Y. Highly Selective and Ultrasensitive Detection of Hg(2+) Based on Fluorescence Quenching of Au Nanoclusters by Hg(2+)-Au(+) Interactions. *Chem. Commun. (Camb)*. **2010**, *46*, 961–963.
- (22) Lin, Y. H.; Tseng, W. L. Ultrasensitive Sensing of Hg₂⁺ and CH₃Hg⁺ Based on the Fluorescence Quenching of Lysozyme Type VI-Stabilized Gold Nanoclusters. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 9194–9200.
- (23) Vilar-Vidal, N.; Rivas, J.; López-Quintela, M. A. Copper Clusters as Novel Fluorescent Probes for the Detection and Photocatalytic Elimination of Lead Ions. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 26427–26430.
- (24) Santiago-González, B.; Vázquez-Vázquez, C.; Blanco-Varela, M. C.; Gaspar Martinho, J. M.; Ramallo-López, J. M.; Requejo, F. G.; López-Quintela, M. A. Synthesis of Water-Soluble Gold Clusters in Nanosomes Displaying Robust Photoluminescence with Very Large Stokes Shift. *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *455*, 154–162.
- (25) Xavier, P. L.; Chaudhari, K.; Verma, P. K.; Pal, S. K.; Pradeep, T. Luminescent Quantum Clusters of Gold in Transferrin Family Protein, Lactoferrin Exhibiting FRET. *Nanoscale* **2010**, *2*, 2769.
- (26) Muhammed, M. A. H.; Shaw, A. K.; Pal, S. K.; Pradeep, T. Quantum Clusters of Gold Exhibiting FRET. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 14324–14330.

- (27) Buceta, D.; Piñeiro, Y.; Vázquez-Vázquez, C.; Rivas, J.; López-Quintela, M. Metallic Clusters: Theoretical Background, Properties and Synthesis in Microemulsions. *Catalysts* **2014**, *4*, 356–374.
- (28) Boronat, M.; Leyva-Pérez, A.; Corma, A. Theoretical and Experimental Insights into the Origin of the Catalytic Activity of Subnanometric Gold Clusters: Attempts to Predict Reactivity with Clusters and Nanoparticles of Gold. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 834–844.
- (29) Huang, J.; Akita, T.; Faye, J.; Fujitani, T.; Takei, T.; Haruta, M. Propene Epoxidation with Dioxygen Catalyzed by Gold Clusters. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2009**, *48*, 7862–7866.
- (30) Zhu, Y.; Qian, H.; Zhu, M.; Jin, R. Thiolate-Protected Au Nanoclusters as Catalysts for Selective Oxidation and Hydrogenation Processes. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 1915–1920.
- (31) Corma, A.; Concepción, P.; Boronat, M.; Sabater, M. J.; Navas, J.; Yacaman, M. J.; Larios, E.; Posadas, A.; López-Quintela, M. A.; Buceta, D.; *et al.* Exceptional Oxidation Activity with Size-Controlled Supported Gold Clusters of Low Atomicity. *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 775–781.
- (32) Zhao, D.; Xu, B.-Q. Enhancement of Pt Utilization in Electrocatalysts by Using Gold Nanoparticles. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2006**, *45*, 4955–4959.
- (33) Attia, Y. A.; Vazquez-Vazquez, C.; Blanco, M. C.; Buceta, D.; Lopez-Quintela, M. A. Gold Nanorod Synthesis Catalysed by Au Clusters. *Faraday Discuss.* **2016**, *191*, 205–213.
- (34) Attia, Y. A.; Buceta, D.; Blanco-Varela, C.; Mohamed, M. B.; Barone, G.; López-Quintela, M. A. Structure-Directing and High-Efficiency Photocatalytic Hydrogen Production by Ag

- Clusters. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 1182–1185.
- (35) Wang, J. X.; Brankovic, S. R.; Zhu, Y.; Hanson, J. C.; Adzic, R. R. Kinetic Characterization of PtRu Fuel Cell Anode Catalysts Made by Spontaneous Pt Deposition on Ru Nanoparticles. *J. Electrochem. Soc.* **2003**, *150*, A1108–A1117.
- (36) Yagi, I.; Ishida, T.; Uosaki, K. Electrocatalytic Reduction of Oxygen to Water at Au Nanoclusters Vacuum-Evaporated on Boron-Doped Diamond in Acidic Solution. *Electrochem. commun.* **2004**, *6*, 773–779.
- (37) Valden, M. Onset of Catalytic Activity of Gold Clusters on Titania with the Appearance of Nonmetallic Properties. *Science* (80-.). **1998**, *281*, 1647–1650.
- (38) Hayden, B. E.; Pletcher, D.; Suchsland, J.-P. Enhanced Activity for Electrocatalytic Oxidation of Carbon Monoxide on Titania-Supported Gold Nanoparticles. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2007**, *46*, 3530–3532.
- (39) Hayden, B. E.; Pletcher, D.; Rendall, M. E.; Suchsland, J. P. CO Oxidation on Gold in Acidic Environments: Particle Size and Substrate Effects. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 17044–17051.
- (40) Hernández, J.; Solla-Gullón, J.; Herrero, E.; Aldaz, A.; Feliu, J. M. Electrochemistry of Shape-Controlled Catalysts: Oxygen Reduction Reaction on Cubic Gold Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 14078–14083.
- (41) Nikbin, N.; Mpourmpakis, G.; Vlachos, D. G. A Combined DFT and Statistical Mechanics Study for the CO Oxidation on the Au₁₀-1 Cluster. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 20192–20200.
- (42) Herzing, A. A.; Kiely, C. J.; Carley, A. F.; Landon, P.; Hutchings, G. J. Identification of Active Gold Nanoclusters on

- Iron Oxide Supports for CO Oxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *321*, 1331–1335.
- (43) Lu, Y.; Chen, W. Size Effect of Silver Nanoclusters on Their Catalytic Activity for Oxygen Electro-Reduction. *J. Power Sources* **2012**, *197*, 107–110.
- (44) Wei, W.; Chen, W. Size-Dependent Catalytic Activity of Copper Nanoclusters for Oxygen Electroreduction in Alkaline Solution. *Int. J. Smart Nano Mater.* **2012**, *4*, 62–71.
- (45) Selva, J.; Martínez, S. E.; Buceta, D.; Rodríguez-Vázquez, M. J.; Blanco, M. C.; López-Quintela, M. A.; Egea, G. Silver Sub-Nanoclusters Electrocatalyze Ethanol Oxidation and Provide Protection against Ethanol Toxicity in Cultured Mammalian Cells. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 6947–6954.
- (46) 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* **2007**, *398*, 273–277.
- (47) Martinez, S. E.; Egea, G. Novel Molecular Targets for the Prevention of Fetal Alcohol Syndrome. *Recent Pat. CNS Drug Discov.* **2007**, *2*, 23–35.
- (48) Neissa, J.; Perez-Arnaiz, C.; Porto, V.; Busto, N.; Borrajo, E.; Leal, J. M.; Lopez-Quintela, M. A.; Garcia, B.; Dominguez, F. Interaction of Silver Atomic Quantum Clusters with Living Organisms: Bactericidal Effect of Ag₃ Clusters Mediated by Disruption of Topoisomerase-DNA Complexes. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 6717–6724.
- (49) Buceta, D.; Busto, N.; Barone, G.; Leal, J. M.; Domínguez, F.; Giovanetti, L. J.; Requejo, F. G.; García, B.; López-Quintela, M. A. Ag₂ and Ag₃ Clusters: Synthesis, Characterization, and

- Interaction with DNA. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2015**, *54*, 7612–7616.
- (50) Qureshi, T. How are small clusters made?
<http://tabish.freeshell.org/physics/Sr/>.
- (51) Muhammed, M. A. H.; Ramesh, S.; Sinha, S. S.; Pal, S. K. K.; Pradeep, T.; Habeeb Muhammed, M. A.; Ramesh, S.; Sinha, S. S.; Pal, S. K. K.; Pradeep, T. Two Distinct Fluorescent Quantum Clusters of Gold Starting from Metallic Nanoparticles by pH-Dependent Ligand Etching. *Nano Res.* **2008**, *1*, 333–340.
- (52) Piñeiro, Y.; Buceta, D.; Calvo, J.; Huseyinova, S.; Cuerva, M.; Pérez, Á.; Domínguez, B.; López-Quintela, M. A. Large Stability and High Catalytic Activities of Sub-Nm Metal (0) Clusters: Implications into the Nucleation and Growth Theory. *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *449*, 279–285.
- (53) Corma, A.; Boronat, M.; Gonzalez, S.; Illas, F. On the Activation of Molecular Hydrogen by Gold: A Theoretical Approximation to the Nature of Potential Active Sites. *Chem. Commun. (Cambridge, United Kingdom)* **2007**, 3371–3373.
- (54) Xu, H.; Suslick, K. S. Water-Soluble Fluorescent Silver Nanoclusters. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 1078–1082.
- (55) Goswami, N.; Giri, A.; Bootharaju, M. S.; Xavier, P. L.; Pradeep, T.; Pal, S. K. Copper Quantum Clusters in Protein Matrix: Potential Sensor of Pb²⁺ Ion. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 9676–9680.
- (56) Wei, H.; Wang, Z.; Yang, L.; Tian, S.; Hou, C.; Lu, Y.; Zhao, Y.; Li, G. X.; Fan, C. H. Lysozyme-Stabilized Gold Fluorescent Cluster: Synthesis and Application as Hg²⁺ Sensor. *Analyst* **2010**, *135*, 1406.
- (57) Xie, J.; Zheng, Y.; Ying, J. Y. Protein-Directed Synthesis of

- Highly Fluorescent Gold Nanoclusters. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 888–889.
- (58) Zheng, J.; Petty, J. T.; Dickson, R. M. High Quantum Yield Blue Emission from Water-Soluble Au₈ Nanodots. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7780–7781.
- (59) Zhao, M.; Sun, L.; Crooks, R. M. Preparation of Cu Nanoclusters within Dendrimer Templates. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4877–4878.
- (60) Richards, C. I.; Choi, S.; Hsiang, J. C.; Antoku, Y.; Vosch, T.; Bongiorno, A.; Tzeng, Y. L.; Dickson, R. M. Oligonucleotide-Stabilized Ag Nanocluster Fluorophores. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5038–5039.
- (61) Petty, J. T.; Zheng, J.; Hud, N. V.; Dickson, R. M. DNA-Templated Ag Nanocluster Formation. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5207–5212.
- (62) Han, B.; Wang, E. DNA-Templated Fluorescent Silver Nanoclusters. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, *402*, 129–138.
- (63) Jia, X.; Li, J.; Han, L.; Ren, J.; Yang, X.; Wang, E. DNA-Hosted Copper Nanoclusters for Fluorescent Identification of Single Nucleotide Polymorphisms. *ACS Nano* **2012**, *6*, 3311–3317.
- (64) Ledo-Suárez, A.; Rivas, J. J.; Rodríguez-Abreu, C. F.; Rodríguez, M. J.; Pastor, E.; Hernández-Creus, A.; Oseroff, S. B.; López-Quintela, M. A.; Ledo-Suarez, A.; Rivas, J. J.; *et al.* Facile Synthesis of Stable, Sub-Nanosized Silver Atomic Clusters in Microemulsions. *Angew. Chemie, Int. Ed.* **2007**, *46*, 8823–8827.
- (65) Vázquez-Vázquez, C.; Bañobre-López, M.; Mitra, A.; López-

- Quintela, M. A.; Rivas, J. J.; Vazquez-Vazquez, C.; Banobre-Lopez, M.; Mitra, A.; Lopez-Quintela, M. A.; Rivas, J. J. Synthesis of Small Atomic Copper Clusters in Microemulsions. *Langmuir* **2009**, *25*, 8208–8216.
- (66) Peyser, L. A.; Vinson, A. E.; Bartko, A. P.; Dickson, R. M. Photoactivated Fluorescence from Individual Silver Nanoclusters. *Science* **2001**, *291*, 103–106.
- (67) Zheng, J.; Dickson, R. M. Individual Water-Soluble Dendrimer-Encapsulated Silver Nanodot Fluorescence. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13982–13983.
- (68) Zhang, J.; Xu, S.; Kumacheva, E. Photogeneration of Fluorescent Silver Nanoclusters in Polymer Microgels. *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 2336–2340.
- (69) Lu, Y. Z.; Chen, W. Q. T.; Schmid, G.; Baumle, M.; Geerkens, M.; Helm, I.; Osemann, C.; Sawitowski, T.; Roucoux, A.; Schulz, J.; *et al.* Sub-Nanometre Sized Metal Clusters: From Synthetic Challenges to the Unique Property Discoveries. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 3594–3623.
- (70) Reetz, M. T.; Helbig, W.; Reetz, M. T.; Helbig, W. Size-Selective Synthesis of Nanostructured Transition Metal Clusters. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7401–7402.
- (71) Rodriguez-Sanchez, L.; Blanco, M. C.; Lopez-Quintela, M. A. Electrochemical Synthesis of Silver Nanoparticles. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 9683–9688.
- (72) Piñeiro, Y.; Buceta, D.; Calvo, J.; Huseyinova, S.; Cuerva, M.; Pérez, T.; Domínguez, B.; López-Quintela, M. A. Large Stability and High Catalytic Activities of Sub-Nm Metal (0) Clusters: Implications into the Nucleation and Growth Theory. *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *449*.

- (73) Kudera, S.; Manna, L. Bottom-Up Synthesis of Nanosized Objects. In *Colloidal Foundations of Nanoscience*; Elsevier, 2014; pp. 47–80.
- (74) Piñeiro, Y.; Rivas, J.; López-Quintela, M. A. The Emergence of Quantum Confinement in Atomic Quantum Clusters. In *Colloidal Foundations of Nanoscience*; Elsevier, 2014; pp. 81–105.
- (75) Zheng, J.; Zhang, C.; Dickson, R. M. Highly Fluorescent, Water-Soluble, Size-Tunable Gold Quantum Dots. *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *93*, 77402.
- (76) Bleakney, W. A New Method of Positive Ray Analysis and Its Application to the Measurement of Ionization Potentials in Mercury Vapor. *Phys. Rev.* **1929**, *34*, 157–160.
- (77) Barber, M.; Bordoli, R. S.; Sedgwick, R. D.; Tyler, A. N. Fast Atom Bombardment of Solids as an Ion Source in Mass Spectrometry. *Nature* **1981**, *293*, 270–275.
- (78) Barber, M.; Bordoli, R. S.; Sedgwick, R. D.; Tyler, A. N. Fast Atom Bombardment of Solids (F.A.B.): A New Ion Source for Mass Spectrometry. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1981**, *0*, 325.
- (79) Anhalt, J. P.; Fenselau, C. Identification of Bacteria Using Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **1975**, *47*, 219–225.
- (80) Fenn, J. B.; Mann, M.; Meng, C. K.; Wong, S. F.; Whitehouse, C. M. Electrospray Ionization for Mass Spectrometry of Large Biomolecules. *Science* **1989**, *246*, 64–71.
- (81) Aleksandrov, M. L. Mass Spectrometric Analysis of Thermally Unstable Compounds of Low Volatility by the Extraction of Ions from Solution at Atmospheric Pressure. *J. Anal. Chem. USSR (Engl. Transl.); (United States)*.
- (82) Waters, C. A.; Mills, A. J.; Johnson, K. A.; Schiffrin, D. J.

- Purification of Dodecanethiol Derivatized Gold Nanoparticles. *Chem. Commun.* **2003**, 119, 540–541.
- (83) Dass, A.; Stevenson, A.; Dubay, G. R.; Tracy, J. B.; Murray, R. W. Nanoparticle MALDI-TOF Mass Spectrometry without Fragmentation: Au 25 (SCH 2 CH 2 Ph) 18 and Mixed Monolayer Au 25 (SCH 2 CH 2 Ph) 18– X (L) X. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 5940–5946.
- (84) Guo, J.; Kumar, S.; Bolan, M.; Desiredy, A.; Bigioni, T. P.; Griffith, W. P. Mass Spectrometric Identification of Silver Nanoparticles: The Case of Ag₃₂(SG)₁₉. *Anal. Chem.* **2012**, 84, 5304–5308.
- (85) Regan, T. J. X-RAY ABSORPTION SPECTROSCOPY AND MICROSCOPY STUDY OF FERRO-AND ANTIFERROMAGNETIC THIN FILMS, WITH APPLICATIONS TO EXCHANGE ANISOTROPY, Stanford Synchrotron Radiation Lightsource, 2001.
- (86) Henzler, K.; Heilemann, A.; Kneer, J.; Guttman, P.; Jia, H.; Bartsch, E.; Lu, Y.; Palzer, S. Investigation of Reactions between Trace Gases and Functional CuO Nanospheres and Octahedrons Using NEXAFS-TXM Imaging. *Sci. Rep.* **2016**, 5, 17729.
- (87) Willmott, P. (Phil R. . *An Introduction to Synchrotron Radiation : Techniques and Applications*; Wiley, 2011.
- (88) Pérez-Dieste, V.; Aballe, L.; Ferrer, S.; Nicolás, J.; Escudero, C.; Milán, A.; Pellegrin, E. Near Ambient Pressure XPS at ALBA. *J. Phys. Conf. Ser.* **2013**, 425, 72023.
- (89) Guan, P.; Mckenzie, D. R.; Pailthorpe, B. A. MD Simulations of Ag Film Growth Using the Lennard-Jones Potential. *J. Phys. Condens. Matter* **1996**, 8, 8753–8762.

- (90) Ruiz, R.; García, B.; Ruisi, G.; Silvestri, A.; Barone, G. Computational Study of the Interaction of Proflavine with d(ATATATATAT)2 and d(GCGCGCGCGC)2. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **2009**, *915*, 86–92.
- (91) Heinz, H.; Vaia, R. A.; Farmer, B. L.; Naik, R. R. Accurate Simulation of Surfaces and Interfaces of Face-Centered Cubic Metals Using 12–6 and 9–6 Lennard-Jones Potentials. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 17281–17290.
- (92) Huseyinova, S. Electrochemical/chemical Synthesis, Purification, Characterization and Properties of Atomic Quantum Clusters of Different Sizes, Universidad de Santiago de Compostela, 2017.
- (93) Thermo Scientific. XPS Copper
<https://xpssimplified.com/elements/copper.php>.
- (94) Fritsche, H.-G. G.; Benfield, R. E. Exact Analytical Formulae for Mean Coordination Numbers in Clusters. *Zeitschrift für Phys. D Atoms, Mol. Clust.* **1993**, *26*, 15–17.
- (95) Rodríguez-Sánchez, M. L.; Rodríguez, M. J.; Blanco, M. C.; Rivas, J.; López-Quintela, M. A. Kinetics and Mechanism of the Formation of Ag Nanoparticles by Electrochemical Techniques: A Plasmon and Cluster Time-Resolved Spectroscopic Study. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 1183–1191.
- (96) Cristina E. Hoppe, *; Massimo Lazzari; Iván Pardiñas-Blanco, and; López-Quintela, M. A. One-Step Synthesis of Gold and Silver Hydrosols Using Poly(N-Vinyl-2-Pyrrolidone) as a Reducing Agent. **2006**.
- (97) Zhou, Y.; Wang, H.; Lin, W.; Lin, L.; Gao, Y.; Yang, F.; Du, M.; Fang, W.; Huang, J.; Sun, D.; *et al.* Quantitative Nucleation and Growth Kinetics of Gold Nanoparticles via Model-Assisted

- Dynamic Spectroscopic Approach. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *407*, 8–16.
- (98) Dubey, S.; Sarvaiya, J. N.; Seshadri, B. Temperature Dependent Photovoltaic (PV) Efficiency and Its Effect on PV Production in the World – A Review. *Energy Procedia* **2013**, *33*, 311–321.
- (99) Nanda, K. K.; Sahu, S. N.; Behera, S. N. Liquid-Drop Model for the Size-Dependent Melting of Low-Dimensional Systems. *Phys. Rev. A* **2002**, *66*, 13208.
- (100) Sheng, H. W.; Ren, G.; Peng, L. M.; Hu, Z. Q.; Lu, K. Superheating and Melting-Point Depression of Pb Nanoparticles Embedded in Al Matrices. *Philos. Mag. Lett.* **1996**, *73*, 179–186.
- (101) Sheng, H. W.; Ren, G.; Peng, L. M.; Hu, Z. Q.; Lu, K. Epitaxial Dependence of the Melting Behavior of In Nanoparticles Embedded in Al Matrices. *J. Mater. Res.* **1997**, *12*, 119–123.
- (102) Bréchnignac, C.; Busch, H.; Cahuzac, P.; Leygnier, J. Dissociation Pathways and Binding Energies of Lithium Clusters from Evaporation Experiments. *J. Chem. Phys.* **1994**, *101*, 6992–7002.
- (103) Näher, U.; Zimmermann, U.; Martin, T. P. Geometrical Shell Structure of Clusters. *J. Chem. Phys.* **1993**, *99*, 2256–2260.
- (104) Wautelet, M. Estimation of the Variation of the Melting Temperature with the Size of Small Particles, on the Basis of a Surface-Phonon Instability Model. *J. Phys. D. Appl. Phys.* **1991**, *24*, 343–346.
- (105) Buffat, P.; Borel, J.-P. Size Effect on the Melting Temperature of Gold Particles. *Phys. Rev. A* **1976**, *13*, 2287–2298.
- (106) Couchman, P. R.; Jesser, W. A. Thermodynamic Theory of Size Dependence of Melting Temperature in Metals. *Nature* **1977**,

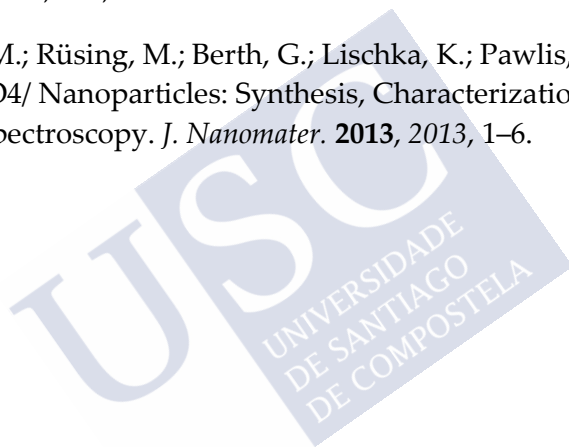
269, 481–483.

- (107) Sakai, H. Surface-Induced Melting of Small Particles. *Surf. Sci.* **1996**, *351*, 285–291.
- (108) Fernández, E.; Boronat, M.; Corma, A. Trends in the Reactivity of Molecular O₂ with Copper Clusters: Influence of Size and Shape. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119*, 19832–19846.
- (109) Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. Towards Functional Bionanomaterials Based on Self-Assembling Cyclic Peptidenanotubes. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448–1456.
- (110) Montenegro, J.; Ghadiri, M. R.; Granja, J. R. Ion Channel Models Based on Self-Assembling Cyclic Peptide Nanotubes. *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2955–2965.
- (111) Montenegro, J.; Vázquez-Vázquez, C.; Kalinin, A.; Geckeler, K. E.; Granja, J. R. Coupling of Carbon and Peptide Nanotubes. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 2484–2491.
- (112) Reiriz, C.; Brea, R. J.; Arranz, R.; Carrascosa, J. L.; Garibotti, A.; Manning, B.; Valpuesta, J. M.; Eritja, R.; Castedo, L.; Granja, J. R. γ -Peptide Nanotube Templating of One-Dimensional Parallel Fullerene Arrangements. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131–11335.
- (113) Manuel Amorín; Luis Castedo, and; Granja*, J. R. New Cyclic Peptide Assemblies with Hydrophobic Cavities: The Structural and Thermodynamic Basis of a New Class of Peptide Nanotubes. **2003**.
- (114) Pérez-Alvite, M. J.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. Toward the Rational Design of Molecular Rotors Ion Sensors Based on A, γ -Cyclic Peptide Dimers. *Amino Acids* **2011**, *41*, 621–628.

- (115) Chen, M.; Dyer, J. E.; Li, K.; Dixon, D. A. Prediction of Structures and Atomization Energies of Small Silver Clusters, $(Ag)_N$, $N \leq 100$. *J. Phys. Chem. A* **2013**, *117*, 8298–8313.
- (116) Fernández, E. M.; Soler, J. M.; Garzón, I. L.; Balbás, L. C. Trends in the Structure and Bonding of Noble Metal Clusters. *Phys. Rev. B* **2004**, *70*, 165403.
- (117) Fernández, E. M.; Soler, J. M.; Garzón, I. L.; Balbás, L. C. Trends in the Structure and Bonding of Noble Metal Clusters. *Phys. Rev. B* **2004**, *70*, 165403.
- (118) Ding, Y.; Mei, Y.; Zhang, J. Z. H.; Tao, F.-M. Efficient Bond Function Basis Set for π - π Interaction Energies. *J Comput Chem* **2008**, *29*, 275–279.
- (119) Samanta, P. K.; Periyasamy, G.; Manna, A. K.; Pati, S. K. Computational Studies on Structural and Optical Properties of Single-Stranded DNA Encapsulated Silver/gold Clusters. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 6774.
- (120) Heinz, H.; Vaia, R. A.; Farmer, B. L.; Naik, R. R. Accurate Simulation of Surfaces and Interfaces of Face-Centered Cubic Metals Using 12–6 and 9–6 Lennard-Jones Potentials. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 17281–17290.
- (121) Winnik, F. M. Photophysics of Preassociated Pyrenes in Aqueous Polymer Solutions and in Other Organized Media. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 587–614.
- (122) Guvelioglu, G. H.; Ma, P.; He, X.; Forrey, R. C.; Cheng, H. First Principles Studies on the Growth of Small Cu Clusters and the Dissociative Chemisorption of H_2 . *Phys. Rev. B* **2006**, *73*, 155436.
- (123) Chen, M.; Dyer, J. E.; Li, K.; Dixon, D. A. Prediction of

Structures and Atomization Energies of Small Silver Clusters, $(Ag)_n$, $N \leq 100$. *J. Phys. Chem. A* **2013**, *117*, 8298–8313.

- (124) Xu, J. F.; Ji, W.; Shen, Z. X.; Li, W. S.; Tang, S. H.; Ye, X. R.; Jia, D. Z.; Xin, X. Q. Raman Spectra of CuO Nanocrystals. *J. Raman Spectrosc.* **1999**, *30*, 413–415.
- (125) Debbichi, L.; Marco de Lucas, M. C.; Pierson, J. F.; Krüger, P. Vibrational Properties of CuO and Cu₄O₃ from First-Principles Calculations, and Raman and Infrared Spectroscopy. *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 10232–10237.
- (126) Rashad, M.; Rüsing, M.; Berth, G.; Lischka, K.; Pawlis, A. CuO and Co₃O₄ Nanoparticles: Synthesis, Characterizations, and Raman Spectroscopy. *J. Nanomater.* **2013**, *2013*, 1–6.





8. Anexos



8.1 Estructura geométrica de clústeres calculadas por DFT

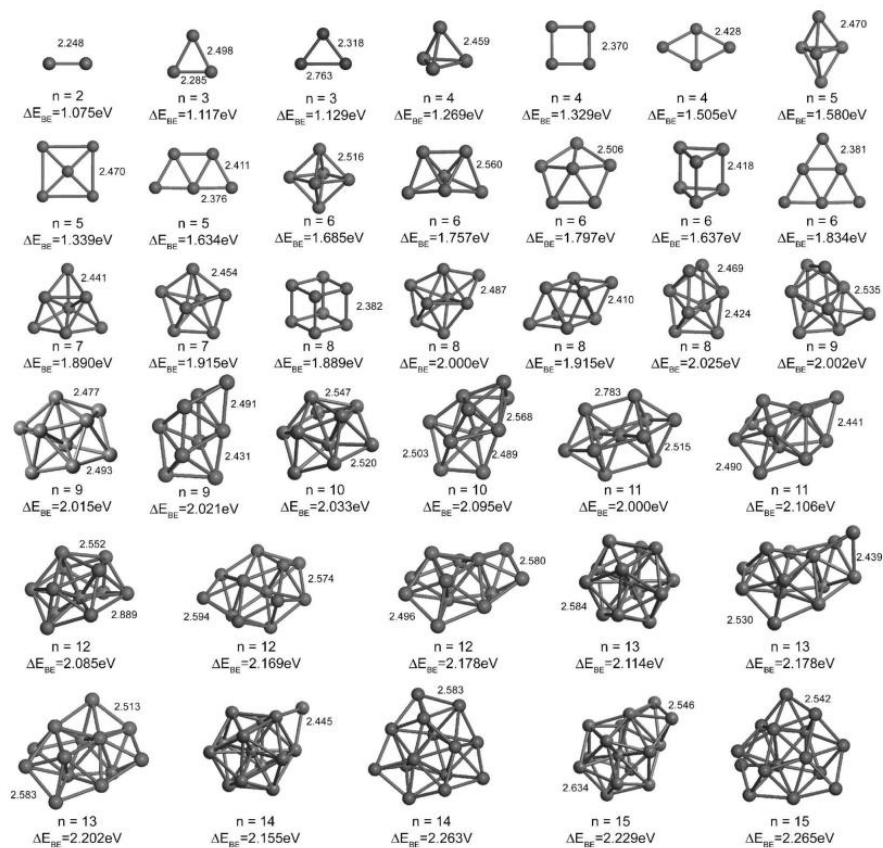


Figura 8-1 Estructuras más estables para clústeres de cobre de diferentes tamaños, según la referencia ¹²²

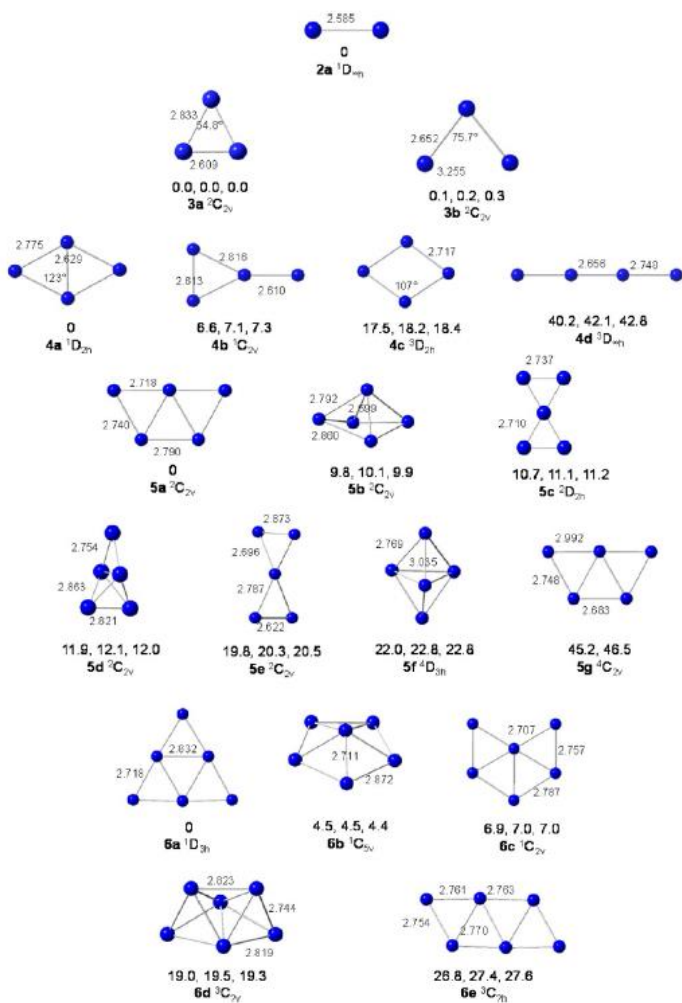


Figura 8-2 Estructuras más estables para clústeres de Ag de diferentes tamaños, siendo los más estables (mínima energía) planos hasta 6 átomos, según la referencia ¹²³

8.2 Espectros de masas teóricos y experimentales de la síntesis fotoquímica

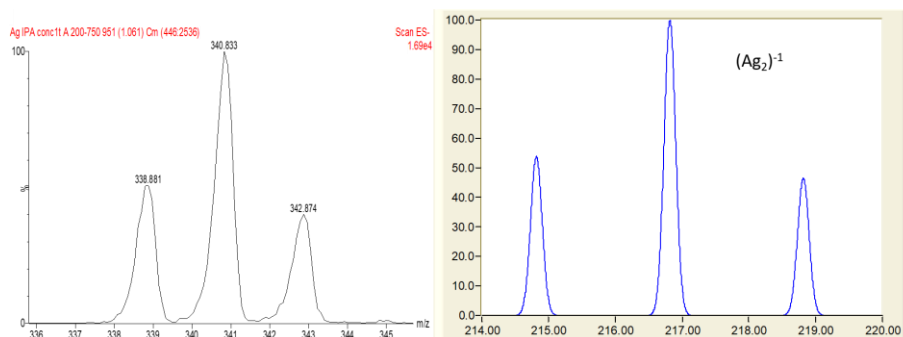


Figura 8-3 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_2 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

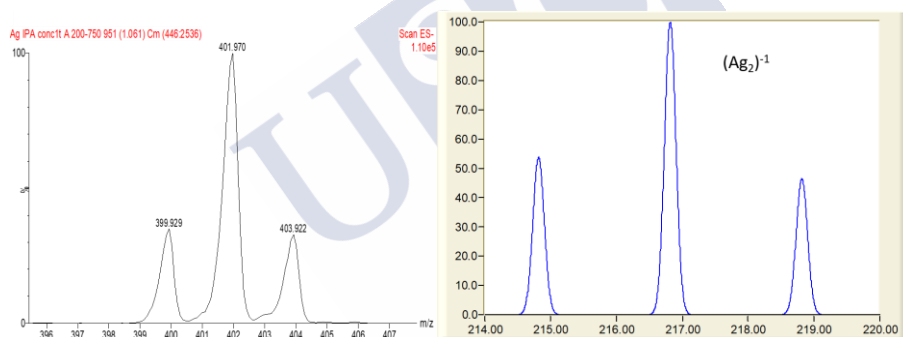


Figura 8-4 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_2 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

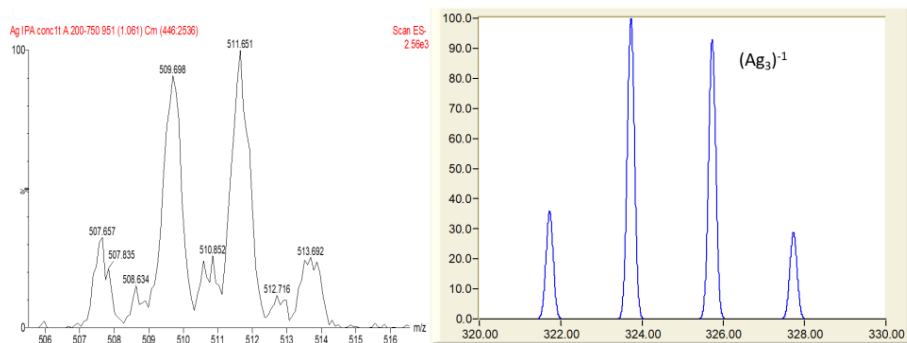


Figura 8-5 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_3 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

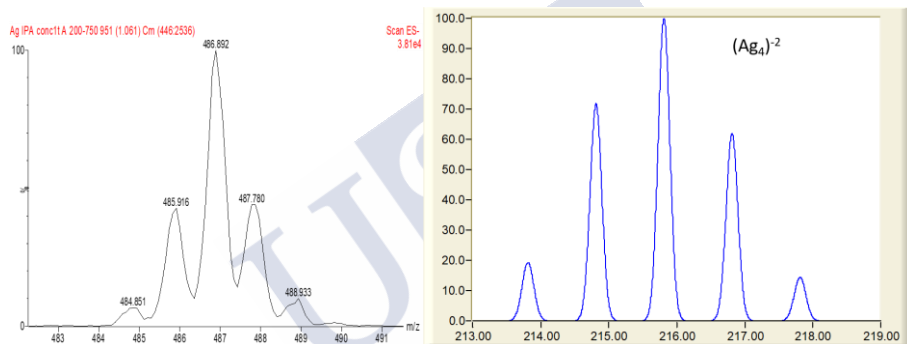


Figura 8-6 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_4 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

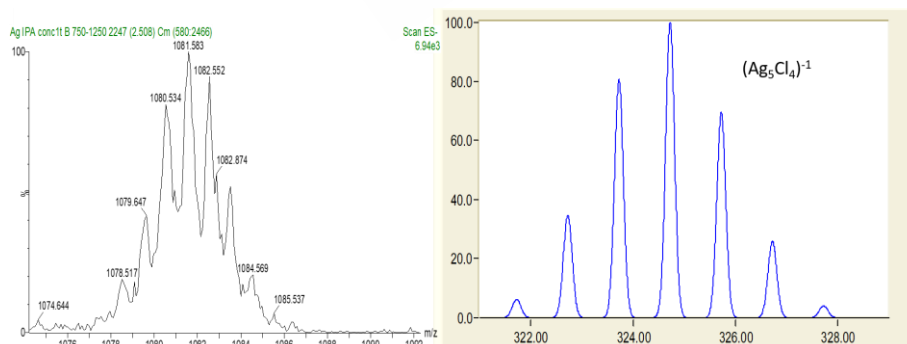


Figura 8-7 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_5 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

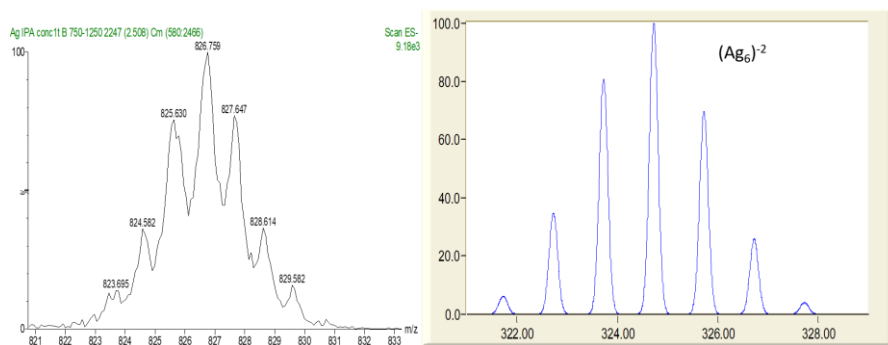


Figura 8-8 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_6 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

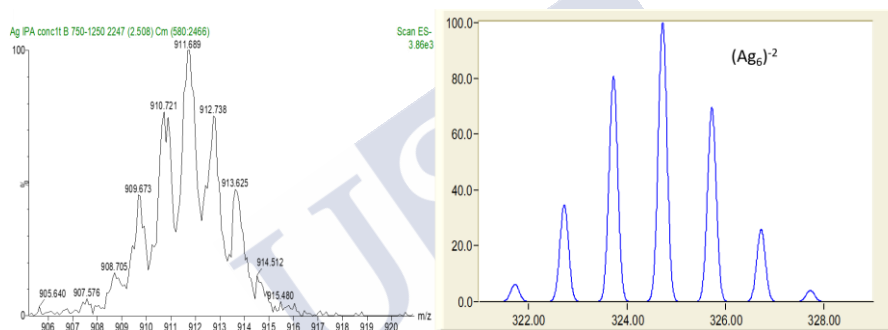


Figura 8-9 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_6 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

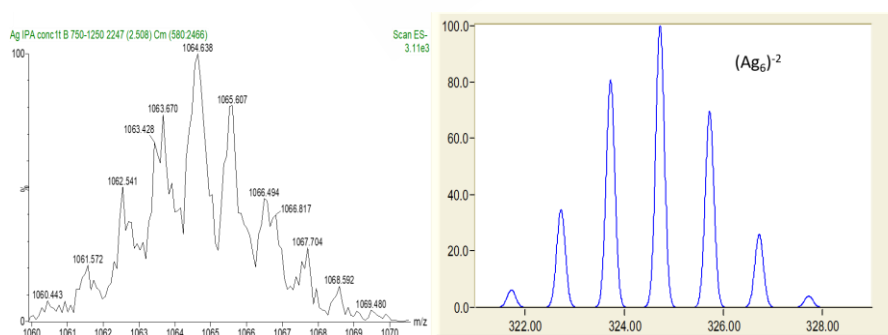


Figura 8-10 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_6 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

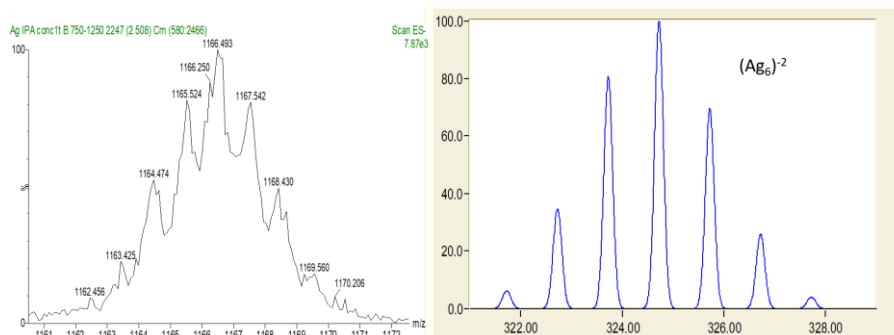


Figura 8-11 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_6 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

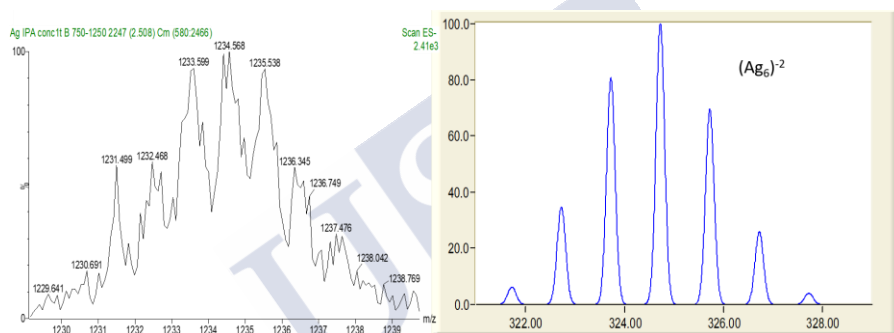


Figura 8-12 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_6 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

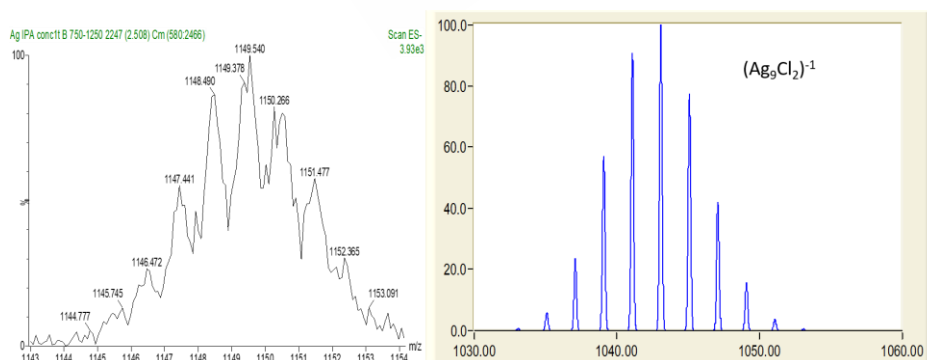


Figura 8-13 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Ag_9 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

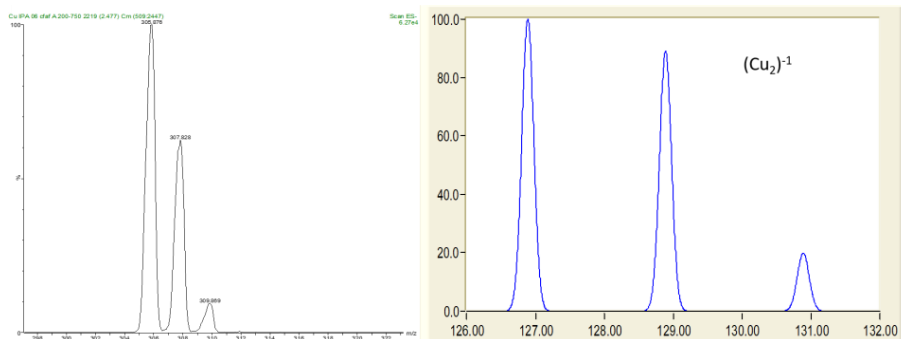


Figura 8-14 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Cu_2 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

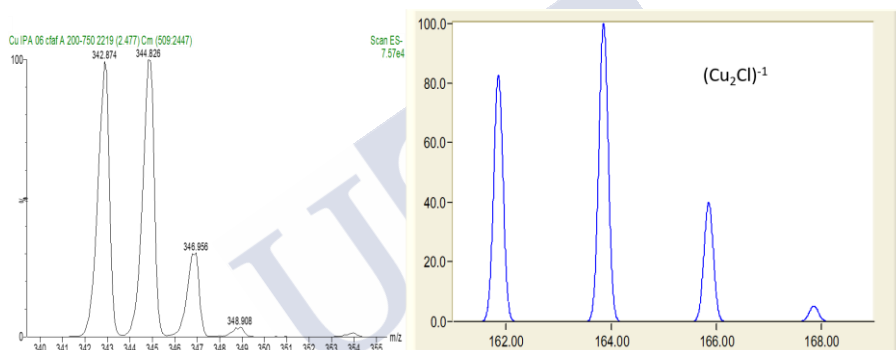


Figura 8-15 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Cu_2 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

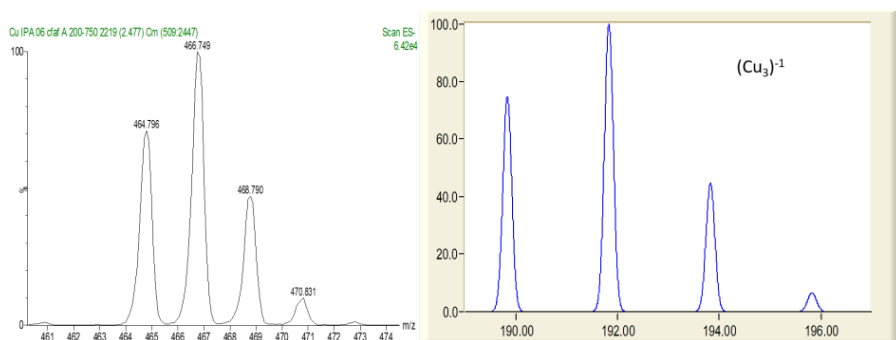


Figura 8-16 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Cu_3 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

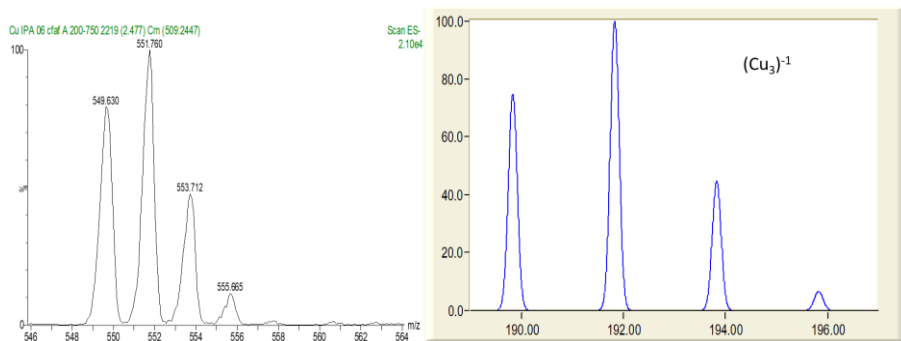


Figura 8-17 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Cu_3 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

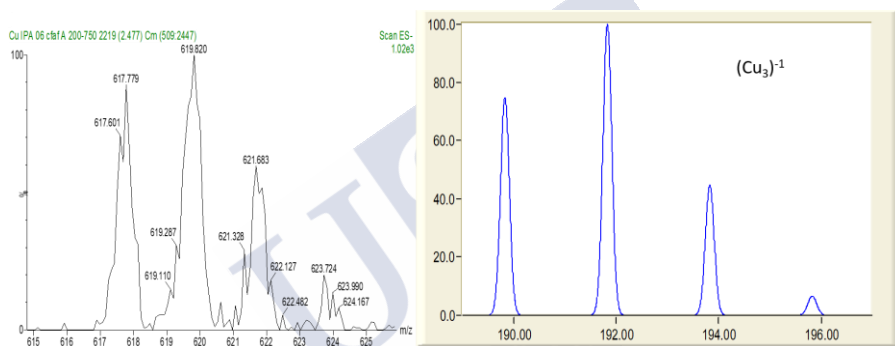


Figura 8-18 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Cu_3 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

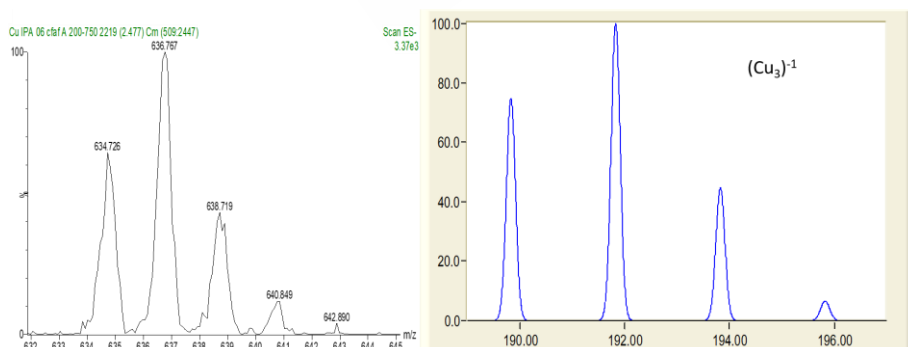


Figura 8-19 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Cu_3 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

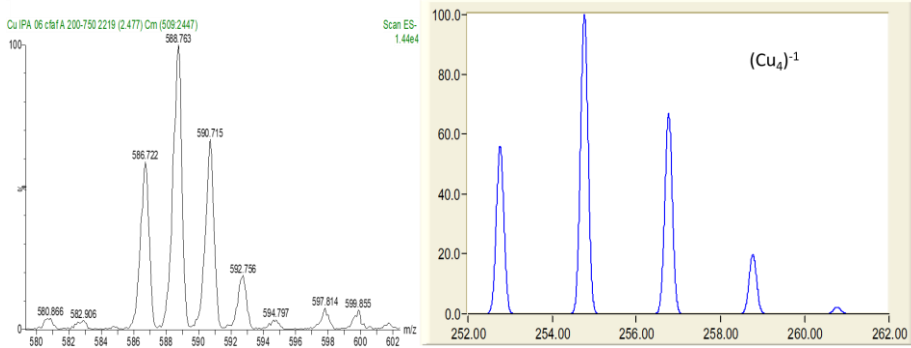


Figura 8-20 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Cu_4 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

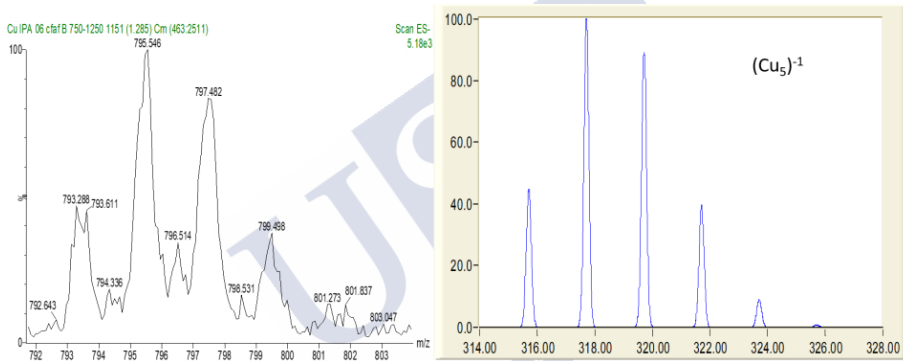


Figura 8-21 Espectro de masas ESI negativo de clústeres de Cu_5 , sintetizados fotoquímicamente: Experimental (izq) y Teórico (der)

8.3 Valores de β para el modelo de la gota líquida

Tabla 2 Valores de β para el modelo de la gota líquida según K. K. Nanda, S. N. Sahu, and S. N. Behera, "Liquid-drop model for the size-dependent melting of low-dimensional systems", Phys. Review A 66, 013208 (2002)

Elements	γ (mJ/m ²) Ref. [28]	T_{mb} (K)	γ/T_{mb} (mJ/m K)	Atomic volume per mole (cm ³)	β (nm)	β (nm) Ref. [14]
Na	223	371	0.601	23.78	1.487	0.73, 2.05
Mg	679	922	0.7364	14.0	1.1211	0.9, 1.54
Al	1032	933.25	1.106	10.0	1.2	1.14
Si	1038	1685	0.616	12.06	0.8454	1.88
Sc	954	1812	0.5265	15.00	0.8573	1.04
V	2280	2175	1.0483	8.32	0.944	1.05, 1.36
Cr	2031	2130	0.953	7.23	0.744	1.05
Mn	1297	1517	0.855	7.35	0.672	
Fe	2206	1809	1.219 46	7.09	0.942 32	1.09
Co	2197	1768	1.242 65	6.67	0.9	1.0
Ni	2104	1726	1.219	6.59	0.87	1.10
Cu	1592	1357.6	1.172 66	7.11	0.9	1.02
Zn	895	692.73	1.292	9.16	1.284	1.06
Ga	794	302.9	2.6213	11.80	3.36	1.07, 2.78
Ge	870	1210.4	0.719	13.63	1.06	2.3, 3.33
Y	871	1782	0.4888	19.88	1.055	1.42
Nb	2314	2740	0.8445	10.83	0.9921	1.43
Mo	2546	2890	0.881	9.38	0.9	0.99, 1.58
Ru	2591	2523	1.027	8.17	0.91	1.01
Rh	2392	2236	1.07	8.28	1.0377	1.13
Pd	1808	1825	0.9907	8.56	0.9517	0.88, 1.43
Ag	1065	1234	0.863	10.27	0.965 64	1.27
Cd	697	594.18	1.173	13.0	1.655	1.07
In	638	429.76	1.484 55	15.76	2.65	1.95
Sn	654	505.06	1.295	16.29	2.2784	1.57
La	718	1193	0.601 84	22.39	1.463	1.64
Ce	706	1068	0.661	20.69	1.484 54	1.17
Pr	707	1208	0.5853	20.80	1.3215	2.03
Nd	687	1297	0.53	20.59	1.1846	1.54
Pm	680	1441	0.472	20.23	1.0365	
Sm	431	1345	0.32	19.98	0.694	0.86
Eu	264	1099	0.24	28.97	0.755	0.95
Gd	664	1585	0.42	19.90	0.9073	1.36
Tb	669	1629	0.4107	19.3	0.86	1.41
Dy	648	1680	0.3857	19.01	0.796	0.98
Ho	650	1734	0.275	18.74	0.763	0.91
Er	630	1770	0.356	18.46	0.7134	0.97
Yb	320	1097	0.2917	24.84	0.7865	1.09
Lu	940	1925	0.4883	17.78	0.942 43	1.23
Ta	2595	3287	0.7895	10.85	0.94	1.2
W	2753	3680	0.7481	9.47	0.772	1.1
Re	3100	3453	0.8978	8.86	0.8635	0.99
Os	3055	3300	0.925 76	8.42	0.8453	1.07
Ir	2664	2716	0.981	8.52	0.908	1.08
Pt	2223	2045	1.087	9.09	1.07	0.89
Au	1363	1337.6	1.019	10.21	1.1281	0.92
Tl	547	577	0.948	17.22	1.7763	1.11
Pb	544	600.6	0.9058	18.26	1.7957	0.98
Bi	501	544.52	0.92	21.31	2.1273	0.86

8.4 Caracterización del CuO precipitado en la síntesis electroquímica

El precipitado obtenido en la síntesis se analizó estructural y morfológicamente. El estudio de las fases cristalinas se realizó mediante difracción de rayos X (XRD) en muestras de polvo con un difractómetro Philips PW1710 (fuente de radiación Cu $K\alpha$, $\lambda = 1.54186\text{\AA}$). Las mediciones se recogieron entre $5^\circ < 2\theta < 80^\circ$ con pasos de $0,02^\circ$ y 5 s/paso. Los espectros Raman (RS) se registraron a temperatura ambiente en un espectrómetro Renishaw inVia Reflex Raman con un láser de iones de argón refrigerado por aire Spectra Physics Solano 163M (longitud de onda de excitación de 514 nm y potencia incidente de 20 mW). La morfología y composición química de la muestra se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando un microscopio Zeiss FE-SEM ULTRA Plus (30 kV), equipado con un detector de espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (EDXS) para microanálisis químico. La muestra se depositó en una oblea de silicio de 10 mm x 10 mm.

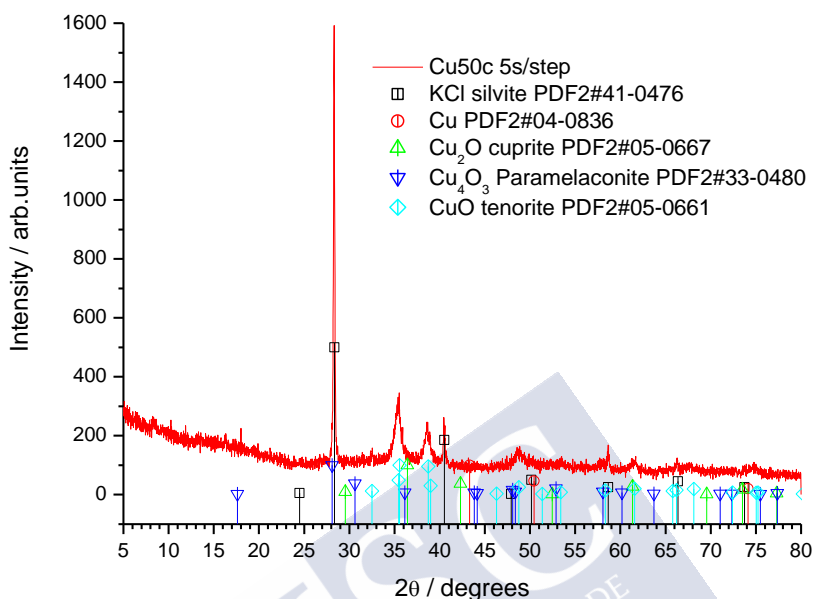


Figura 8-22 Patrón de difracción de rayos X en polvo del precipitado obtenido cuando se realiza la síntesis

La Figura 8-22 muestra el patrón de difracción de rayos X medido para este precipitado. Podemos observar la presencia de dos fases cristalinas principales: a) una relacionada con los tres picos estrechos a 28,36, 40,57 y 58,70° 2θ, que corresponde al cloruro de potasio (KCl, silvita), que coincide con el patrón JPCDS n° 41-0476; y b) otra fase relacionada con los picos más anchos y con menor intensidad del patrón. Esta segunda fase se identificó principalmente como óxido de cobre (II) (CuO, tenorita), coincidente con el patrón JPCDS n° 05-0661. La presencia de KCl en la muestra podría estar relacionada con alguna fuga de la solución de KCl 3M del electrodo de referencia Ag / AgCl. No se observa evidencia de cobre metálico en el patrón de difracción y otros óxidos de cobre también parecen estar ausentes.

La Figura 8-23 representa el espectro Raman del precipitado. Podemos observar la presencia de tres picos Raman a 275, 324 y 609 cm^{-1} . Estos números de onda son similares a los reportados en la bibliografía para CuO ¹²⁴ y descartan la presencia de otros óxidos de cobre, como Cu_2O (tenorita) o Cu_3O_4 (paramelaconita) que muestran espectros Raman bastante diferentes¹²⁵. El primer pico Raman a 275 cm^{-1} se puede asignar al modo Raman A_g , mientras que los picos a 324 y 609 cm^{-1} se pueden asignar a los modos Raman B_g ¹²⁴⁻¹²⁶.

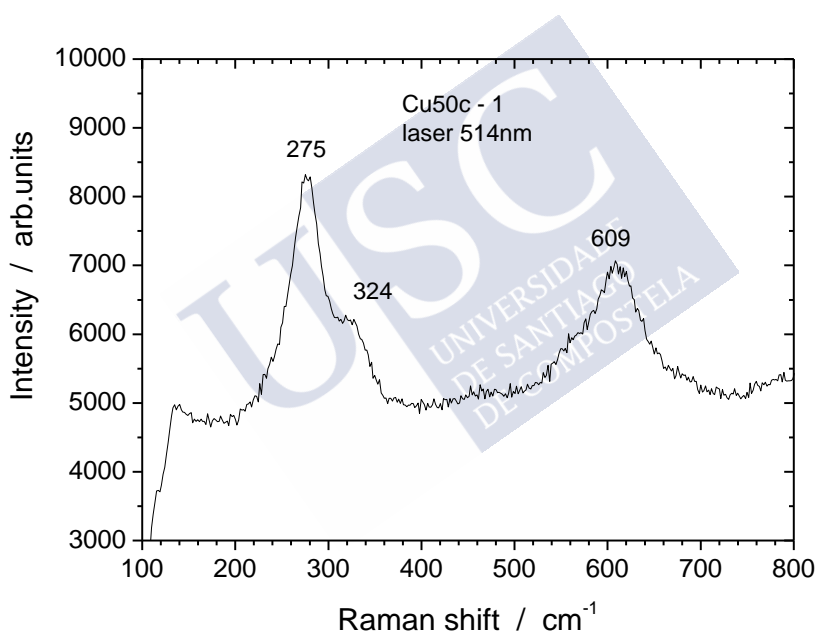
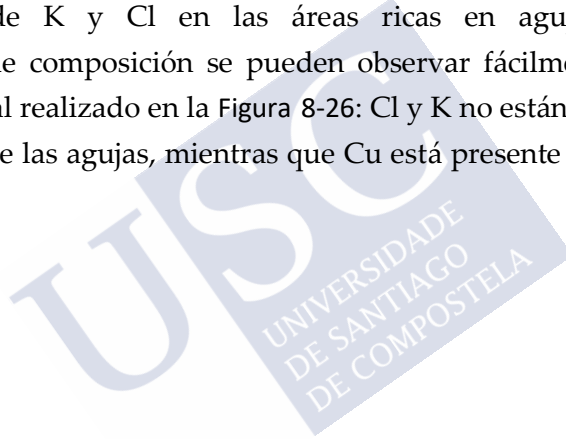


Figura 8-23 Espectro Raman del precipitado obtenido a temperatura ambiente con un láser de 514 nm de longitud de onda

Las micrografías electrónicas de barrido (Figura 8-24) muestran la presencia de dos materiales diferentes: partículas policristalinas alargadas junto con una masa de agujas ordenadas muy delgadas.

Para conocer la composición química de estas fases, se realizó un análisis en diferentes posiciones mediante espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (Figura 8-25a y c) y también un mapeo elemental a nivel microestructural (Figura 8-25b y d). A partir de estas mediciones se confirma que las partículas alargadas corresponden a óxido de cobre (II) (CuO) porque solo se observan Cu y O (el Si proviene del sustrato y C posiblemente provenga de una contaminación del sustrato). Además, las agujas están formadas por cloruro de potasio (KCl), como se puede observar por los porcentajes atómicos 1:1 de K y Cl en las áreas ricas en agujas. Estas características de composición se pueden observar fácilmente en el mapeo elemental realizado en la Figura 8-26: Cl y K no están presentes en áreas fuera de las agujas, mientras que Cu está presente en toda el área analizada.



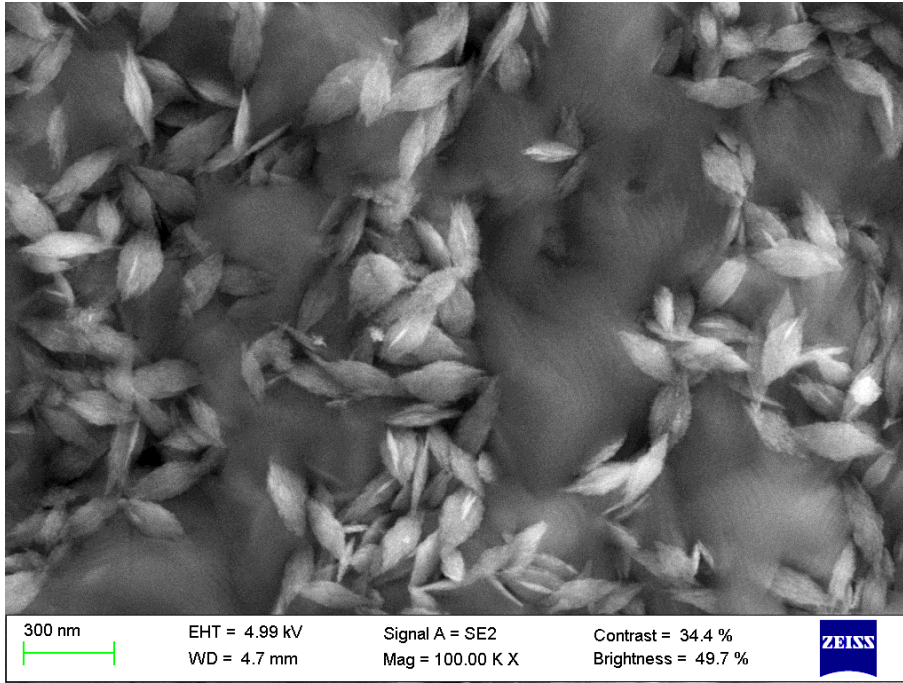
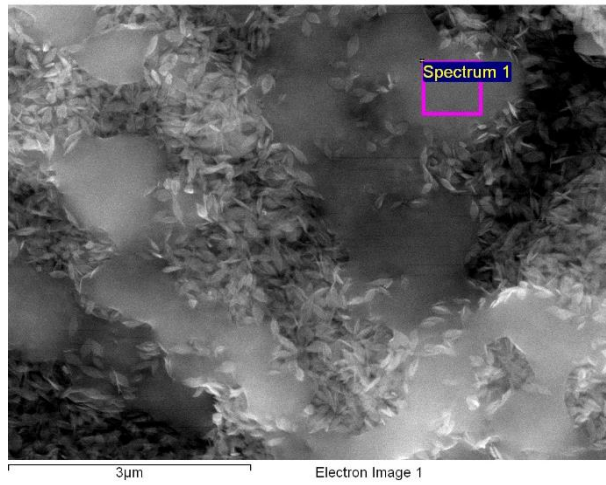
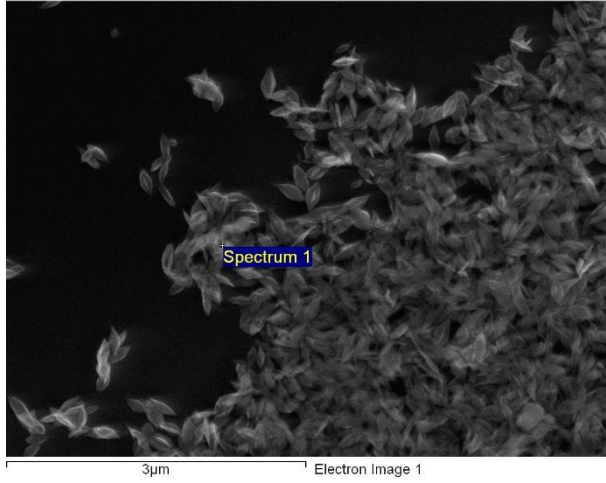


Figura 8-24 Microscopía electrónica de barrido del precipitado obtenido cuando se realiza la síntesis electroquímica de clústeres de Cu



Anexos

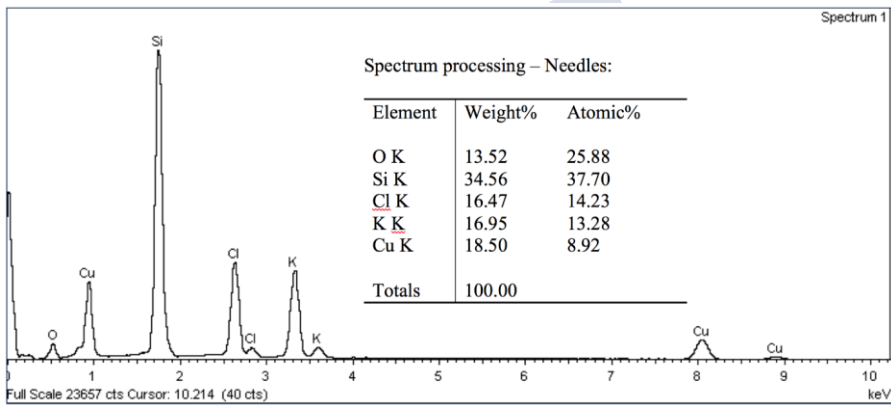
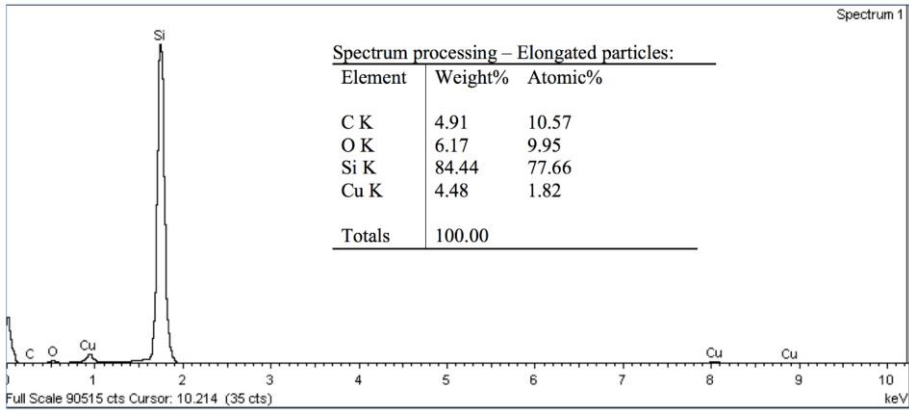


Figura 8-25 Caracterización composicional de la muestra mediante espectroscopía de rayos X de energía dispersiva en dos regiones diferentes: a) y c) partículas de CuO policristalino alargadas; b) y d) áreas formadas principalmente por una masa de agujas de KCl.

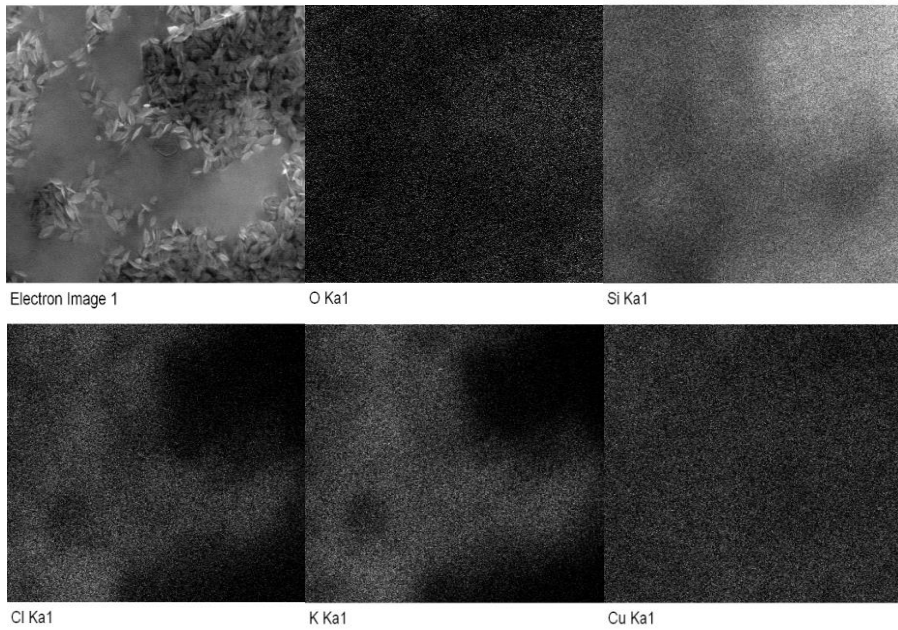


Figura 8-26 Mapeo elemental de la muestra usando EDXS en el SEM. Se puede ver claramente dónde está presente la contaminación de KCl y un fondo de nanopartículas policristalinas de CuO alargadas.





Agradecimientos

Esta tesis no es el trabajo de una única persona, realizar una tesis doctoral sin ningún tipo de apoyo debe ser una tarea complicada, pero por suerte ese no es mi caso, y tengo mucho que agradecer a mucha gente, espero que no se me quede nadie en el tintero.

En primer lugar, dar las gracias a Arturo, porque como científico es un modelo a seguir, por su gran entusiasmo y bondad que se contagia al resto del laboratorio y por hacer que nos emocionemos con cada pequeño avance, porque da igual lo atascado que esté uno en un experimento, él siempre tiene la solución y sobre todo por creer en mí y darme la oportunidad de pertenecer a este magnífico grupo de investigación que es ya casi como una familia más.

A Carlos, porque no estaría aquí sin él, porque yo entré un día a preguntar qué era eso de los clústeres y el AFM, y salí a las dos horas sabiendo, más o menos, lo que iba a hacer durante los próximos años. Porque siempre tiene tiempo y paciencia para todo el mundo y esa palabra de ánimo cuando la acabas de cagar estrepitosamente en algo. No se puede pedir un director de tesis mejor.

A David, porque es parte fundamental de la realización de la tesis, y aunque no me dejen ponerlo legalmente como tercer director, moralmente el puesto no se lo quita nadie. Muchas gracias por toda la ayuda prestada, por ponerme a hacer cosas de las que no tenía ni idea y por interesarte porque este trabajo saliese bien. Y sobre todo por las cañas y las charlas en el coie, en la zona vieja, en el avante, etc. y por tu amistad, que espero que dure muchos años más. ¡Un besín!

A Maricarmen Blanco, por recordarme a veces las bases de la electroquímica y porque siempre tiene una buena palabra y ganas de conversación.

A Puri, porque no sobreviviríamos a la burocracia sin ella, y nos soluciona los problemas en vez de tirarnos piedras a la cabeza que sería lo normal

A Paula Calvete, porque apenas hemos colaborado juntos en proyectos de investigación, pero las horas juntos, las de café, charla y diversión, darían para otro libro. Porque si tienes a Pau en el laboratorio y te sientes como en casa todo se hace más llevadero... y si no, pues cogemos el coche y a otra cosa. Ay, a la de conciertos que hemos ido, ¡madre mía! Espero que en el futuro sigamos haciendo cosas juntos, un besazo Pau!

A Ángel, que empezamos juntos el doctorado y aquí estamos acabándolo, con lo que nos ha costado. Gracias por el apoyo, sobre todo el informático.

A Sahane Huseynova, la pequeña azerbaijaní, jefa de electroquímica que nos ha enseñado a sintetizar a sus pequeñines, sin los cuales no habría ni tesis ni trabajo. Gracias Sahi, espero seguir luchando contra la burocracia a tu lado muchos años más!!

A Blanca que transmite paz allá donde va, que nunca se estresa y una de las mejoras compañeras de laboratorio que he tenido al trabajar codo con codo.

A Iria y Dario, que tengo que admitir que al principio de todo los hubiera matado a los dos, pero he aprendido a cogerles bastante

cariño, me han enseñado cosas y son una parte importante de este laboratorio, ¡gracias muchachos!

A Mónica y Nerea, que, aunque están empezando han hecho más llevadero este último año por sus bromas sus comentarios y su carácter y me han echado un cable con lo que han podido, ¡gracias chicas!

De la otra parte del grupo, de magnetismo, dar las gracias a Pepe Rivas, a Zulema y a Yolanda, por la convivencia dentro del grupo pese a que seamos de campos diferentes. A Pepe por todas sus anécdotas, a Zulema por su punto de vista diferente y sus expresiones mejicanas que tanta gracia me hacen y a Yolanda por aquellos cafés al inicio de la tesis donde los comienzos eran difíciles.

Dar las gracias también a la gente de Coruña, donde empecé a aprender a ser químico: A Adri, Santi y Ana, Katia, Sabela, Juanma y Lore, Emi y Jorge, que me ayudaron también a ser mejor persona, no sé qué haría sin vosotros.!

A la gente de Santiago, por haberme acogido tan bien cuando llegué en el máster y por las charlas psicológicas de como afrontar un doctorado: A Patri, Paula Munín y José, Paula Polo, Adolfo, Fran y Julio. También a Victor, Eva, Miri, Noelia y Diogo, Alba y Dani, David y Nana porque no todo ha sido hablar de química. ¡Muchas gracias a todos!

A Efrén y Ana, que son ya de la familia, con los que llevo lo que a mí me parece una eternidad que espero que siga otra eternidad más. ¡¡Os quiero chicos!!

Y hablando de familia, agradecerle todo esto a ellos.

A mi madre, que siempre me animó a estudiar y a hacer lo que más me gustase y que me lo ha dado todo, sin la que no estaría aquí. A mi padre, que nunca me puso problemas por seguir mi camino y me permitió tomar mis propias decisiones aún a riesgo de equivocarme.

A Dani, que por muy mal que esté todo nos tenemos el uno al otro para charlar e intentar solucionar el mundo, que me entiende, aunque no haya dicho nada y al que le debo más de lo que él piensa. ¡Has sido y serás un gran apoyo bro!

A mi abuela, porque es mi abuela y punto. Y porque está orgullosa y me apoya en lo que haga, aunque no entienda lo que haga. ¡Muchas gracias!

A Fátima, mi mujer, por estos maravillosos 5 años de tesis, porque me hace ser mejor, porque me entiende y a su lado los problemas no parecen problemas y sé que juntos podemos con todo. Nos ha ido bien la tesis, y sé que el postdoc y lo que venga será épico, porque estaremos juntos. ¡Te quiero cariño!