TESIS DE DOCTORADO

# ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES CATALÍTICAS DE CLÚSTERES CUÁNTICOS ATÓMICOS

Iria Rodríguez Arias

**ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA**

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2021

# DECLARACIÓN DE LA AUTORA DE LA TESIS

**Estudio de las Propiedades Catalíticas de Clústeres Cuánticos Atómicos**

Dña. Iria Rodríguez Arias

*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) *Confirmo 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, 15 de Enero de 2021*

Fdo. Iria Rodríguez Arias

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

## AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR/TUTOR DE LA TESIS

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

En condición de: **Tutor/a y director/a**

Título de la tesis: **Estudio de las Propiedades Catalíticas de Clústeres Cuánticos Atómicos**

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por Dña Iria Rodríguez Arias, bajo nuestra dirección y tutorización, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como directores/tutores de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

En Santiago de Compostela, 15 de enero de 2021

Fdo. Manuel Arturo López Quintela

Fdo. David Buceta Fernández

*"Un científico en su laboratorio no es simplemente un técnico: es también un niño enfrentándose a fenómenos naturales que lo impresionan como si fueran cuentos de hadas"*

*Marie Curie*

*"A scientist in his laboratory is not a mere technician: he is also a child confronting natural phenomena that impress him as though they were fairy tales."*

*Marie Curie*

*A mi Madre,*

*a mis Hermanos*

*y a mis Abuelos*

# Contenido

**Abreviaturas** ..... **15**

**Resumen** ..... **17**

**Resumo** ..... **18**

**Abstract** ..... **19**

**Objetivos** ..... **21**

**I. Introducción** ..... **25**

1. ¿Qué son los Clústeres Cuánticos Atómicos? ..... 29

2. Propiedades ópticas de los AQCs ..... 39

3. Propiedades catalíticas de los AQCs ..... 43

4. Propiedades y aplicaciones biomédicas ..... 49

**II. $Ag_5$-AQCs como catalizadores antirradicalarios** ..... **53**

1. Introducción ..... 55

2. Materiales y métodos ..... 58

3. $Ag_5$-AQCs como catalizadores antirradicalarios ..... 59

4. Conclusiones ..... 78

**III. Epoxidación de Estireno** ..... **81**

1. Introducción ..... 83

2. Materiales y métodos ..... 88

3. Epoxidación de Estireno con $H_2O_2$ catalizada por $Ag_5$-AQCs ..... 91

5. Conclusiones..... 99

**IV. Oxidación Catalítica de compuestos de Azufre..... 101**

1. Introducción ..... 103

2. Materiales y métodos..... 108

3. Oxidación de compuestos biológicos que contienen Azufre..... 111

a. Oxidación de la Cisteína..... 111

b. Oxidación del Glutatión ..... 129

4. Actividad catalítica de los clústeres frente a derivados del petróleo ..... 137

a. Oxidación del Tiofenol ..... 138

b. Oxidación del Dibenzotiofeno..... 151

5. Discusión..... 161

6. Conclusiones ..... 164

**V. Catálisis Heterogénea de Reacciones en Fase Gaseosa ..... 167**

1. Introducción ..... 169

2. Materiales y métodos..... 169

3. Oxidación CO ..... 176

4. Hidrogenación de propeno ..... 181

5. Hidrogenación $CO_2$ ..... 191

6. Conclusiones ..... 203

**VI. Obtención y caracterización de Clústeres Cuánticos de 5 Átomos .....205**

1. Métodos de obtención de AQCs ..... 207

a. *Top-down* ..... 208

b. *Bottom-up* ..... 211

2. $Ag_5$-AQCs obtenidos por métodos electroquímicos ..... 218

3. $Ag_5$-AQCs obtenidos fotoquímicamente ..... 229

4. $Cu_5$-AQCs ..... 230

5. Utilización de los AQCs como catalizadores heterogéneos ..... 232

a. Métodos de deposición ..... 232

b. Cálculo del *loading* ..... 235

**Conclusiones Generales ..... 237**

1. Conclusiones ..... 239

2. Conclusions ..... 245

**Referencias Bibliográficas ..... 249**

**Anexos ..... 271**

Anexo 1. Técnicas de caracterización ..... 273

a. Espectroscopía de Absorción UV-Vis ..... 273

b. Espectroscopía de Fluorescencia UV-Vis ..... 277

c. Espectroscopías de Rayos X ..... 280

d. Cromatografía de Gases ..... 285

e. Resonancia Magnética Nuclear ..... 292

Anexo 2. Espectrometría de Masas para la Síntesis Electroquímica de $Ag_5$-AQCs 301

Anexo 3. Caracterización de Muestra $Ag_3$-AQCs ..... 307

Anexo 4. Comparación de las constantes cinéticas del proceso de reducción del DPPH• por metanol catalizado por $Ag_5$-AQCs con otros antioxidantes de la bibliografía. ..... 309

Anexo 5. Cálculos DFT para la completa oxidación de azufres catalizada por $Ag_5$-AQCs ($S^{-2} \rightarrow S^{+6}$) ..... 311

Anexo 6. Resultados de la hidrogenación de $CO_2$ catalizada por $Ni/SiO_2$-$Al_2O_3$ ..... 315

**Agradecimientos ..... 317**

# Abreviaturas

| | |
|---|---|
| [X] | Concentración de la especie X |
| **λ** | Longitud de Onda |
| **ABS** | Acrilonitrilo-Butadieno-Estireno |
| **ADN** | Ácido Desoxirribonucleico |
| **AFM** | Microscopía de Fuerzas Atómicas |
| **$Ag_N$-AQCs** | Clústeres Cuánticos Atómicos de Plata de N átomos |
| **AQCs** | Clústeres Cuánticos Atómicos |
| **C** | Carbón activo |
| **$^{13}$C-RMN** | Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 |
| **$Cu_N$-AQCs** | Clústeres Cuánticos Atómicos de Cobre de N átomos |
| **Cys** | Cisteína |
| **DBT** | Dibenzotiofeno |
| **DFT** | Teoría del Funcional de Densidad |
| **DPPH ó DPPH •** | Radical 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo |
| **$DPPH^-$** | Anión 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo |
| **$E_F$** | Energía del Nivel de Fermi |
| **$E_g$** | Energía del *Band Gap* |
| **FID** | Detector de Ionización de Llama |
| **GC** | Cromatografía de Gases o Cromatógrafo de Gases |
| **Glu** | Glutatión |
| **HDS** | Hidrodesulfuración |
| **HMBC** | Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Correlación Heteronuclear de Cuanto Múltiple |
| **HOMO** | Orbital Molecular Ocupado de más Alta Energía |
| **$^1$H-RMN** | Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Protón |
| **HSQC** | Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Correlación Heteronuclear de un Único Cuanto |

| | |
|---|---|
| **ICP-MS** | Espectrometría de masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo |
| **ICP-OES** | Espectroscopía de Emisión Óptica con Plasma de Acoplamiento Inductivo |
| **ISE** | Electrodo Selectivo a Iones |
| **LUMO** | Orbital Molecular Desocupado de más Baja Energía |
| **MS** | Espectrometría de Masas |
| **N** | Número de Átomos |
| **NPs** | Nanopartículas |
| **ODS** | Desulfuración Oxidativa |
| **PI** | Poliisopropeno |
| **ppm** | Partes por Millón |
| **Ref** | Referencia |
| **RMN** | Resonancia Magnética Nuclear |
| **RNS** | Especies Reactivas de Nitrógeno |
| **ROS** | Especies Reactivas de Oxígeno |
| **RSS** | Especies Reactivas de Azufre |
| **RX** | Rayos X |
| **T** | Temperatura |
| **TCD** | Detector de Conductividad Térmica |
| **THF** | Tetrahidrofurano |
| **TOR** | *Turnover Rate* |
| **UV-Vis** | Ultravioleta Visible |
| **XAS** | Espectroscopia de Absorción de Rayos X |

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# Resumen

La presente tesis está enfocada a explorar el uso de clústeres cuánticos de 5 átomos como catalizadores en diferentes reacciones de gran interés social, ambiental e industrial, como son la búsqueda de combustibles renovables, eliminación de la contaminación, nuevos agentes anticancerígenos/antivirales, etc. Así, se trató de realizar una amplia exploración de propiedades catalíticas de estos clústeres, tanto en catálisis homogénea como heterogénea, en: procesos de eliminación de radicales libres, epoxidación de alquenos, eliminación de compuestos organosulfurados derivados del petróleo, oxidación de CO e hidrogenación de $CO_2$.

# Resumo

A presente tesis está enfocada a explorar o uso de clústeres cuánticos de 5 átomos como catalizadores en diferentes reaccións de gran interese social, ambiental e industrial, como son a búsqueda de combustibles renovables, eliminación da contaminación, novos axentes anticancerígenos/antivirais, etc. Así, tratouse de realizar unha ampla exploración de propiedades catalíticas destes clústeres, tanto en catálise homoxénea como heteroxénea, en: procesos de eliminación de radicais libres, epoxidación de alquenos, eliminación de compostos organosulfurados derivados do petróleo, oxidación de CO e hidroxenación de $CO_2$.

# Abstract

This PhD thesis is focused on exploring the use of quantum clusters of 5 atoms as catalysts in different reactions of great social, environmental, and industrial interest, such as the search for renewable fuels, the elimination of contaminants, new anticancer/antiviral agents, etc. Thus, here we tried to do a wide exploration of the catalytic properties of these clusters in both, homogeneous and heterogeneous catalysis, in different process of interest, such as: the elimination of free radicals, the epoxidation of alkenes, the elimination of organosulfur compounds derived from petroleum, the oxidation of CO and the hydrogenation of $CO_2$.

# Objetivos



El objetivo principal de esta tesis doctoral es estudiar las posibilidades catalíticas de clústeres cuánticos atómicos. Para lo que se elegirán una serie de reacciones de diversa índole, pero que comúnmente, tienen un gran interés para las sociedades actuales. Todas ellas presentan una alta aplicabilidad en problemas que engloban desde el campo de la salud (como posibles agentes anticancerígenos o antivirales), hasta el ámbito ambiental, donde es importante buscar soluciones más eficientes para problemas como el calentamiento global, la contaminación, etc. Pasando por otros de alto interés industrial, como la protección contra la degradación de polímeros (industria alimentaria, industria de polímeros, industria farmacéutica, obras de arte…), la síntesis de compuestos de alto valor añadido a partir de precursores económicos, etc.

Dentro de este objetivo general, nos hemos centrado en los siguientes objetivos específicos:

1. Estudiar los clústeres cuánticos atómicos como facilitadores de la transferencia de electrones en la eliminación de radicales libres.
2. Evaluar la acción catalítica de los clústeres cuánticos atómicos de plata de 5 átomos en reacciones de epoxidación de alquenos.
3. Estudiar las reacciones de oxidación de azufres catalizadas por clústeres cuánticos atómicos, tanto de aquellos que presentan un origen biológico y son los reguladores del metabolismo celular, como de aquellos compuestos organosulfurados que están presentes en el petróleo y que es preciso eliminar para su uso como combustibles.

4. Investigar la forma de depositar adecuadamente los clústeres cuánticos atómicos en diferentes soportes para utilizarlos en catálisis heterogéneas.
5. Explorar la aplicación de los clústeres cuánticos atómicos como catalizadores heterogéneos en la oxidación de CO y las hidrogenaciones de propeno y $CO_2$.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# I. Introducción



En esta tesis doctoral vamos a adentrarnos en el mundo subnanométrico, regido por las leyes cuánticas, para tratar de descubrir las sorprendentes propiedades que muchas veces presentan los clústeres cuánticos atómicos (AQCs).

En numerosas ocasiones se engloba estos nuevos materiales, AQCs, dentro de la amplia disciplina denominada nanotecnología, que como su propio nombre indica es la ciencia de los materiales nanométricos, es decir, de los materiales que presentan tamaños del orden de $10^{-9}$ m.

En el caso de los clústeres cuánticos atómicos, que estudiaremos en esta tesis doctoral, los materiales se sitúan en el extremo inferior de la nanotecnología, entendiendo que se puede aplicar perfectamente en este caso lo que un día acuñó Richard Feynman, premio Nobel de física en 1965, en su famoso discurso pronunciado en el encuentro anual de la American Physical Society, el 29 de Diciembre de 1959[1]: "*There is plenty of room at the bottom*". 60 años más tarde de ese acontecimiento, trataremos en la presente tesis de seguir en ese empeño de descubrir algo más de lo mucho que hay "ahí abajo".

A mediados del siglo pasado la comunidad científica se revolucionaba con la llegada de los nanomateriales. Hacía falta esperar a ese momento para darnos cuenta de que los nanomateriales llevaban ya entre nosotros -aunque sin saberlo- mucho tiempo. Parece ser que ya en el siglo V a.c., los egipcios[2], fueron los primeros en sintetizar y utilizar nanopartículas[3] tanto en sus pociones curativas, como en la fabricación de cerámicas, porcelanas y cristal. También lo hicieron los míticos "alquimistas" árabes, quienes utilizaban una disolución de nanopartículas de oro en su famoso elixir de la

juventud. Pero quizás el ejemplo más conocido de esta índole sea la *Lycurgus cup*, de la época romana, que aún hoy puede ser admirada en el *British Museum* de Londres[4]. El comienzo de la era nanotecnológica nos permitió descubrir que las bandas plasmónicas de Au, Cu o Ag eran las que les proporcionaba el color a las cerámicas, vidrios, etc. realizados sin ese conocimiento. Como todas las revoluciones tecnológicas, también la nanotecnología tuvo un momento clave para su aparición, que podemos cifrarlo la década de los 80, cuando un alemán y un suizo, Gerd Binning y Heinrich Röhrer, revolucionaron el mundo de la microscopía con la invención del microscopio de efecto túnel (STM)[5], lo que les llevó hacia el Nobel en 1986. Esta técnica permite visualizar átomos como entidades independientes, uno por uno. Ahora, que se tenían ojos capaces de "ver", e incluso herramientas capaces de manipular la materia a nivel atómico, es cuando se acuña lo que se conocerá como los nanomateriales, aunque antes de eso Faraday hizo uso del término por primera vez, allá por el año1857[6].

Podemos decir que, a principios de este siglo, esa revolución nanotecnológica llevó de forma natural a centrarse en la parte más pequeña de la misma, con el estudio de materiales cuyo tamaño se encuentra por debajo del nanómetro y que están formados por unos pocos átomos, los **clústeres cuánticos atómicos,** también conocidos como clústeres cuánticos subnanométricos.

## 1. ¿Qué son los Clústeres Cuánticos Atómicos?

Un clúster cuántico atómico y, más concretamente, un clúster de un metal consiste en un grupo de átomos de ese metal (menos ≈150 átomos, es decir, con tamaños menores a ≈1-2 nm) con estado de oxidación (0) y que presenta una estructura electrónica bien definida y una, o muy pocas, estructuras geométricas estables.

Estos clústeres representan los componentes más elementales en la naturaleza, después de los átomos, y se caracterizan porque su tamaño es comparable a la longitud de onda de Fermi de un electrón (~ 0.52 nm para la plata y el oro). Debido a este reducido tamaño, presentan un fuerte confinamiento cuántico que los convierte en un puente entre los átomos y las nanopartículas. Dichos efectos cuánticos, son los responsables de la aparición de propiedades químicas, ópticas o electrónicas totalmente nuevas que no pueden predecirse por las leyes clásicas del escalado, tales como la aparición de magnetismo en metales no magnéticos, fotoluminiscencia o altas actividades catalíticas.

Estas nuevas propiedades mostradas por los clústeres cuánticos atómicos son debidas a la diferencia en las estructuras geométricas y electrónicas entre los AQCs y las nanopartículas. Tanto el metal masivo como las nanopartículas presentan un elevado número de átomos y cada uno de ellos contribuye al enlace con un orbital atómico, que por solapamiento, acaban formando bandas contínuas[7]. Estas bandas continuas tienen la característica de permitir la libre circulación de los electrones entre la banda formada por los niveles de energía ocupados (conocida como la banda de valencia) y la banda formada por los niveles de energía desocupados (banda de

conducción). Una propiedad directa de este hecho es que tanto los metales como sus correspondientes nanopartículas son materiales conductores.

Cuando el número de átomos se ve muy reducido, como ocurre en el caso de los clústeres cuánticos atómicos (entre 2-150 átomos), se produce una separación de los niveles electrónicos por confinamiento cuántico originando que las bandas continuas se transformen en niveles discretos de energía. Esa separación de niveles energéticos origina la aparición de un intervalo de energías prohibidas (*band gap*) que es mayor que la energía térmica (kT), y nos hace recordar al HOMO-LUMO molecular[8,9].

Y es, esta distribución de los niveles electrónicos tipo-molecular, la diferencia principal entre los AQCs y las nanopartículas, o el metal masivo, y la que provoca las grandes diferencias de comportamiento fisicoquímico (ver **Figura 1**).

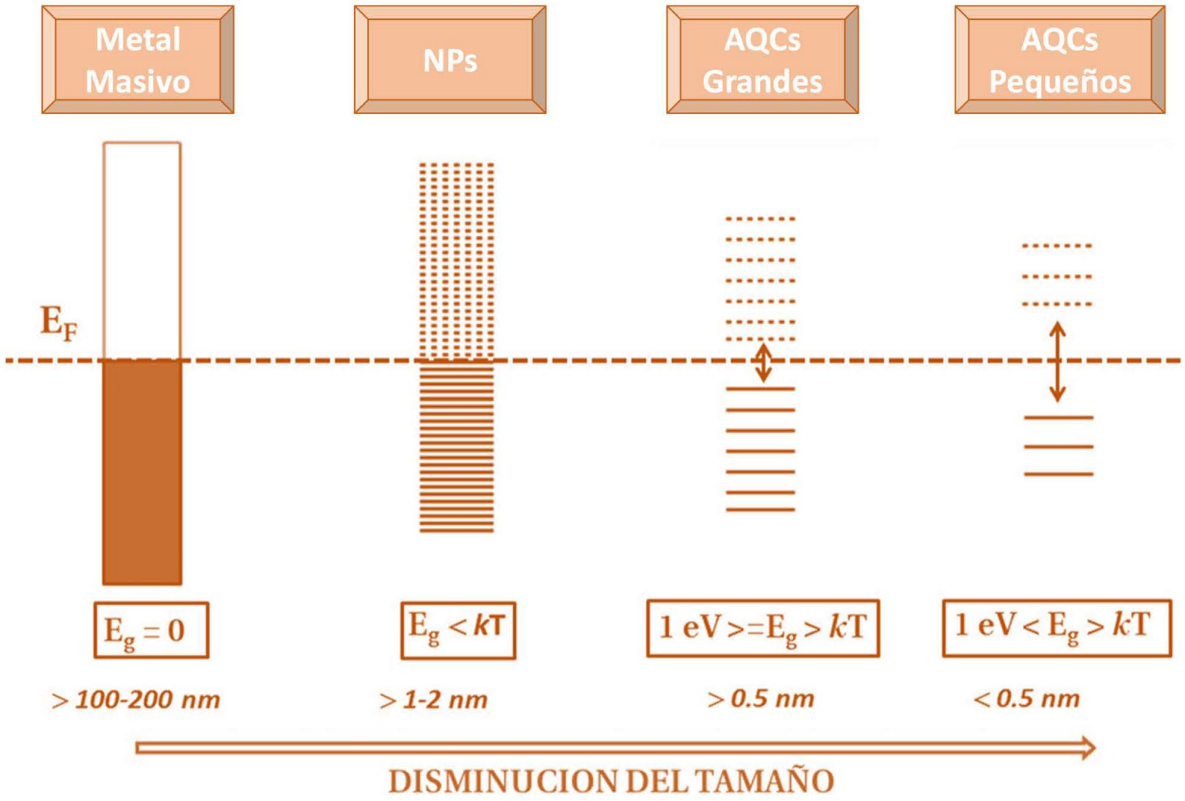



**Figura 1** Evolución de los niveles de energía electrónica y del *band gap* con el número de átomos de una partícula, desde el material masivo hasta los clústeres cuánticos de pequeño tamaño (imagen modificada de la ref. 10).

Tal y como nos muestra el esquema de los niveles electrónicos de la **Figura 1**, los clústeres cuánticos atómicos se pueden clasificar en dos grupos: AQCs grandes con tamaños mayores a ≈ 0.5 nm (desde ≈10-20 hasta ≈150 átomos) y AQCs pequeños con tamaños inferiores a ≈ 0.5 nm (entre 2 y ≈10-20 átomos). En ambos casos las energías del *HOMO-LUMO* gap son inversamente proporcionales al número de átomos del clúster. Así, podemos ver en la **Figura 1** que, para las nanopartículas metálicas la diferencia de energía entre sus niveles es muy inferior a kT (son conductoras), mientras que para los clústeres con tamaños entre ≈ 0.5 y ≈1-2 nm, la

diferencia de energía entre los niveles es mayor que kT y para los clústeres más pequeños (menores a ≈ 0.5 nm), que son el objeto de estudio de la presente tesis doctoral, la diferencia de energía entre los orbitales frontera HOMO y LUMO es superior a ≈ 1 eV.

Resulta muy difícil realizar cálculos *ab initio* de la estructura geométrica y electrónica de los clústeres, especialmente cuando son más grandes que solo unos pocos átomos y están estabilizados por algún ligando protector. Por ello, se han desarrollado métodos más sencillos como el modelo de *Jellium*[11]. Este modelo fue desarrollado en un principio para clústeres en fase gas y en él se sustituye el clúster por una esfera cargada positivamente rodeada de los electrones de valencia que se mueven en un potencial de campo medio. La aplicación de este modelo suele realizarse conjuntamente con cálculos DFT (Teoría del Funcional 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 ($1S_2$ | $1P_6$ | $1D_{10}$ | $2S_2$ $1F_{14}$ | $2P_6$ $1G_{18}$ |⋯) (ver **Figura 2**) .

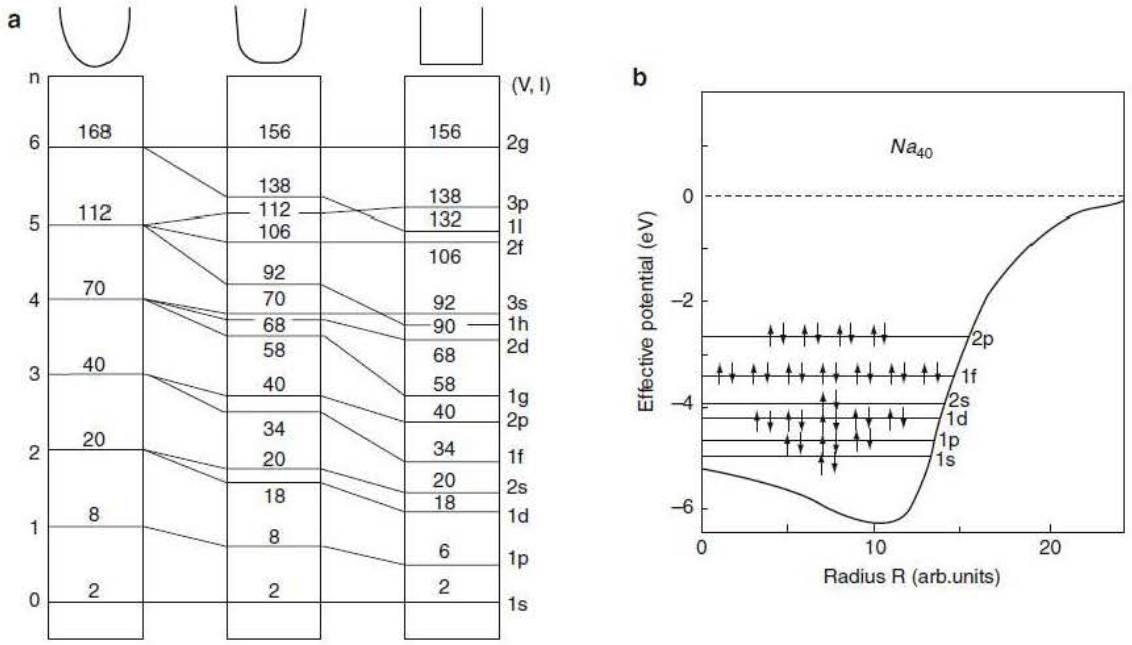



**Figura 2** (a) Ocupación de niveles de energía para esferas 3D, armónicos, intermedios y de pozo cuadrado. (b) Potencial efectivo de una esfera de *Jellium* correspondiente a $Na_{40}$, están representada la ocupación electrónica de los niveles energéticos[12].

La energía total del clúster se expresa como función de la densidad local electrónica y del potencial del fondo de carga positiva en función del tamaño del AQC. Además, la energía calculada por esta aproximación presenta ciertas discontinuidades en función del tamaño del clúster, correspondientes a estructuras electrónicas de capas cerradas. Estos mínimos de energía coinciden con los picos más abundantes que aparecen en los espectros de masas cuando se vaporiza el metal en vacío, que se pueden asociar con AQCs excepcionalmente estables de cierto número de átomos y presentes en mayor abundancia. Estos números son: 8, 18, 20, 34, 40, 58, 92, 138··· (para metales alcalinos o que aporten un electrón a la capa de valencia como la de la plata, el oro, etc.) y se conocen como "números mágicos".

El sencillo modelo del *Jellium* permite hacer una buena aproximación de muchas de las características fisicoquímicas de los clústeres. Este modelo permite relacionar la energía del *HOMO-LUMO gap* ($E_g$) con el número de átomos (N) que tiene el clúster y la energía del nivel de Fermi ($E_F$) del metal masivo del que esté formado el clúster (ecuación I.1).

$$E_g = \frac{E_F}{N^{1/3}} \qquad \text{(I.1)}$$

Por tanto, los clústeres ofrecen una forma sencilla para hacer "semiconductores" a la carta, simplemente variando, el metal (Ag o Cu, por ejemplo) y el número de átomos del clúster. En la **Figura 3** se representa una comparación esquemática de los *band gaps* (HOMO-LUMO *gaps*) para clústeres de Ag y Cu de diferentes tamaños, así como los correspondientes a algunos semiconductores tradicionales.

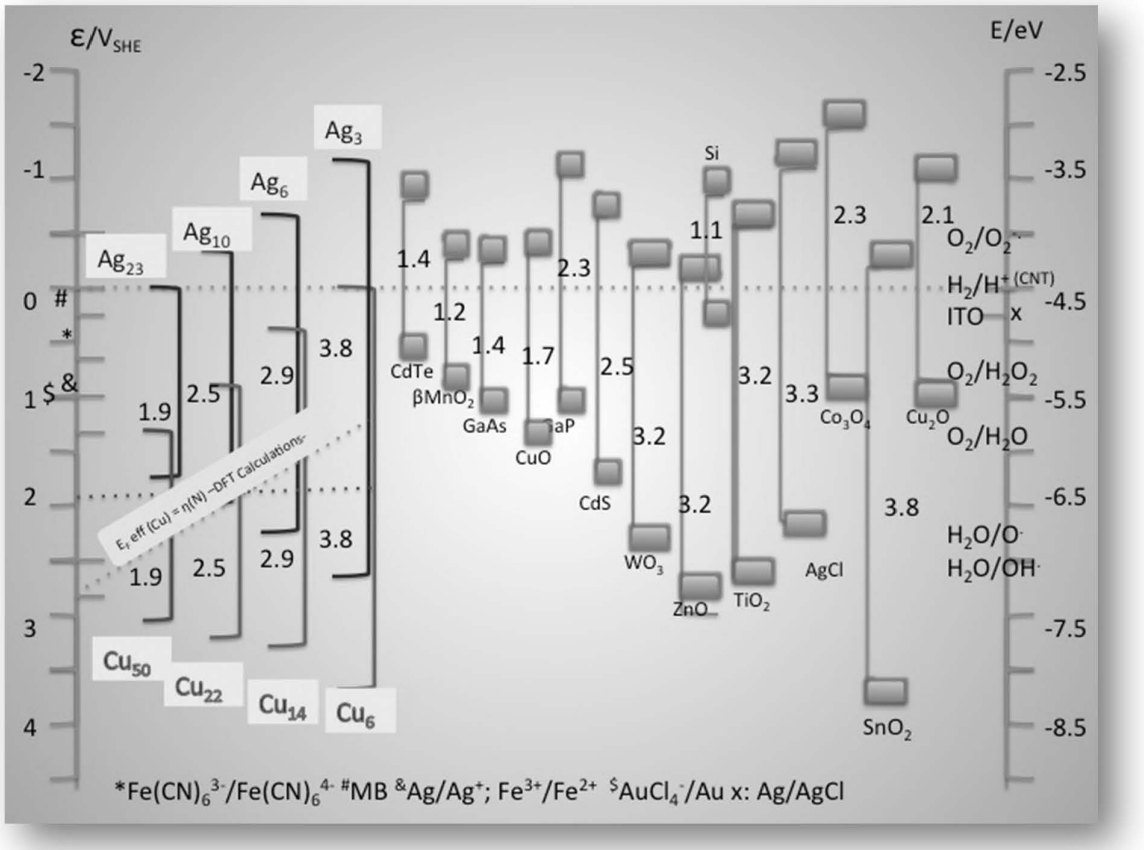



**Figura 3** Comparación esquemática de los *band gaps* (HOMO-LUMO gaps) de diferentes clústeres de Ag y Cu y aquellos que presentan ciertos semiconductores bien conocidos[12].

Todas las diferencias expuestas entre la estructura electrónica de los AQCs y las de las nanopartículas o del material masivo, hace que podamos imaginar una tabla periódica 3D que tenga en cuenta a estos nuevos materiales como el puente entre los átomos y el material masivo (ver **Figura 4**).

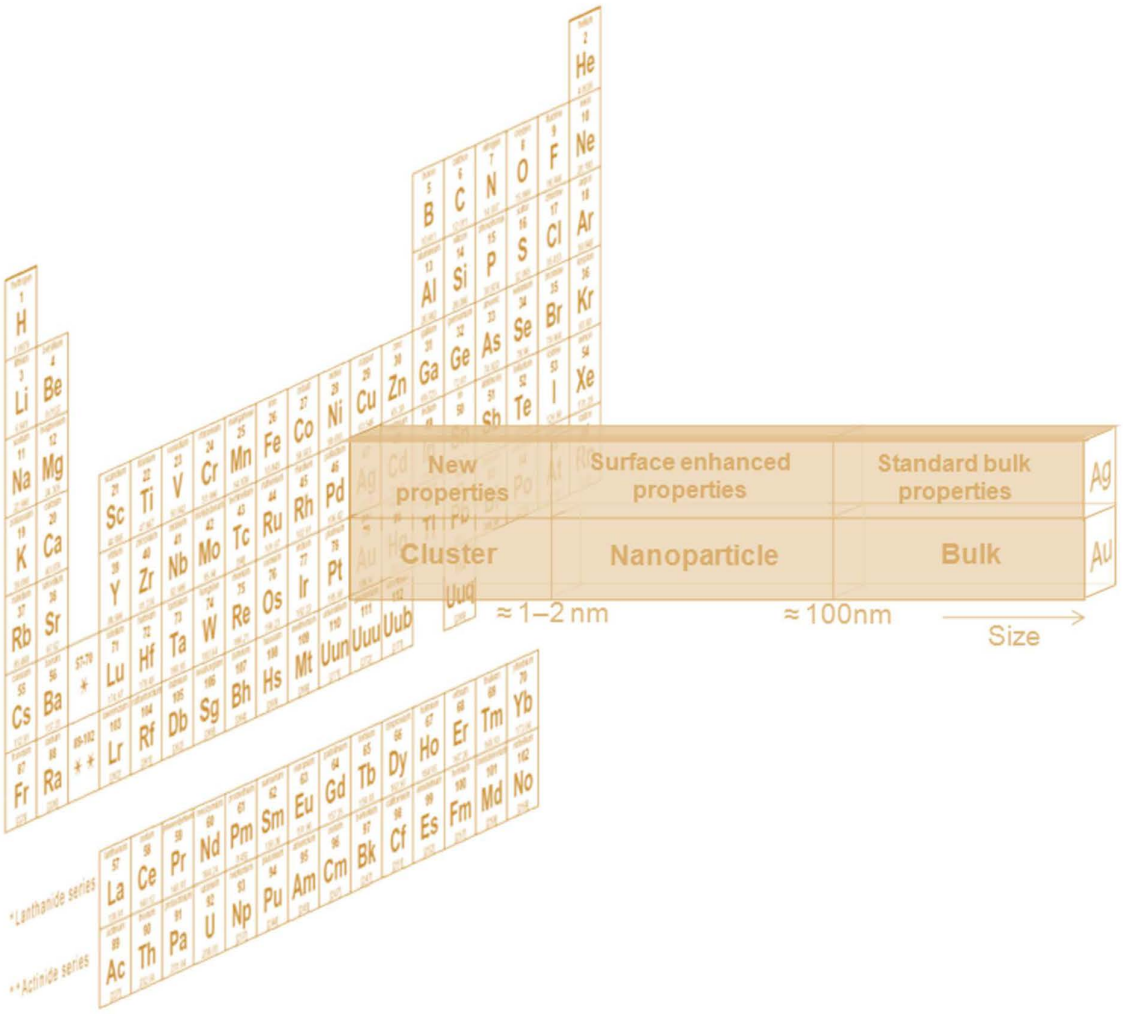



**Figura 4** Tabla periódica de los elementos 3D con la influencia del tamaño[12].

Otra característica singular de los clústeres -y que los acerca más a moléculas que a materiales nanoestructurados - es que presentan unas estructuras geométricas bien definidas que son altamente dependientes de su tamaño y del elemento que forma el AQC (al igual que ocurría con la estructura electrónica explicada anteriormente). Haciendo uso de cálculos teóricos con los que minimizar la energía electrónica con

respecto a la densidad electrónica, se puede llegar a las estructuras más estables para los distintos clústeres cuánticos atómicos en función del número de átomos y del metal que los forme. Como ejemplo, en la **Figura 5**, se muestran las estructuras geométricas más estables para clústeres de plata y, en la **Figura 6**, para clústeres de cobre.

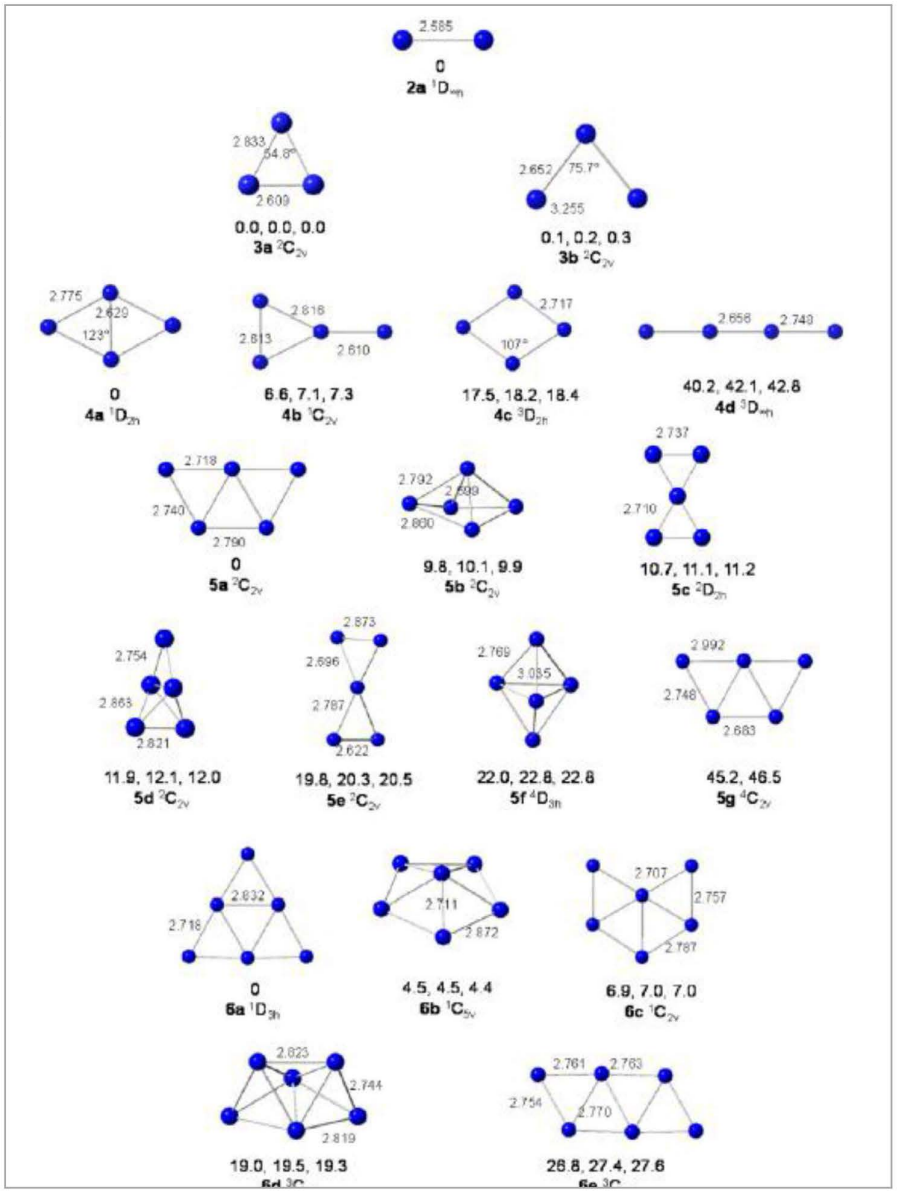



**Figura 5** Estructuras más estables para clústeres cuánticos atómicos de plata[13] de diferentes tamaños.

Cu

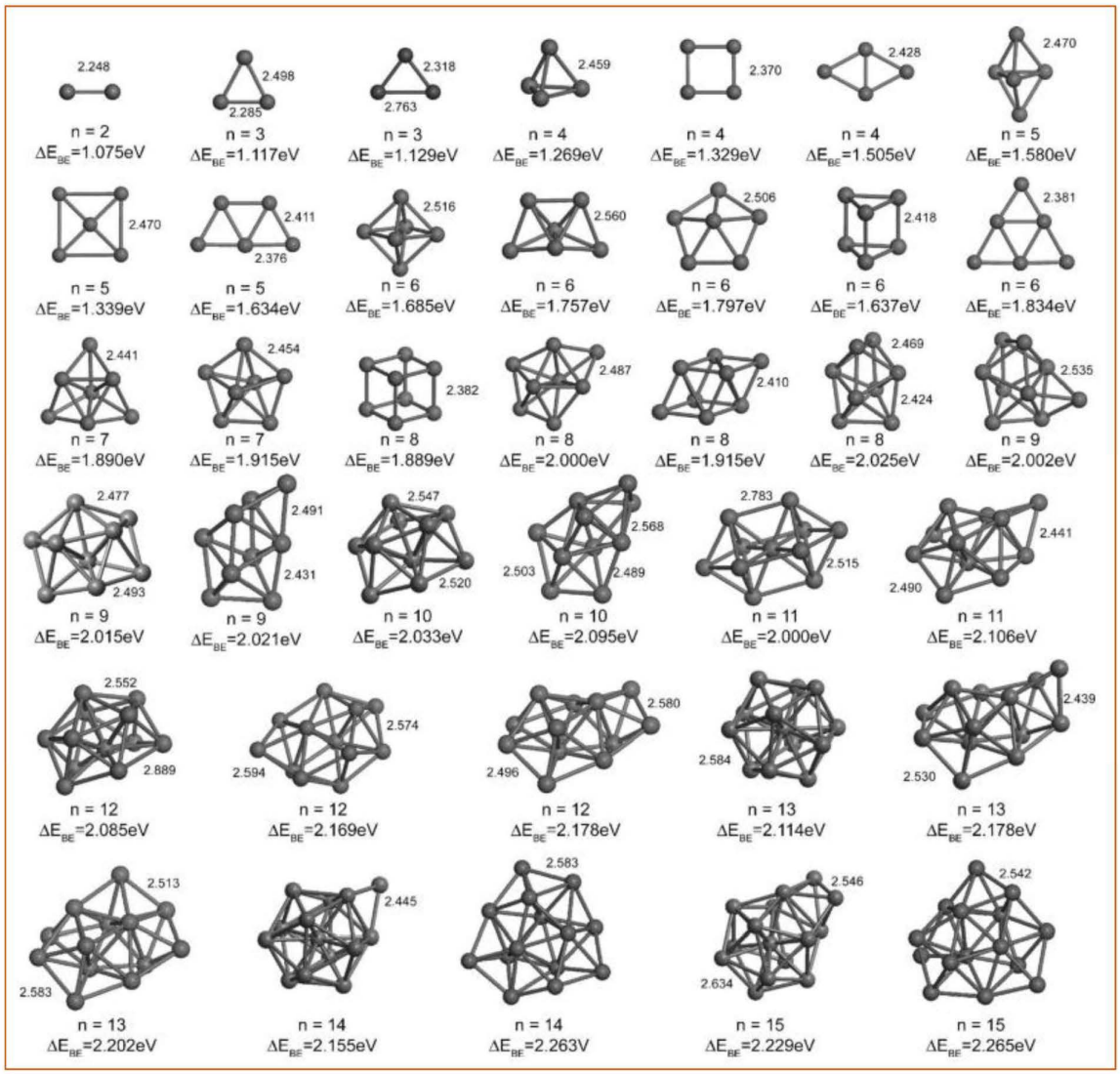



**Figura 6** Estructuras más estables para clústeres cuánticos atómicos de cobre[14] de diferentes tamaños.

## 2. Propiedades ópticas de los AQCs

Un ejemplo claro de la variación que los efectos cuánticos introducen en las propiedades de los clústeres respecto a las nanopartículas y el material masivo puede encontrarse en sus propiedades ópticas.

Por una parte, la absorción de luz por los materiales depende de los niveles de energía en los que se encuentren sus electrones (ver detalles en el Anexo 1a), por tanto, no es sorprendente que la interacción de la luz con los clústeres sea totalmente distinta a la que se produce en el caso de las nanopartículas o el material masivo. Si observamos, por ejemplo, el espectro de absorción de una nanopartícula de plata (**Figura 7 a**) podemos ver que presenta una banda de absorción (banda de absorción plasmónica superficial, SPB) que es debida a la interacción entre los electrones de conducción superficiales de la partícula y el campo eléctrico oscilante de la luz. Por el contrario, en el caso de los clústeres -tal como se explicó anteriormente- no hay libre movimiento de los electrones, si no que éstos se encuentran confinados, por tanto, no existe la banda plasmónica superficial como puede verse en los ejemplos de la **Figura 7**.

Además, debido a la diferencia en el *band gap* entre los distintos tamaños de AQCs, podemos ver que la interacción con la luz es también distinta en función del tamaño del AQC. Por un lado, los clústeres cuánticos grandes muestran, por lo general, un continuo aumento de la absorbancia, con pequeños hombros, a medida que decrece la longitud de onda, que es un perfil muy similar al presentado por semiconductores (**Figura 7 b**). Mientras que, por otra parte, los clústeres de pequeño tamaño

presentan bandas bien definidas, recordando al comportamiento de átomos y moléculas (**Figura 7 c**).

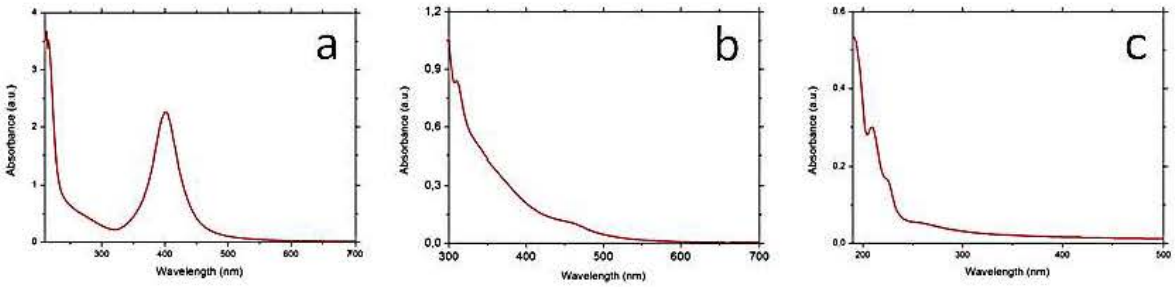



**Figura 7** Espectro de absorción de (a) Ag NP (b) clústeres cuánticos de plata de gran tamaño y (c) clústeres cuánticos de plata de pequeño tamaño [12].

La espectroscopía de absorción UV-Vis será, por tanto, una de las técnicas de caracterización más utilizadas en este trabajo, ya que permite la diferenciación de los clústeres por tamaños y, además, sirve como prueba de la existencia/inexistencia de nanopartículas en las muestras de AQCs.

Por su parte, los clústeres presentan luminiscencia (ver **Figura 8**), que no se observa en las nanopartículas o en el material masivo. Esta propiedad es una consecuencia directa de la cuantificación de la energía que ocurre cuando reducimos el tamaño por debajo del nanómetro. Con la aparición de una región de energías prohibidas (*band gap*) en la que se diferencia un HOMO y un LUMO puede ocurrir la transición de energía entre ambos niveles y una vez un fotón es absorbido y promociona un electrón del HOMO al LUMO, este electrón puede volver a su estado fundamental emitiendo un fotón que será aproximadamente de la misma energía que la diferencia

de energía de estos niveles (ver detalles de la espectroscopía de fluorescencia en el Anexo 1b).

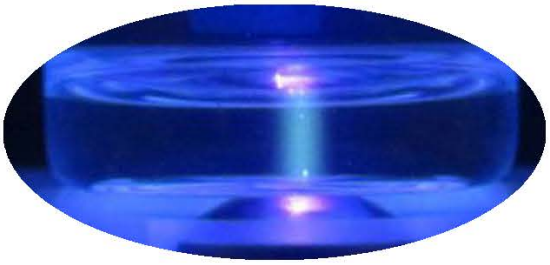


**Figura 8** Disolución de $Ag_5$-AQCs irradiada con un láser de luz UV emitiendo una luz azul-violeta.

Así, al igual que ocurría en el caso de la absorción de luz, la luminiscencia es altamente dependiente del número de átomos del clúster, puesto que ese número influye en el valor de su intervalo de energías prohibido. Por tanto, esta técnica nos proporcionará información sobre el tamaño del AQC ya que la energía del fotón emitido por él coincide prácticamente con el *band gap* (Eg) y, por tanto, mediante el modelo del *Jellium* explicado anteriormente (ver ecuación I.1), podemos conocer el número de átomos que forman dicho clúster. Podremos determinar así mismo la monodispersidad de la muestra ya que, cada tamaño del clúster, tendrá una banda de emisión característica (ver ejemplo en la **Figura 9**). Por supuesto, la fluorescencia también es dependiente del metal del que esté formado nuestro AQC y no tendrán los mismos máximos de emisión clústeres cuánticos atómicos de plata o cobre, aunque compartan el mismo número de átomos, ya que es diferente su nivel de Fermi.

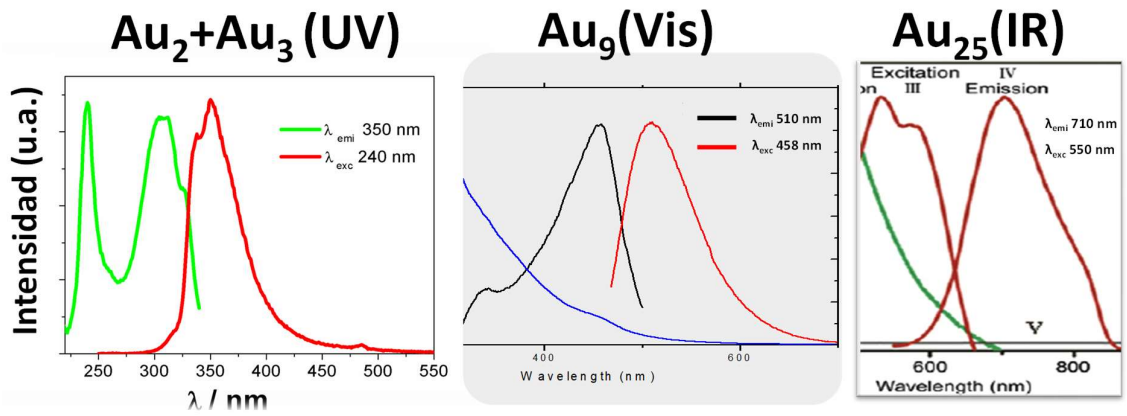



**Figura 9** Variación del espectro de fluorescencia (emisión y excitación) con el tamaño de AQCs de Au entre 2–3 átomos y 25 átomos. (imagen adaptada de la ref. 15)

Las propiedades ópticas que presentan los clústeres cuánticos atómicos pueden aplicarse para marcación biológica. Por ejemplo, AQCs de oro en agua se han estudiado como posibles marcadores fluorescentes en experimentos biológicos[16]. También se han conseguido sintetizar complejos de clústeres de oro, compuestos por la combinación de un AQC pequeño unido a uno más grande ($Au_6$-$Au_{16}$ y $Au_5$-$Au_{14}$)[17], en nanosomas con capacidad de exhibir luminiscencia de larga duración y producir grandes desplazamientos de Stokes (gracias a su capacidad de transferencia de carga entre los dos tipos de AQCs), resistentes al fotoblanqueo y con un rendimiento cuántico alrededor del 10-15 % , que permiten su aplicación como sensores en diferentes áreas como el biodiagnóstico con mejoras en imagen, sensibilidad, detección, terapias y monitorización de cambios estructurales en biomoléculas[18,19].

## 3. Propiedades catalíticas de los AQCs

La catálisis en general puede dividirse en dos grandes grupos: catálisis homogénea y heterogénea. En el primero, el catalizador y los reactivos de la reacción se encuentran en la misma fase, normalmente una disolución; por el contrario, en el segundo caso el catalizador, los reactivos y productos se encuentran en dos fases distintas y pueden ser separados con facilidad. En principio, los clústeres que estamos estudiando en esta tesis doctoral son aplicables a ambos tipos de catálisis y eso los convierte en materiales versátiles que pueden ser aplicados tanto en disolución como soportados.

A modo de ejemplo, podemos citar que clústeres subnanométricos de oro han mostrado poseer actividad catalítica en la oxidación aeróbica[20] del tiofenol. El estudio de la oxidación aeróbica de azufres es tremendamente importante para generar combustibles limpios y para aplicaciones biológicas que se desarrollará con mucho más detalle en el Capítulo IV de la presente tesis, donde veremos el estudio de distintos tipos de azufres y la posibilidad de la catálisis heterogénea para el uso de los AQCs en refinerías de petróleo.

Otro ejemplo de catálisis homogénea de clústeres es la mostrada por los AQCs de menos de 20 átomos de cobre en reacciones la reducción de azul de metileno a leucoazul de metileno[21], que supone una primera prueba para utilizarlos en la fotodegradación de materia orgánica y, por tanto, en superficies autolimpiantes, en purificación de aguas residuales, etc.

Clústeres de unos pocos átomos de plata se han utilizado para la formación de nanopartículas anisotrópicas[22] (nanocilindros) de oro, por la acción catalítica que presentan y gracias a su tendencia a situarse en las interfases. Una vez que los clústeres de plata están unidos a los nanocilindros de oro, puede foto-producirse hidrógeno[23] o la fotodisolución de los nanocilindros según las especies presentes en la disolución (ver esquema explicativo de la reacción en la **Figura 10**).

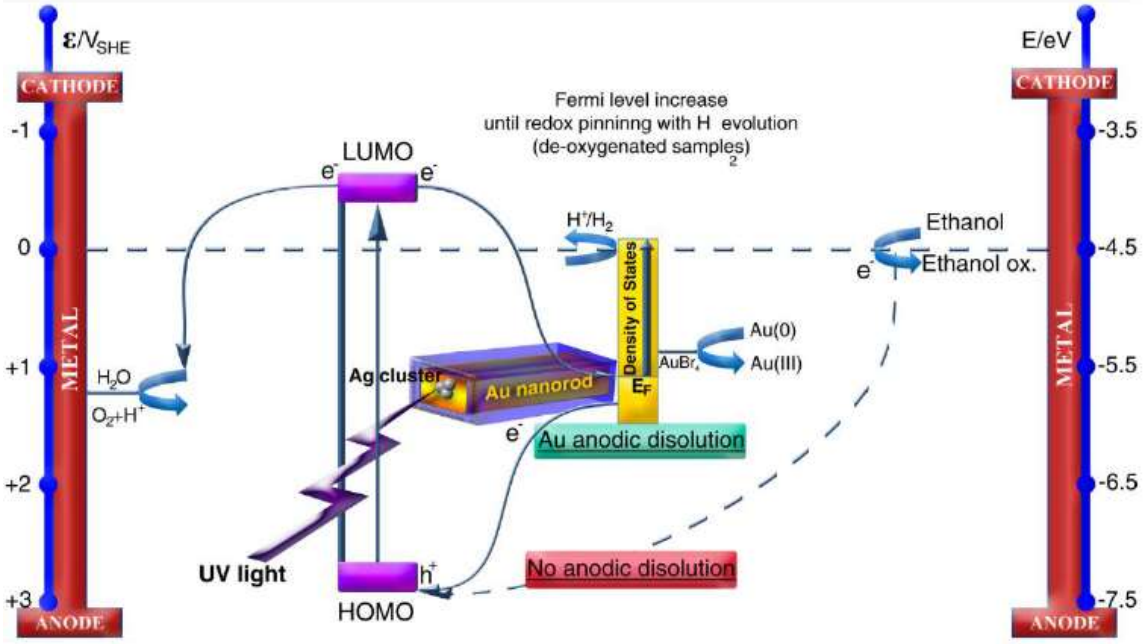



**Figura 10** Representación esquemática de fotodisolución de Nanocilindros de oro y producción de hidrógeno por Ag-AQCs[23].

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

En el campo de la electrocatálisis, que tiene numerosas aplicaciones de gran interés, se ha comprobado que los clústeres[24] subnanométricos presentan actividades diferentes de sus análogos de mayor tamaño[25]. También se ha visto que AQCs de plata[10], muestran actividad electrocatalítica para la oxidación de diferentes alcoholes en medio ácido, básico y neutro (ver **Figura 11**) y que se puede aplicar a los sistemas vivos como se explicará en el siguiente apartado (ver sección 4 del presente capítulo).

Otro ejemplo de la aplicación de clústeres en electrocatálisis es el uso de AQCs de Pd[26] de pequeño tamaño para la oxidación del agua, que es el paso clave para la generación de hidrógeno; donde se encontró una gran dependencia de la actividad con el tamaño del clúster, puesto que mientras los clústeres de $Pd_6$ y $Pd_{27}$ han demostrado ser los catalizadores de paladio con mayor actividad conocida en esta reacción, los tetrámeros ($Pd_4$) son completamente inertes. Es un ejemplo más, de cómo solamente 2 átomos cambian completamente las propiedades de los AQCs. En otro trabajo se usan clústeres de Co de pequeño tamaño para la oxidación fotoelectroquímica del agua[27]. También se ha estudiado la reducción de oxígeno con clústeres de Pt[28] encontrando una alta dependencia con el tamaño del clúster, siendo el $Pt_{12}$ el que más actividad mostró para la reducción de oxígeno.

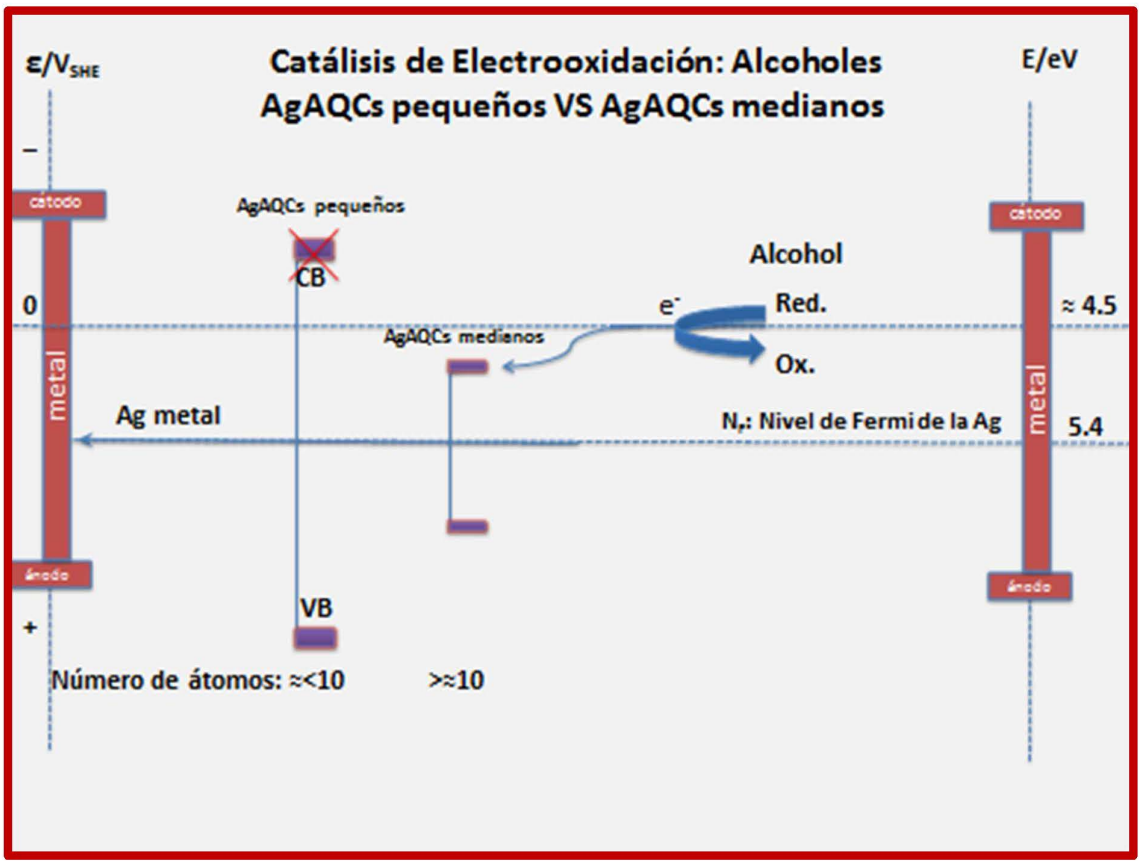



**Figura 11** Representación esquemática del comportamiento electrocatalítico de AQCs de plata de pequeño y medio tamaño frente a la electrooxidación de alcoholes[10].

Por último, uno de los campos de mayor aplicación de los clústeres es la catálisis heterogénea de reacciones en fase gas como pueden ser la oxidación de CO, la oxidación de hidrocarburos, las reacciones de hidrogenación, las reacciones con $NO_x$, etc[29]. En la presente tesis doctoral se estudiará la catálisis por clústeres de la oxidación de CO, la hidrogenación de $CO_2$ y la hidrogenación de propeno, que se desarrollarán en más detalle en el capítulo V, donde se mostrarán las ventajas de los clústeres estudiados en esta tesis con respecto a los propuestos en la bibliografía y a los catalizadores convencionales.

La reacción de oxidación de metano para dar metanol es una de las reacciones soñadas hoy en día por el alto valor añadido que supone frente al gas natural. Esta reacción se ha estudiado con diversos clústeres de Cu obteniéndose, en el caso de $Cu_3$-AQCs[30], una actividad similar a la encontrada para las enzimas. Otro ejemplo de reacción de oxidación es la de benceno a fenol con oxígeno molecular gracias a la catálisis de clústeres de Re de 10 átomos[31].

También se han usado clústeres bimetálicos[32] para las reacciones de hidrogenación de compuestos orgánicos en donde se demuestra una vez más la alta versatilidad de los clústeres y lo fácilmente modificables que son sus propiedades con el número de átomos (ver el resumen de las reacciones en la **Figura 12**).

Una reacción importante para la industria química es la obtención de alquenos a partir de alcanos. Las nanopartículas de Pt soportadas en óxidos metálicos son las usadas industrialmente en la actualidad, pero la búsqueda de nuevos catalizadores estables para las reacciones de deshidrogenación, especialmente de aquellos que no estén basados en metales nobles o que se puedan acoplar con otras reacciones y con sistemas de separación que permitan desplazar el equilibrio de deshidrogenación, están en el punto de mira.

Vajda[33] *et al.* han mostrado en un estudio con clústeres de platino $Pt_{8-10}$ que no solo presentan una alta actividad, sino también una alta selectividad para la formación de propeno. Por su parte se ha visto también una alta dependencia en la catálisis de deshidrogenación de etileno a acetileno con el tamaño del clúster de platino[34], encontrándose que los clústeres de $Pt_7$ son los de mayor actividad y los de $Pt_4$ y $Pt_8$

presentan una actividad similar, aunque menor que el $Pt_7$. Los clústeres de Co[35, 36] también mostraron tener actividad catalítica en la deshidrogenación de ciclohexeno.

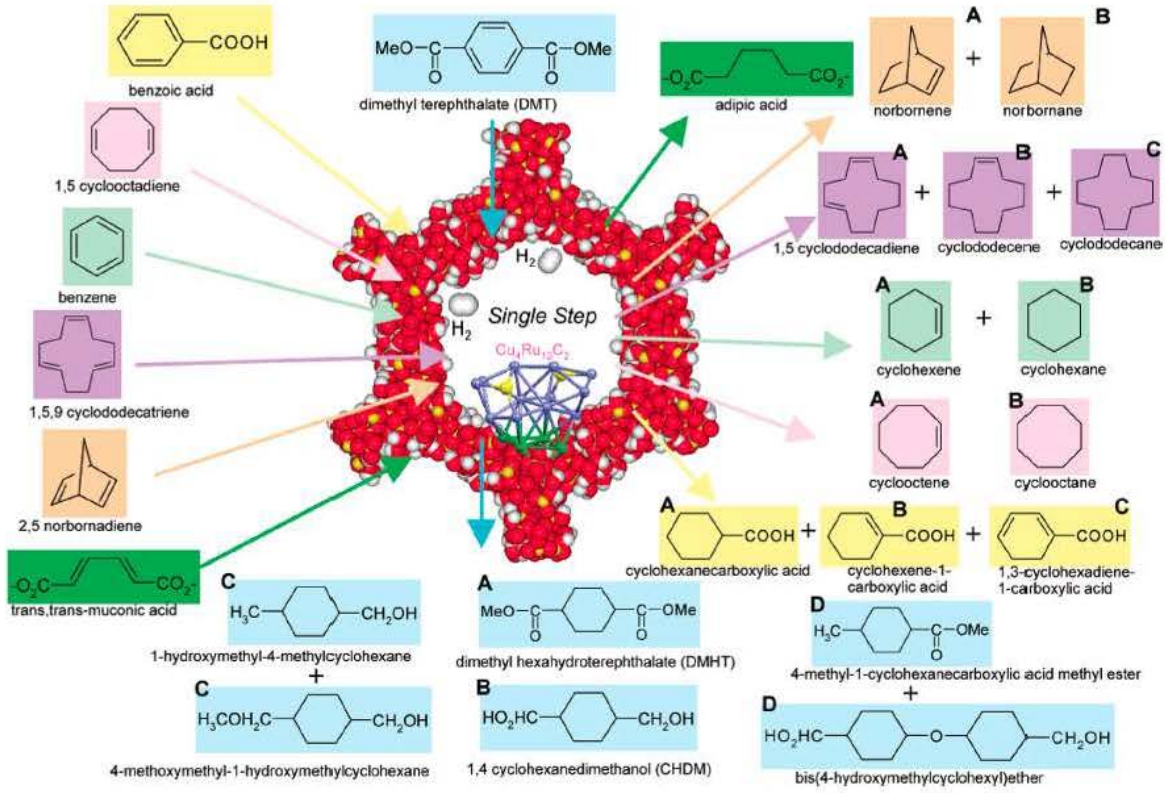



**Figura 12** Hidrogenación en una sola etapa de algunos compuestos orgánicos usando AQCs bimetálicos ($Cu_4Ru_{12}C_2$) soportados en sólidos mesoporosos[29].

Otros catalizadores de gran importancia hoy en día son aquellos que permiten catalizar al mismo tiempo la reducción de $NO_x$ y la oxidación de CO. Estos catalizadores, llamados de 3 vías, están presentes en todos los automóviles. En esta catálisis se han hecho grandes esfuerzos y se han propuesto numerosos catalizadores basados en AQCs de Pd[37,38] entre 4 y 30 átomos, de los que también se

realizaron cálculos teóricos[39,40] . Se ha visto que AQCs de plata[41–43] catalizan la reducción de NO por hidrocarburos y podrían ser una alternativa a los catalizadores de platino actuales.

Queda claro pues, en esta breve reseña bibliográfica, que la actividad catalítica de los clústeres abarca un gran abanico de reacciones y que pueden presentar soluciones en determinados ámbitos para lograr una sociedad futura más limpia, más renovable y con la posibilidad de llevar a cabo reacciones que hasta ahora resultaban extremadamente costosas. A lo largo de esta tesis doctoral desarrollaremos más esta fascinante propiedad de los clústeres y podremos sorprendernos, todavía más si cabe, con la nueva química de estos diminutos materiales.

## 4. Propiedades y aplicaciones biomédicas

Los clústeres presentan también una alta biocompatibilidad y un reducido tamaño, que les permite atravesar las membranas celulares. Así, se han realizado estudios biológicos en busca de nuevas aplicaciones, como por ejemplo, la prevención de la toxicidad del alcohol en células de mamíferos (ver **Figura 13)** con clústeres de plata[10,44], que -como se vio con anterioridad- son capaces de electrocatalizar la oxidación de alcoholes en todo el intervalo de pH. El potencial de membrana es suficiente para que los AQCs 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)[45] y además abre la posibilidad de usar las células

como fuente de energía para, en conjunción con los AQCs, realizar otras reacciones bioelectrocatalíticas.

Otra aplicación biomédica de los clústeres de plata es la bactericida. Aunque esta propiedad lleva atribuida a la plata desde tiempos antiguos, su mecanismo de acción no está claro todavía. En este sentido, en un estudio reciente se describe que los clústeres de Ag pueden ser los responsables de esa gran actividad bactericida[46] y, por lo tanto, en un futuro podrían usarse como nuevos tipos de antibióticos, evitando la resistencia de las bacterias a los antibióticos actuales.

Otra propiedad biológica mostrada por los trímeros de plata es que pueden intercalarse[47] en las hebras de ADN y evitar así su replicación, lo que abre la puerta a futuras terapias contra el cáncer, pues los tiempos de interacción mostrados por $Ag_3$ son 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 $Ag_3$-AQCs-ADN.

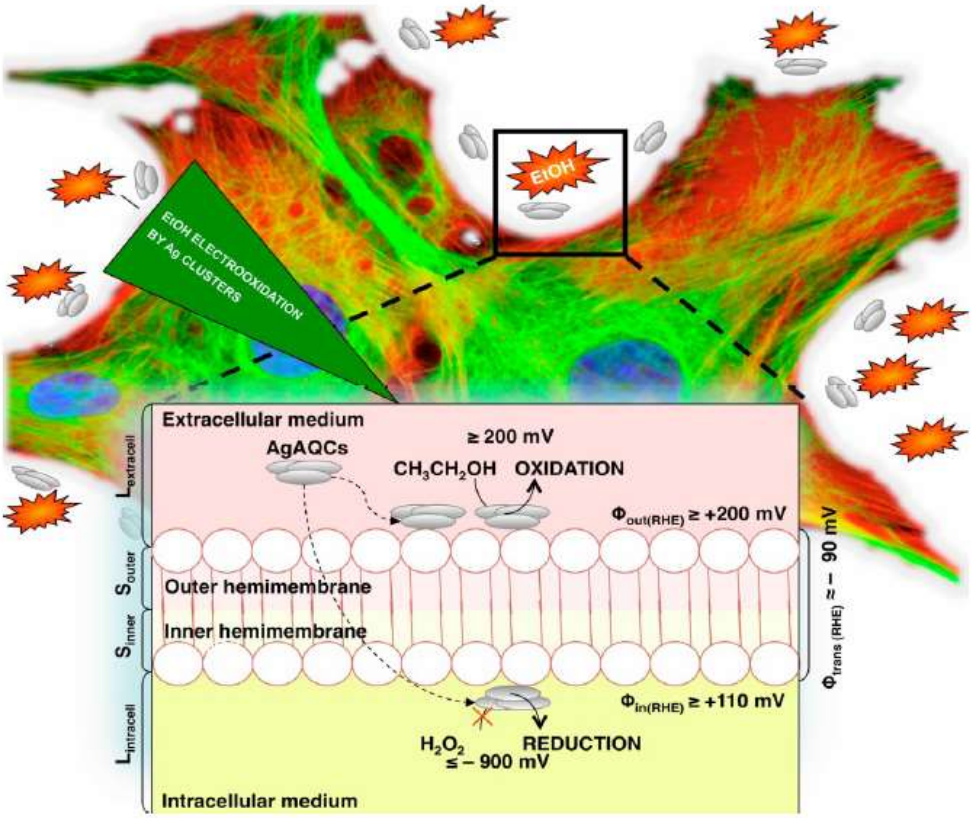
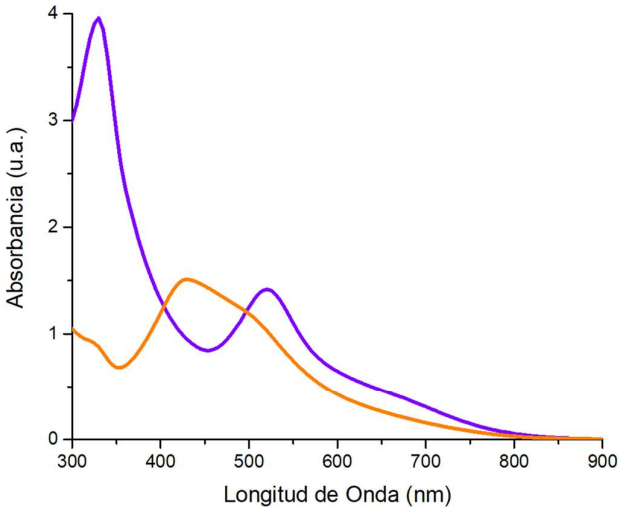
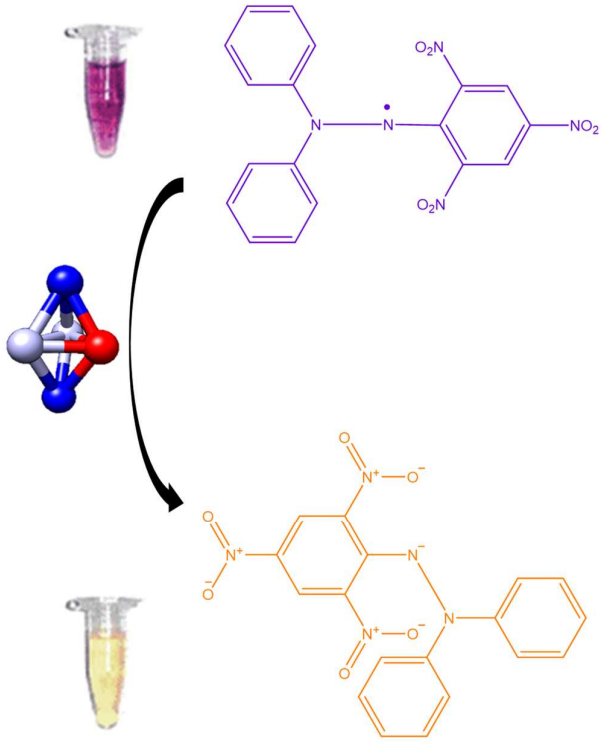



**Figura 13** Esquema de la cito protección de los clústeres de plata frente a etanol en células de mamíferos[44].

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# II. $Ag_5$-AQCs como catalizadores antirradicalarios



## 1. Introducción

En este capítulo abordaremos un tema que genera preocupación en nuestra sociedad: la búsqueda de materiales antioxidantes que neutralicen las propiedades nocivas de los radicales libres. Este tema causa atención tanto desde el punto de vista de la salud (muchas enfermedades degenerativas están relacionadas con la presencia de radicales libres), como económico (ligado fundamentalmente a la degradación de polímeros).

Los radicales libres son sustancias químicas que existen por sí mismas, y pueden generarse tanto en sistemas químicos como en biológicos por múltiples vías, a saber: por la escisión directa de enlaces, por reacciones de transferencia[48] de electrones para mantener su propia estabilidad, etc.

En los organismos vivos atacan a las células produciéndoles daños funcionales y por ello, son los responsables tanto de nuestro envejecimiento como de ayudar a las células tumorales[49,50] a replicarse y propagarse rápidamente hasta generar metástasis. También se cree que son los responsables de otras enfermedades degenerativas[51] como las cataratas, la diabetes, la artritis reumatoide, o problemas cardiovasculares[52], etc.

En el proceso de envejecimiento de los polímeros en particular, y de las moléculas orgánicas naturales y sintéticas en general, están involucrados mecanismos en cadena que producen diferentes radicales que contienen oxígeno. La mayoría de las reacciones de estas especies extremadamente reactivas tienen lugar a través de

procesos de auto-oxidación[53,54], que son –en último lugar- los responsables de la tendencia de estos materiales orgánicos a presentar problemas de degradación. Por ejemplo, se cree que es la causa principal por la cual los alimentos[55] pierden calidad, son los responsables del inevitable deterioro de los polímeros[56,57] que usamos día a día como pinturas, ropas, etc.

Por todas estas razones, en este capítulo se propuso investigar el uso de clústeres de plata de 5 átomos como agentes antirradicalarios. La motivación de llevar a cabo dicha investigación es el hecho de que los clústeres de 5 átomos poseen un spin desapareado, por lo cual era probable que pudieran reaccionar con los radicales desactivándolos. Sorprendentemente, como veremos en este capítulo, nos encontramos con que estos clústeres desactivan efectivamente radicales, pero lo hacen de forma catalítica, es decir, sin sufrir ningún cambio al final de su actividad antirradicalaria.

Para este estudio se usó como modelo un radical muy estable llamado 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH • ) (ver su estructura en la **Figura 14**), que ha sido ampliamente utilizado[58–61] para comprobar la actividad antioxidante de numerosos compuestos.

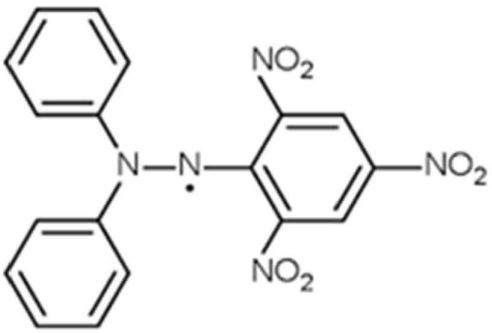



**Figura 14** Estructura del radical DPPH • .

Este radical presenta varias ventajas frente a otros radicales estables que se encuentran en la bibliografía, y por eso ha sido tan ampliamente usado en este tipo de estudios. Además de ser un radical muy estable, es soluble en alcoholes lo que hace que sea miscible con disoluciones acuosas, pero lo que lo hace aún más útil es que presenta bandas de absorción UV-Visible características (ver **Figura 15**) para cada una de las formas en las que puede estar, a saber: radical (color violeta, banda de absorción característica cuyo máximo está a 520 nm), protonado u oxidado (color amarillo, no presenta banda de absorción característica), reducido o forma aniónica del radical (color naranja, con una banda de absorción característica cuyo máximo se encuentra a 435 nm). Así, siguiendo simplemente su color podemos saber qué forma está presente en el medio de reacción y observar de una forma muy sencilla si hay reacción con dicho radical y qué tipo de reacción ocurre (reducción o protonación), pudiéndose comparar las actividades antirradicalarias con un gran número de antioxidantes conocidos.

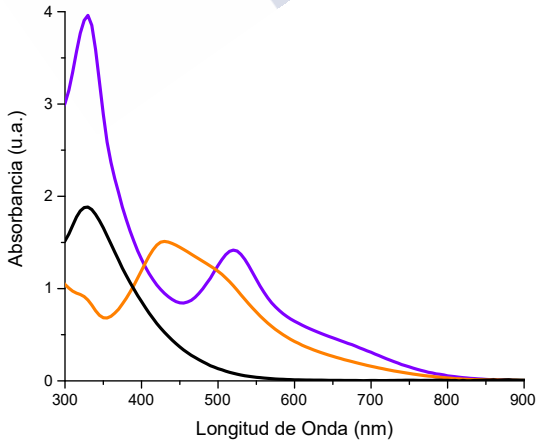



**Figura 15** Espectro de absorción UV-Visible de las distintas especies que pueden estar presentes en las reacciones de eliminación del radical estable DPPH • : Forma radical (violeta), Forma oxidada o protonada(negra) y Forma reducida o aniónica (naranja).

## 2. Materiales y métodos

Todos los compuestos químicos utilizados en este capítulo fueron comprados a la casa comercial Sigma Aldrich. Además, todas las disoluciones acuosas fueron preparadas con agua de grado Milli-Q usando un sistema Direct-Q8UV de la casa comercial Millipore (Millipore Ibérica S.A., Madrid, Spain).

En la siguiente tabla pueden verse los compuestos utilizados en este apartado y la pureza de los mismos.

| *Nombre de Compuesto* | *Pureza* |
|---|---|
| 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) | Puro |
| Metanol<br>Acetona<br>Acetonitrilo | Grado HPLC |
| Agua ($H_2O$) | Grado Milli-Q |
| Nitrato de plata ($AgNO_3$) | ≥ 99 %, |
| Cloruro sódico (NaCl) | 99.99 % |

La actividad antirradicalaria de los AQCs frente al DPPH• se evaluó, tal y como se mencionó anteriormente, por espectroscopía UV-Visible (explicada con detalle en el Anexo 1a) en un espectrofotómetro Thermo Evolution 300, las medidas se llevaron a cabo a temperatura ambiente usando una cubeta de cuarzo Hellma de 1 cm de paso óptico (Hellma GmbH & Co. KG., Müllheim, Germany).

Para estudiar la reacción se preparó una disolución de $1 \times 10^{-3}$ M de DPPH• en metanol (acetona o acetonitrilo para los estudios de la influencia del disolvente en la constante catalítica) que se diluyó para los experimentos en los que la concentración de DPPH• fue de $1.125 \times 10^{-4}$ M. Las cantidades de $Ag_5$-AQCs usadas variaban entre 20 - 200 µg/L. En todos los experimentos se mantuvo una relación Agua: Metanol (acetona o acetonitrilo en su caso) constante e igual a 1:3.

Después de mezclar los dos compuestos (DPPH• + $Ag_5$-AQCs), los espectros de absorción fueron medidos en el intervalo de 250 – 800 nm observándose la formación inmediata de la banda de la forma aniónica (435 nm). Con el fin de estudiar la cinética de la reacción se midieron espectros cada 2 min, observando que el punto final de la reacción se obtenía entre 12 y 75 minutos dependiendo de la concentración de $Ag_5$-AQCs añadida.

## 3. $Ag_5$-AQCs como catalizadores antirradicalarios

Primero se llevó a cabo el estudio de la estabilidad del radical DPPH• en a) mezcla de disolventes agua: metanol 1:3, b) en presencia de iones de $Ag^+$ en concentraciones similares a las de las muestras de clústeres (ver capítulo VI, sección 2), c) en presencia

de NaCl en concentraciones similares a las de las muestras purificadas. Se observó que el DPPH• es estable en la mezcla de disolventes de reacción por más de una semana, mientras que si a la mezcla se le añade NaCl, la estabilidad del radical disminuye a un día aproximadamente. En el caso de tener en el medio nitrato de plata ($AgNO_3$) la absorbancia del radical se ve incrementada (**Figura 16 A**). Por ello, los estudios deben realizarse con muestras de clústeres purificadas. Se observa asimismo que los clústeres en presencia de $Ag^+$ no desactivan completamente al radical DPPH• (**Figura 16 B**).

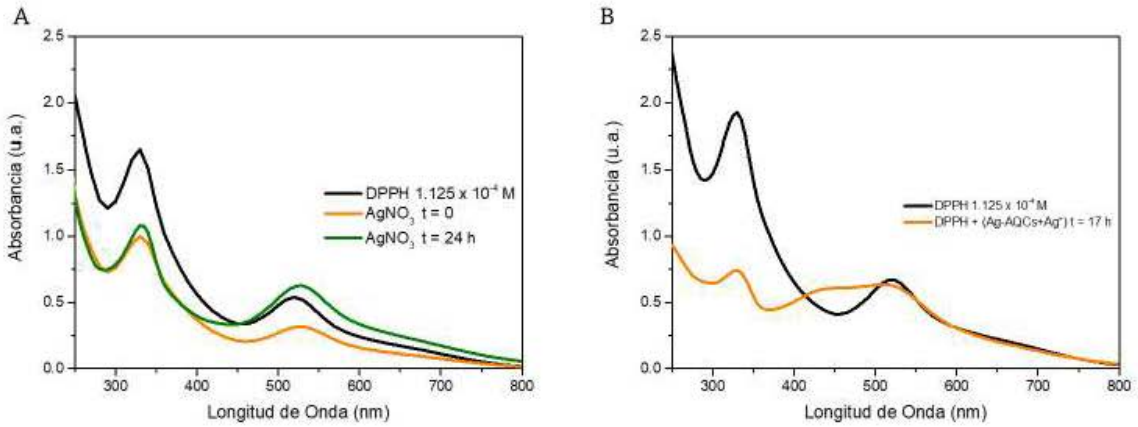



**Figura 16** Espectros de absorción UV-Visible para A) Blanco de DPPH• 1.125 x$10^{-4}$ M en metanol (negro) con $AgNO_3$ en agua inicialmente (naranja) y después de un día (verde). B) Muestra de DPPH• 1.125 x$10^{-4}$ M en metanol (negro) con Ag-AQCs sin purificar después de 17 h de reacción (naranja).

Para observar el comportamiento de los clústeres en ausencia de $Ag^+$, se añadieron clústeres de $Ag_5$-AQCs purificados y dispersos en agua (en concentración 3.7 x $10^{-7}$ M) a una disolución de DPPH• en metanol. La **Figura 17** muestra los resultados obtenidos. Se puede observar una rápida y progresiva disminución de la

banda de absorción inicial (520 nm) debida a la forma radical del DPPH• (en concentración de 1.125 x$10^{-4}$ M), acompañada de un incremento rápido de la banda característica de la forma aniónica del radical (435 nm) lo que demuestra la desactivación del radical DPPH• por la transformación de éste en su forma aniónica, lo cual indica que ha habido una reducción del radical. Teniendo en cuenta el aumento de la banda de absorción a 435 nm podemos considerar que prácticamente todo el radical se ha reducido a su forma aniónica. Se debe de destacar además la baja relación molar entre los AQCs y el DPPH• ([DPPH•]/[$Ag_5$-AQCs]= 300) lo que nos indica que los clústeres no son las especies que se están oxidando, si no que deben estar actuando como catalizadores de la reacción de reducción.

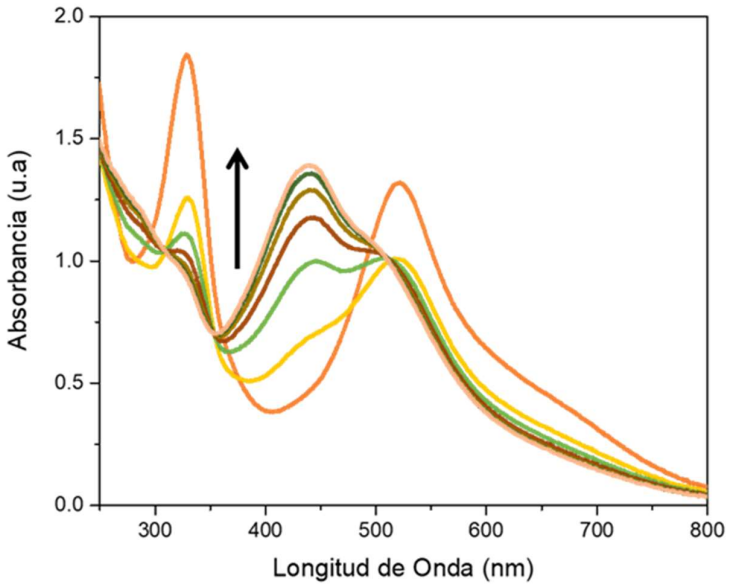



**Figura 17** Cambios en el espectro UV-Visible del DPPH• 1.125 x $10^{-4}$ M en metanol en presencia de 200 µg/L (≈ 3.7 x $10^{-7}$ M) de $Ag_5$-AQCs en agua (relación metanol: agua, 3:1). Se midieron espectros cada 2 min después de la adición inicial de clúster.

Además, después de un ciclo de reacción los clústeres presentes en la disolución pueden catalizar la reacción de nuevo si se le adiciona una cantidad similar de DPPH • al medio de reacción y este proceso se puede repetir varias veces sin pérdida de actividad (ver **Figura 18**), lo cual claramente confirma que los $Ag_5$-AQCs están actuando como verdaderos catalizadores de la reacción y que no se oxidan ni desactivan al final de la misma.

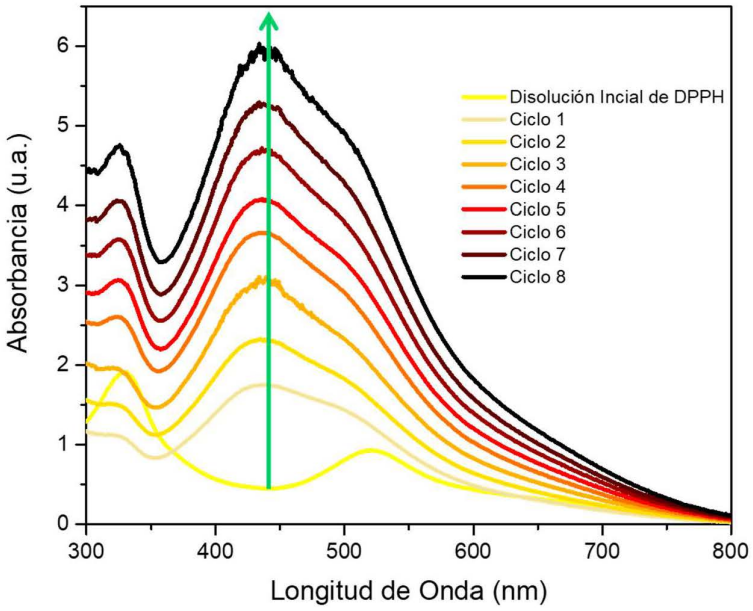



**Figura 18** Estudio de reciclabilidad. Espectros de absorción para sucesivas adiciones de disolución de DPPH • radical en el mismo medio de reacción.

Es importante destacar que, una vez comprobada la actividad catalítica de los clústeres de Ag con 5 átomos, se llevaron a cabo estudios con otros tamaños de clústeres de plata, concretamente con AQCs de plata de 2 y 3 átomos (ver

caracterización de la muestra en el Anexo 3), sin embargo, estos clústeres no mostraron actividad catalítica alguna (ver **Figura 19**), lo que indica claramente que la actividad catalítica depende mucho del tamaño del clúster, de forma similar a lo encontrado para otras reacciones estudiadas y tal y como se mencionó en la introducción.

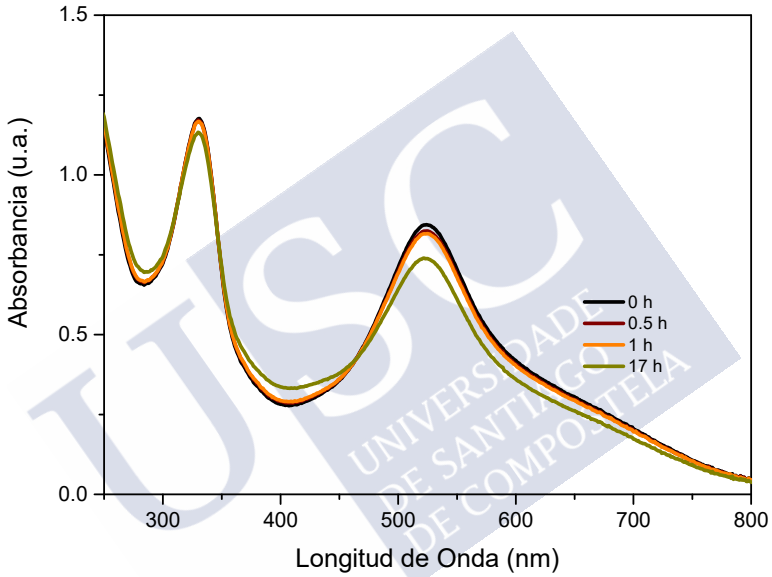



**Figura 19** Cambios en el espectro UV-Visible del DPPH • 1.125 x$10^{-4}$ M en metanol en presencia de ≈ 3.6 x$10^{-7}$ M de $Ag_3$-AQCs en agua (relación metanol: agua, 3:1). Inicialmente (negro), después de media hora de reacción (marrón), después de 1 h de reacción (naranja) y después de 17 h de reacción (verde).

Una vez observado que el radical DPPH • se está reduciendo en el medio de reacción por la actividad catalítica de los clústeres de 5 átomos y que éstos, por lo tanto, no se están oxidando, la pregunta que surge de inmediato es ¿qué especie se está oxidando durante el proceso de desactivación del radical DPPH • ?

Una primera hipótesis fue que el responsable de la reducción del DPPH• fuera el oxígeno activado que se sabe se encuentra en la esfera de coordinación de los clústeres en disolución (Anexo 5), y que es el responsable de la gran capacidad oxidante que presentan en otras reacciones, como por ejemplo, para reacciones de oxidación de especies de azufre (capítulo IV), en los que el oxígeno activado del clúster es capaz de oxidar completamente al azufre llevándolo a su estado de oxidación más alto $S^{VI}$; ya que se sabe que este radical se reduce a su forma aniónica en presencia de especies de oxígeno activadas[62], tales como peróxidos o superóxidos.

Para comprobar esta hipótesis se llevaron a cabo experimentos con las mismas concentraciones de AQCs y de DPPH•, pero en atmósfera de nitrógeno ($N_2$) y también en atmósfera de oxígeno ($O_2$). En el caso de que el mecanismo de reacción ocurriese a través del oxígeno, la desactivación del radical debería de verse paralizada o al menos ralentizada en atmósfera deficiente de $O_2$ y debería de verse acelerada en el caso de la atmósfera rica en oxígeno. Sorprendentemente, tanto la reacción bajo atmósfera de $N_2$, como la de $O_2$, dieron los mismos resultados (la misma velocidad de reacción) que la realizada en condiciones atmosféricas. Por ello, estas especies de oxígeno activadas por el clúster no son las responsables de la desactivación del DPPH•.

Descartada esta posibilidad, nos planteamos la hipótesis de que fuera el metanol, disolvente mayoritario utilizado en la reacción, la especie que se estuviera oxidando. Para comprobar esta hipótesis se llevaron a cabo una serie de experimentos usando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS), en

colaboración con el Prof. Massimo Lazzari, miembro del grupo de investigación en el que se enmarca esta tesis doctoral, al objeto de tratar de observar algún posible producto de oxidación del metanol. Se observó que, mientras las disoluciones de DPPH• en metanol no mostraban la presencia de ningún producto de oxidación, las muestras que contenían $Ag_5$-AQCs se detectaba formaldehido, es decir, un producto de oxidación del metanol. Con esta evidencia quedaba demostrado que, mientras el DPPH• se reduce, el metanol se oxida y los $Ag_5$-AQCs actúan como catalizadores de esta reacción.

Para confirmar esta hipótesis y con el fin de demostrar que el disolvente empleado en la disolución del DPPH•, metanol (mayoritario en la reacción), se está oxidando durante la eliminación por reducción del DPPH•, se llevaron a cabo reacciones con disolventes orgánicos miscibles en agua con mayores potenciales de oxidación, como son la acetona o el acetonitrilo. Tal como se observa en la **Figura 20**, la reacción más rápida ocurre con el metanol, disolvente con menor potencial de oxidación debido al enlace $sp^3$ con el oxígeno, seguida por la reacción que tiene lugar en acetona (enlace $sp^2$ con el oxígeno), que muestra una constante cinética ≈ ½ de la del metanol y, por último, la reacción más lenta se obtiene con el acetonitrilo (enlace sp con el nitrógeno), que es el disolvente de mayor potencial de oxidación, con una constante cinética de 3 órdenes de magnitud inferior a la del metanol. Como ninguna de esas especies (metanol, acetona y acetonitrilo) es oxidable directamente por el DPPH•, queda claro que los clústeres de $Ag_5$ activan catalíticamente el radical DPPH• haciéndolo más oxidante y, por lo tanto, capaz de oxidar esas especies. Es de destacar que esta activación de radicales por los clústeres de $Ag_5$ está en la línea de

otros resultados recientes obtenidos en el grupo de investigación en los que se observa la activación de radicales hidroxilos en procesos biológicos de oxidación de grupos SH.

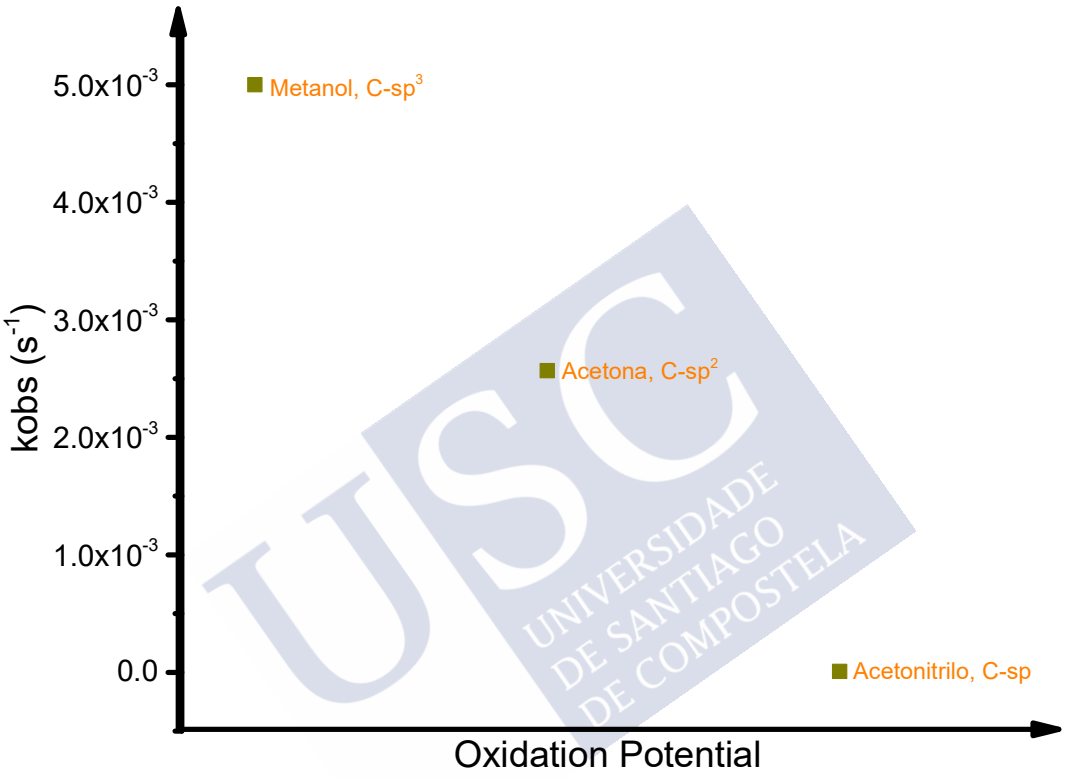



**Figura 20** Cambios en la constante cinética con diferentes disolventes orgánicos: metanol ($sp^3$), acetona ($sp^2$) y acetonitrilo (sp).

En la **Figura 21** podemos observar que la variación de la absorción en el máximo correspondiente a la forma aniónica/reducida del DPPH con el tiempo es de tipo exponencial. Esto indica que se trata de una reacción de primer orden:

$$\frac{d[DPPH^-]}{dt} = k_{obs}[DPPH^-] \quad \text{(II.1)}$$

$$[DPPH^-] = cte - cte'e^{-k_{obs}t} \quad \text{(II.2)}$$

Por su parte, se observa también que la constante $k_{obs}$ es, como cabría esperar, proporcional a la concentración de los clústeres catalíticos (**Figura 21 B**):

$$k_{obs} = k_{exp}[Ag_5AQCs] \quad \text{(II.3)}$$

Del ajuste de la **Figura 21 B** se puede deducir que $k_{exp}$ = 1.0(2)x $10^5$ $M^{-1}s^{-1}$.

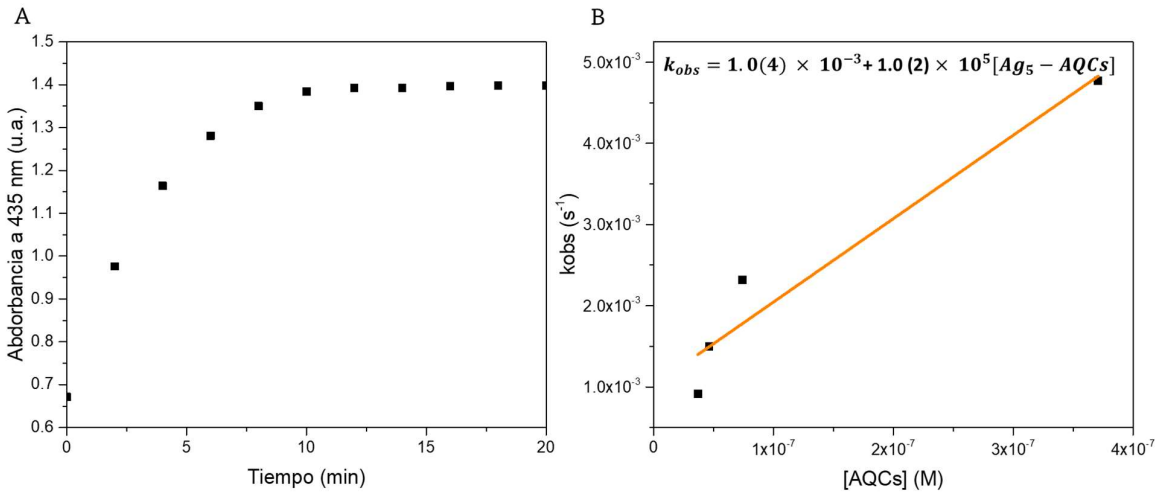



**Figura 21** A) Evolución temporal del máximo de absorbancia a 435 nm característico de la forma aniónica/reducida del $DPPH^-$ para una disolución de DPPH • de 1. 125 x$10^{-4}$ M en metanol, en presencia de 200 µg/L (≈ 3.7 x$10^{-7}$ M) de $Ag_5$-AQCs en agua. B) Cambios en la constante cinética con concentraciones crecientes de $Ag_5$-AQCs entre 20-200 µg/L (~3.7 × $10^{-8}$ M – ~3.7 × $10^{-7}$ M) con una concentración de DPPH • constante de 1. 125 x$10^{-4}$ M en metanol.

Para comprender un poco mejor el mecanismo de la reacción que tiene lugar en la desactivación del radical, se llevaron a cabo cálculos DFT por el Dr. Héctor Lozano dentro del grupo de investigación en el que se enmarca esta tesis doctoral, en colaboración con el Prof. Giampaolo Barone de la Universidad de Palermo.

Primero se analizó la estructura y la distribución de la densidad de espín tanto para el DPPH • como para el sistema $Ag_5$/DPPH • . La estructura optimizada y el exceso de densidad de espín se pueden ver en la **Figura 22** tanto para el radical (DPPH • , doblete) como para el anión del DPPH ($DPPH^-$, singlete).

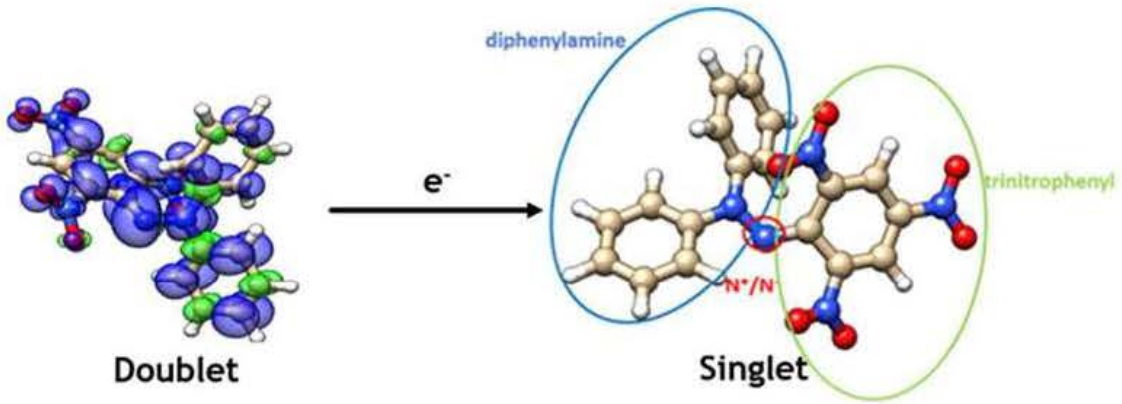



**Figura 22** Estructuras optimizadas y exceso de densidad de espín calculadas por DFT para DPPH • (izquierda) y $DPPH^-$(derecha) en estado doblete y singlete respectivamente.

La densidad electrónica está homogéneamente distribuida a lo largo del radical. En la **Tabla 1** se muestra la carga y la distribución de densidad de espín por residuo. La carga del radical DPPH • está distribuida como sigue: las cargas positivas están localizadas en el residuo difenilamina mientras que las cargas negativas yacen en el N y la parte de trinitrofenil. El exceso de densidad de espín está también distribuido

a lo largo de todo el radical. La transferencia electrónica de un dador de electrones al DPPH• produce $DPPH^-$ (singlete). Este proceso conduce a una redistribución de carga y no se observa exceso de densidad de espín en ninguno de los residuos.

**Tabla 1** Análisis de la carga y la densidad de espín por el método Hirshfeld para las especies DPPH• y $DPPH^-$ a un estado espín bajo.

| Molecule | Spin | Residue[a] | Charge, \| e \| | Spin |
|---|---|---|---|---|
| DPPH• | Doublet | diphenylamine | 0.47 | 0.54 |
| | | N• | -0.081 | 0.13 |
| | | trinitrophenyl | -0.394 | 0.33 |
| | | **Total** | 0.00 | 1.00 |
| $DPPH^-$ | Singlet | diphenylamine | -0.01 | 0.00 |
| | | $N^-$ | -0.13 | 0.00 |
| | | trinitrophenyl | -0.86 | 0.00 |
| | | **Total** | -0.99 | 0.00 |

[a] como se visualiza en la **Figura 22**

La reducción del radical DPPH• por los $Ag_5$-AQCs se modeló imitando las condiciones experimentales con cálculos DFT. Primero se calculó la entalpía de formación de los diferentes complejos que los $Ag_5$-AQCs pueden formar, a saber: $Ag_5$/metoxi= -164.9 kJ/mol, $Ag_5$/metanol= -57.7 kJ/mol y $Ag_5$/ DPPH• = -299.3 kJ/mol. De estos valores se puede asumir que la mayoría de los AQCs van a estar formando el complejo $Ag_5$/ DPPH•. Aunque la interacción de este complejo con la especie oxidable (metanol) podría proceder a través del ion metoxi o del metanol, la interacción más favorable con el metoxi y la necesidad de la eliminación de un protón durante la reacción indica que es la adsorción del anión en el $Ag_5$/ DPPH• el camino predilecto para proceder la reacción, a pesar de su baja concentración (≈ nM).

En la **Figura 23** se muestran las estructuras y en la **Figura 24** el balance de energía calculados por DFT para las distintas etapas de la reacción hasta la obtención del formaldehído y el anión del DPPH (en la **Tabla 2** se muestran las cargas y el análisis de espín para las diferentes especies intermedias en la reacción). La reacción 1 consiste en la absorción del anión $OCH_3^-$ en el complejo $Ag_5$/ DPPH• a través de la formación de dos enlaces Ag-O entre los AQCs y uno de los grupos nitro del radical DPPH• produciendo el sistema $Ag_5$/ $DPPH^-$/$OCH_3$•. Se produce una transferencia electrónica desde el anión metóxido al radical que conduce a la formación del radical metoxi y el anión DPPH. La adsorción del anión metóxido promueve la presencia de exceso de densidad de espín en el sistema, por ello, el anión metóxido pierde un electrón y da lugar al radical metoxi.

El análisis de las cargas también revela que el DPPH• adquiere una carga parcial negativa. Esta reacción es favorable con más de -300 kJ/mol. Este resultado explica

perfectamente los resultados encontrados experimentalmente en donde se observa la formación del anión del $DPPH^-$ en presencia de los $Ag_5$-$AQC_5$.

La siguiente reacción, 2, consiste en la desorción del anión del $DPPH^-$ del sistema, lo que da como resultado la formación de $Ag_5/OCH_3 \bullet$ radical sin exceso de densidad de espín. Durante este proceso la energía sube a +100 kJ/mol pero la siguientes reacciones compensan este incremento.

Luego otro anión metoxi y otro radical $DPPH \bullet$ pueden entrar en el sistema (reacción 3) y al igual que ocurría en la reacción 1, hay una transferencia electrónica del anión metoxi al radical dando como resultado la formación de $Ag_5/ DPPH^-/(OCH_3 \bullet)_2$ con una estabilización de la energía de -300 kJ/mol.

Finalmente, la reacción 4 es la formación del formaldehído por una simple transferencia protónica desde uno de los radicales metoxi al otro, dando como resultado formaldehído y metanol, con una energía de estabilización de -50 kJ/mol.

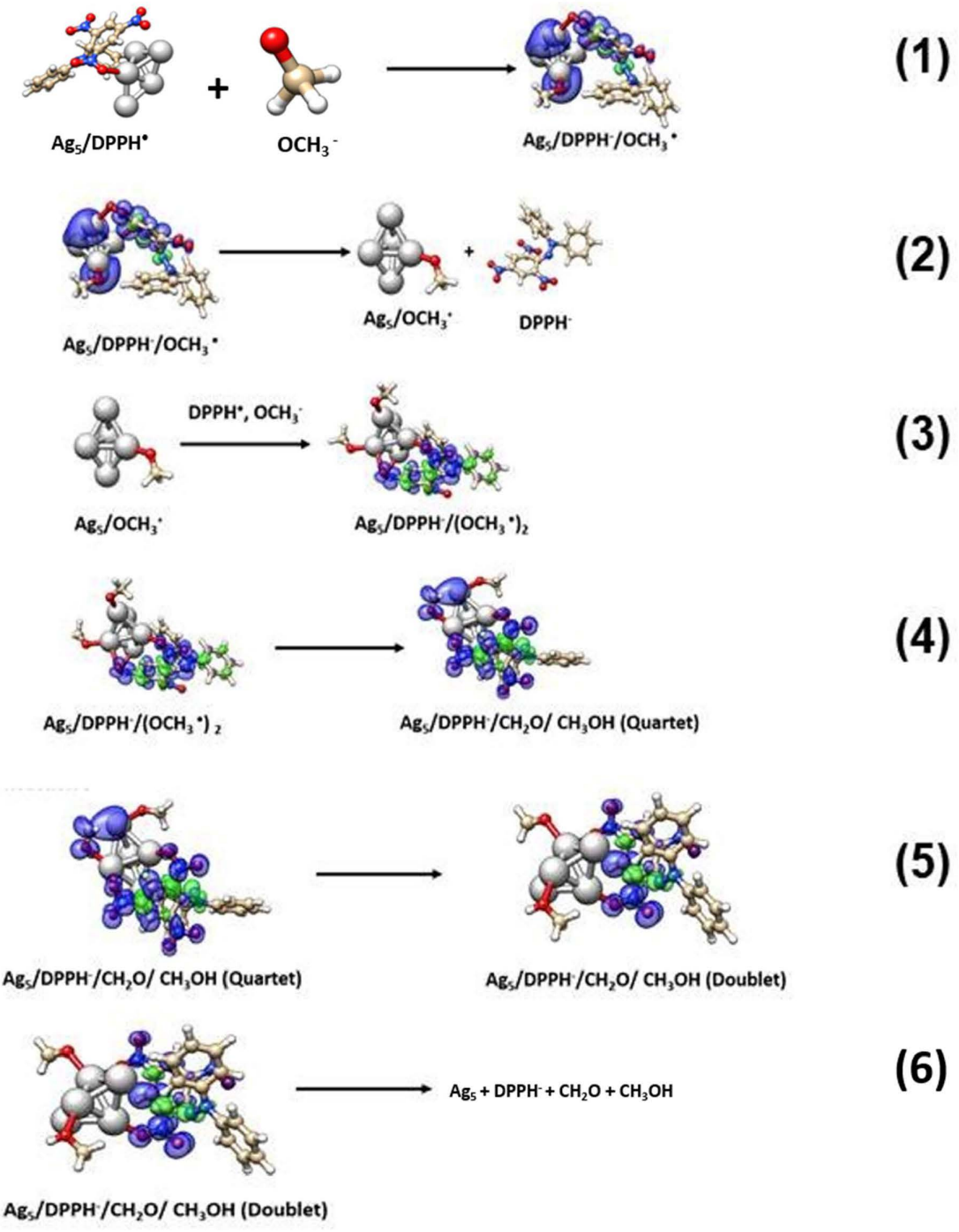



**Figura 23** Estructuras optimizadas por DFT para la formación de formaldehído mediada por $Ag_5$-AQCs y el radical DPPH • .

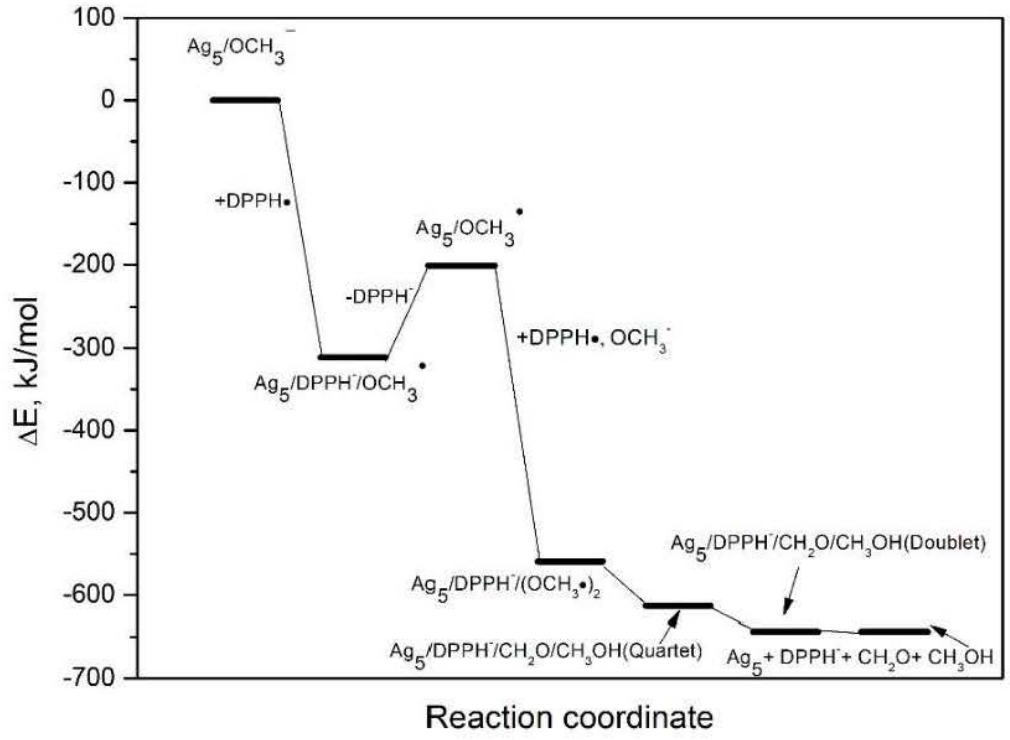



**Figura 24** Balance de energía calculado por DFT para la formación de formaldehído mediada por $Ag_5$-AQCs y el radical DPPH • .

De este modo, el sistema $Ag_5$/ $DPPH^-/CH_2O/CH_3OH$ es un cuartete en el que la densidad de espín está localizada en el anión DPPH, en el formaldehído y en el metanol. Después el sistema sufre un reajuste electrónico y el espín cambia a doblete (reacción 5), este estado es 30 kJ/mol más estable que el cuartete debido a la estabilización del espín del formaldehído y del metanol que pierde su densidad de espín.

Finalmente, la última etapa consiste en la desorción de las especies unidas. El balance energético del proceso es casi despreciable debido a la afinidad de los $Ag_5$-AQCs por el metanol (-57.7 kJ/mol), la reacción conduce a la formación de $Ag_5$/ $CH_3OH$ el cual

se puede volver a transformar en el catalizador original, $Ag_5$/ DPPH • al interaccionar con el DPPH • presente en el sistema, dada la alta afinidad entre el radical y los AQCs (-300 kJ/mol).

**Tabla 2** Carga y análisis del exceso de espín por el método Hirshfeld para las diferentes especies involucradas en la formación de formaldehído mediada por $Ag_5$-AQCs y el radical DPPH • .

| $Ag_5/DPPH^{\bullet} + OCH_3^-$ | | | $Ag_5/DPPH^-/OCH_3^{\bullet}$ | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Residue** | **Charge, \|e\|** | **Spin** | **Residue** | **Charge, \|e\|** | **Spin** |
| $Ag_5/DPPH^{\bullet}$ | 0.00 | 0.00 | $Ag_5$ | 1.14 | 0.98 |
| $OCH_3^-$ | -1.00 | 0.00 | $OCH_3^{\bullet}$ | -1.62 | 0.99 |
| | | | $DPPH^-$ | -0.52 | 0.01 |
| $Ag_5/OCH_3^{\bullet} + DPPH^-$ | | | $Ag_5/OCH_3^{\bullet} + DPPH^{\bullet} + OCH_3^-$ | | |
| **Residue** | **Charge, \|e\|** | **Spin** | **Residue** | **Charge, \|e\|** | **Spin** |
| $Ag_5$ | 0.61 | 0.00 | $Ag_5$ | 0.61 | 0.00 |
| $OCH_3^{\bullet}$ | -0.61 | 0.00 | $OCH_3^{\bullet}$ | -0.61 | 0.00 |
| $DPPH^-$ | -0.99 | 0.00 | $DPPH^{\bullet}$ | 0.00 | 1.00 |
| | | | $OCH_3^-$ | -1.00 | 0.00 |
| $Ag_5/DPPH^-/(OCH_3^{\bullet})_2^-$ | | | $Ag_5/DPPH^-/CH_2O/CH_3OH$ (Quartet) | | |
| **Residue** | **Charge, \|e\|** | **Spin** | **Residue** | **Charge, \|e\|** | **Spin** |
| $Ag_5$ | 1.40 | 0.11 | $Ag_5$ | 1.37 | 0.47 |
| $DPPH^-$ | -1.21 | 2.87 | $DPPH^-$ | -2.13 | 1.85 |
| $OCH_3^{\bullet}$ | -0.60 | 0.00 | $CH_2O^{\bullet}$ | -0.37 | 0.67 |
| $OCH_3^{\bullet}$ | -0.59 | 0.00 | $CH_3OH$ | 0.13 | 0.02 |
| $Ag_5/DPPH^-/CH_2O/CH_3OH$ (Doublet) | | | $Ag_5 + DPPH^- + CH_2O + CH_3OH$ | | |
| **Residue** | **Charge, \|e\|** | **Spin** | **Residue** | **Charge, \|e\|** | **Spin** |
| $Ag_5$ | 0.44 | 0.04 | $Ag_5$ | 0.00 | 1.00 |
| $DPPH^-$ | -1.63 | 0.96 | $DPPH^-$ | -1.00 | 1.00 |
| $CH_2O$ | 0.09 | 0.00 | $CH_2O$ | 0.09 | 0.00 |
| $CH_3OH$ | 0.1 | 0.00 | $CH_3OH$ | 0.00 | 0.00 |

Teniendo en cuenta los cálculos DFT detallados previamente se puede proponer el siguiente mecanismo:

$$Ag_5 + DPPH\bullet + CH_3O^- \rightarrow Ag_5/OCH_3\bullet/DPPH^- \quad \text{(II.4)}$$

$$Ag_5/OCH_3\bullet/DPPH^- + CH_3O^- + DPPH^\bullet \rightarrow Ag_5 + 2DPPH^- + CH_2O + CH_3OH \quad \text{(II.5)}$$

Y, por tanto, definir la velocidad de la reacción como sigue:

$$v = k_2\,[Ag_5/OCH_3\bullet/DPPH^-][CH_3O^-][DPPH\bullet] \quad \text{(II.6)}$$

Teniendo en cuenta el balance de masa para la especie DPPH:

$$[DPPH]_{total} = [DPPH]_0 = [DPPH\bullet] + [Ag_5/OCH_3\bullet/DPPH^-] + [DPPH^-] \quad \text{(II.7)}$$

Y suponiendo que $[Ag_5/OCH_3\bullet/DPPH^-] \ll [DPPH\bullet]\ y\ [DPPH^-]$ podemos llegar a la siguiente expresión:

$$[DPPH]_0 = [DPPH\bullet] + [DPPH^-] \quad \text{(II.8)}$$

Por tanto,

$$-\frac{d[DPPH\bullet]}{dt} = \frac{d[DPPH^-]}{dt} \quad \text{(II.9)}$$

Si aplicamos la aproximación del estado estacionario para el complejo [$Ag_5/OCH_3\bullet/DPPH^-$], podemos llegar a la siguiente expresión:

$$-\frac{d[Ag_5/OCH_3\bullet/DPPH^-]}{dt} =$$

$$= k_1[Ag_5]][CH_3O^-][DPPH\bullet] - k_2\,[Ag_5/OCH_3^\bullet/DPPH^-][CH_3O^-][DPPH\bullet] = 0 \quad \text{(II.10)}$$

$$[Ag_5/OCH_3\bullet/DPPH^-] = \frac{k_1[Ag_5][CH_3O^-][DPPH\bullet]}{k_2[CH_3O^-][DPPH\bullet]} = k_1/\,k_2[Ag_5] \quad \text{(II.11)}$$

Si ahora sustituimos el resultado de la ecuación II.11 en la ecuación de velocidad (ecuación II. 6), nos queda:

$$v = -\frac{d[DPPH\bullet]}{dt} = \frac{d[DPPH^-]}{dt} = k_1\,[Ag_5][CH_3O^-][DPPH\bullet] \quad \text{(II.12)}$$

$$\frac{d[DPPH^-]}{dt} = k_1\,[Ag_5][CH_3O^-]([DPPH]_0 - \,[DPPH^-]) = a - b[DPPH^-] \quad \text{(II.13)}$$

donde $b = k_1\,[Ag_5][CH_3O^-]$ y $a = k_1\,[Ag_5][CH_3O^-][DPPH]_0 = b[DPPH]_0$

De esta forma, se explica la variación exponencial de la absorbancia a 435 nm (aparición del $DPPH^-$) con el tiempo (**Figura 21 A**) (Nota: el seguimiento por espectroscopía de la desaparición del radical DPPH• -banda a 520 nm- es más complejo, ya que presenta un solapamiento de bandas con la absorción de la forma aniónica del radical - **Figura 15** -).

Por otra parte, podemos observar que la reacción es de orden uno respecto a la concentración del catalizador tal como se observó experimentalmente ( **Figura 21 B**). Comparando la ecuación experimental y la deducida a partir del mecanismo podemos deducir que $k_{exp} = k_1[CH_3O^-] = 1.0(2) \times 10^5\ M^{-1}s^{-1}$. Teniendo en cuenta que en las condiciones experimentales $[CH_3O^-] = 3.7\text{x}10^{-9}$ M, obtenemos finalmente que $k_1 = 2.7\text{x}10^{13}\ M^{-2}s^{-1}$.

La comparación de la actividad catalítica de los $Ag_5$-AQCs ($k_{exp} \approx$ 1-5 $\text{x}10^{-3}\ s^{-1}$) con algunas enzimas que son capaces de catalizar la oxidación de alcoholes (oxidasas)

con una constante de velocidad de $V_{MAX}/K_M \approx 1.7 \times 10^{-5}\ s^{-1}$ indica que los $Ag_5$ son casi dos órdenes de magnitud más activos que las oxidasas y que presentan una mayor selectividad para la formación de aldehídos.

La activación catalítica del metanol (una especie completamente inactiva en la reducción de los radicales DPPH • , y, por tanto, sin ninguna acción antirradicalaria) por los $Ag_5$-AQCs hacen del metanol una especie altamente activa con propiedades antioxidantes similares a las mostradas por los polifenoles o las vitaminas C y E que son especies ampliamente conocidas por su actividad antioxidante (ver 0).

Una vez que hemos observado las propiedades catalíticas antirradicalarias de los AQCs, nos planteamos la posibilidad de que esa actividad pudiera tener su aplicación en la protección de polímeros y se realizaron estudios con dos polímeros de gran interés industrial como son: el poliisopropeno (PI) y el acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS) en colaboración con el Prof. Massimo Lazzari.

Para llevar a cabo este estudio se prepararon láminas finas de ambos polímeros y se recubrieron con muestras de $Ag_5$-AQCs usando 0.02 μg/cm², lo que implica un recubrimiento de aproximadamente el 4 %. Tanto las láminas tratadas con AQCs como las láminas sin tratar se expusieron a un envejecimiento acelerado por la acción de una lámpara de xenón con un filtro de 295 nm y 785 W/m² (T<45 °C). Este tratamiento activa el típico mecanismo radicalario de descomposición por autooxidación de los polímeros, lo que genera grupos que contienen oxígenos[54,63] y productos de bajo peso molecular[64]. Esta degradación se puede seguir por un simple análisis de la superficie empleando espectroscopía de (ATR)-FTIR donde la formación

de grupos hidroxilo nos origina una banda en torno a 3400 $cm^{-1}$ y los grupos carbonilo un pico a 1720 $cm^{-1}$, incluso después de pocas horas[65] de fotodegradación (ver **Figura 25**), 50 en el caso del PI y 150 horas en el caso del ABS, pues este último es un polímero mucho más estable.

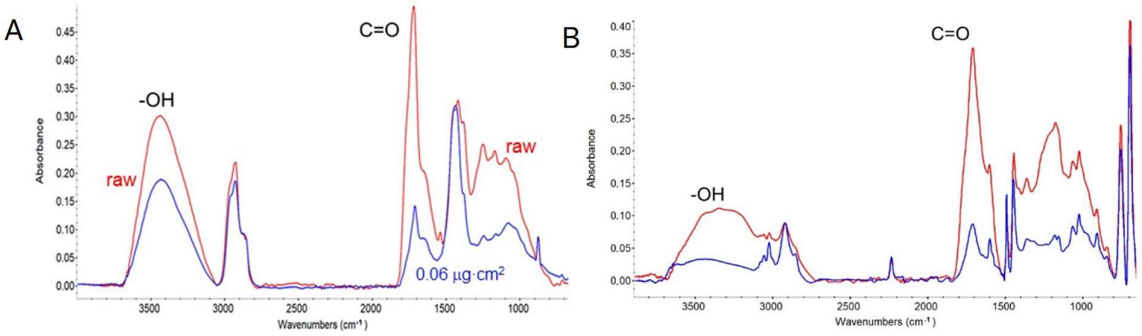



**Figura 25** Espectro de ATR-FTIR del polímero original (curva roja) y polímero tratado con 0.06 $\mu g cm^{-2}$ $Ag_5$-AQCs (curva azul) para (a)PI después de 50 horas de fotodegradación y para (b) ABS después de 150 horas de fotodegradación.

Se puede observar claramente como la degradación de ambos polímeros se ve disminuida por la protección que les confieren los $Ag_5$-AQCs, debido al efecto antirradicalario que estos presentan aun a pesar de las mínimas cantidades de AQCs que se usaron en los experimentos, pues, solo tenemos un ~4 % de la superficie de los polímeros cubierta.

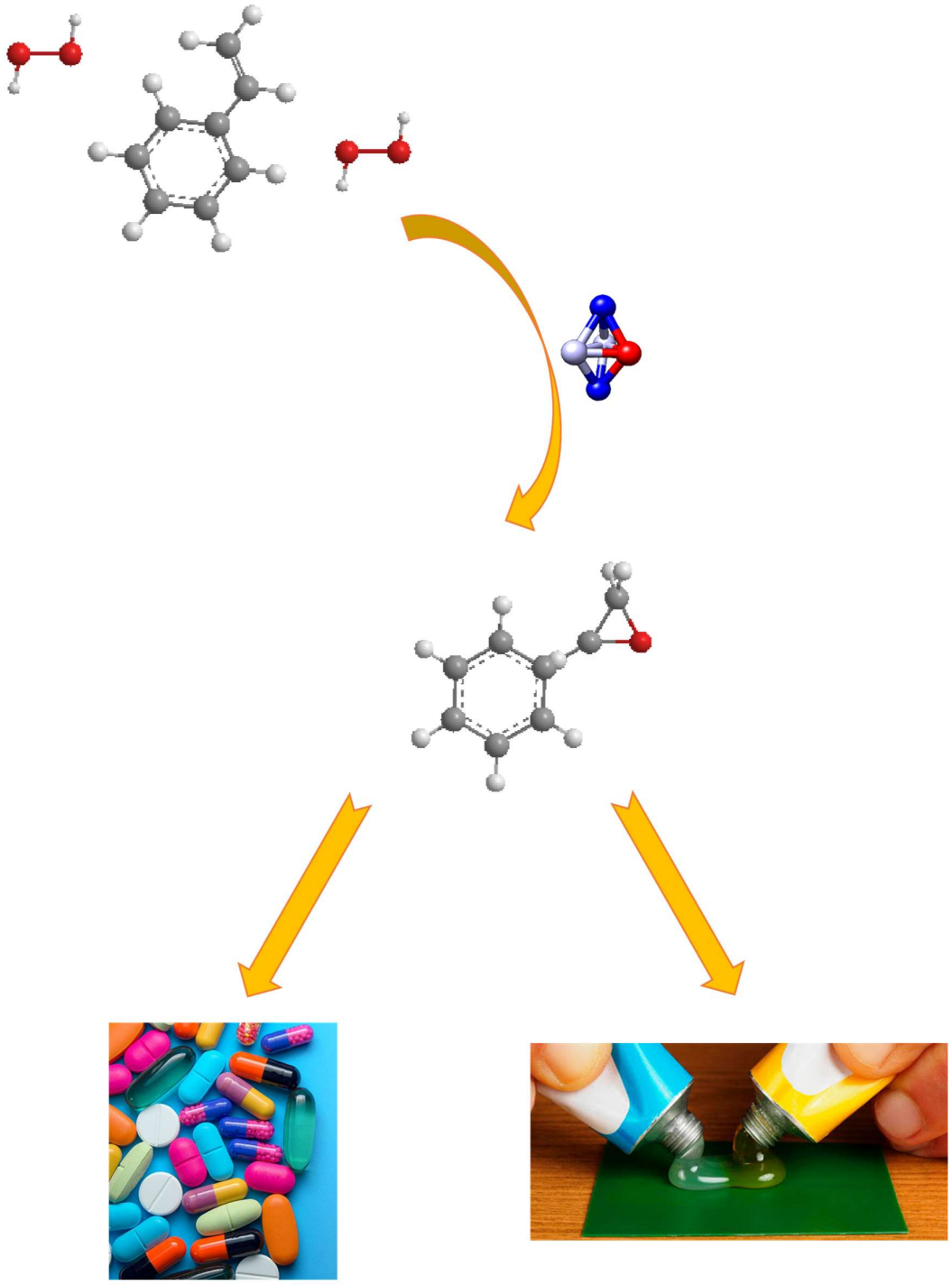
## 4. Conclusiones

Los clústeres cuánticos de 5 átomos de plata han demostrado ser unos magníficos catalizadores en la reacción de desactivación del radical modelo DPPH • . Además, las

cantidades de catalizador necesarias para llevar a cabo la desactivación del radical son muy pequeñas que hacen a estos clústeres unos candidatos realmente interesantes en este campo, pues solamente 10 clústeres de $Ag_5$ bastan para reducir un millón de radicales DPPH • . Además, y con el fin de acercar este hallazgo más a su aplicación real, se llevaron a cabo medidas con polímeros de interés industrial como son el PI y el ABS, demostrando que previenen la degradación de éstos aun cuando se usan cantidades muy pequeñas con un recubrimiento en torno al 4 %.

Por último, esta sencilla prueba de desactivación del radical DPPH • se está utilizando hoy en día en el grupo de investigación en el que se enmarca la presente tesis doctoral como una de las técnicas de caracterización de $Ag_5$-AQCs purificados, pues, con una mínima cantidad de muestra y con un simple espectro de absorción UV-Visible nos permite conocer la eficiencia de los mismos.

# III. Epoxidación de Estireno



## 1. Introducción

La epoxidación se define como la oxidación de olefinas para formar un epóxido cíclico y es un proceso industrial muy importante para la obtención de numerosos compuestos orgánicos, por ejemplo, cada año se producen 4.5 millones y 70 000 de toneladas de óxido de propileno y epóxido de buteno, respectivamente[66].

Los epóxidos son compuestos de alto valor añadido porque se emplean en la síntesis de numerosos productos industriales como perfumes, preparaciones antihelmínticas, resinas epoxi, recubrimientos de superficies, plastificantes, diversos medicamentos, edulcorantes[67], etc. En este sentido, uno de los epóxidos con mayor interés industrial es el de estireno, que es el objeto de estudio de este capítulo. El epóxido de estireno se utiliza como agente diluyente de resinas epoxi[68], agente saborizante, absorbente de ultravioleta, etc. Además, es un importante intermedio de múltiples síntesis de compuestos orgánicos y de importantes compuestos farmacéuticos como son el Fluoxetine y el Norfluoxetine[69].

Por todas estas aplicaciones industriales, el desarrollo de nuevas rutas sintéticas para la preparación del epóxido de estireno que sean más simples, con menos pasos de reacción y más baratas es uno de los objetivos principales para los científicos y las empresas que trabajan en este campo. Y algo, todavía más importante si cabe, que se busca con gran esmero en estos nuevos

desarrollos sintéticos es que sean respetuosos con el medioambiente, esto es, que usen menos disolventes orgánicos, menos número de etapas con el menor número de subproductos por etapa posible y agentes oxidantes en menor cantidad y con menor agresividad y peligrosidad. Por el momento, el proceso tradicional para conseguir el epóxido de estireno usa cantidades estequiométricas de perácidos como agentes oxidantes que, aparte de ser caros, son peligrosos y no son selectivos para la formación del epóxido, dando lugar a muchos subproductos contaminantes para el medio ambiente.

En este sentido, el principal objetivo en este tipo de estudios es sustituir el agente oxidante por oxígeno molecular, que sería sin duda el oxidante ideal. Por desgracia, ahora mismo la oxidación aeróbica es difícil de controlar y a veces da como resultado la combustión total, con lo cual se tiene que llevar a cabo con bajas concentraciones para evitar la sobreoxidación, lo que provoca una baja conversión. Por este motivo no existe hoy en día una solución para poder utilizar oxígeno molecular en la epoxidación de estireno.

Otro oxidante verde que está captando la atención en los últimos años para reacciones en fase líquida es el peróxido de hidrógeno ($H_2O_2$). El peróxido de hidrógeno tiene un alto contenido en especies de oxígeno y da agua como subproducto, por ello es un agente oxidante completamente respetuoso con el medioambiente. Además, es relativamente barato[70] con un valor por kilogramo inferior a 0.7 $ americanos para peróxido de hidrógeno puro (100 % $H_2O_2$). Por este motivo se emplean anualmente 2.4 millones de toneladas métricas, principalmente como agente blanqueante. Hay que destacar que para que los

procesos industriales sean seguros, las reacciones que usen peróxido de hidrógeno como oxidante no pueden contener una concentración mayor al 60 % debido a las dificultades de almacenamiento que suponen concentraciones superiores.

El $H_2O_2$ se usa frecuentemente para la síntesis de productos químicos de alto valor añadido, como productos farmacéuticos o agrícolas, y para materiales electrónicos que requieren alta pureza[70]. De hecho, existe una tendencia a utilizar peróxido de hidrógeno como agente oxidante en procesos con grandes volúmenes como la síntesis de caprolactama (Sumitomo Chemical Co.)[71] y la oxidación de propileno (BASF and Dow Chemical Co.)[72]. El problema es que en algunos casos el uso de disoluciones acuosas con alta polaridad reduce la selectividad del epóxido debido a su isomerización e hidrólisis formando otros productos.

En la comunidad científica se han llevado a cabo numerosos esfuerzos con el fin de desarrollar un catalizador adecuado para la epoxidación de estireno, por ejemplo, un catalizador de titanio-silicio (TS-1) se usó como catalizador sólido junto con $H_2O_2$ como agente oxidante obteniendo solo un 56 % de conversión después de 12 horas de reacción a 40 °C en acetona, esta misma reacción se estudió cambiando el agente oxidante por urea/peróxido de hidrógeno anhidro obteniendo un aumento del rendimiento a 71 % de conversión después del mismo tiempo de reacción[67]. También aerogeles[68] compuestos de $TiO_2$-$SiO_2$ se sugirieron como catalizadores de esta epoxidación con peróxido de hidrógeno en DMF encontrando que son necesarias 6 horas de reacción y 60 °C para

conseguir un 20.1 % de conversión - siendo la máxima teórica 50 % al usar una relación [n ($H_2O_2$)/n(estireno)] = 0.5 para controlar la descomposición del $H_2O_2$- con tan sólo un 43.4 % de selectividad.

Hay algunos trabajos que utilizan partículas magnéticas como soportes del catalizador en la epoxidación de estireno, que permiten separar muy fácilmente el mismo tanto de reactivos como de productos. Algunos ejemplos que se encuentran en la bibliografía son el complejo de salofén de cis-dioxo-Mo (VI) soportado en nanopartículas paramagnéticas de $Fe_3O_4$@$SiO_2$. En este caso, utilizan hidroperóxido de tertbutilo (TBHP) como agente oxidante en 1, 2-dicloroetano consiguiendo un 70 % de conversión a 80 °C, después de 2 horas de reacción[73]. En las mismas condiciones de reacción también se estudió $Fe_3O_4$@APTMS/fluorene-SB-$MoO_2$ obteniendo un 60 % de conversión y una selectividad del 100 % después de 2 horas de reacción[74]. También se ha utilizado $NiFe_2O_4$@Mo, usando el mismo agente oxidante que en el caso anterior, pero esta vez con tetracloro metano como disolvente de reacción y se obtuvo una conversión del 88 % y una selectividad del 82 % después de 5 horas de reacción[75]. Se estudió asimismo el α-$Fe_2O_3$ usando un 70 % de TBHP como agente oxidante en acetonitrilo y, después de 6 horas de reacción a 80 °C, se consiguió un 73 % de conversión con una selectividad para el epóxido de estireno del 77 %[76].

En el campo de la biocatálisis hay algunos estudios donde las enzimas monooxigenasas de estireno (SMOs) convierten al estireno en óxido de estireno usando oxígeno como agente oxidante. La actividad es muy dependiente del

microorganismo del que se extraiga la oxigenasa, por ejemplo, para la oxigenasa obtenida de *Escherichia coli* (*E. coli* ), se obtuvo una conversión del 86.9 % después de 8 horas de reacción[77-79].

Los metales han sido ampliamente usados como catalizadores de la epoxidación de alquenos. Hoy en día se conoce que su catálisis es altamente dependiente de su tamaño, como ha sido reportado, por ejemplo, en la epoxidación de etileno y propileno por nanopartículas[80-84] de oro y plata. En el caso que nos ocupa en este capítulo, la epoxidación de estireno, un gran número de nanopartículas metálicas han sido estudiadas en los últimos años como catalizadores de esta epoxidación. A modo de ejemplo, podemos citar las nanopartículas de cobre soportadas en nitruro de titanio utilizadas como fotocatalizadores usando oxígeno molecular como agente oxidante; la reacción se llevó a cabo con irradiación de luz visible a 60 °C usando 1,4-dioxano como disolvente y se consiguió un 95 % de conversión y un 81 % de selectividad para el epóxido después de 4 horas de reacción[85].

También se pueden encontrar en la bibliografía algunos trabajos que usan nanopartículas de plata como posibles candidatas para epoxidar el estireno, por ejemplo, Xiaosong Hu *et al.* usan 4A-zeolitas dopadas con Ag como catalizador usando hidroperóxido de terbutilo como agente oxidante y 82 °C, obteniendo una conversión del 70.1 % después de 6 horas de reacción[86].

También existen algunos trabajos, tanto teóricos como experimentales, que usan clústeres de plata como catalizadores de las epoxidaciones de alquenos,

por ejemplo, se ha visto que trímeros de plata y nanopartículas de plata de ~3.5 nm sobre alúmina pueden catalizar, usando oxígeno como agente oxidante, la epoxidación del propeno a bajas temperaturas[87]. En ese mismo trabajo utilizan cálculos DFT para entender la magnífica catálisis encontrada con clústeres de tres átomos de Ag, los cuales muestran una gran actividad y selectividad para la epoxidación, y que explican por su naturaleza de capa abierta. Los resultados encontrados sugieren que los clústeres son unos posibles candidatos para lograr una catálisis altamente eficiente para las reacciones de epoxidación. Por ello, en este capítulo se propone el uso de clústeres de 5 átomos de plata para catalizar la epoxidación de estireno en condiciones respetuosas con el medioambiente.

## 2. Materiales y métodos

Los resultados mostrados en este capítulo se desarrollaron durante una estancia en el laboratorio del Prof. Dr. Reinhard Schomäcker en la Universidad Técnica de Berlín.

Todos los compuestos químicos utilizados en este capítulo fueron comprados a la casa comercial Sigma Aldrich y las disoluciones acuosas se prepararon con agua ultrapura de grado HPLC de la casa comercial Alfa Aesar. En la tabla siguiente pueden verse los compuestos utilizados en este capítulo con su pureza correspondiente:

| *Nombre de Compuesto* | *Pureza* |
|---|---|
| Acetil acetato<br>Acetonitrilo<br>Agua | Grado HPLC |
| Estireno | 99 % |
| Epóxido de estireno | 97 % |
| Tolueno | 99.8 % |
| Peróxido de hidrógeno | 50 % |
| Nitrato de plata ($AgNO_3$) | ≥ 99 %, |
| Cloruro sódico (NaCl) | 99.99 % |

La actividad catalítica de los AQCs en la epoxidación de estireno usando peróxido de hidrógeno como agente oxidante se evaluó por cromatografía de gases (técnica explicada en detalle en el Anexo 1d) en un cromatógrafo de gases (GC) modelo 7890A de la casa comercial Agilent Technologies, provisto de un brazo inyector automático para muestras líquidas.

Debido a la volatilidad de los compuestos utilizados y el producto de reacción además de la autodescomposición que sufre el peróxido de hidrógeno, todas

las disoluciones fueron preparados en el momento de realizar la reacción. En un experimento típico, se dispuso un reactor provisto de un agitador magnético en el que se añadieron los reactivos en el siguiente orden: agua, acetonitrilo (en una relación 1:1 acetonitrilo: agua) y un volumen total de 5 mL, estireno (entre 25 y 100 mM según el experimento), tolueno (patrón interno, 1 equivalente), peróxido de hidrógeno (entre 0.1 y 20 equivalentes según los requerimientos del experimento) y $Ag_5$-AQCs ($2 \times 10^{-8}$ y $1 \times 10^{-6}$ M). Se selló el reactor con un septum y se introdujo en un baño termostatizado a 25 ó 50 °C según el experimento. Todos los experimentos se hicieron con agitación de 300 rpm.

Después de mezclar los reactivos en el reactor y tapar con un septum, se recogieron con una aguja alícuotas de 1 mL a distintos tiempos, a saber: inicial, 1.5, 3, 4.5, 6, 24 y 48 horas, dependiendo del experimento. En cada alícuota se procedía a realizar una extracción con 1 mL de acetil acetato que a continuación se introducía en un vial apto para el brazo inyector automático del cromatógrafo de gases.

El procedimiento de extracción consistió en añadir el mililitro de acetil acetato en 3 partes. Primero 333 µL, agitar vigorosamente y dejar separar en fases, coger la fase orgánica y repetir el proceso dos veces más sobre la parte acuosa. Las 3 porciones de fase orgánica fueron mezcladas en una única muestra final que se analizó en el GC.

Para cada reacción se realizó siempre un blanco con todos los reactivos, excepto el catalizador ($Ag_5$-AQCs), siguiendo exactamente el mismo

procedimiento que con la muestra para evaluar la interferencia del proceso experimental en la reacción y para asegurarnos de que las pérdidas de estireno no se debían a algún artefacto, como una evaporación o a una mala extracción de los reactivos.

Además, se hicieron también blancos sin catalizador, pero con otras sustancias presentes en las muestras de clústeres de plata de 5 átomos, debidas al proceso de síntesis, como NaCl 0.1 M o iones de plata utilizando una sal de nitrato de plata $1 \times 10^{-7}$ M.

Los valores de rendimiento (Ecuación III.1) y selectividad (Ecuación III.2) se calcularon utilizando las siguientes ecuaciones:

$$Rendimiento = \frac{[Estireno]_0/[Tolueno]_0 - [Estireno]_t/[Tolueno]_t}{[Estireno]_{0/[Tolueno]_0}} \times 100 \qquad \text{(III.1)}$$

$$Selectividad = \frac{[Epóxido]_t/[Tolueno]_t}{[Estireno]_0/[Tolueno]_0 - [Estireno]_t/[Tolueno]_t} \times 100 \qquad \text{(III.2)}$$

## 3. Epoxidación de Estireno con $H_2O_2$ catalizada por $Ag_5$-AQCs

Los resultados mostrados en este capítulo se desarrollaron durante una estancia en el laboratorio del Prof. Dr. Reinhard Schomäcker, en la Universidad Técnica de Berlín.

Se estudió la catálisis de los $Ag_5$-AQCs en la epoxidación de estireno usando peróxido de hidrógeno como agente oxidante y para ello se comenzó con la puesta a punto del método de cromatografía de gases para separar el disolvente (acetil acetato), el patrón interno (tolueno), el reactivo (estireno) y el producto (epóxido de estireno). Tal y como puede verse en la **Figura 26 A** podemos separar perfectamente todos los compuestos involucrados en esta reacción. Además, y con el fin de identificar cada uno de los picos del cromatograma, se inyectaron también cada uno de ellos por separado conociendo así su tiempo de retención, a saber: acetil acetato a 3.7 min, tolueno a 5.1 min, estireno a 6.85 min y epóxido de estireno a 9.5 min. Para poder llevar a cabo una cuantificación de las especies se añadieron cantidades conocidas y crecientes de estireno y su epóxido y una cantidad fija de tolueno que se emplea como patrón interno y así se obtuvieron las rectas de calibrado (ver **Figura 26 B**) para el reactivo y el producto de la reacción.

Uno de los inconvenientes que nos encontramos en este estudio, fue que los $Ag_5$-AQCs que se usan en este trabajo son sintetizados en agua, pero el estireno no es soluble en ella y, además, la columna del cromatógrafo de gases no era compatible con agua.

Por ello, para dar solución al primer problema mencionado se decidió utilizar el acetonitrilo como disolvente que disuelve el estireno y que es miscible con agua, así podríamos seguir estudiando la catálisis homogénea y no introducir dos fases con la problemática que ello conlleva, puesto que las reacciones entre dos fases son tremendamente complicadas y en la mayoría de las veces no es

suficiente con una buena agitación para que ambas fases entren en contacto y reaccionen; de hecho, en la bibliografía, se encuentran múltiples ejemplos en los que se usan catalizadores de transferencia de fases[88] para poder emplear un catalizador insoluble en un medio de reacción. En cuanto al problema del agua en la columna se decidió hacer un paso de extracción después de la reacción, previo a la introducción de la muestra en el GC, para lo que se utilizó acetil acetato.

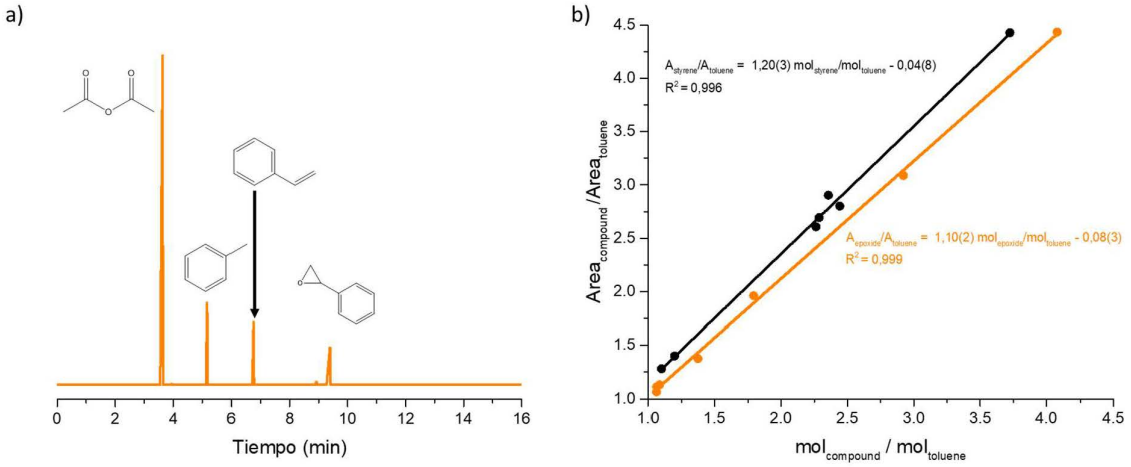



**Figura 26** a) Cromatograma de las especies implicadas en la epoxidación de estireno (acetil acetato, tolueno, estireno, epóxido de estireno). b) Rectas de calibrado de la concentración de estireno (negro) y epóxido (naranja) normalizadas por patrón interno tolueno.

El proceso de extracción se evaluó realizando numerosos experimentos con una mezcla de concentraciones conocidas y similares a las usadas en los experimentos de estireno, tolueno y epóxido; así se probó a realizar la extracción con acetil acetato con distintos volúmenes y con distintos pasos, a

saber: todo el volumen añadido en un paso, en 2, en 3 y en 5, encontrándose que la extracción óptima se conseguía con una adición en 3 pasos, utilizando una relación 1:1 acetil acetato : mezcla de reacción.

También se estudió la estabilidad de los compuestos de interés (estireno, tolueno y epóxido) en las condiciones de trabajo, tanto en función de la temperatura como del tiempo. Se encontró que las disoluciones eran estables más de una semana almacenadas en nevera, lo que nos permitió guardar alícuotas a distintos tiempos y medirlas todas juntas, evitando así variaciones debidas al estado del GC en el momento de la medida. Además, se hicieron estudios de evaporación con las temperaturas de trabajo, 25 y 50 °C, observando que, en el reactor utilizado provisto de septum, no perdíamos ninguno de los compuestos durante los tiempos normales de trabajo (hasta 72 horas).

Una vez que se comprobó que el montaje y el procedimiento experimental eran los adecuados para estudiar la reacción, se comenzó con el estudio de las condiciones óptimas para llevar a cabo la reacción. Así se exploraron distintas cantidades de estireno (25, 50 y 100 mM), de $H_2O_2$ (0.1, 1, 2, 4, 10 y 20 equivalentes) y de $Ag_5$-AQCs ($2 \times 10^{-8}$ y $1 \times 10^{-6}$ M), así como distintas temperaturas (25 y 50 °C) y tiempos (1.5, 3, 4.5, 6, 24 y 48 horas).

Para comenzar el estudio se fijaron dos tiempos de reacción: un tiempo largo de 24 horas y un tiempo corto de 3 horas; a continuación, se fueron variando el

resto de los parámetros de reacción hasta encontrar las condiciones óptimas a las que llevar a cabo reacción.

Así, fijando el tiempo en 24 horas (ver **Tabla 3**), se comenzó a estudiar el efecto de los equivalentes de $H_2O_2$ encontrando que, a menor número de equivalentes, más epóxido de estireno obtenemos y que para los valores más altos de equivalentes (10 y 20) se obtienen productos de sobreoxidación que no son los deseados en esta reacción. El número óptimo de equivalentes en este caso es de 2. También se estudió el efecto de la temperatura, observando que, a mayor temperatura, mayor rendimiento, pero la selectividad para el epóxido no se veía aumentada, con lo cual se generan más productos indeseados, por ello, la temperatura óptima se fijó en 25 °C. Por otro lado, se estudió el efecto de la concentración de estireno, encontrando que, a mayor concentración de estireno, mayor rendimiento de reacción. Por último, se observó que, para una mayor concentración de catalizador, mayor es el rendimiento de la reacción.

Por tanto, las condiciones óptimas encontradas fijando el tiempo en 24 horas, son 50 mM de estireno, 2 equivalentes de oxidante y 25 °C obteniendo un rendimiento del 77 % y una selectividad del 16 %.

**Tabla 3** Rendimiento y selectividad para el epóxido de estireno para la reacción de epoxidación de estireno usando $H_2O_2$ como agente oxidante y $Ag_5$-AQCs como catalizadores en distintas condiciones experimentales después de 24 horas de reacción.

| [AQCs] (mM) | [Estireno] (mM) | [$H_2O_2$] (eq) | T (°C) | Rendimiento (%) | Selectividad para Epóxido de Estireno (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| $2.80 \times 10^{-5}$ | 50 | 2 | 25 | 60.83 | 15.47 |
| | 50 | 2 | 25 | 77.27 | 20.90 |
| | 100 | 2 | 50 | 75.62 | 4.03 |
| $8.00 \times 10^{-5}$ | 50 | 2 | 25 | 52.50 | 2.72 |
| | 25 | 2 | 25 | 17.03 | 18.97 |
| | 25 | 1 | 25 | 46.39 | 3.51 |

ro lado, se decidió estudiar la influencia de los distintos parámetros a un tiempo más corto, escogiendo en este caso 3 horas de reacción (ver **Tabla 4**) y se obtuvo que la concentración de estireno óptima y el número de equivalentes de oxidante óptimos eran, al igual que antes, 50 mM y 2 equivalentes, respectivamente.

**Tabla 4** Rendimiento y selectividad para el epóxido de estireno para la reacción de epoxidación de estireno usando $H_2O_2$ como agente oxidante y $Ag_5$-AQCs como catalizadores en distintas condiciones experimentales después de 3 horas de reacción

| [AQCs] (mM) | [Estireno] (mM) | [$H_2O_2$] (eq) | T (°C) | Rendimiento (%) | Selectividad para Epóxido de Estireno (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| $8.02 \times 10^{-4}$ | 25 | 2 | 50 | 49.09 | 6.44 |
| | 50 | 2 | 50 | 50.09 | 8.50 |
| $8.00 \times 10^{-5}$ | 50 | 2 | 25 | 56.35 | 0.80 |
| | 25 | 2 | 25 | 21.84 | 7.27 |
| | 25 | 1 | 25 | 49.18 | 1.69 |
| | 25 | 1 | 50 | 20.27 | 13.65 |

A diferencia de los resultados encontrados a las 24 horas de reacción (resumidos en la **Tabla 3**), en este caso se observó que, para un menor número de equivalentes de peróxido, la temperatura debería de incrementarse para obtener un mejor rendimiento. También se obtuvo que, si aumentamos la concentración de AQCs un orden de magnitud, la selectividad baja, aunque el rendimiento se ve incrementado.

Si comparamos ambas tablas se puede observar que, para unas mismas condiciones de reacción, el rendimiento y la selectividad apenas se ven alterados con el cambio en el tiempo de reacción, lo que parece indicar que la reacción ya está concluida a las 3 horas. El hecho de que la reacción se detenga sin consumirse todo el estireno, nos indica que el reactivo limitante en este caso es el peróxido de hidrógeno y que, en estas condiciones de reacción, perdemos parte del mismo sin que se complete la oxidación. Probablemente, el peróxido de hidrógeno se está descomponiendo en el medio de reacción ya que, como se explicó anteriormente, se desproporciona con facilidad, y por eso no conseguimos la conversión completa del estireno. Aunque el corto tiempo de la estancia en la TUB no nos permitió concluir estos estudios, se piensan concluir probando a añadir más concentración de peróxido de hidrógeno a distintos tiempos para evitar que la reacción se detenga a causa de la ausencia de oxidante.

Si comparamos los resultados obtenidos para la epoxidación de estireno usando peróxido de hidrógeno como agente oxidante y los $Ag_5$-AQCs como catalizadores, con los resultados obtenidos con otros catalizadores que se encuentran en la bibliografía (ver **Tabla 5**), podemos ver que, no solamente que en nuestro caso la cantidad de catalizador es ~4 órdenes de magnitud inferior, si no que en la bibliografía no existe ningún catalizador sintético que lleve a cabo la epoxidación de estireno a temperatura ambiente (25 °C).

**Tabla 5** Resumen de los catalizadores bibliográficos para la epoxidación de estireno comparando con los $Ag_5$-AQCs.

| Catalizador | Estireno (g) /catalizador (g) | Equivalentes Oxidante | T (°C) | t (h) | Rendimiento (%) | Ref. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $Ag_5$-AQCs | $6 \times 10^4$ | 2 | 25 | 3 | 56 | Esta tesis |
| Material Compuesto $TiO_2$-$SiO_2$ | 4 | 2 | 60 | 6 | 20.1 | [68] |
| α-$Fe_2O_3$ | 50 | 3 | 80 | 6 | 56.3 | [89] |
| Ag-dopado 4A-zeolite | 18 | 5 | 82 | 6 | 70 | [86] |
| Oxigenasa de E. Coli | - | - | - | 8 | 86.9 | [77–79] |
| Nanoláminas 2D de NiO con poros tipo Loto | 21 | 1 | | 12 | 85 | [90] |
| Mn-dopado $CeO_2$ | 10 | 2 | 80 | 12 | 97.1 | [91] |
| OV-$Co_3O_4$ | 16 | 3 | 80 | 6 | 70 | [92] |

Aunque el rendimiento que obtenemos no es el deseado (56 %), no está alejado de otros encontrados en la bibliografía y en nuestro caso el tiempo de reacción es muy inferior a la media. Además, utilizamos uno de los oxidantes más

respetuosos con el medioambiente con lo cual estamos llevando a cabo un proceso de química verde, con cortos tiempos de reacción y baja temperatura. A modo de ejemplo, la enzima oxigenasa de *E. coli*[77–79] necesita al menos 8 horas de reacción y las nanopartículas de plata necesitan 6 horas y más de 80 °C para llevar a cabo esta catálisis[86].

Por último, se hicieron experimentos preliminares cambiando el oxidante por oxígeno atmosférico, pero esta parte aún está siendo objeto de estudio y es un trabajo posterior a esta tesis doctoral del que no se pueden exponer todavía conclusiones definitivas.

## 5. Conclusiones

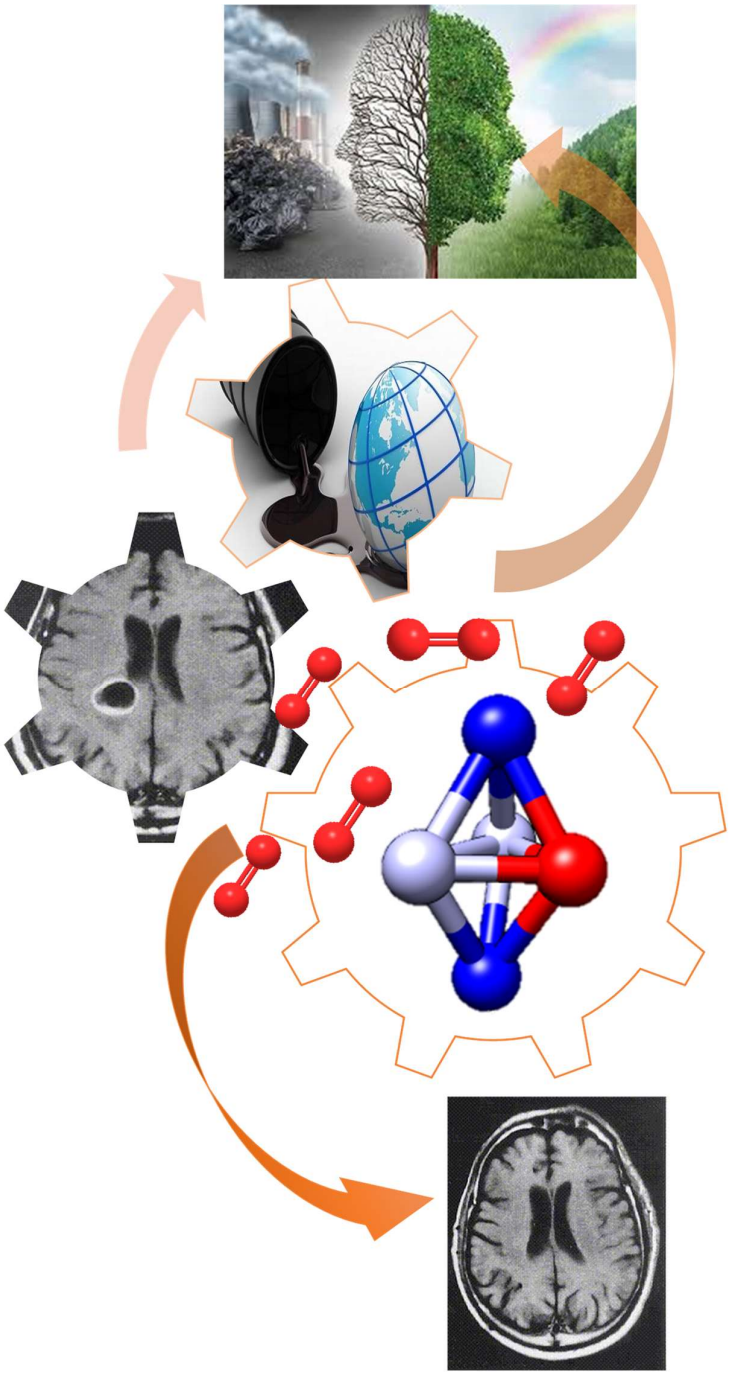
En este capítulo se estudió la catálisis de la reacción de epoxidación de estireno mediante $Ag_5$-AQCs utilizando peróxido de hidrógeno como agente oxidante. Se estudió la influencia de la concentración de estireno, la de $Ag_5$-AQCs y la de peróxido de hidrógeno, además de la influencia de la temperatura y del tiempo de reacción, encontrando que las condiciones óptimas de reacción son: 50 mM de estireno, 2 equivalentes de $H_2O_2$ y 25 °C, con las que se obtiene un rendimiento del 56 % y del 77 % después de 3 horas y 24 horas de reacción, respectivamente.

Como conclusión podemos decir que los clústeres de Ag son el catalizador empleado en menor cantidad de los encontrados en la bibliografía para esta reacción y los que menor tiempo de reacción y temperatura necesitan, además

de utilizar un agente oxidante respetuoso con el medioambiente. El uso de $Ag_5$-AQCs es, por tanto, una alternativa prometedora en este tipo de procesos tanto desde el punto de vista económico como ambiental.

De todas formas, esta reacción aún sigue siendo objeto de estudio: 1) porque el rendimiento encontrado se ve menguado debido a la descomposición que el peróxido de hidrógeno sufre antes de completar la oxidación, por lo que en un trabajo futuro se explorará la posibilidad de añadir más cantidad cuando la reacción se detiene sin consumir el estireno; 2) Se estudiará la posibilidad de cambiar el agente oxidante por oxígeno atmosférico, ya que como se verá en el próximo capítulo de esta tesis doctoral, los $Ag_5$-AQCs activan fuertemente al oxígeno atmosférico, con lo que podríamos disminuir aún más los tiempos y las temperaturas de reacción, además de usar el agente oxidante más respetuoso con el medio ambiente que se puede emplear.

# IV. Oxidación Catalítica de compuestos de Azufre



## 1. Introducción

La oxidación de compuestos de azufre es uno de los grandes retos de la sociedad actual y abarca ámbitos tan diferentes como la sanidad y la industria petroquímica.

Por una parte, el azufre es un elemento esencial con una química muy importante en los organismos vivos, ya que se encuentra presente en numerosas moléculas biológicas orgánicas como, por ejemplo, en los aminoácidos cisteína y metionina, o el tripéptido glutatión. También está presente en forma de grupos de Fe-S, esenciales para la actividad de muchas enzimas, en particular las que participan en las reacciones redox.

El azufre presenta muchos estados de oxidación con valores que van desde -2 a +6 y por ello presenta una gran reactividad. Por esta razón la química del azufre resulta fundamental en numerosas actividades del metabolismo, ya que los azufres se pueden oxidar y reducir fácilmente de forma reversible. Al igual que el oxígeno y el nitrógeno presentan especies reactivas (ROS y RNS respectivamente), el azufre también puede formar especies sulfuradas reactivas (RSS)[93] que se pueden generar tanto en condiciones oxidativas dependientes de ROS y RNS en la naturaleza[94–96] , como en condiciones fisiológicas en las que se generan en forma reducida. Por ello, las especies reactivas de azufre se pueden definir como “moléculas que contienen azufre con actividad redox y que son capaces, en condiciones fisiológicas, de oxidar o reducir biomoléculas"[97].

Además, las especies reactivas de azufre no solo pueden intervenir en reacciones redox, si no que a veces sufren sustituciones nucleofílicas, razón por la cual algunas reacciones mediadas por RSS no son atenuadas por algunos protectores de oxidación donantes de electrones comunes como NAD(P)H, ácido ascórbico (vitamina C) o el tocoferol (vitamina E)[93], si no que el control de la oxidación de compuestos biológicos tiolados está mediado por el grupo tiol de las cisteínas que se encuentran en moléculas antioxidantes como el glutatión[98] o en la familia de proteínas llamadas tiorredoxinas[99]. La oxidación del tiol intramolecular es reversible[100] y su estado de oxidación normal se restaura rápidamente por la acción de estos mecanismos antioxidantes[101], que son una de las principales herramientas que emplean las células para mantener la homeóstasis celular.

De todos modos, si el estrés oxidativo persiste o es excesivo, puede sobrepasar estos mecanismos[101] desencadenando la muerte celular. Este hecho motivó el estudio de los $Ag_5$-AQCs como agentes antitumorales, pues el estado redox de las células cancerígenas es más oxidante[102] y esta vulnerabilidad se puede utilizar para matar preferiblemente células cancerosas y con ello, obtener terapias anticancerígenas[103] más eficientes que las actuales.

Por otra parte, la producción de energía es una de las mayores preocupaciones en los últimos años y a pesar de sus numerosos efectos negativos sobre el medio ambiente, los combustibles fósiles siguen teniendo un importante papel en la estructura energética. Uno de los efectos adversos que pueden derivarse del uso de combustibles fósiles se debe a su alto contenido en compuestos organosulfurados, ya que la combustión de carbón con alto contenido en azufre provoca emisiones de

óxidos de azufre ($SO_x$) que conllevan serios problemas, tanto a nivel ambiental como en la salud de los humanos[104,105]. Además, cuando estas especies $SO_x$ reaccionan con el agua presente en la atmósfera se forman sus ácidos oxácidos ($H_2SO_3$, $H_2SO_4$) dando lugar a la lluvia ácida, que conlleva problemas ambientales, tales como el deterioro de monumentos y edificaciones al disolver el carbonato cálcico[106]; la acidificación de los suelos con el correspondiente desequilibrio de los ecosistemas, y aumento del efecto invernadero.

Por todas estas razones, la industria petroquímica invierte muchos recursos anualmente tratando de eliminar el azufre que puedan contener sus compuestos. Además, el contenido de azufre en los carburantes está regulado por los gobiernos para evitar sobrepasar niveles de concentración que puedan resultar perjudiciales. Concretamente, existen leyes tanto internacionales, como europeas[107] o españolas[108] que regulan el contenido de azufre en los carburantes. Por ejemplo, en España no se permite el uso de gasóleos comerciales con un contenido de azufre mayor de 0.10 % en masa.

Aparte de sus efectos en el medioambiente y en la salud, la presencia de compuestos altamente sulfurados en las industrias petroquímicas puede dar lugar a ácido sulfúrico, el cual puede causar grandes pérdidas económicas debido a la posibilidad de corrosión en la maquinaria, así como también en las infraestructuras[109] y en los vehículos[110] de las plantas. Niveles altos de azufre en las fracciones de petróleo también pueden promover la inhibición de los catalizadores[111] y, por ello, se tienen que reducir los niveles de las distintas especies de azufre ($H_2S$, RSH, RSSR...) en muchos procesos de la refinería. El azufre puede causar inhibiciones significativas

incluso a concentraciones muy bajas debido a la formación de fuertes enlaces metal-azufre; éste es adsorbido y reacciona con los sitios activos del catalizador, impidiendo el acceso del reactivo. Adicionalmente, un enlace estable metal-adsorbato puede llevar a reacciones no selectivas, que modifican la química en la superficie. Además, si bien por lo general se comportan como inhibidores temporales, su efecto puede ser permanente en función de las condiciones de trabajo del proceso, la facilidad de regeneración del catalizador, etc.

Actualmente existen varias técnicas para reducir el contenido de azufre en los derivados del petróleo, proceso llamado desulfuración, generalmente mediante la reducción u oxidación de los compuestos sulfurados para su posterior separación, con el objetivo de cumplir los requisitos.

La hidrodesulfuración (HDS) es la técnica empleada en la mayoría de las industrias[112] y se ha venido usando desde 1933. La HDS permite eliminar compuestos sulfurados aromáticos como sulfonas, tiolatos, tioles y sulfóxidos. El proceso consiste en usar altas temperaturas (entre 290 y 455 °C) y presiones (entre 10 y 20 atm) para poder reducir estos compuestos de azufre a sulfuro de hidrógeno ($H_2S$) gas, con la ayuda de catalizadores metálicos como $CoMo/Al_2O_3$ o $NiMo/Al_2O_3$ y una corriente de hidrógeno molecular[113,114]. Después, el $H_2S$ se hace reaccionar con una corriente de oxígeno molecular y con la ayuda de catalizadores metálicos se recupera el azufre elemental[115].

Sin embargo, aunque este método reduzca las cantidades de S en los combustibles, también presenta numerosos problemas y limitaciones que desaconsejan su uso

entre las que se incluyen las condiciones extremas de trabajo, las dificultades a la hora de eliminar compuestos heterocíclicos sulfurados persistentes como el dibenzotiofeno y sus formas alquiladas, como el dimetildibenzotiofeno (DMDBT), que es uno de los compuestos de azufre menos reactivos[109]. Además, resulta una técnica costosa debido al gran consumo de $H_2$, al uso de catalizadores de coste elevado como cobalto/molibdeno y a que parte del hidrógeno no puede ser reutilizado, lo que disminuye la eficiencia energética y puede dar lugar a problemas de carácter ambiental. Además, la hidrodesulfuración presenta problemas para la reducción de las concentraciones de azufre por debajo de 15 ppm en diésel, lo que implica una reducción en la calidad del combustible[116].

Todas estas deficiencias que presenta la HDS han fomentado la búsqueda de nuevos métodos en la industria como la desulfuración oxidativa (ODS) que consiste en la oxidación de los compuestos orgánicos sulfurados a sus correspondientes sulfóxidos y sulfonas empleando agentes oxidantes fuertes. Los productos oxidados se eliminan posteriormente por extracción selectiva[117] debido a la diferente polaridad que presentan los sulfóxidos y sulfonas producidos y sus hidrocarburos de estructura similar.

La ODS proporciona numerosas ventajas cuando se compara con el método tradicional de hidrodesulfuración: puede realizarse empleando condiciones suaves de presión y temperatura, y no es necesario el uso de hidrógeno gas que es peligroso a las altas temperaturas con las que se trabaja, a la par que muy costoso. No obstante, la técnica ODS necesita grandes cantidades de agentes oxidantes y un procedimiento tedioso y costoso para separar y recuperar el catalizador; además, la

reacción suele presentar el inconveniente de poseer baja selectividad y actividad, lo que conlleva un aumento en el tiempo de reacción.

Debido a estos inconvenientes, el problema del azufre en los combustibles fósiles sigue siendo una de las mayores preocupaciones de la industria actual. Dentro de la comunidad científica hay un gran número de investigaciones dedicadas a buscar soluciones a este problema, como la pervaporación, consistente en el uso de membranas no porosas y la aplicación de vacío para separar los compuestos por formación de vapor[118]; o la biodesulfuración, que emplea microorganismos como biocatalizadores para eliminar el azufre[119].

En esta tesis doctoral se propone como alternativa a los procesos actuales, el uso de clústeres cuánticos atómicos como catalizadores de la oxidación de azufres empleando oxígeno atmosférico como agente oxidante.

## 2. Materiales y métodos

A no ser que se indique lo contrario, los clústeres de 5 átomos de plata y de cobre utilizados en este capítulo como catalizadores de las reacciones de oxidación de los compuestos de azufre, fueron sintetizados utilizando las síntesis electroquímicas descritas en el capítulo VI, sección 2 y sección 4, respectivamente. Además, todas las disoluciones acuosas fueron preparadas con agua de grado Milli-Q usando un sistema Direct-Q8UV de la casa comercial Millipore (Millipore Ibérica S.A., Madrid, España).

En la tabla siguiente pueden verse los compuestos utilizados en este apartado y la pureza de los mismos:

| *Nombre de Compuesto* | *Casa Comercial* | *Pureza* |
|---|---|---|
| L-Cisteína | Sigma Aldrich | >98 % |
| L-Glutatión | Sigma Aldrich | >98 % |
| Tiofenol | Sigma Aldrich | 99 % |
| Dibenzotiofeno | Acros Organics | 98 % |
| Agua ($H_2O$) | | Grado Milli-Q |
| Agua deuterada ($D_2O$) | Sigma Aldrich | 99.9 % |
| 2,2,4-trimetilpentano (Isooctano) | Sigma Aldrich | 99 % |
| 2,2,4-trimetilpentano-d18 (Isooctano deuterado) | Sigma Aldrich | 98 % |
| Tetrahidrofurano (THF) | Sigma Aldrich | HPLC |
| Tetrahidrofurano deuterado (THF-d) | Sigma Aldrich | 99.5 % |
| Nitrato de plata ($AgNO_3$) | Sigma Aldrich | ≥ 99 % |
| Cloruro sódico (NaCl) | Sigma Aldrich | 99.99 % |
| Nitrato de cobre (II) ($Cu(NO_3)_2$) | Sigma Aldrich | 98 % |
| Hidróxido sódico (NaOH) | Sigma Aldrich | >97 % |
| Carbón activo, Darco MRX M-2278 | Cabot | |

Los estudios con AQCs soportados (catálisis heterogénea) se llevaron a cabo poniendo diferentes cantidades (5-10 mg) de catalizador soportado (obtenido siguiendo el procedimiento experimental descrito en el capítulo VI, sección 5a) en una disolución 2 mM de compuesto orgánico de azufre (cisteína o DBT) y se dejó en un tubo abierto de 1.5 mL tipo *Eppendorf®* con agitación vigorosa durante 12 h aproximadamente. Después se centrifugó la muestra a 3 °C y 13 000 rpm durante 10 min y se separó la disolución que se llevó a analizar, quedando listo el catalizador para realizar otro ciclo de reacción.

Las reacciones de oxidación de azufre fueron caracterizadas utilizando resonancia magnética nuclear (RMN), técnica que se describe en detalle en el Anexo 1e, en los servicios generales de la USC. Esta técnica nos permite, no solo seguir la evolución del compuesto de partida, sino que nos ayuda a caracterizar el producto final de la reacción realizando distintas configuraciones que se detallarán en cada uno de los apartados siguientes. Para poder realizar correctamente el experimento de RMN se añadió un 10 % del disolvente deuterado correspondiente en cada caso, $D_2O$, THF-d, etc. Además, en todos los experimentos se añadió como referencia del desplazamiento de 0 ppm (trimethylsilyl)propionic-2,2,3,3-d4 (TSP).

Todas las medidas de RMN se llevaron a cabo en un espectrómetro Bruker NEO 750 cuyo campo magnético es de 17.61 T (750 MHz resonancia 1H) con una sonda PA-TXI-HFCN ($^{1}H$-$^{19}F$/$^{13}C$/$^{15}N$).

## 3. Oxidación de compuestos biológicos que contienen Azufre.

### a. Oxidación de la Cisteína

La cisteína (Cys) es un aminoácido con un grupo tiol en su cadena lateral (ver **Figura 27**) y es el azufre más fácilmente oxidable de los estudiados, por lo que fue el primero objeto de estudio.

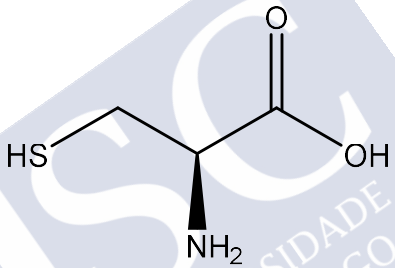



**Figura 27** Estructura de la L-cisteína.

El estudio de la oxidación de cisteína con oxígeno atmosférico catalizada por $Ag_5$-AQCs comenzó por una caracterización de la cisteína comercial disuelta en agua (ver **Figura 28**).

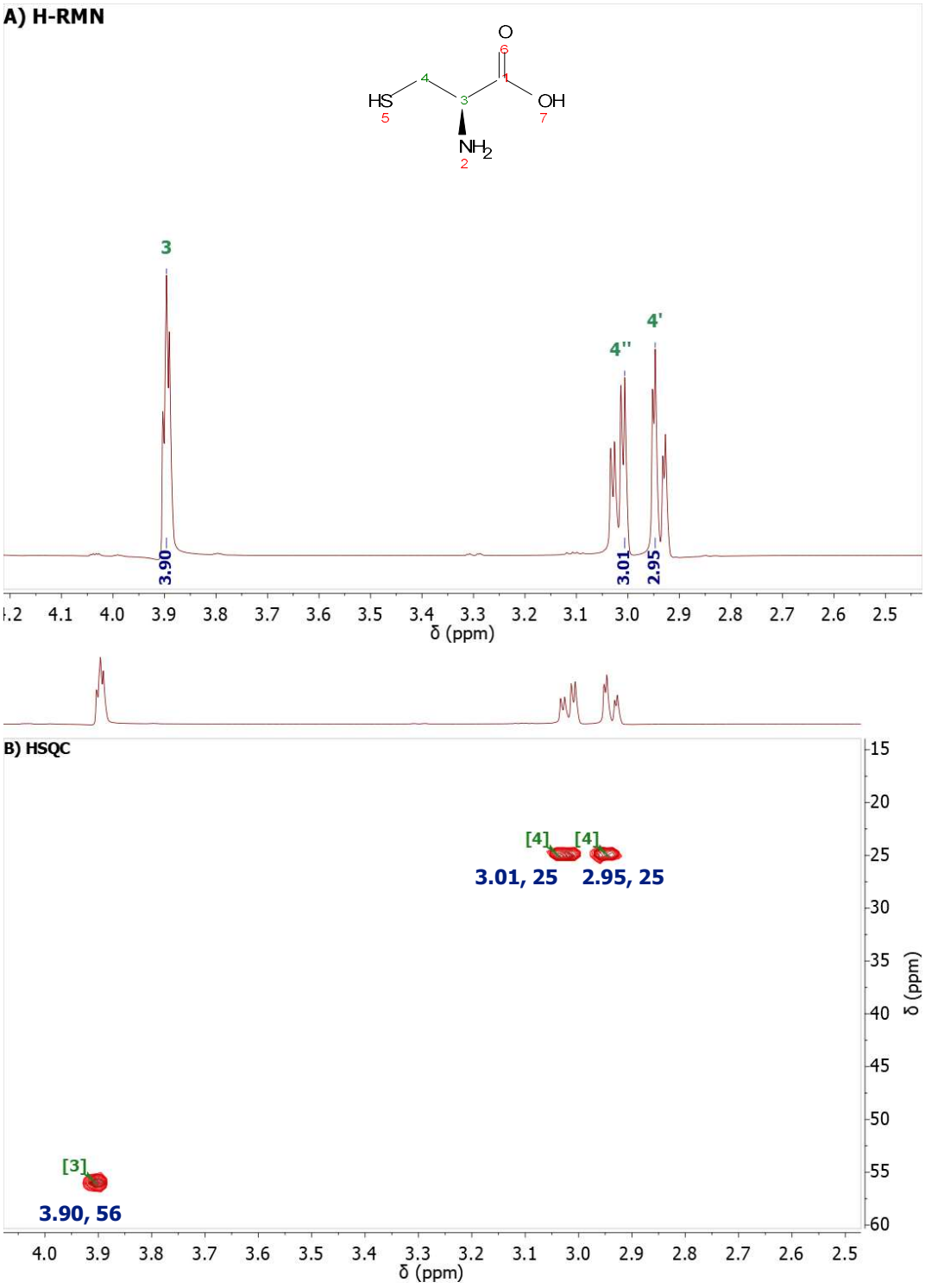



**Figura 28** Espectros de una disolución 10 mM de cisteína en agua A) $^{1}$H-RMN y B) HSQC.

Usando la técnica de RMN de protón podemos distinguir perfectamente los 3 protones que contiene la molécula de cisteína y que se muestran e identifican en la **Figura 28, A**; complementariamente podemos utilizar un experimento bidimensional protón-carbono, llamado espectroscopía de correlación heteronuclear de un único cuanto, conocido por sus siglas en inglés *(HSQC),* que nos da información de los carbonos que están directamente unidos a los protones que identificamos previamente.

Así, en la **Figura 28, B,** podemos ver las señales correlacionadas y su asignación a la molécula de cisteína: vemos que dos de los protones con desplazamientos 2.95 y 3.01 ppm (numerados como 4 en la molécula de la **Figura 28**) están unidos al mismo carbono con desplazamiento de 25 ppm (el carbono sustituido con el grupo tiol), mientras que el tercer protón (numerado como 3 en la molécula de la **Figura 28**) de la cisteína con desplazamiento de 3.95 ppm está unido a otro carbono con desplazamiento 56 ppm (carbono con el sustituyente amina).

Una vez que tenemos perfectamente identificados los protones y los carbonos característicos de la cisteína, estudiamos el efecto de las sustancias, diferentes a los clústeres, que están presentes en las muestras de $Ag_5$-AQCs (véase el proceso de síntesis detallado en el capítulo VI, sección 2), es decir, NaCl (ver **Figura 29, A**) y $AgNO_3$ (ver **Figura 29, C**). Aunque en este caso se estudiaron solo clústeres purificados con NaCl, se muestra también un blanco con $AgNO_3$ en la misma concentración de plata total que tienen las muestras después de purificarlas con NaCl, para comprobar que los iones de $Ag^+$ no tienen ningún efecto sobre la cisteína.

Así, se hicieron experimentos dejando la cisteína 24 horas en contacto con ambas sales observando que en ambos casos una pequeña parte de la cisteína dimeriza, formando cistina tal y como demuestra el desplazamiento del carbono contiguo al grupo tiol (coloreado en naranja en la predicción teórica mostrada en la **Figura 29, B**), que es el desplazamiento que más se distingue entre una molécula y la otra pasando de 25 ppm (cisteína) a 38 ppm (en el dímero, cistina). Por su parte, observamos también la presencia cisteína sin dimerizar (ver el blanco de cisteína en agua en la **Figura 28**). Podemos concluir, por tanto, que la cisteína en presencia de las sales NaCl y $AgNO_3$ permanece inalterada y solo una pequeña parte de ésta dimeriza formando pequeñas cantidades de cistina.

Una vez que tenemos perfectamente identificada la cisteína y que conocemos el efecto que las sales presentes en las muestras de $Ag_5$-AQCs tienen sobre ésta, podemos comenzar con el estudio de la catálisis de los AQCs en la oxidación con oxígeno atmosférico de la cisteína. Para ello, se realizaron diferentes ensayos añadiendo distintas cantidades de $Ag_5$-AQCs a una disolución de cisteína 2 mM y se dejaron reaccionar aproximadamente 12 h, observándose la completa desaparición de las señales características de la cisteína, lo cual demuestra que se consume completamente.

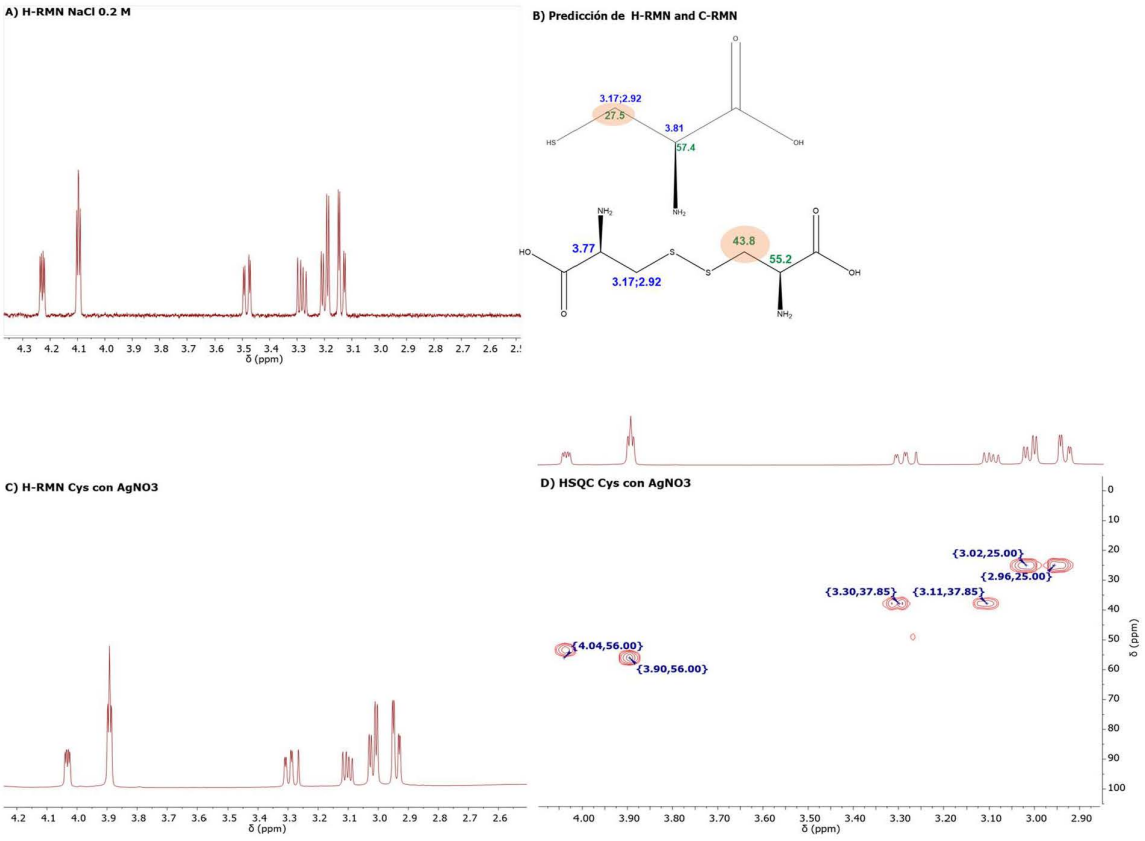



**Figura 29** A) $^{1}$H-RMN de una disolución de cisteína 2 mM con 0.2 M de NaCl en agua, B) Predicción de los desplazamientos de $^{1}$H-RMN y $^{13}$C-RMN para la cisteína (arriba) y la cistina (abajo), C) $^{1}$H-RMN y D) HSQC de una disolución de cisteína 2 mM con $AgNO_3$ en agua.

Por su parte, se observó una gran dependencia del producto de la reacción con la relación molar [$Ag_5$-AQCs]/[Cys], a saber: para relaciones menores o iguales a $10^{-5}$ el producto obtenido es cistina (ver **Figura 30 A y B)**, dímero de la cisteína, producto que -como indicamos- también se observa minoritariamente en los blancos mostrados en la **Figura 29**, pero que en este caso, en presencia de AQCs se obtiene como único producto, con una conversión del 100 %. Este resultado muestra una oxidación completa de la cisteína (estado de oxidación $S^{2-}$) al disulfuro (estado de

oxidación $S^{-1}$). Se repitió a continuación la reacción con relaciones molares mayores a $10^{-3}$.

Se observa ahora (ver **Figura 30 E y F)** una desaparición casi completa de las señales de protón y carbono, lo que indica que la cantidad de las sustancias generadas es menor que la que teníamos para la cisteína (que se detectaba perfectamente en los experimentos de los blancos realizados anteriormente). Este hecho nos indica que la molécula sufrió una fuerte fragmentación, lo que sugiere una completa oxidación de la parte orgánica de la molécula, pero su caracterización aún está siendo objeto de estudio.

Por último, se estudiaron relaciones molares intermedias (**Figura 30 C y D)** con valores en torno a $10^{-4}$ observando que se obtiene mezcla de cistina y productos más oxidados, intermedios entre la cistina y los productos de la completa oxidación. Además, en esta relación molar intermedia también se observa una disminución de las señales obtenidas con respecto a las obtenidas con la menor relación molar ($10^{-5}$), esto es, hay algún producto de oxidación que no estamos detectando como ocurre con la relación molar mayor ($10^{-3}$), en la que apenas se detectan unas señales bajas. Esto nos da idea de que parte de la cisteína se está fragmentando en partes pequeñas cuyas concentraciones no son detectables por $^1$H-RMN.

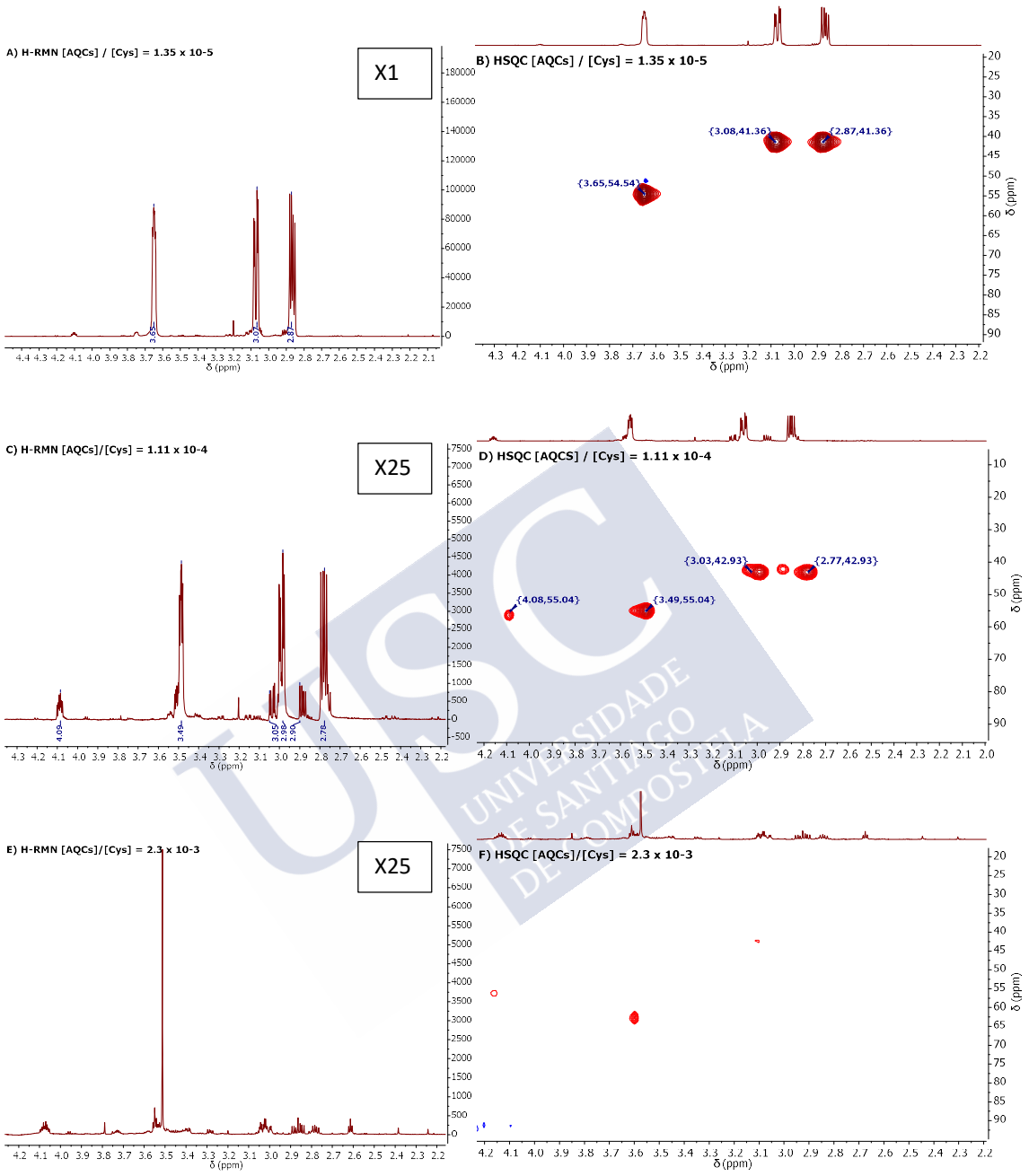



**Figura 30** Experimentos de cisteína 2 mM con distintas concentraciones de $Ag_5$-AQCs. A) $^1$H-RMN (sin aumento) y B) HSQC para una reacción con una relación [$Ag_5$-AQCs]/ [Cys] = 1.35 × $10^{-5}$. C) $^1$H-RMN (con un aumento de 25 veces) y D) HSQC para una reacción con una relación [$Ag_5$-AQCs]/ [Cys] = 1.11 × $10^{-4}$. E) $^1$H-RMN (con un aumento de 25 veces) y F) HSQC para una reacción con una relación [$Ag_5$-AQCs]/ [Cys] = 2.3 × $10^{-3}$.

Complementariamente a los estudios de RMN, se hicieron estudios en el laboratorio nacional de luz sincrotrón de Campinas en Brasil en colaboración con el grupo del Prof. Félix Requejo del Instituto de Investigación INIFTA de la Plata, donde también se observó esta dependencia del producto de reacción para las diferentes relaciones molares de [$Ag_5$-AQCs]/[Cys]. Así se pudo comprobar que todo el $S^{2-}$ del grupo tiol de la cisteína se transformaba en $S^{+6}$ cuando la relación molar era igual o mayor a $10^{-3}$, mientras que para relaciones molares mayores o iguales a $10^{-4}$ se observaban mezclas de estados de oxidación intermedios del azufre, a saber, $S^{-1}$, $S^{+2}$, $S^{+4}$. Por último, cuando las relaciones molares eran menores a $10^{-5}$ sólo se observaba el estado de oxidación $S^{-1}$. Por lo tanto, queda demostrada la eficiencia de los $Ag_5$-AQCs como catalizadores en la oxidación de la cisteína con oxígeno molecular consiguiendo la completa oxidación del tiol de la cisteína a su mayor estado de oxidación posible. Tal como se indicó anteriormente, el proceso que sufre la parte carbonada está siendo todavía objeto de estudio mediante diferentes técnicas para poder conocer la estructura carbonada resultante de la oxidación completa al mayor estado de oxidación $S^{+6}$.

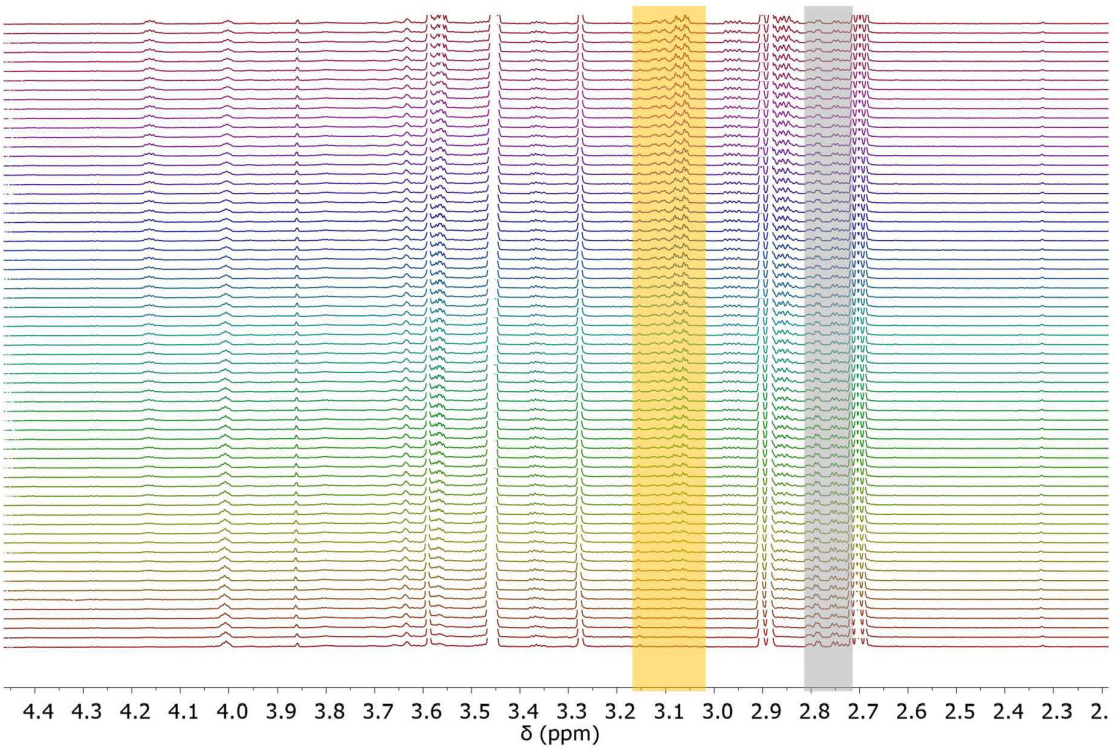
Además, se realizaron cálculos DFT en colaboración con el Prof. Giampaolo Barone para explicar la oxidación completa de los azufres por la acción catalítica de los AQCs y los detalles se muestran en el Anexo 5.

El hecho de que la relación de concentraciones entre [$Ag_5$-AQCs]/[Cys] esté entre $10^{-3}$ y $10^{-5}$ (ver **Figura 30),** indica que los clústeres no son una de las especies reactivas, si no que están actuando como catalizadores de la reacción.

En este caso, el oxígeno atmosférico es el agente oxidante y los AQCs son un mero vehículo para el transporte de electrones desde el azufre hasta el oxígeno.

Para entender los mecanismos involucrados en la reacción, se realizó un estudio cinético siguiendo la evolución de los espectros de protón para una relación intermedia de [$Ag_5$-AQCs]/[Cys] = $4.5 \times 10^{-4}$ (ver **Figura 31**). Se utilizó esta relación para ralentizar suficientemente la reacción y poderla seguir por RMN ya que el tiempo de cada experimento es de ≈10 minutos.

En la **Figura 31** se puede observar que en el primer espectro ya tenemos toda la cisteína en forma de dímero. Aunque esto es difícil de deducir observando solamente el espectro $^1$H-RMN, podemos ver que, en la **Figura 30** las señales a los desplazamientos de 2.77 y 3.03 tienen el desplazamiento del carbono asociado al dímero y que son señales similares a la que ahora encontramos inicialmente (después de 15 minutos tras la mezcla de reacción y el final de la medida de RMN para este primer espectro). Así, podemos concluir que la completa transformación de la cisteína en su dímero ocurre de forma muy rápida, necesitando menos de 15 minutos. Por su parte, la transformación del dímero en compuestos de estado de oxidación mayor ocurre lentamente en esta relación molar ($10^{-4}$) y si se puede seguir tanto por la desaparición de las señales del dímero (sombreado en gris en la **Figura 31**) como por la aparición de nuevas señales, tales como la de 3.15 ppm (sombreado en amarillo en la **Figura 31**).



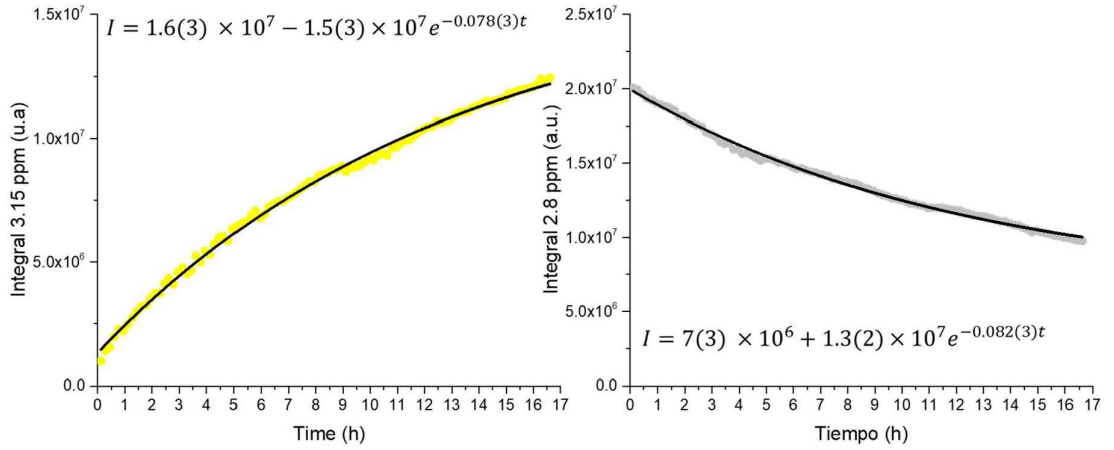




**Figura 31** Evolución temporal de los espectros de $^1$H-RMN (arriba) y de las integrales (abajo) de los picos que aparecen (amarillo) y desaparecen (gris) en una reacción de 2 mM de cisteína con $9 \times 10^{-7}$ M $Ag_5$-AQCs con una relación molar de [$Ag_5$-AQCs]/ [Cys] = $4.5 \times 10^{-4}$.

Las constantes cinéticas observadas para estos dos casos son 0.082 y 0.078 $h^{-1}$ respectivamente, lo que nos indica que el dímero desaparece prácticamente a la misma velocidad a la que este nuevo compuesto de oxidación aparece.

Por el contrario, si observamos la señal a 3.54 ppm (la tercera señal característica del dímero), su constante de velocidad es unas 300 veces inferior a la constante observada para las otras dos señales y, además, su valor presenta bastante error, lo que sugiere que uno de los productos de oxidación presenta una señal a ese mismo desplazamiento interfiriendo en la medida, por lo que esa señal no se puede utilizar para seguir la cinética. Lo mismo ocurre con otras señales de la muestra, que son intermedios que aparecen como nuevas señales, que luego desaparecen con el tiempo y cuyas constantes no son representativas del proceso global (ver **Tabla 6**).

**Tabla 6** Resumen de las constantes cinéticas observadas para las distintas señales de $^1$H-RMN de la **Figura 31**. Sombreado en gris (oscuro para la cistina, claro para los intermedios no identificados) las señales que desaparecen. Sombreado en amarillo (claro para los subproductos y oscuro para el producto) las señales que aparecen.

| H-RMN (ppm) | $k_{obs}$ ($h^{-1}$) | $R^2$ | |
|---|---|---|---|
| 4.25 | 0.10(2) | 0.874 | Subproducto |
| 4.12 | 0.06(1) | 0.954 | Intermedio |
| 3.65 | 0.034(3) | 0.996 | Subproducto |
| 3.54 | 2.6(330) x $10^{-4}$ | - | Cistina |
| 3.15 | 0.078(3) | 0.997 | Producto |
| 3.03 | 0.079(3) | 0.996 | Producto |
| 2.95 | 0.0559(5) | 0.991 | Intermedio |
| 2.88 | 0.078(5) | 0.991 | Cistina |
| 2.81 | 0.082(3) | 0.996 | Cistina |

De forma complementaria, se realizaron estudios usando como disolvente $D_2O$ (Nota: los AQCs se sintetizan en $H_2O$ y, por tanto, se añaden al experimento en este disolvente que supone un 25 % del volumen final) para ver la influencia que tiene en el mecanismo de la reacción y encontramos que la constante de velocidad de primer orden en las mismas condiciones presentaba un valor inferior (0.066 $h^{-1}$), si hacemos la relación de constantes de velocidad en ambos disolventes $k_{obs}(H_2O)/k_{obs}(D_2O) = 1.2$ que tiene el mismo valor que la relación de viscosidades de ambos disolventes $v(D_2O)/ v(H_2O) = 1.24$, esto indica que la reacción está controlada por difusión.

Dados los buenos resultados en la oxidación de la cisteína por oxígeno atmosférico catalizada por $Ag_5$-AQCs que se obtuvieron en esta catálisis homogénea, se decidió dar un paso más y explorar la posibilidad de usar los AQCs como catalizadores heterogéneos soportándolos en un sustrato (en nuestro caso carbón activo) con el fin de poder ser empleados por la industria petroquímica para la eliminación de compuestos sulfurados del petróleo.

Para ello se utilizaron $Ag_5$-AQCs soportados en carbón activo ($Ag_5$-AQCs/C) mediante el método de la *incipient wetness impregnation* explicado con detalle en el capítulo VI, en la sección 5a.

Los experimentos de la catálisis heterogénea de la oxidación aeróbica de cisteína catalizada por los $Ag_5$-AQCs/C se llevaron a cabo con muestras obtenidas mediante la síntesis fotoquímica explicada en el capítulo VI (sección 3) de esta tesis doctoral. Esto es debido a que estas muestras tienen una mayor concentración de AQCs, necesaria para llegar a los *loadings* que nos permitan una relación adecuada entre los

AQCs y la cisteína (relación molar de ~$10^{-3}$), con el fin de conseguir la oxidación completa a su mayor estado de oxidación tal y como se vio para la catálisis homogénea explicada previamente (ver **Figura 30**).

Para comenzar el estudio, se evaluó la influencia que el carbón activo comercial (10 mg) sin ningún tratamiento, tiene sobre la cisteína después de 24 horas, obteniendo que toda la cisteína (**Figura 32 A**) se transformó en dímero (**Figura 32 B**). Además, la intensidad de las señales es menor que en el caso de la catálisis homogénea debido a la adsorción de la cisteína en el carbón poroso. Por otra parte, se realizaron estudios de los blancos, depositando en carbón activo muestras con todas las sales presentes en las muestras de $Ag_5$-AQCs observándose que toda la cisteína se convierte en dímero y que, a diferencia del blanco con carbón activo comercial, en este caso se evita la adsorción de la cistina en el carbón activado debido a la presencia de las sales (**Figura 32 C**).

Para llevar a cabo el estudio de la catálisis heterogénea, se dejó reaccionar una disolución de cisteína 2 mM en agua con distintas cantidades de $Ag_5$-AQCs/C (5 – 10 mg) con distintos *loadings* (0.1 – 0.5 %) toda la noche (el procedimiento experimental fue el mismo que el usado para el blanco). Se observó una completa desaparición de las señales (**Figura 32 D**), tanto de las características de la cisteína como las del dímero, lo que nos indica que la molécula se ha oxidado completamente y que se ha fragmentado en porciones más pequeñas y menos concentradas que no son detectables por $^1$H-RMN, al igual que se había observado en catálisis homogénea.

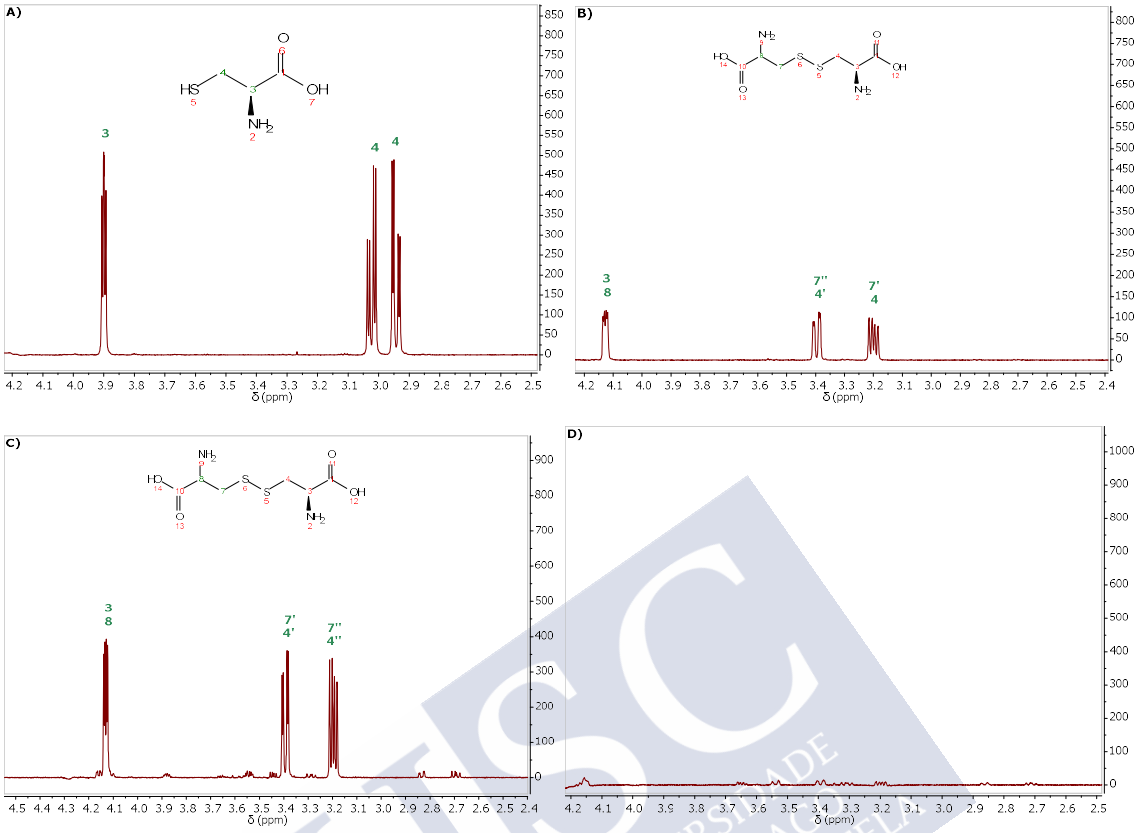



**Figura 32** Espectros de $^{1}$H-RMN para A) 2 mM Cys en agua, B) 2 mM Cys en agua tratada con carbón activo, C) 2 mM de Cys en agua tratada con un blanco que contiene los mismos compuestos presentes en la muestra de AQCs debido a precursores que no reaccionaron y subproductos derivados del proceso de síntesis, pero sin los $Ag_5$-AQCs y D) 2mM Cys en agua después de reaccionar con una muestra de $Ag_5$-AQCs/C con un loading del 0.5 %, relación molar [$Ag_5$-AQCs]/[Cys] ≈ $4.6 \times 10^{-2}$.

Cabe destacar que el catalizador sólido se puede separar fácilmente de la disolución quedando listo para llevar a cabo un nuevo ciclo de reacción. Se observó que el catalizador es reutilizable, al menos, en 3 ciclos de reacción.

En vista de los buenos resultados obtenidos para los clústeres $Ag_5$-AQCs, tanto en catálisis homogénea como en heterogénea, se decidió estudiar sus homólogos de cobre, $Cu_5$-AQCs, en la catálisis de la oxidación de la cisteína con oxígeno

atmosférico. En este caso, se decidió estudiar la catálisis homogénea para dos relaciones molares $Cu_5$-AQCs/Cys, $10^{-3}$ y $10^{-5}$.

Para comenzar el estudio se hizo un blanco con CuO a pH 11 (subproducto de la síntesis que puede encontrarse en las muestras de $Cu_5$-AQCs) observando que la mayor parte de la cisteína se transforma en su dímero, aunque otra parte queda inalterada (ver **Figura 33 A**).

Una vez comprobada la estabilidad de la cisteína en las condiciones de trabajo, se estudió el efecto de las dos relaciones molares de $Cu_5$-AQCs, obteniendo el mismo resultado que en el caso anterior de los $Ag_5$-AQCs. Por una parte, la menor relación molar ($5 \times 10^{-5}$), nos da una conversión total de la cisteína en cistina (ver **Figura 33 B**). Por otra parte, la relación molar mayor, $1.6 \times 10^{-3}$ nos da como resultado la total desaparición de las señales características de la cisteína y de su dímero (ver **Figura 33 C**) y la aparición de nuevas señales pequeñas de productos más oxidados que aún están siendo objeto de estudio para la elucidación de su estructura.

Con el fin de asegurarnos de que ninguna de las señales encontradas en el espectro de $^1$H-RMN del producto de la reacción (**Figura 33 C**) son picos procedentes de la cisteína, se llevó a cabo un experimento complementario de RMN[120] desarrollado por el Dr. M. Martín-Pastor, responsable de la unidad de resonancia magnética nuclear de la USC. Este experimento permite detectar picos característicos de una molécula (cisteína en nuestro caso) en una mezcla compleja de señales, ya que invierte las señales que presenten un acoplamiento j determinado (en este caso las que tienen el mismo acoplamiento j que la cisteína en disolución acuosa -ver **Figura 28**-).

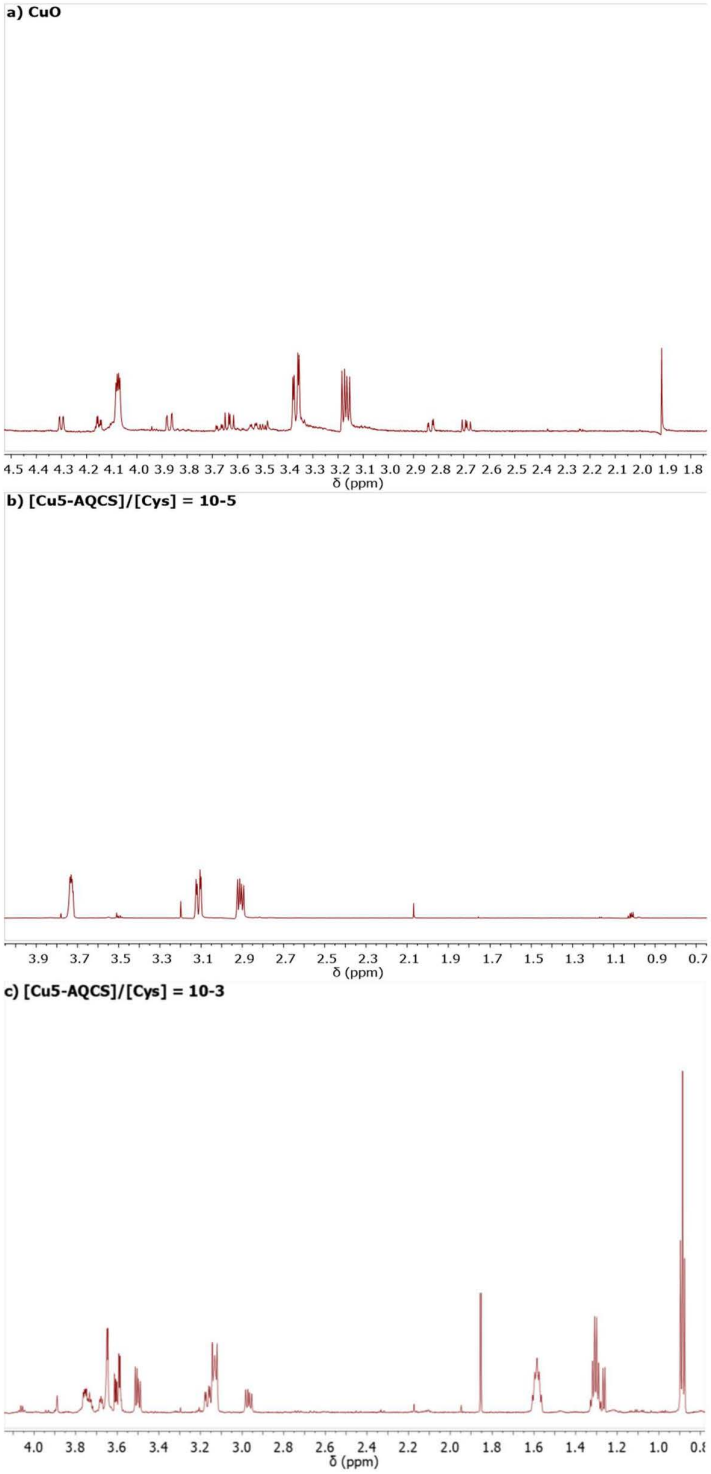



**Figura 33** Espectros de $^{1}$H-RMN para una muestra de cisteína 2 mM en agua con a) CuO pH 11, b) [$Cu_5$-AQCs] /[Cys] = $5 \times 10^{-5}$ y c) [$Cu_5$-AQCs] /[Cys] =$1.6 \times 10^{-3}$.

En el caso del producto de la reacción de la cisteína con los $Cu_5$-AQCs (**Figura 33 C**) se observó (ver **Figura 34**), que ninguno de los picos de la muestra se invertía y, por tanto, se puede asegurar que ninguno de ellos presenta un acoplamiento j como el presente en la cisteína y, pudiéndose confirmar que no hay cisteína presente en las muestras (si estuviera presente los picos en su desplazamiento deberían de invertirse).

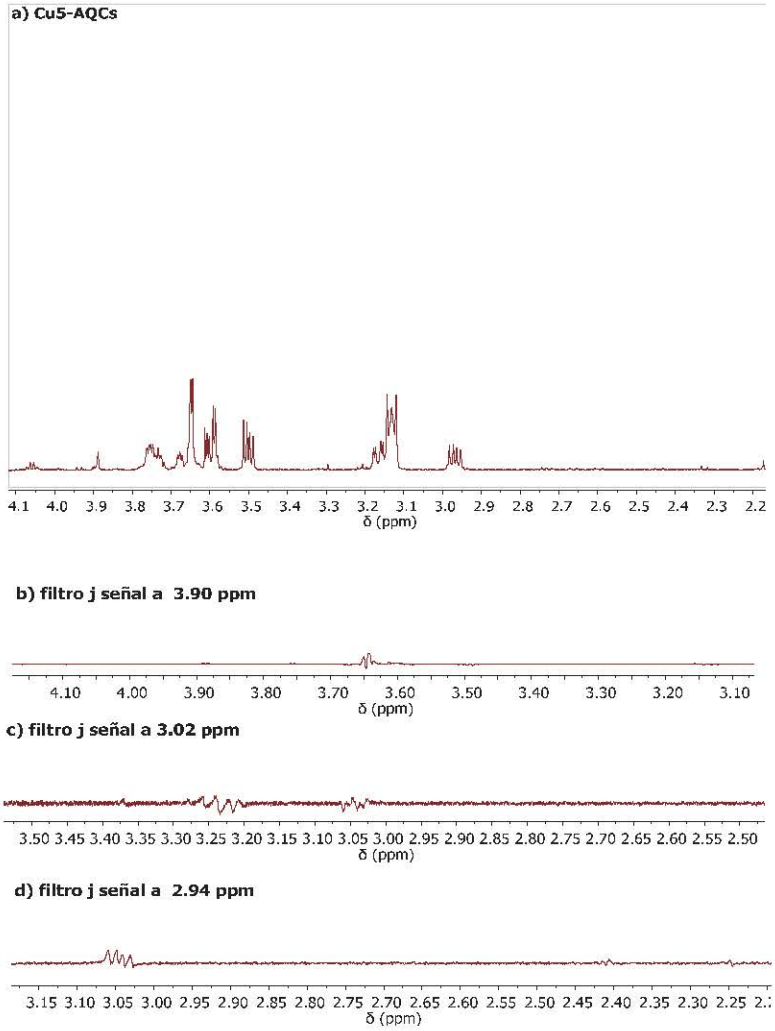



**Figura 34** a) Espectro de $^1$H-RMN para la reacción de oxidación de la cisteína con una relación molar de [$Cu_5$-AQCs] /[Cys] =1.6 × $10^{-3}$. Espectro de $^1$H-RMN selectivo de acoplamientos j para la señal de cisteína a b) 3.90 ppm, c) 3.02 ppm y d) 2.94 ppm.

También podemos concluir que no hay cistina en las muestras, porque el valor de dos de sus acoplamientos j es exactamente el mismo que el encontrado para la cisteína, debido a la similitud que presentan las moléculas y no observamos inversión de señales tampoco en sus desplazamientos.

Al igual que en el caso de la plata, se realizaron estudios complementarios en el laboratorio nacional de luz sincrotrón de Campinas en Brasil en colaboración con el grupo del Prof. Félix Requejo, donde también se observó esta dependencia en el producto de reacción con las relaciones molares de [$Cu_5$-AQCs]/[Cys], observándose que todo el $S^{2-}$ del grupo tiol de la cisteína se transformaba en $S^{+6}$ cuando la relación molar era igual o mayor a $10^{-3}$, mientras que para relaciones molares menores a $10^{-5}$ sólo se observaba el estado de oxidación $S^{-1}$.

En conclusión, tanto los clústeres de plata de 5 átomos como los de cobre de 5 átomos son capaces de oxidar completamente la cisteína al estado de oxidación más alto del azufre ($S^{+6}$). Aunque el estado de oxidación obtenido es dependiente de la relación molar entre los AQCs y la cisteína. Así, los AQCs son capaces de oxidar a la cisteína desde el estado de oxidación -2 al -1 (al menos en los intervalos de tiempo estudiados) aun estando en una concentración un millón de veces inferior, pero cuando la relación es más alta unas mil veces menos AQCs que cisteína, los clústeres son capaces de oxidar en unos pocos minutos a la cisteína a su grado de oxidación más alto, transformando el $S^{2-}$ en $S^{+6}$ utilizando solo oxígeno atmosférico como agente oxidante. Cabe destacar también, que dicha oxidación se produce con $O_2$ molecular del aire y a temperatura ambiente.

### b. Oxidación del Glutatión

El glutatión (Glu) es un tripéptido constituido por 3 aminoácidos (ver **Figura 35**): el glutamato, la cisteína (estudiada su oxidación en la sección anterior) y la glicina. Desde el punto de vista de la oxidación de azufres, es como una cisteína, pero con mayor impedimento estérico y, por lo tanto, más difícilmente oxidable.

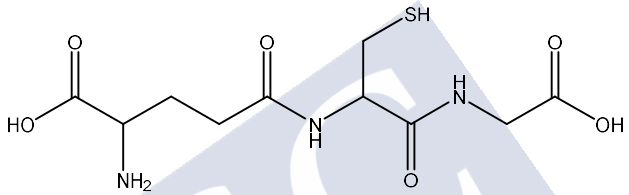



**Figura 35** Estructura del Glutatión.

Para comenzar con el estudio de oxidación del glutatión se hizo una caracterización del compuesto comercial (ver **Figura 36**) disuelto en agua Milli-Q por espectroscopía RMN y se asignaron cada una de las señales con el fin de tener bien caracterizado el producto de partida. Al igual que para la cisteína, se llevaron a cabo dos experimentos: 1) se midió el RMN de protón ($^1$H-RMN) observando que aparecen 5 señales características del glutatión en el intervalo de 1 a 4 ppm de desplazamiento; además dichas señales se integraron y se relacionaron con los protones de la molécula (ver **Figura 36**, izquierda); 2) se llevó a cabo un experimento bidimensional protón-carbono *HSQC,* que nos da información de los carbonos que están directamente unidos a los protones que identificamos antes; dicha asignación también se muestra en la **Figura 36**. Todos los desplazamientos encontrados

coinciden perfectamente con espectros teóricos del glutatión con lo cual tenemos perfectamente identificado nuestro compuesto de partida[121].

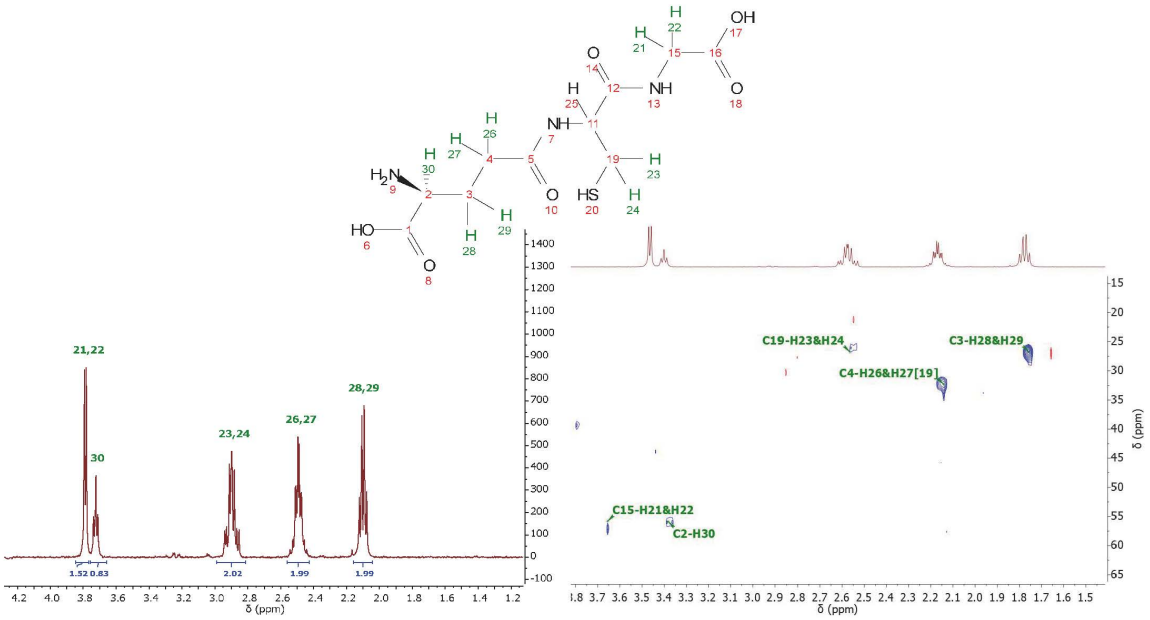



**Figura 36** Estructura y asignación del L-Glutatión con una concentración de 2 mM en agua. Espectro de $^{1}$H-RMN (izquierda) y espectro HSQC (derecha).

Se realizó en primer lugar un estudio de la influencia de las sales presentes en las muestras de clústeres de plata sintetizados por el método electroquímico (capítulo VI, sección 2). En la **Figura 37** puede verse como los espectros de protón en ambos casos, con NaCl o con $AgNO_3$ en el medio, no supone ningún cambio en las señales características del L-Glutatión en agua caracterizado en la **Figura 36**.

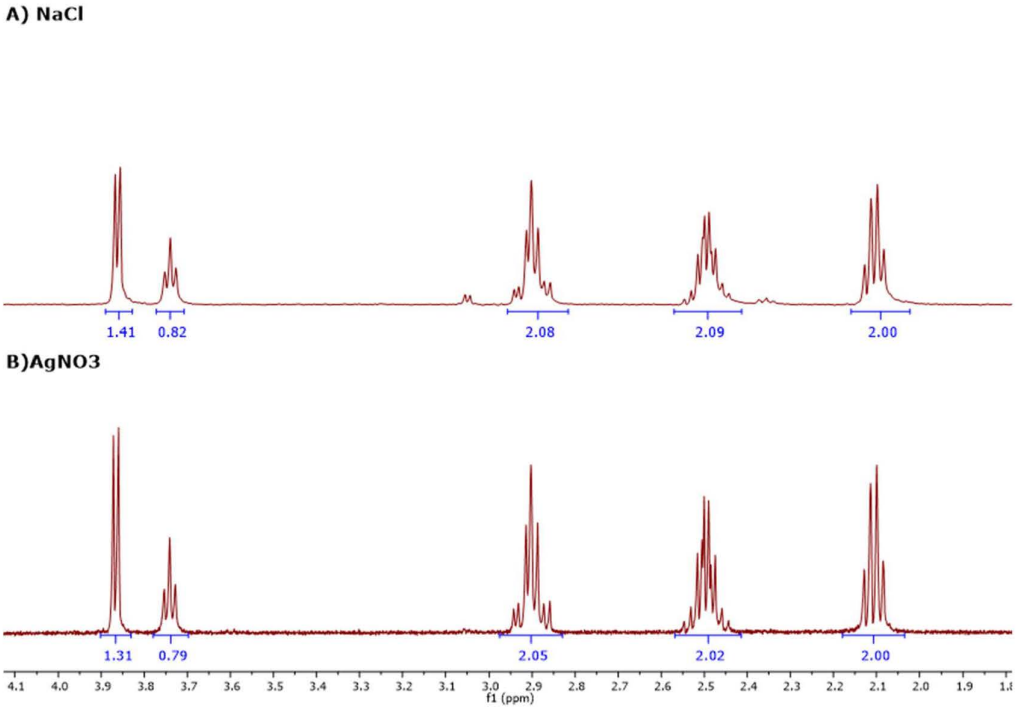



**Figura 37** Espectros de $^{1}$H-RMN de una disolución 2 mM de glutatión en agua con A) 0.2 M de NaCl y B) $4.6 \times 10^{-6}$ M de $AgNO_3$.

Una vez comprobado que podemos caracterizar al L-Glutatión y que además es estable en las condiciones de trabajo, se procedió a medir una muestra después de haberla dejado reaccionar con $Ag_5$-AQCs durante aproximadamente 12 h (ver **Figura 38**), observándose cambios en el espectro de $^{1}$H-RMN en las señales próximas al grupo tiol (-SH). Concretamente se observa que desaparece la señal de los dos protones adyacentes a dicho grupo tiol del L-Glutatión (numerados en la **Figura 38** como 23 y 24) con desplazamiento a 2.9 ppm y aparecen dos señales nuevas una a 3 ppm y otra 3.35 ppm que integran por un protón cada una de ellas.

El hecho de que aparezcan señales a mayor desplazamiento muestra que la molécula se ha oxidado en las partes cercanas a donde se produce el cambio en el desplazamiento del protón. Por otra parte, el hecho de que el resto de las señales de la molécula aparezcan prácticamente en los mismos desplazamientos, muestra que, probablemente, el resto de la molécula tiene una estructura similar y que el cambio sólo se ha producido en las proximidades de los protones que muestran una variación en su señal (protones 23 y 24 con desplazamiento a 2.9 ppm).

La nueva molécula obtenida, producto de la oxidación del L-Glutatión, a pesar de ser muy parecida a ésta, muestra una mayor rigidez, pues lo que antes eran dos protones indistinguibles por la resonancia magnética de protón, ahora se divide en dos señales, que además están en un entorno químico más oxidado, lo que se concluye por su mayor desplazamiento, y tienen mayor impedimento de movimiento por lo que los dos protones se pueden distinguir (recordemos que el aumento en la velocidad de movimiento origina una mayor "mezcla" de las señales).

Teniendo en cuenta todas estas observaciones y haciendo estimaciones de espectros de protón con el programa *Chemdraw,* cambiando ese grupo -SH por sus derivados más oxidados y más rígidos para la zona del tiol, se puede fácilmente encontrar que la nueva molécula es el dímero del L-Glutatión (ver **Figura 38 B**), es decir, que efectivamente los $Ag_5$-AQCs son capaces de oxidar al L-Glutatión formando, con dos moléculas de éste, el enlace disulfuro, y haciendo pasar, por tanto, al grupo tiol ($S^{2-}$) a disulfuro $S_2^{2-}$, en el que cada azufre tiene una carga efectiva de -1. Al igual que pasaba en el caso de la cisteína, para una relación molar [$Ag_5$-

AQCs]/[Glu] ~$10^{-5}$, obtenemos el dímero del L-Glutatión y no observamos ninguno de sus productos más oxidados.

En este proceso de oxidación los $Ag_5$-AQCs no se reducen ni son uno de los reactivos de la reacción, ya que se encuentran en una concentración más de 3 órdenes de magnitud inferior a la del L-Glutatión y aun así son capaces de convertirlo completamente a su dímero. Por tanto, los $Ag_5$-AQCs son los catalizadores de la reacción y usan el oxígeno atmosférico para llevar a cabo la transformación completa del L-glutatión al dímero con enlace disulfuro.

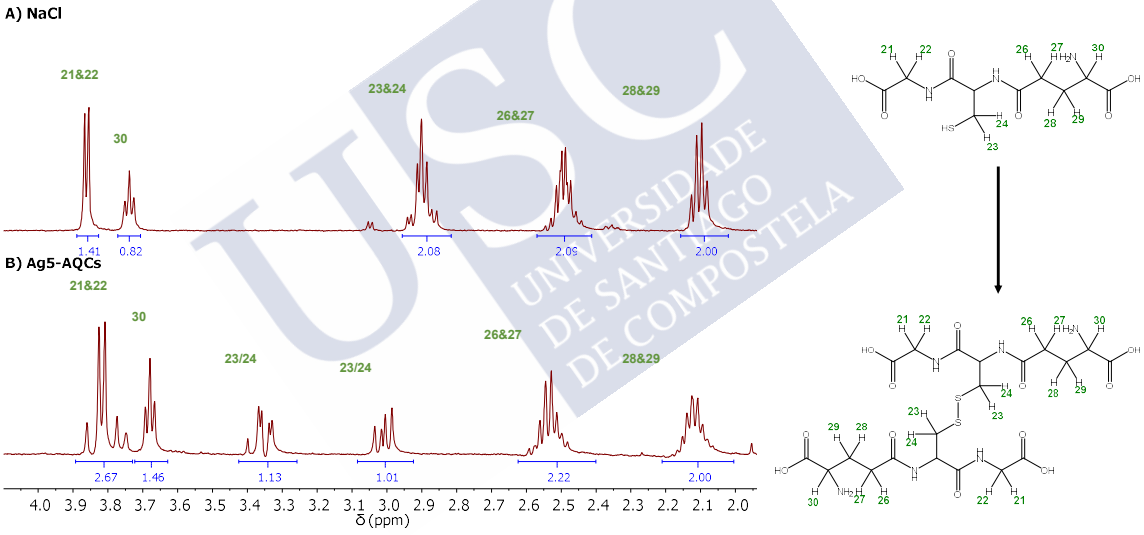



**Figura 38** Espectros de $^1$H-RMN de (A) blanco de L-glutatión 2 mM con NaCl 0.2 M y de (B) producto del L-glutatión después de reaccionar toda la noche con una muestra de $Ag_5$-AQCs purificados cuya concentración en el experimento fue 1.5 × $10^{-6}$ M. Relación molar de [$Ag_5$-AQCs]/[Glu]= 7.5 × $10^{-4}$.

Una vez conocida la capacidad de los AQCs para oxidar y transformar al L-Glutatión en su dímero, se procedió a hacer un estudio cinético del proceso y para ello se siguió la reacción durante 15 horas utilizando $^1$H-RMN como técnica de caracterización y se

vio la modificación de las señales de los protones en α al tiol del L-Glutatión con el tiempo y como aparecían las dos señales características de su dímero para esos protones (ver **Figura 39 A**).

Además, se hizo la integración de la nueva señal a 3.35 ppm, que es característica del producto de la reacción, (Nota: se podría integrar de la misma manera la señal a 3 ppm, pero como la señal del L-Glutatión se encuentra a 2.9 ppm, distinguir estas dos señales es difícil), el dímero del L-glutatión, y se normalizó con una señal que no sufre cambios a lo largo de la reacción (como es la señal a 2.1 ppm, numerada como protones 28 y 29), con el fin de poder comparar entre experimentos y muestras. Esta integral se representó frente al tiempo (**Figura 39 B**) y, mediante el ajuste a una función exponencial, se obtuvo la correspondiente constante cinética de orden uno para la reacción de oxidación del glutatión.

La evolución de la reacción para la formación del disulfuro, representada en la **Figura 39 B,** puede expresarse como:

$$\frac{d[S-S]}{dt} = -k_{obs}[S-S] \qquad \text{(IV.1)}$$

$$[S-S] = [S-S]_0 + e^{-k_{obs}t} \qquad \text{(IV.2)}$$

Se observó asimismo que la constante de primer orden, $k_{obs}$, es proporcional a la concentración de $Ag_5$AQCs, **Figura 39 C,** tal como sería de esperar para su actividad catalítica:

$$k_{obs} = k_2[Ag_5AQCs] \qquad \text{(IV.3)}$$

La constante $k_2$ obtenida del ajuste es 1.2 x $10^5$ $M^{-1}h^{-1}$.

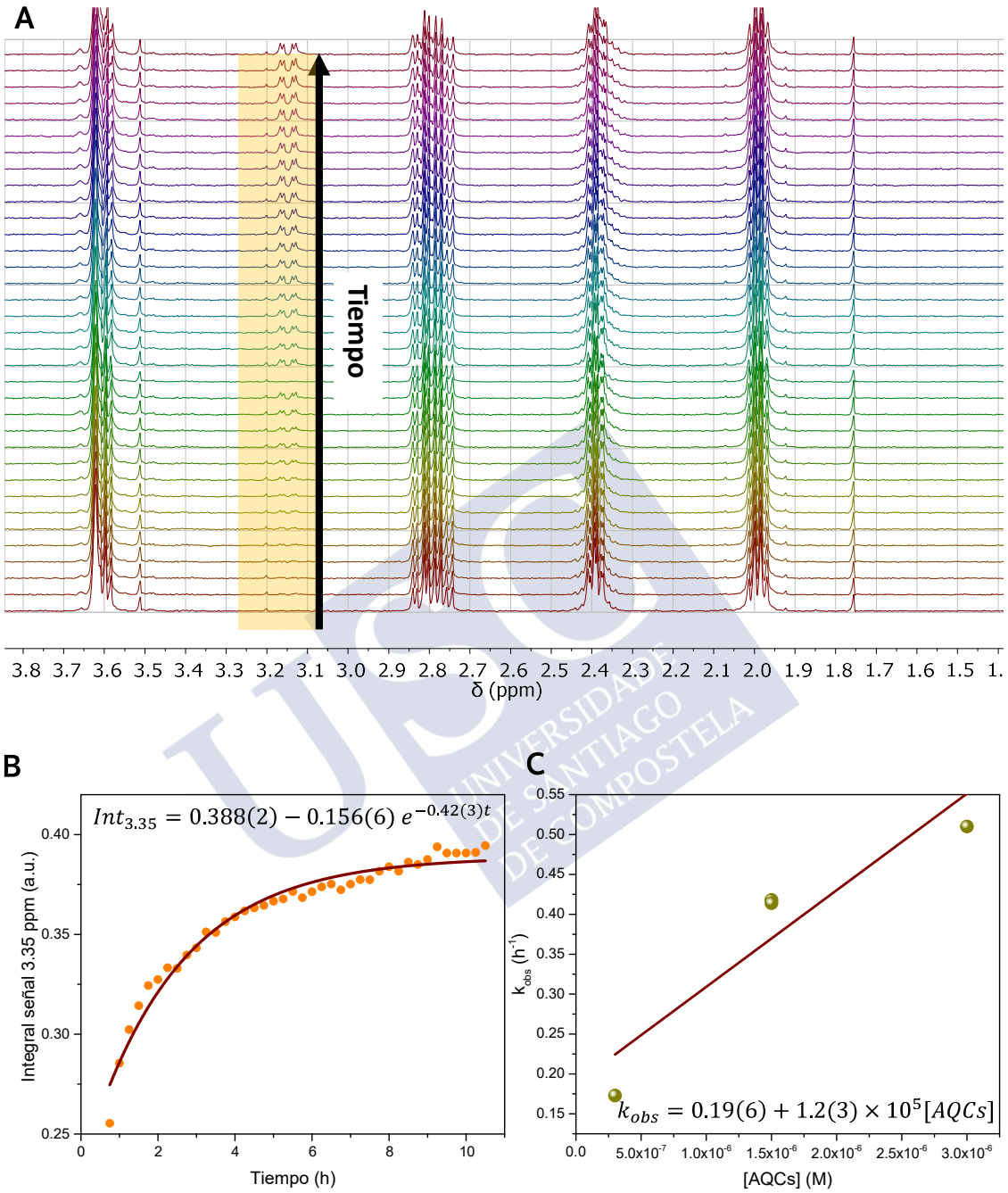



**Figura 39** Estudio cinético de la reacción de oxidación de L-glutatión catalizada por $Ag_5$-AQCs. A) Evolución temporal de los espectros de $^1$H-RMN del glutatión para una relación molar [$Ag_5$-AQCs]/[Glu]= $7.5 \times 10^{-4}$. B) Variación de la integral de la señal a 3.35 ppm, característica del dímero del glutatión y el correspondiente ajuste a una función exponencial. C) Dependencia de la constante de velocidad de orden uno frente a la concentración de $Ag_5$-AQCs y su correspondiente ajuste.

Como el único agente oxidante del medio de reacción es el oxígeno disuelto, podemos suponer que es el oxígeno activado por el clúster la especie oxidante (ver cálculos DFT en el Anexo 5). Aunque no se han hecho estudios experimentales de la dependencia de la constante de velocidad, con la concentración de oxígeno, los cálculos teóricos muestran que la reacción debe ser de orden uno respecto a esta especie, por lo que podemos escribir que:

$$k_{obs} = k_{real}[Ag_5AQCs][O_2] \qquad \text{(IV.4)}$$

siendo $k_2 = k_{real}[O_2]$

Dado que la reacción tiene lugar en un vial a presión atmosférica, el oxígeno que tenemos en el proceso es el oxígeno disuelto. El valor de la concentración de oxígeno disuelto en agua pura[122,123] es 0.256 mM, aunque se sabe que dicha solubilidad se ve disminuida por la presencia sales[123]. Como en nuestro caso las disoluciones de $Ag_5$-AQCs contienen NaCl ≈ 12 g/L, la concentración estimada de $O_2$ disuelto a 25 °C es de 0.241 mM. Si consideramos este valor en la ecuación IV.4, se obtiene un valor de $k_{real}$ = 1.4 × $10^5$ $M^{-2}s^{-1}$. Si comparamos las constantes de orden uno para esta reacción (≈3.4 × $10^{-5}$ $s^{-1}$) con las obtenidas para la cisteína (≈2.2 × $10^{-5}$ $s^{-1}$) observamos que están en el mismo orden de magnitud (≈ 3 × $10^{-5}$ $s^{-1}$).

Al igual que en el caso anterior se llevaron a cabo estudios complementarios en el laboratorio nacional de luz sincrotrón de Campinas en Brasil en colaboración con el grupo del Prof. Félix Requejo del Instituto de Investigación INIFTA de la Plata. Como ejemplo de ello se puede ver el espectro de absorción de rayos X (ver detalles de la técnica en el Anexo 1c) para el borde K del azufre en la **Figura 40** para la reacción de

los $Ag_5$-AQCs con glutatión en una relación molar mayor a $10^{-3}$, donde se obtiene que el $S^{2-}$ del grupo tiol (pico a 2473.7 eV) del Glu se oxida completamente dando como producto mayoritario $S^{+6}$ (pico a 2482.8 eV) y una pequeña parte se oxida a $S^{-1}$ (dímero del glutatión).

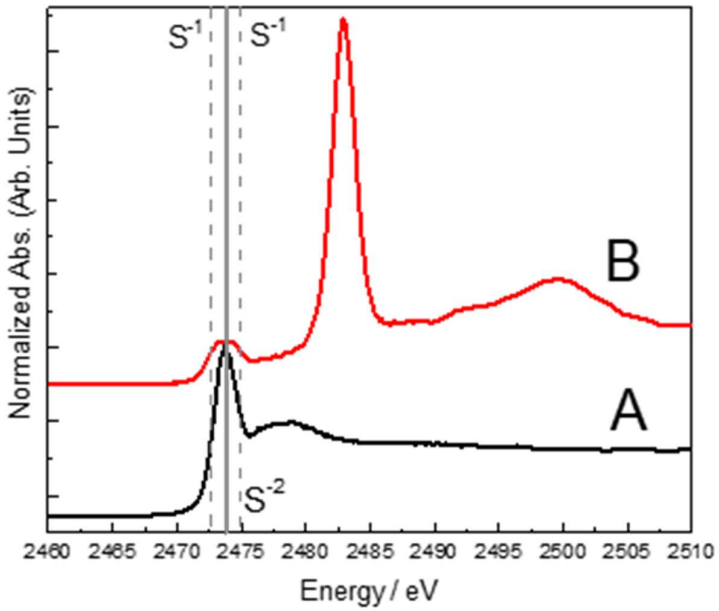



**Figura 40** Espectros XANES normalizados del borde K del azufre para el Glu (negro, A) y para Glu después de reaccionar con $Ag_5$-AQCs (roja, B) relación molar [Ag-AQCs]/[Glu] = $10^{-3}$. Las líneas verticales sólidas y punteadas indican las posiciones de energía para los distintos estados de oxidación del azufre.

## 4. Actividad catalítica de los clústeres frente a derivados del petróleo

En el apartado anterior vimos la capacidad catalítica de los clústeres de plata y clústeres de cobre de 5 átomos para oxidar compuestos biológicos con tioles, que son azufres terminales. En este apartado iremos un paso más allá e intentaremos

estudiar su actividad frente a derivados del petróleo. En este caso los azufres son, en principio, más difícilmente oxidables pues se encuentran en moléculas más complejas y generalmente en entornos químicos con alto impedimento estérico. Comenzaremos con el estudio del tiofenol como molécula modelo y continuaremos con la molécula que se emplea generalmente en el estudio de los procesos de desulfuración petroquímica, el dibenzotiofeno.

### a. Oxidación del Tiofenol

El tiofenol es una molécula sencilla (ver **Figura 41**) que puede servir de modelo inicial para comprobar la capacidad de los clústeres para oxidar azufres presentes en moléculas aromáticas. Es un buen modelo para los estudios preliminares de la capacidad de oxidar azufres petroquímicos por su semejanza química con los azufres presentes en los fueles, además, es soluble en disolventes miscibles con el agua, disolvente en el que se encuentra nuestro catalizador. En este apartado usaremos el tiofenol disuelto en metanol.

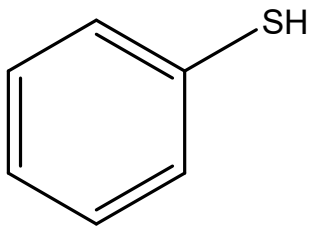



**Figura 41** Estructura del tiofenol

Otra de las ventajas del tiofenol es que, además de poder seguir su evolución por resonancia magnética nuclear como en los casos anteriores, se puede seguir su evolución mediante espectroscopía UV-Visible (Anexo 1a), ya que los distintos estados de oxidación del azufre muestran diferentes bandas de absorción características[124], a saber: el tiofenol a 237 nm, el dímero del tiofenol (enlace S–S) a 272 nm (ambos disueltos en metanol), el sulfóxido a 240 nm (disuelto en etanol), y por último, las sulfonas y los compuestos más oxidados, que tienen un coeficiente de absortividad molar bajo y muestran bandas muy pequeñas (a bajas concentraciones indetectables) a mayores λ. Además de la fácil accesibilidad a la espectroscopía UV-Visible, otra ventaja que presenta frente al RMN es su mayor sensibilidad, lo cual nos permitirá trabajar con concentraciones más pequeñas de tiofenol, y esto hará posible tener relaciones molares óptimas para logar su completa oxidación al estado de oxidación mayor, tal y como se demostró anteriormente, por ejemplo, en el caso de la cisteína (ver **Figura 30**) o del glutatión (ver **Figura 40**).

Lo primero que se estudió fue el efecto que el cloruro sódico presente en las muestras de AQCs debido al paso de purificación (ver capítulo VI sección 2) (ver **Figura 42**). Se observa que el tiofenol es bastante estable ya que solo una pequeña parte se transforma en el dímero (pequeño hombro a 268 nm), permaneciendo mayoritariamente inalterado por la presencia en la disolución de la sal.

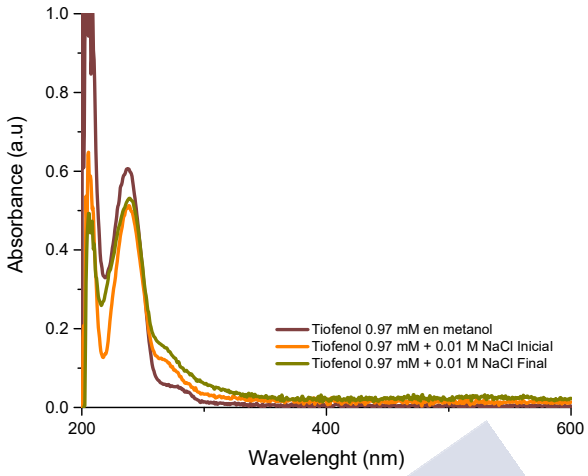



**Figura 42** Espectro de absorción de 0.97 mM de tiofenol en metanol (marrón) con 0.01 M NaCl en agua, inicial (naranja) y después de 6 horas y media de reacción (verde).

Para el estudio del posible efecto catalizador de los AQCs, se añadieron cantidades controladas de $Ag_5$-AQCs a una disolución de tiofenol 0.97 mM en metanol y se siguió la reacción por espectroscopía UV-visible (ver **Figura 43 A**). Se puede observar un cambio instantáneo de la banda característica del tiofenol (máximo a 237 nm), a una banda cuyo máximo se encuentra a 268 nm perteneciente al disulfuro del tiofenol, seguida de la rápida desaparición de ésta para dar lugar a una absorción menos intensa y sin un máximo de absorción característico, que puede ser debido a derivados fuertemente oxidados del tiofenol, o incluso a la eliminación total vía sulfato del azufre.

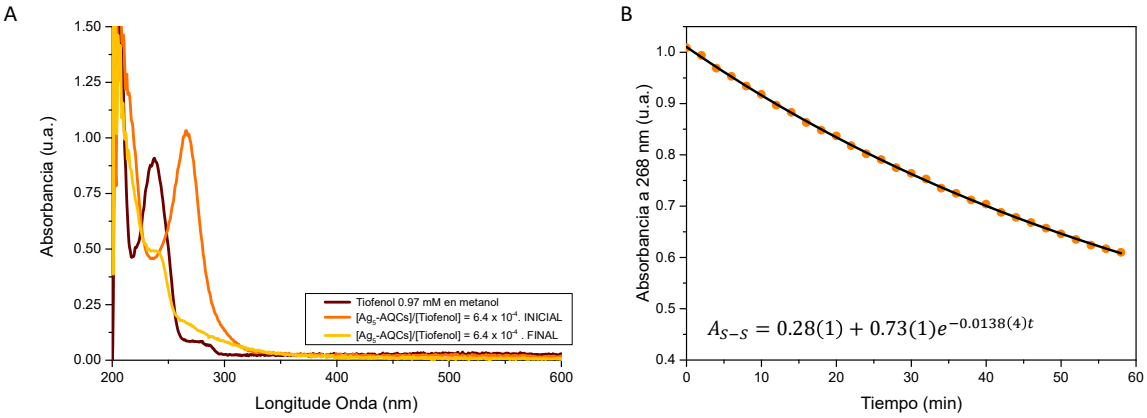



**Figura 43** Estudio cinético de la oxidación aeróbica de 1 mM de tiofenol en metanol catalizada por $Ag_5$-AQCs con una relación [$Ag_5$-AQCs]/ [Tiofenol] = $6.4 \times 10^{-4}$. A) Variación temporal del espectro de absorción UV-Visible de una disolución de tiofenol 1 mM en metanol (marrón) por la acción de los $Ag_5$-AQCs al añadirlos (naranja) y después de reaccionar toda la noche (amarillo). B) Variación temporal de la absorbancia del máximo a 238 nm característica del disulfuro por la oxidación aeróbica catalizada por AQCs con su ajuste a una función exponencial.

Debido a la baja concentración de los clústeres (menos de 1500 veces menos concentrados que el tiofenol) podemos decir que los clústeres $Ag_5$-AQCs actúan como catalizadores de la reacción.

Con el fin de llevar a cabo un estudio cinético del proceso de oxidación aeróbica del tiofenol, se representó la absorbancia de la banda de absorción a 268 nm frente al tiempo y se ajustó su desaparición a una función exponencial (ver **Figura 43 B**). Experimentalmente no se puede seguir la desaparición de la banda de absorción del tiofenol, porque éste se transforma en su dímero de forma instantánea por la acción de los AQCs, por ello, el estudio cinético de la reacción se hace a partir del dímero.

Con el fin de corroborar la oxidación del tiofenol por la acción de los AQCs, se estudió esta misma reacción utilizando RMN como técnica de caracterización, la cual nos

permite conocer cuál es la estructura de los productos de oxidación, sobre todo, más allá del disulfuro que no se pueden diferenciar por espectroscopía UV-Visible. Dada la baja sensibilidad que presenta la RMN en comparación con la espectroscopía de absorción, se tuvo que aumentar la concentración de tiofenol a 15 mM en los experimentos de RMN.

Para comprobar que, efectivamente, podemos caracterizar por RMN el tiofenol y que éste es estable en la mezcla de metanol-agua en una concentración de 15 mM, y para ver el efecto del cloruro sódico, se midió una disolución de tiofenol en estas condiciones (**Figura 44 A**). Se observó que existían las 5 señales de protón en la zona aromática, que pueden identificarse fácilmente como los protones del tiofenol, pues sus desplazamientos coinciden con los teóricos calculados con el programa *Chemdraw*. En cambio, cuando el tiofenol se pone en contacto con AQCs (**Figura 44 B**), se observa un cambio claro en el desplazamiento de los protones hacia mayores valores, lo que suele indicar una oxidación de la molécula en la zona cercana a los protones que se desplazan. Se realizó entonces un experimento de espectroscopía de correlación heteronuclear de cuanto múltiple (*HMBC*) (**Figura 44 C**), para determinar qué carbono se encuentra a 2 o a 3 enlaces del protón que estamos detectando. Si observamos dicho espectro podemos ver que 3 de las señales que tenemos están en la zona de los carbonos aromáticos, en torno a 125-130 ppm, en cambio una de las señales nos da un desplazamiento alejado de esa zona, a 139 ppm, lo que se corresponde con un carbono de anillo aromático sustituido con una sulfona. La estructura del producto final y la predicción de los protones y carbonos del mismo se pueden ver en la **Figura 44 D.**

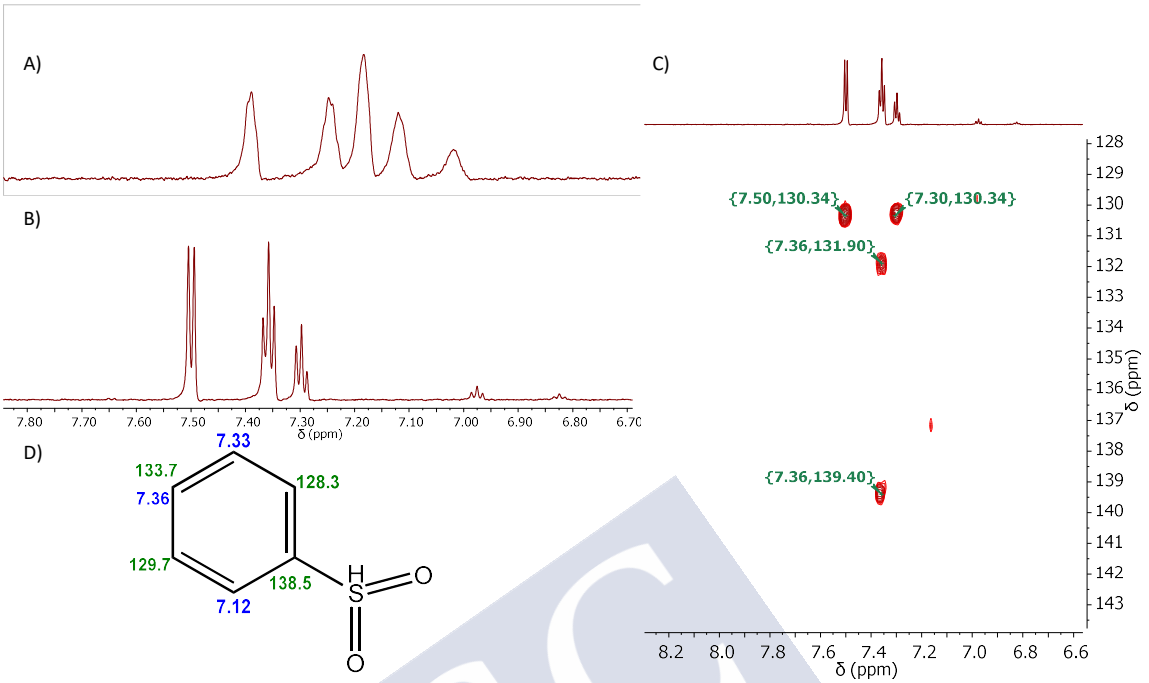
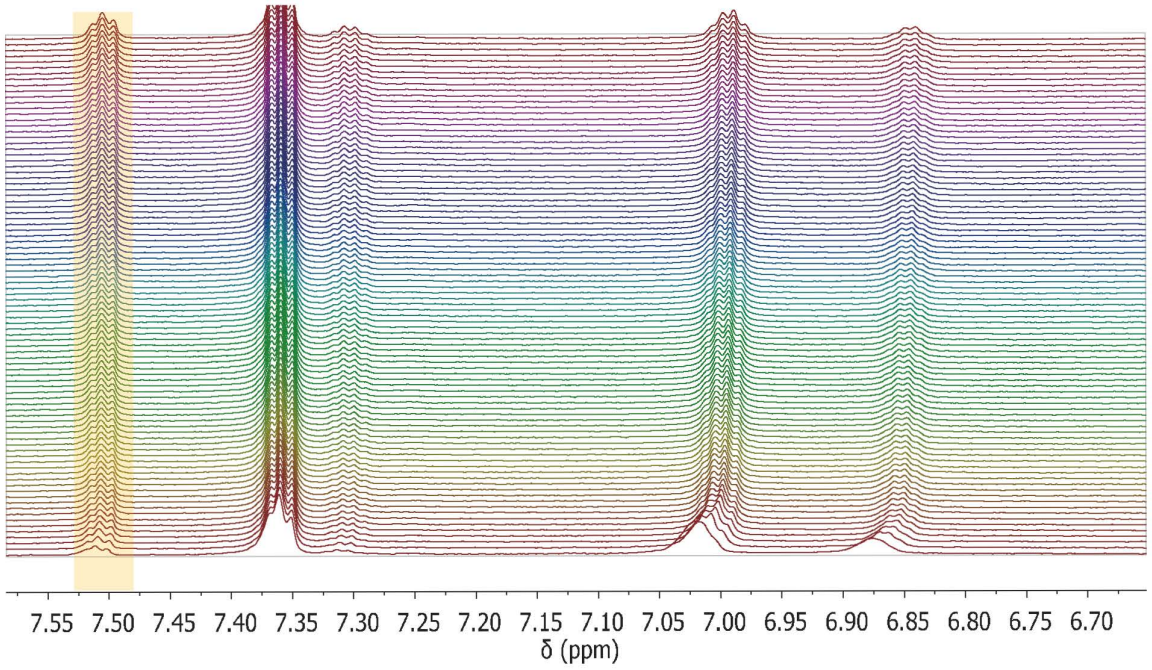



**Figura 44** Espectroscopía de $^{1}$H-RMN para una disolución 15 mM de tiofenol en metanol-agua (3-1) con A) 0.2 M NaCl, B) Una muestra de $Ag_5$-AQCs cuya relación molar en el experimento es [$Ag_5$-AQCs]/[Tiofenol] = $1 \times 10^{-5}$, C) Espectro HMBC del producto final de la reacción de oxidación y D) Estructura de la sulfona producto de oxidación del tiofenol con la predicción de los desplazamientos de $^{1}$H-RMN (azul) y $^{13}$C-RMN (verde).

A continuación, se hizo un estudio de la evolución temporal de las señales de RMN (ver **Figura 45**) con el fin de, por un lado, identificar posibles intermedios de reacción y por otro, calcular la constante cinética de la reacción. Para esto último, se representó frente al tiempo la integral de la señal a 7.5 ppm (ver **Figura 45**), ya que es la señal que menos influencia puede tener del tiofenol. El ajuste de esta curva a una exponencial nos permitió obtener la constante de velocidad de orden uno observada del proceso de oxidación del dímero de tiofenol.



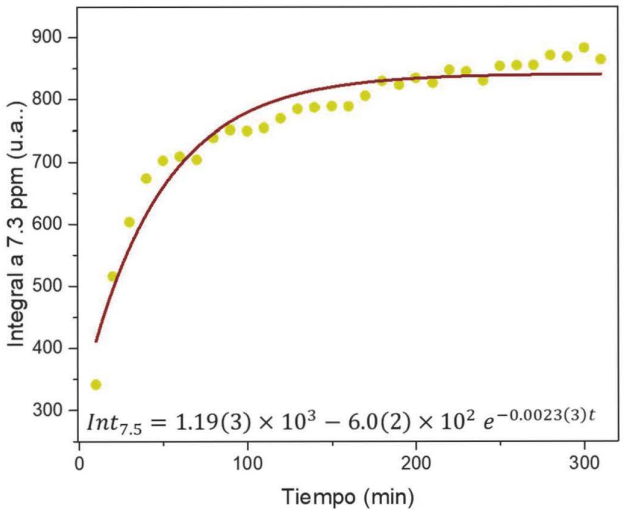




**Figura 45** Evolución temporal de las señales de $^1$H-RMN para una disolución de tiofenol 15 mM en presencia de $Ag_5$-AQCs con una relación molar de $Ag_5$-AQCs]/[Tiofenol] = $1 \times 10^{-5}$ (arriba) y representación de la integral de la señal a 7.5 ppm frente al tiempo y su correspondiente ajuste (abajo).

La evolución de la reacción para la desaparición del disulfuro (**Figura 43**) o para la formación de la sulfona (**Figura 45**), puede expresarse como:

$$\frac{d[S-S]}{dt} = -k_{obs}[S-S] \quad \text{(IV.5)}$$

$$[S-S] = [S-S]_0 + e^{-k_{obs}t} \quad \text{(IV.6)}$$

$$\frac{d[Sulfona]}{dt} = -k_{obs}[Sulfona] \quad \text{(IV.7)}$$

$$[Sulfona] = [Sulfona]_0 - e^{-k_{obs}t} \quad \text{(IV.8)}$$

Se observó asimismo que la constante de primer orden, $k_{obs}$, es proporcional a la concentración de $Ag_5$AQCs, **Figura 46,** tal como sería de esperar para su actividad catalítica:

$$k_{obs} = k_2[Ag_5AQCs] \quad \text{(IV.9)}$$

Como el único agente oxidante del medio de reacción es el oxígeno disuelto, podemos suponer que es el oxígeno activado por el clúster la especie oxidante (ver Anexo 5 donde los cálculos teóricos demuestran efectivamente dicha activación). Aunque no se han hecho estudios experimentales de la dependencia de la constante de velocidad, con la concentración de oxígeno, los cálculos teóricos muestran que la reacción debe ser de orden uno respecto a esta especie, por lo que podemos escribir que:

$$k_{obs} = k_{real}[Ag_5AQCs][O_2] \quad \text{(IV.10)}$$

siendo $k_2 = k_{real}[O_2]$

Dado que la reacción tiene lugar en un vial al aire, el oxígeno que tenemos en el proceso es aquel oxígeno atmosférico que puede disolverse en la mezcla metanol-agua cuyo valor bibliográfico es de 1.1 mM[125], tal y como se mencionó con anterioridad las sales disueltas disminuyen la solubilidad del oxígeno, pero como usamos disoluciones muy diluidas de NaCl la disminución es casi despreciable como se vio en el estudio previo de la oxidación del L-Glutatión. Si consideramos este valor en la ecuación IV.10, se obtiene un valor de $k_{real} = 3.0 \times 10^4\ M^{-2}s^{-1}$.

Si comparamos las constantes de orden uno para esta reacción $\approx 3.3 \times 10^{-5}\ s^{-1}$ con las obtenidas para la cisteína ($2.2 \times 10^{-5}\ s^{-1}$) y el glutatión ($\approx 3.4 \times 10^{-5}\ s^{-1}$) observamos que está en el mismo orden de magnitud ($\approx 3 \times 10^{-5}\ s^{-1}$).

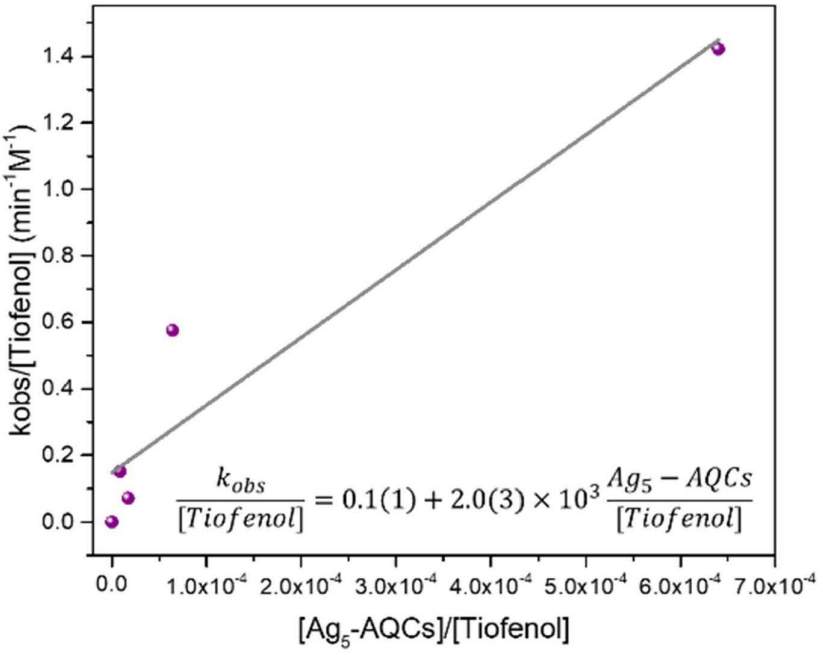



**Figura 46** Variación de la constante observada en la reacción de oxidación del tiofenol catalizada por $Ag_5$-AQCs frente a la concentración de [$Ag_5$-AQCs] y su correspondiente ajuste.

Al igual que en los ejemplos explicados anteriormente se llevaron a cabo estudios complementarios realizados en el laboratorio nacional de luz sincrotrón de Campinas en Brasil en colaboración con el grupo del Prof. Félix Requejo y, al igual que en los casos anteriores, se observó una dependencia del estado de oxidación del producto de la reacción con las relaciones molares de [$Ag_5$-AQCs]/[Tiofenol]. Se comprobó que todo el $S^{2-}$ del grupo tiol se transformaba en $S^{+6}$ cuando la relación molar era igual o mayor a $10^{-3}$, mientras que para relaciones molares menores o iguales a $10^{-4}$ se observaban mezclas de estados de oxidación del azufre, a saber, $S^{-1}$, $S^{+2}$, $S^{+4}$.

En vista a los buenos resultados encontrados para los clústeres de plata de 5 átomos se llevó a cabo el mismo estudio, pero con clústeres de cobre del mismo tamaño que presentan unas propiedades catalíticas similares. Para ello se emplearon diferentes cantidades de $Cu_5$-AQCs en agua y una disolución 15 mM de tiofenol en metanol y se siguió su evolución por $^1$H-RMN. También se realizó un estudio del producto de la reacción haciendo experimentos HSQC y HMBC.

Se estudió primero la influencia de los iones cobre (**Figura 47 A**) observando que el tiofenol no sufre ninguna modificación y es completamente estable en las condiciones de trabajo durante, al menos, 4 días ya que no cambian sus 5 señales características de $^1$H-RMN. A continuación, se dejó reaccionar durante aprox. 12 h una disolución de tiofenol en metanol con una muestra de $Cu_5$-AQCs en agua, con una relación molar [$Cu_5$-AQCs]/ [Tiofenol] = $2 \times 10^{-4}$. El producto de dicha reacción se caracterizó por $^1$H-RMN obteniéndose un desplazamiento de las señales hacia valores mayores, lo que indica un entorno químico más oxidado para estos nuevos protones, aunque siguen siendo protones aromáticos (ver **Figura 47 B**). Por otra parte, se

hicieron dos experimentos bidimensionales para ver qué ocurría con los carbonos de la molécula: 1) HSQC, que nos indica que los carbonos directamente unidos a un protón forman parte de un anillo aromático y presentan desplazamientos similares a los que se pueden encontrar para los carbonos del tiofenol (ver **Figura 47 C**) (Nota: hay que tener en cuenta que los carbonos que no están directamente unidos al grupo funcional no sufren a penas modificación en su desplazamiento cuando sustituimos al tiofenol por otro de sus derivados oxidados como sulfona, sulfóxido, etc.). 2) HMBC, este experimento nos muestra los carbonos que están a 2 o a 3 enlaces del protón en cuestión y en este caso se ve una señal (ver **Figura 47 D**) completamente alejada de las demás a 139 ppm y que no aparecía en el experimento anterior, con lo cual este carbono no tiene un protón directamente unido y, por tanto, es el carbono sustituido del anillo aromático. Ese desplazamiento que coincide con el del producto encontrado para los $Ag_5$-AQCs (ver **Figura 44 C**), nos indica que el producto de la reacción es la sulfona del tiofenol, cuya estructura se muestra en la **Figura 44 D**.

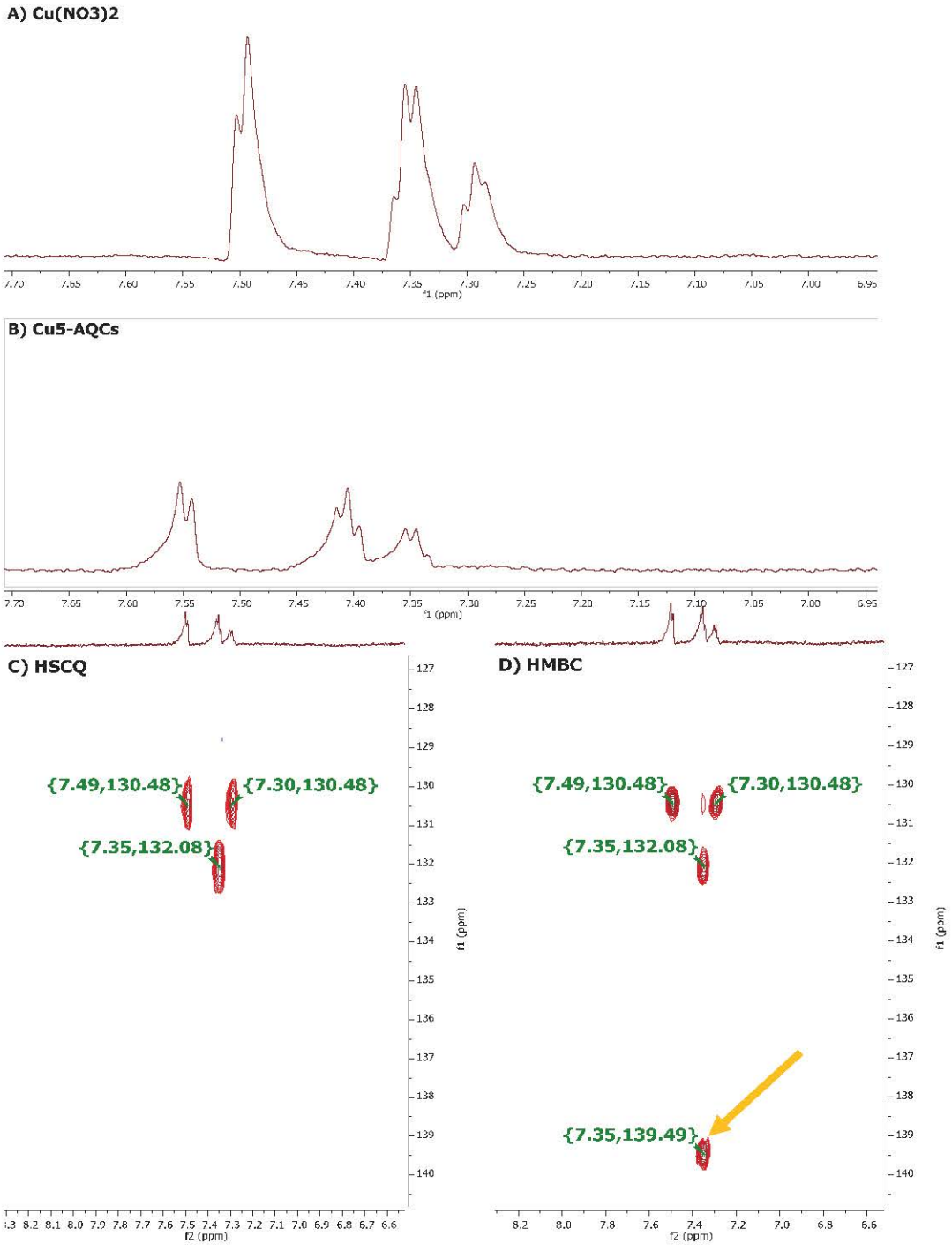



**Figura 47** Espectroscopia de $^{1}$H-RMN para una disolución 15 mM de tiofenol en metanol-agua (3-1) A) después de estar 4 días con 4.55 mg/L $Cu(NO_3)_2$, B) Una muestra de $Cu_5$-AQCs cuya relación molar en el experimento es [$Ag_5$-AQCs]/[Tiofenol] = $2 \times 10^{-4}$, C) Espectro HSQC del producto final de la reacción de oxidación del tiofenol y D) Espectro HMBC del producto final de la reacción de oxidación.

Con el fin de calcular la constante cinética de esta reacción, se midió la evolución temporal de las señales de $^1$H-RMN (ver **Figura 48**, izquierda). Se puede ver como con el paso del tiempo aparece la señal a 7.5 ppm (característica de la sulfona, producto de la oxidación del tiofenol) mientras que las señales del tiofenol (7.1 y 7.2 ppm) desaparecen con el tiempo.

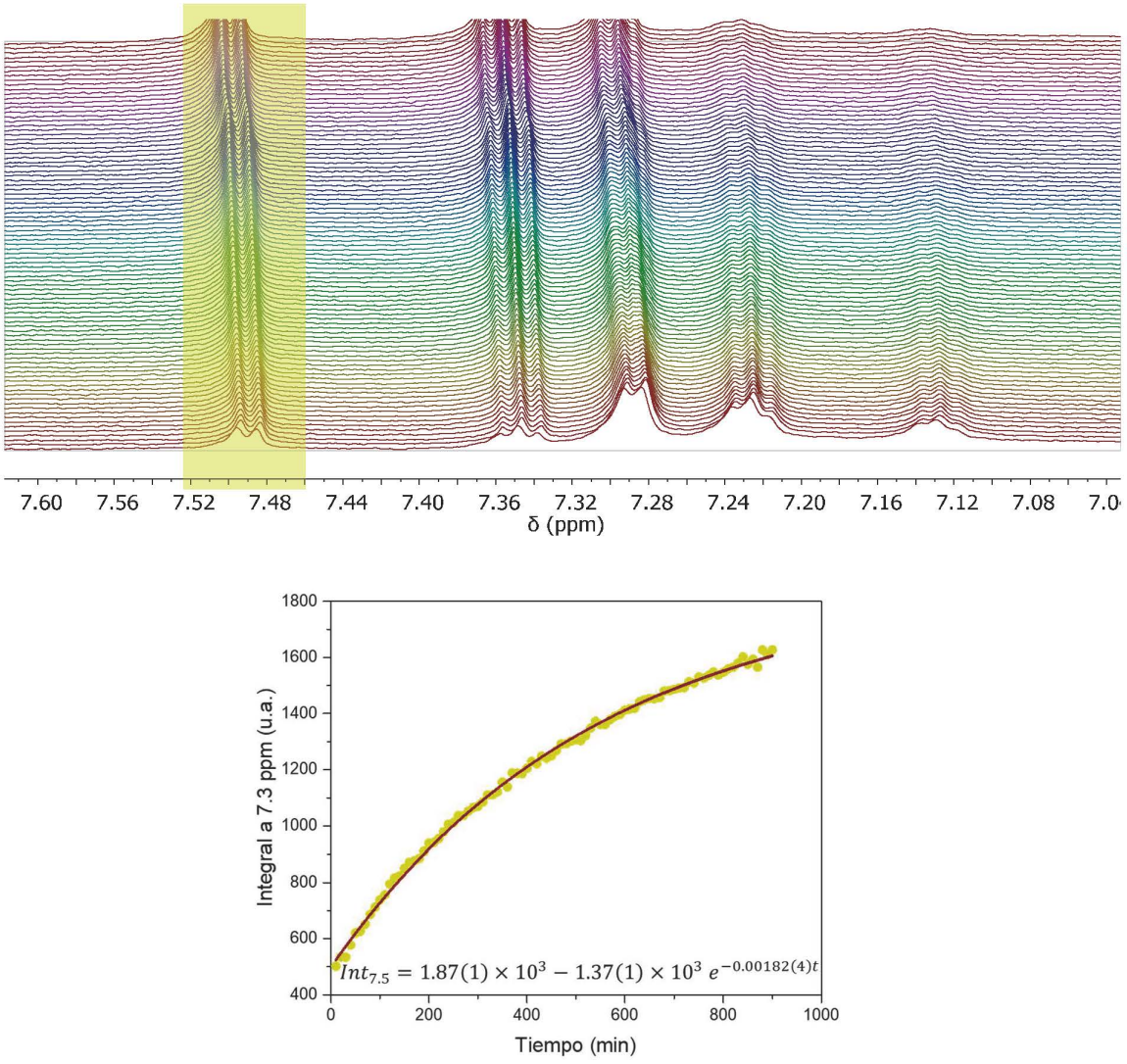



**Figura 48** Evolución temporal de las señales de $^1$H-RMN para una disolución de tiofenol 15 mM en presencia de $Cu_5$-AQCs con una relación molar de $Ag_5$-AQCs]/[Tiofenol] = $2 \times 10^{-4}$ (arriba) y representación de la integral de la señal a 7.5 ppm frente al tiempo y su correspondiente ajuste (abajo).

La señal de $^1$H-RMN característica del producto final es la de 7.5 ppm, puesto que el resto de las señales son prácticamente coincidentes y tienen, en los tiempos intermedios, contribuciones tanto del reactivo como del producto. Se usará, por tanto, la integral de esa señal característica frente al tiempo para el cálculo de la constante cinética (ver **Figura 48**, derecha). Siguiendo un procedimiento similar a los casos estudiados anteriormente, se obtiene el siguiente valor de la constante cinética de orden uno: $3.03 \times 10^{-5}$ $s^{-1}$. Suponiendo un orden uno respecto al catalizador y a la concentración de oxígeno disuelto se obtiene el siguiente valor de la cte. de orden tres: $k_{real} = 0.92 \times 10^4$ $M^{-2}s^{-1}$. Este valor de la constante es del orden del encontrado con los clústeres de plata, aunque ligeramente menor.

Los estudios realizados de sincrotrón conducen a las mismas conclusiones que para el caso de la plata, por lo que no los repetimos aquí.

Para profundizar un poco más en el estudio de la oxidación catalítica de los azufres y en vista a los buenos resultados encontrados, se decidió estudiar a continuación el dibenzotiofeno que es la molécula empleada en toda la industria petroquímica como modelo.

### b. Oxidación del Dibenzotiofeno

El dibenzotiofeno (DBT) es una molécula con un azufre altamente impedido (ver **Figura 49**), que sirve de modelo para comprobar la eficacia de los métodos de desulfurización del petróleo debido a su gran parecido con los azufres que allí se

encuentran (asfaltenos). A diferencia del resto de azufres estudiados en esta tesis doctoral, el dibenzotiofeno no puede dimerizar y por tanto su oxidación solo puede transcurrir por otros caminos, como los de la formación de estados oxidación mayores. Por este motivo decidimos emplear relaciones de [AQCs]/[DBT] mayores a $10^{-3}$, en base a los resultados anteriores.

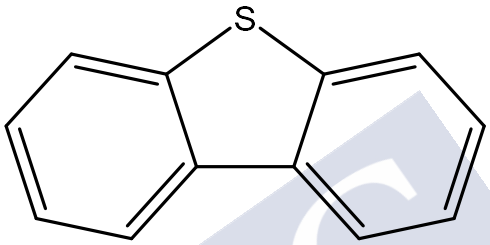



**Figura 49** Estructura del Dibenzotiofeno

El DBT es insoluble en agua, disolvente en el que se encuentran los clústeres y por ello, se llevaron a cabo experimentos en un disolvente miscible con el agua, como es el tetrahidrofurano (THF) y en uno inmiscible, como el isooctano. Así mismo se utilizaron AQCs en agua (experimentos en dos fases) y AQCs soportados en carbón activo (catálisis heterogénea).

Comenzamos por el estudio de catálisis homogénea, realizando los experimentos añadiendo $Ag_5$-AQCs sintetizados por el método electroquímico (capítulo VI, sección 2) a una disolución de DBT 2 mM en THF y siguiendo la evolución de la reacción por RMN (Anexo 1e) .

Primero se realizó una caracterización del DBT en la mezcla THF: $H_2O$ observándose en el $^1$H-RMN tres señales que se corresponden con los tres protones distintos que

presenta la molécula de DBT. También se realizó un experimento de espectroscopía de correlación total (TOCSY), que nos permite conocer los protones que están acoplados en un mismo sistema de espín, obteniendo un acoplamiento característico de los compuestos aromáticos. Por último, se hizo un experimento HSQC que nos permitió identificar los tres carbonos característicos de esta molécula (ver los tres espectros de la parte izquierda de la **Figura 50**).

Una vez identificado el DBT en las condiciones experimentales, hicimos experimentos con $Ag_5$-AQCs (relación $Ag_5$-AQCs/DBT$\approx 10^{-3}$) obteniendo la completa eliminación de las señales aromáticas características del DBT, tanto en el $^1$H-RMN, como en el TOCSY y el HSQC (ver los espectros de la parte derecha de la **Figura 50**). Este resultado nos indica que la reacción del DBT con el oxígeno atmosférico catalizada por los $Ag_5$-AQCs no solo oxida al azufre como en el caso del tiofenol explicado previamente, si no que oxida también la parte aromática de la molécula, rompiendo la aromaticidad y, por tanto, oxidando la molécula por completo, fragmentándola así en partes más pequeñas y de menor concentración que no pueden ser detectadas por RMN.

En estudios complementarios realizados en el laboratorio nacional de luz sincrotrón de Campinas en Brasil en colaboración con el grupo del Prof. Félix Requejo para las mismas condiciones de reacción, se observó que el azufre del DBT ($S^{-1}$) se transformaba en un $S^{+6}$ por la catálisis de los $Ag_5$-AQCs en la oxidación aeróbica del mismo (ver ejemplo en **Figura 51**).

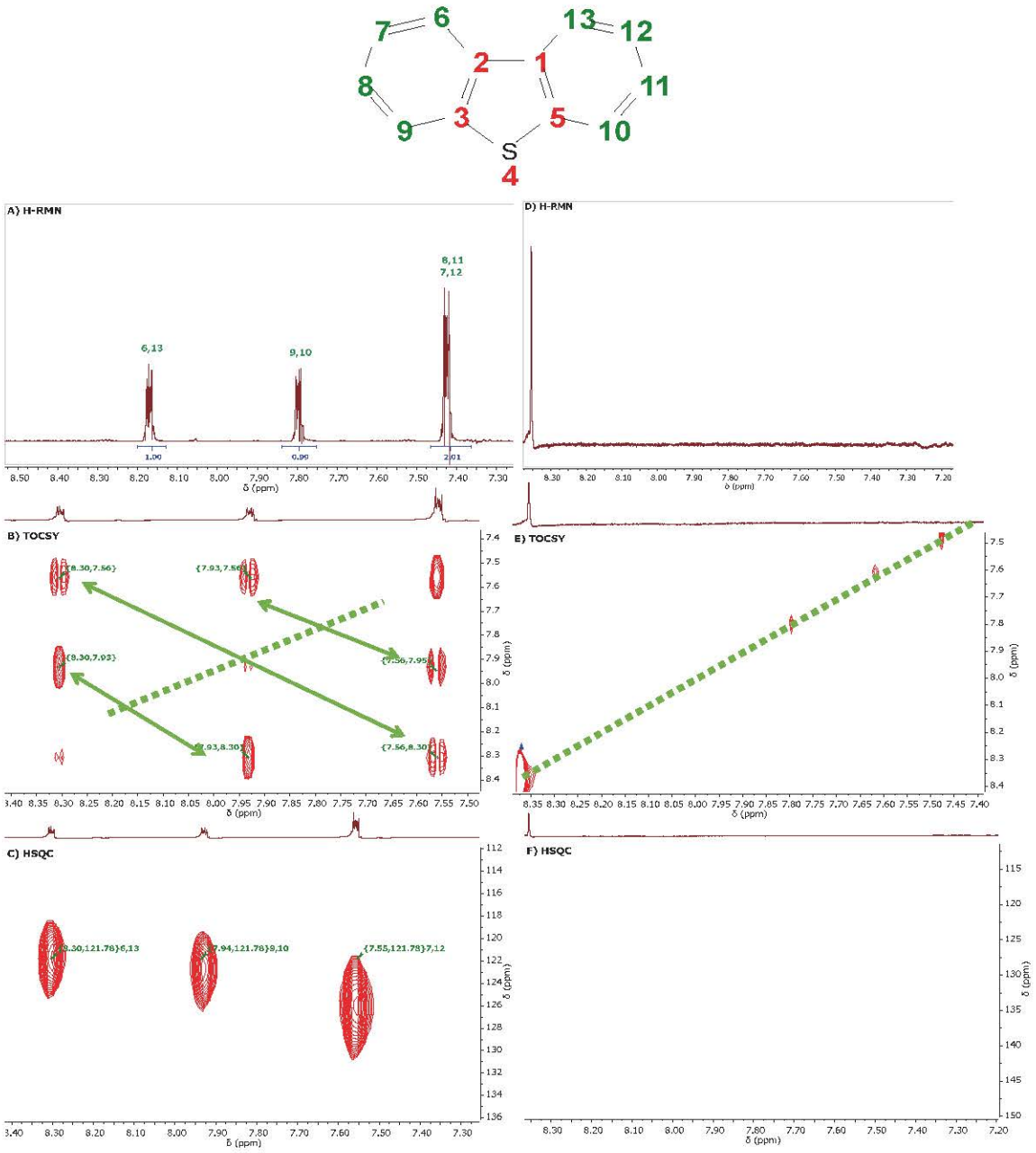



**Figura 50** A) $^{1}$H-RMN, B) TOCSY y C) HSQC de una disolución de DBT 2 mM en THF: $H_2O$. D) $^{1}$H-RMN, E) TOCSY y F) HSQC del producto de la reacción de DBT 2 mM con $Ag_5$-AQCs (relación $10^{-3}$) en una mezcla THF: $H_2O$.

Si comparamos el espectro obtenido para el producto de la reacción con AQCs con el espectro que se obtiene para el $NaSO_4$ vemos que el pico ~2480 eV encontrado en el producto es exactamente igual, es decir, todo el DBT se ha transformado en sulfato y no se observa prácticamente señal de los picos característicos del DBT (2470 eV).

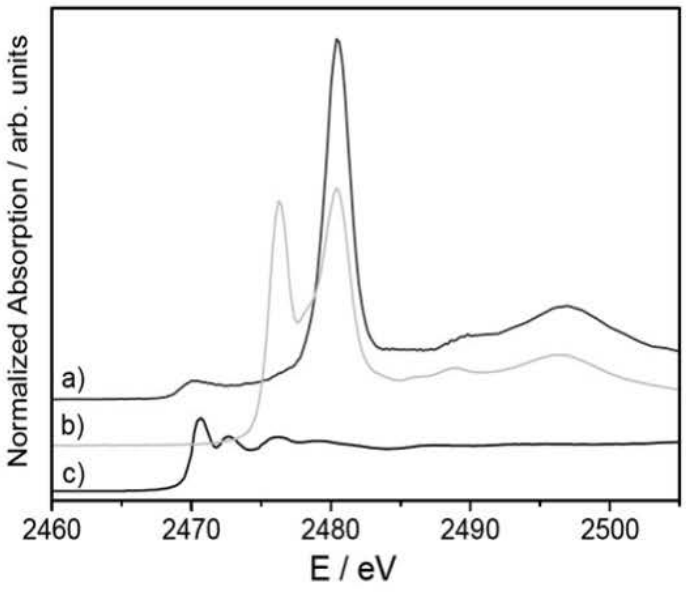



**Figura 51** Espectro XANES para el borde K del azufre de a) el producto de una reacción de DBT en THF con $Ag_5$-AQCs en agua depositado en carbón (el azufre se oxida a $S^{+6}$) b) $NaSO_4$ depositado en carbón a modo de comparación y c) DBT en la mezcla THF:agua depositado en carbón.

Por tanto, podemos concluir que los clústeres de plata 5 son capaces de oxidar completamente el azufre del DBT y presumiblemente también a la parte orgánica de la molécula, deshaciendo incluso la aromaticidad del sistema, aunque la estructura de la parte orgánica en esta oxidación está siendo todavía objeto de estudio.

A continuación, se realizó un estudio de la catálisis en dos fases (agua e isooctano) en la que una vez oxidado el DBT y una vez transformado su azufre en $S^{VI}$, se espera

que migre a la fase acuosa permitiéndonos detectar el sulfato generado por ICP-OES y por cromatografía iónica, ambas técnicas en agua. La primera técnica nos permite conocer la cantidad de azufre total en agua y se llevó a cabo en el grupo de la Profa. Pilar Bermejo en la Facultad de Química de la USC, mientras que la cromatografía iónica nos permite conocer la cantidad de ion sulfato ($SO_4^{2-}$) y se midió en la unidad de análisis de aguas de la Universidad de A Coruña.

En un experimento típico se dejaron reaccionar concentraciones de DBT en isooctano con distintas cantidades de $Ag_5$-AQCs en agua agitando la disolución vigorosamente para permitir un mayor contacto entre las dos fases. Al finalizar el tiempo de reacción deseado, se paró la agitación, con lo que las dos fases se separaron y la fase acuosa se llevó a analizar por ICP-OES y por cromatografía iónica con el fin de conocer el azufre total presente en el agua (que solo puede ser fruto de la oxidación del DBT) y el ion sulfato generado respectivamente.

Se exploraron distintas concentraciones de DBT (entre 0.6 y 10 mM), distintos tiempos de reacción (entre 2 y 12 horas), diferentes volúmenes tanto de fase orgánica como de fase acuosa (1–4 mL), diferentes pH (entre 4 y 12) de la fase acuosa y, por último, diferentes concentraciones de $Ag_5$-AQCs ($3.7 \times 10^{-8}$– $2 \times 10^{-7}$ M). Pero, ninguna de las reacciones dio un resultado positivo, pues tanto los blancos como las muestras mostraban una cantidad de azufre mínima. Como las reacciones entre dos fases son muy complejas, tal y como se detalló en el capítulo III, y, además, la aplicación final de este tipo de sistemas es en catálisis heterogénea (sólido-líquido), decidimos no invertir más esfuerzos en la catálisis en dos fases y pasamos directamente al estudio de la catálisis heterogénea con los $Ag_5$-AQCs soportados en

carbón activo ($Ag_5$-AQCs/C) mediante el método de la *incipient wetness impregnation* explicado con detalle en el capítulo VI, en la sección 5a.

Los experimentos de la catálisis heterogénea de la oxidación de DBT por $Ag_5$-AQCs/C se llevaron a cabo con las muestras de plata obtenidas mediante la síntesis fotoquímica (capítulo VI, sección 3), ya que estas muestras tienen una mayor concentración, necesaria para llegar a *loadings* que nos permitan una relación adecuada entre los AQCs y el DBT para conseguir la oxidación completa del mismo.

En un experimento habitual, se dejó reaccionar una disolución de DBT 2 mM en isooctano con distintas cantidades de $Ag_5$-AQCs/C (5 – 10 mg) con distintos *loadings* (0.1 – 0.5 %) durante aprox. 12 h.

Para comenzar con este estudio se vio el efecto que el carbón tenía sobre muestra dejando 10 mg de carbón con DBT durante aprox. 24 h y observando que el DBT se adsorbe en el carbón (ver **Figura 52 B**). Esta adsorción se puede ver cuando comparamos las integrales de los picos característicos del DBT para una disolución 2 mM de DBT en isooctano (ver **Figura 52 A**) y para el experimento que se dejó en contacto con carbón activo (ver **Figura 52 B**), observándose una disminución del 55 % de las áreas.

Por su parte, cuando en lugar de carbón se hizo el blanco de la muestra, esto es, un blanco con todos los subproductos y los compuestos que quedaron sin reaccionar del proceso de síntesis fotoquímica depositado en carbón, la adsorción del DBT es menor (30 %) que, en el caso del carbón limpio, pues, entre otras sustancias las

muestras contienen iones de $Ag^+$ que disminuyen la interacción del DBT (compuesto apolar) con el carbón, que ahora tiene iones cargados en su superficie.

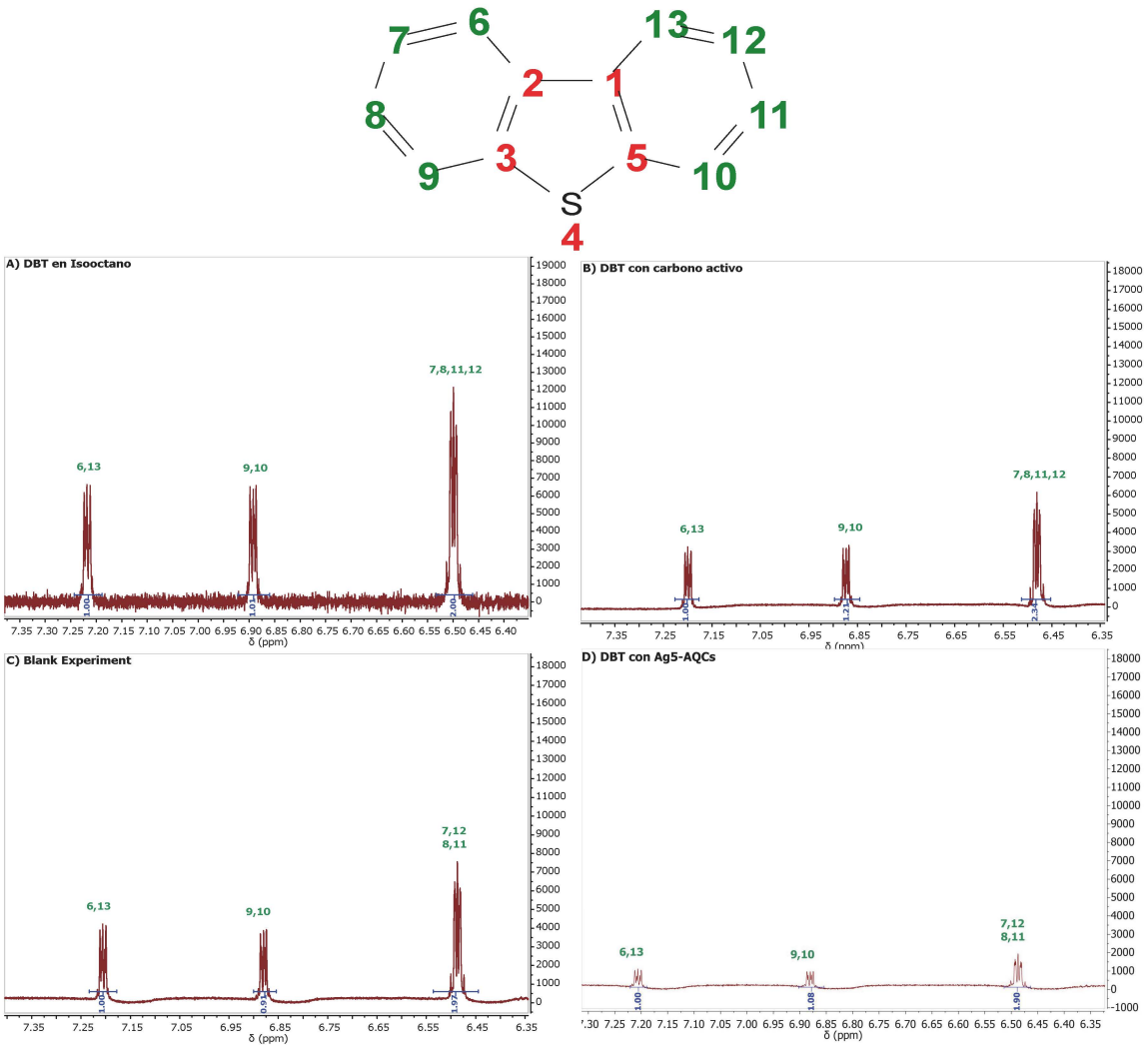



**Figura 52** Espectros de $^1$H-RMN para A) 2 mM DBT en isooctano, B) 2 mM DBT en isoctano tratado con carbón activo, C) 2 mM de DBT en isooctano tratado con un blanco que contiene los mismos compuestos presentes en la muestra de AQCs debido a precursores que no reaccionaron y subproductos derivados del proceso de síntesis, pero sin los $Ag_5$-AQCs y D) 2 mM DBT en isoctano después de reaccionar con una muestra de $Ag_5$-AQCs/C.

Por último, si hacemos el mismo análisis de las áreas de los picos característicos del DBT con la muestra de $Ag_5$-AQCs/C (**Figura 52 D**), observamos que la disminución de las señales es del 90 %, es decir, ha habido un mayor consumo de DBT atribuible a la oxidación aeróbica del mismo por la acción catalítica de los AQCs.

Complementariamente, al igual que antes, se llevaron a cabo medidas en el sincrotrón encontrando que cuando una disolución de DBT en THF se hace pasar a través de $Ag_5$-AQCs/C todo el $S^{-2}$ se transforma en $S^{+6}$ (ver **Figura 53**).

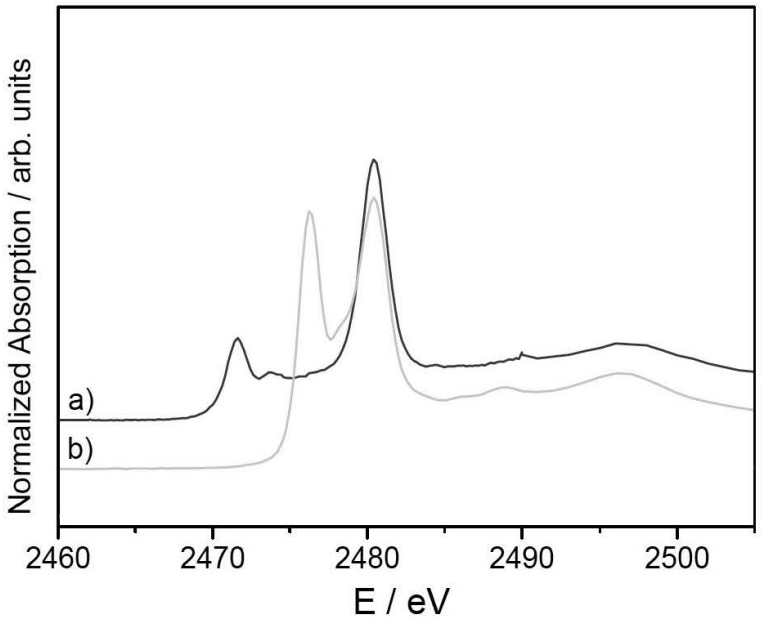



**Figura 53** Espectro XANES para el borde K del azufre de a) el producto de una reacción de DBT en THF con $Ag_5$-AQCs/C (el azufre se oxida a $S^{+6}$) b) $NaSO_4$ depositado en carbón a modo de comparación.

Por ello, podemos concluir que la muestra de $Ag_5$-AQCs/C cataliza la oxidación del DBT y, además, al haber una disminución de las señales aromáticas (lo mismo que

ocurría en el caso de la catálisis homogénea) se puede deducir que se produce una oxidación completa con rotura de la aromaticidad.

Dada la fácil recuperación del catalizador en este caso, una nueva disolución de DBT se puso en contacto con el catalizador previamente usado obteniendo los mismos resultados.

Con el fin de profundizar en el estudio de la oxidación de DBT catalizada por AQCs se hicieron diversas pruebas al objeto de dilucidar los productos de oxidación del DBT. El hecho de que se observe una disminución de las señales y que no se vea la aparición de nuevas señales, nos hizo pensar que el producto obtenido no era soluble en isooctano. Como los estudios en el sincrotrón nos daban una oxidación completa a $S^{+6}$ pensamos que quizá el producto obtenido era soluble en agua y, por ello, se llevaron a cabo distintos experimentos con los $Ag_5$-AQCs soportados en carbón activo, a saber: 1) Se dejó reaccionar ≈ 12 h una mezcla de DBT y AQCs y después hicieron extracciones con agua (con distintos volúmenes, distintos tiempos de contacto entre fases, etc). 2) Se dejó reaccionar ≈ 12 h la mezcla de DBT y $Ag_5$-AQCs/C con dos fases, una en isooctano (donde se encuentra el DBT) y la otra agua a la que se pretende extraer el producto formado por la oxidación. Después, tanto la fase orgánica como la acuosa se analizaron por resonancia magnética nuclear, pero ninguno de los experimentos nos dio picos característicos identificables.

En consecuencia, las hipótesis que se proponen son: 1) que el producto de la reacción se adsorba fuertemente en el carbón y que haga difícil su caracterización por extracción y 2) que se rompa la molécula en fragmentos pequeños que hagan difícil

su caracterización por RMN debido a la baja concentración que ya presenta el reactivo de partida.

La oxidación aeróbica de DBT catalizada por $Ag_5$-AQCs/C está siendo todavía objeto de estudio y formará parte de futuros trabajos.

De todas formas, el hecho de que las señales de DBT disminuyan drásticamente por la acción de los $Ag_5$-AQCs es un hecho destacable puesto que, que nosotros sepamos, no se conoce ningún catalizador que, usando el oxígeno a presión atmosférica y temperatura ambiente, sea capaz de oxidar el azufre desde el $S^{-2}$ al $S^{+6}$. Este resultado es una prueba más del alto potencial catalítico de los AQCs.

## 5. Discusión

En este capítulo se ha demostrado la gran capacidad que tienen los AQCs de 5 átomos, tanto de Ag como de Cu, para catalizar la oxidación parcial y completa de compuestos de azufre tan diversos como: cisteína, glutatión, tiofenol y dibenzotiofeno, utilizando como agente oxidante únicamente oxígeno atmosférico y a temperatura ambiente.

Aunque la oxidación completa del azufre al dímero correspondiente es inmediata incluso con cantidades muy pequeñas de catalizador (un millón de veces menos moles de AQCs que compuesto de azufre); para alcanzar el estado de oxidación mayor del azufre ($S^{6+}$) en los tiempos estudiados, se deben de utilizar relaciones molares en torno a mil veces menos AQCs que el compuesto de azufre.

Por un lado, el resultado obtenido de la completa oxidación de la cisteína a un estado de oxidación $S^{+6}$, difiere de lo que suele ocurrir en los sistemas biológicos que normalmente se obtienen compuestos oxidados de azufre que continúan unidos a las macromoléculas y esto hace que en muchos casos el proceso de oxidación sea reversible[100], llegando como mucho hasta $S^{+4}$; sin embargo, en el caso de los AQCs el proceso no puede ser reversible tal y como se demostró por los cálculos DFT ( ver Anexo 5) en los que el primer paso es una separación de la parte orgánica y el azufre para altas concentraciones de AQCs.

Por otro lado, en los métodos actuales para la desulfuración del petróleo no existen catalizadores capaces de oxidar completamente los compuestos de azufre usando solo oxígeno atmosférico como agente oxidante y temperatura ambiente, además de emplear cantidades menores a las de otros catalizadores en la bibliografía.

Por ejemplo, en un trabajo previo del Prof. Avelino Corma[20] en colaboración con el grupo de investigación en el que se enmarca esta tesis doctoral, se encontró que los Au-AQCs de baja atomicidad oxidaban, con actividades catalíticas semejantes a las enzimas, al tiofenol a su dímero (estado de oxidación -1). Sin embargo, no se encontraron oxidaciones posteriores del dímero. Además, los TOFs encontrados para los clústeres de oro son $\approx 10^5\ h^{-1}$, si calculamos el TOF para nuestros clústeres de la misma forma (dividiendo las constantes observadas de primer orden por el número de sitios activos que se asume que son todos los moles de átomos que forman el AQCs), obtenemos un valor de TOF para nuestras oxidaciones de $\approx 2 - 10 \times 10^8\ h^{-1}$, es decir, la cinética mostrada por los AQCs de plata y cobre de 5 átomos presentados en esta tesis doctoral mejoran la velocidad de reacción en, al menos, 3 órdenes de

magnitud a los clústeres de oro que ya mostraban una capacidad catalítica mayor a las enzimas.

En la bibliografía hay muy pocos ejemplos que usen oxígeno atmosférico para la oxidación de grupos SH y, en caso de usarlo, no se consigue oxidar más allá del dímero[20,126,127] Así , por ejemplo, recientemente, se ha reportado la oxidación aeróbica de compuestos de azufre a dímeros mediante un catalizador magnético basado en plata[128] , pero se precisan cantidades de catalizador del orden de 15 mg (≈ 60 000 veces mayor que en el caso de los clústeres). En algunos casos se ha conseguido la oxidación a sulfonas[129] pero con un pobre rendimiento, con tiempos de reacción superiores y con temperaturas más altas.

Debido a la baja efectividad que muestran hoy en día los catalizadores activando el oxígeno molecular para las reacciones de oxidación de compuestos de azufre en muchos estudios se usan otros agentes oxidantes más fuertes, como por ejemplo, entre 5 y 10 equivalentes de peróxido de hidrógeno para oxidar compuestos de azufre a sus dimeros[130–132]. Algunos catalizadores de la bibliografía son capaces de oxidar un poco más allá del dímero, desde el tiol a la sulfona[133] o al ácido sulfónico[134] cuando usan altas temperaturas de reacción. Podemos decir pues que los catalizadores actuales tienen en común que no son capaces de activar el oxígeno atmosférico como los AQCs y, por ello, necesitan grandes cantidades de agentes oxidantes, más cantidad de catalizador, mayores tiempos de reacción y/o mayores temperaturas. Pero, aún a pesar de esas condiciones, la mayoría de ellos no consiguen rendimientos superiores al 40 %.

También hay aproximaciones que usan catálisis enzimática. Por ejemplo, la catálisis cooperativa de Laccase/DDQ[135] en un sistema agua:etanol a temperatura ambiente necesita más de 10 horas para oxidar el 50 % del tiofenol a disulfuro y a sulfóxido de benceno. En comparación los AQCs activan el oxígeno atmosférico de forma tan eficiente que, de forma instantánea, se obtiene el dímero del compuesto de azufre en cuestión y, cuando la relación molar es mayor en unos pocos minutos se consigue la completa oxidación al estado de oxidación +6 sin necesidad de agentes oxidantes fuertes, sin altas temperaturas y sin tiempos de reacción largos que encarezcan el proceso.

## 6. Conclusiones

En este capítulo se mostró por primera vez la gran capacidad que muestran los AQCs de 5 átomos, tanto de plata como de cobre, para activar el oxígeno atmosférico y oxidar así completamente compuestos de azufre importantes tanto a nivel biológico como para la industria petroquímica.

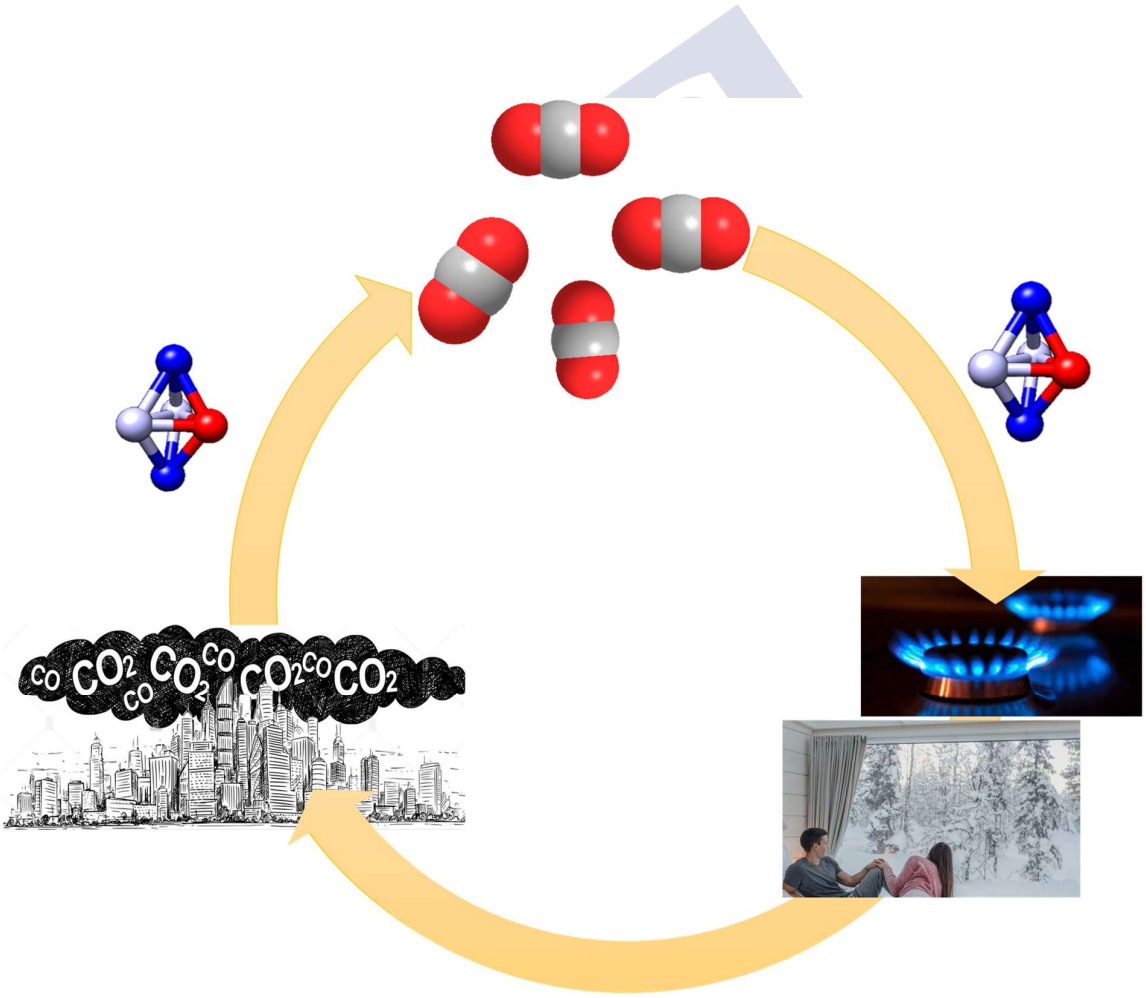
Independientemente del azufre estudiado (desde la cisteína al dibenzotiofeno) se obtuvo una gran dependencia en el estado de oxidación del producto obtenido con la relación molar entre los AQCs y el compuesto de azufre ([AQCS]/[Azufre]) en cuestión. Cuando esa relación molar es mayor $10^{-3}$ se obtiene la completa transformación del compuesto de azufre en el $S^{+6}$, mientras que para relaciones molares menores a $10^{-5}$ se obtuvo el dímero del compuesto de azufre ($S^{-1}$), en cambio,

en las relaciones intermedias se obtuvieron mezclas de productos de estados de oxidación intermedios.

Se obtuvo un valor de TOF para las oxidaciones estudiadas ≈ 2 - 10 × $10^8$ $h^{-1}$, es decir, la cinética mostrada por los AQCs de plata y cobre de 5 átomos presentados en esta tesis doctoral mejora la velocidad de reacción en 3 órdenes de magnitud a los clústeres de oro que ya mostraban una capacidad catalítica mayor a las enzimas.

Resumiendo, es la primera vez que se presenta la oxidación de compuestos de azufre, tanto biológicos como petroquímicos, a su mayor estado de oxidación $S^{+6}$ utilizando oxígeno atmosférico como agente oxidante, a presión y temperatura ambiente y con tiempos de reacción extraordinariamente cortos con rendimientos cuantitativos (cercanos al 100 %) y con cantidades pequeñas de catalizador, entre un millón y mil veces inferiores a las del compuesto de azufre en cuestión.

# V. Catálisis Heterogénea de Reacciones en Fase Gaseosa



## 1. Introducción

Ya hemos indicado que uno de los campos más activos en la actualidad es la búsqueda de catalizadores heterogéneos (que son fácilmente reutilizables) para las reacciones en fase gaseosa. Se busca que los nuevos catalizadores tengan un mayor rendimiento, una alta selectividad, un menor envenenamiento y, que aceleren al máximo las reacciones ahorrando así el mayor tiempo y dinero posibles.

En este capítulo vamos a abordar algunas de estas interesantes reacciones como son la oxidación de CO, la hidrogenación de propeno y la hidrogenación de $CO_2$, utilizando clústeres de 5 átomos como catalizadores heterogéneos (tanto depositados sobre distintos óxidos como en carbón activo).

## 2. Materiales y métodos

En este capítulo se utilizaron tanto clústeres de cobre de 5 átomos ($Cu_5$-AQCs) sintetizados utilizando la síntesis electroquímica (Capítulo VI, sección 4) como clústeres de plata de 5 átomos ($Ag_5$-AQCs) sintetizados mediante el método fotoquímico (Capítulo VI, sección 3).

Las muestras se depositaron en dióxido de zirconio o zirconia ($ZrO_2$), en óxido de aluminio o alúmina ($Al_2O_3$), en dióxido de titanio o titania ($TiO_2$) y en carbón activo (C), cuyas características se resumen en la **Tabla 7**, siguiendo los métodos de deposición de la *incipient wetness impregnation*, el método de deposición lento y el

método de deposición rápido que se explicaron detalladamente en el capítulo VI, sección 5a.

**Tabla 7** Características de los soportes utilizados en este capítulo.

| $ZrO_2$ | |
|---|---|
| Compañía | Skyspring Nanomaterials, Inc www.ssnano.com |
| Producto | 8504DX |
| Lote | 8504-061217 |
| Pureza | 99 % |
| Tamaño de partícula | 10 nm |
| Volumen por masa | 0.190 mL/g |
| **$Al_2O_3$** | |
| Compañía | Sasol North America Inc. |
| Producto | SBa-200 Alumina |
| Lote | C1964 |
| Tipo | Gamma $Al_2O_3$ |
| Volumen por masa | 0.675 ml/g |
| **$TiO_2$** | |
| Compañía | GNM |
| Producto | Titanium dioxide powder |
| Lote | #0194 |
| Tipo | Anatasa |
| Pureza | ≥99.9 % |
| Tamaño de partícula | 5 nm |
| Área superficial (BET) | 200 $m^2/g$ |
| Volumen por masa | 1.3 mL/g |
| **Carbón** | |
| Compañía | CABOT |
| Producto | Vulcan Carbon black VXC72 |
| Lote | 4334250 |

Las medidas se llevaron a cabo en una unidad de catálisis (ver un esquema básico en la **Figura 54**) con cromatografía de gases (ver los detalles de la esta técnica de

caracterización en Anexo 1d) acoplada en línea, con la que se detectaron los productos y los reactivos de las distintas reacciones.

La unidad está provista de unos controladores de flujo que permiten controlar la cantidad de gas (en mL/min) y, por tanto, la mezcla de gases que llega al reactor que contiene el catalizador que es objeto de estudio. Además, el reactor está provisto de un termopar interno con el que se puede controlar el horno para poder realizar la reacción a distintas temperaturas.

En la **Figura 55** se muestra el esquema detallado de una unidad de catálisis (la usada en los experimentos de oxidación de CO e hidrogenación de propeno en el grupo del Prof. Enrique Iglesia en Berkeley, Universidad de California). En esta unidad de catálisis se emplea un cromatógrafo de gases de la casa comercial Agilent Technologies provisto de dos detectores, TCD y FID, y con una columna HP-1 de 50 m, 0.32 mm, 1.05 u y con un sistema de enfriamiento criogénico del horno con nitrógeno líquido. Con esta configuración se estudiaron dos reacciones: 1) la oxidación de CO en la que podemos separar, gracias al enfriamiento criogénico, el $O_2$ y el CO (ambos reactivos de la reacción y detectados en el TCD) con tiempos de retención de 6.47 y 6.75 min, respectivamente y, también el producto de la reacción, $CO_2$ , que se detecta en el TCD y sale a un tiempo de retención de 9 min; 2) la hidrogenación de propeno, en la que el propeno y el propano, ambos detectados en el FID, salen a 2.96 y 3.01 min, respectivamente.

En ambas figuras se puede ver como cada botella de gas ($O_2$, $H_2$, Ar/He, CO, $CO_2$, $C_3H_6$) está conectada a un controlador de flujo másico apto para el gas que está fluyendo

en cada una de las líneas. Después estas líneas se unen en un punto y pasan a formar una única línea en la que se lleva a cabo la mezcla de gases. Luego, esta mezcla de gases llega a una válvula que permite pasar la mezcla por *bypass* o por el reactor que se encuentra dentro de un horno tubular de temperatura controlada a través de un termopar que está introducido en el reactor. Después, la mezcla de gases que sale del reactor o del *bypass* se conecta al cromatógrafo de gases que inyecta 20 µL de gas y el resto lo ventea al exterior. Los cromatógrafos de gases empleados tenían como detectores un TCD (para los gases ligeros CO, $O_2$, $H_2$, $CO_2$, Ar) y un FID (para los hidrocarburos $CH_4$, $C_3H_6$, $C_3H_8$, etc.). El área encontrada en los cromatogramas es proporcional a la concentración de gas y, por tanto, de esa forma podemos conocer la conversión de la reacción.

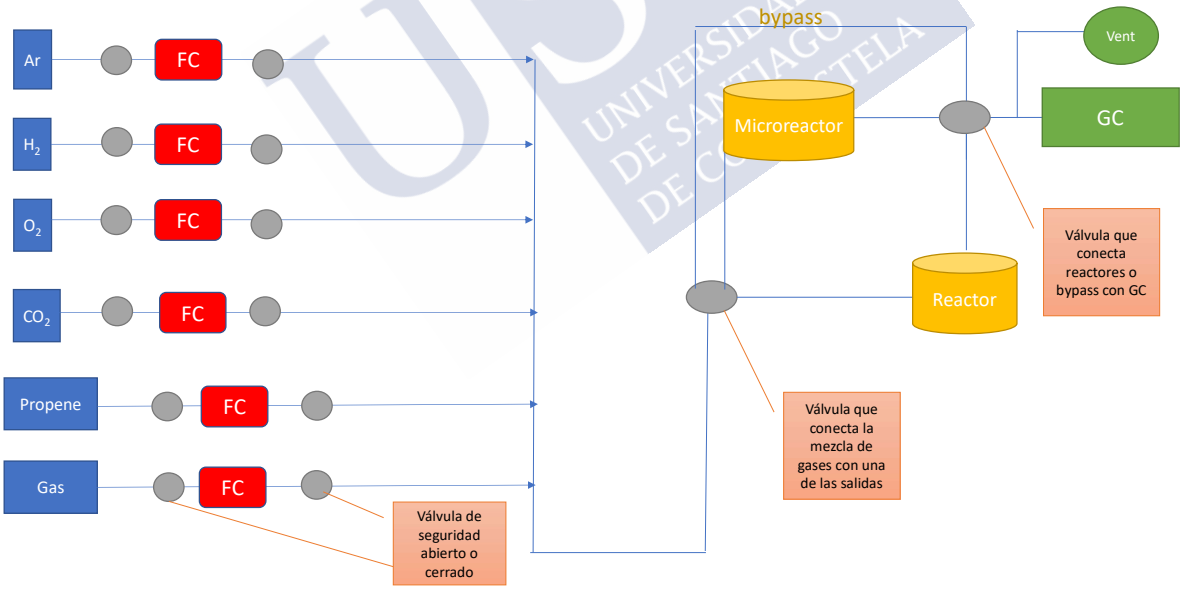



**Figura 54** Esquema básico de una unidad de catálisis con reactor y microrreactor.

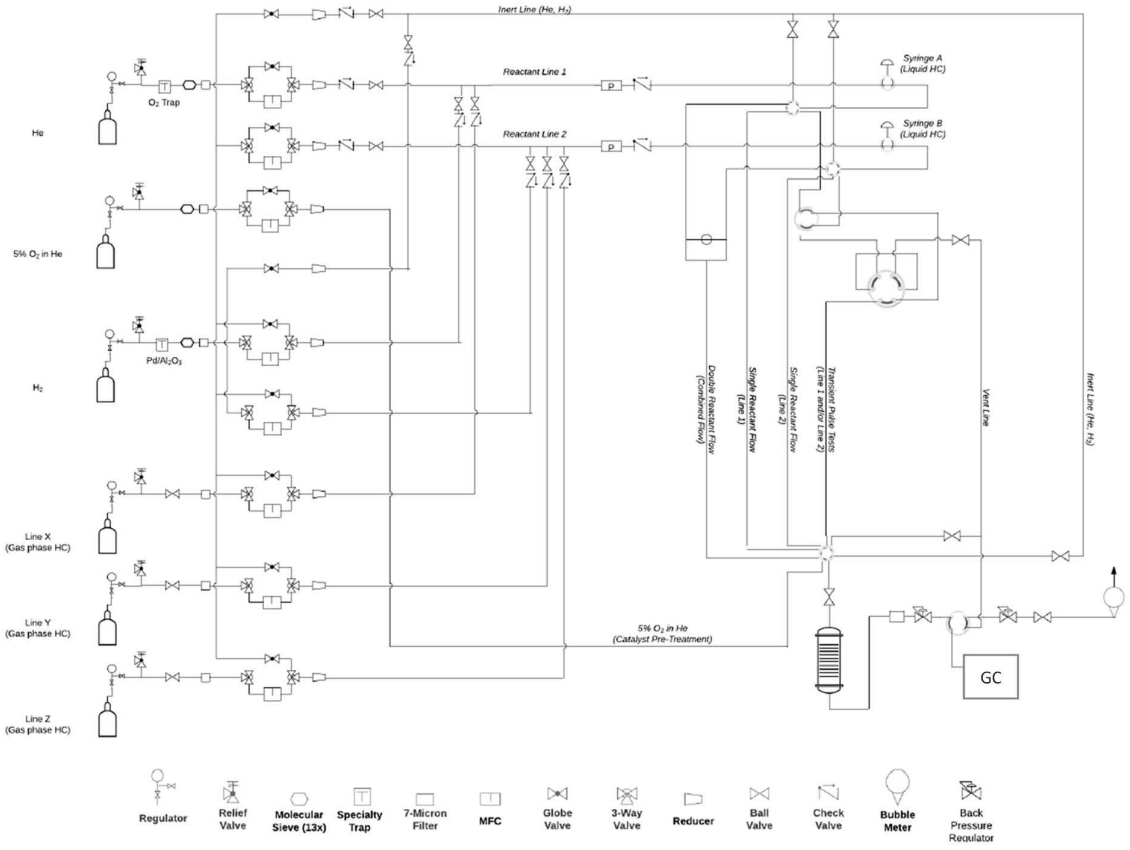



**Figura 55** Esquema de la unidad de catálisis del laboratorio del Prof. Enrique Iglesia en la Universidad de California en Berkeley utilizada para la presente tesis doctoral.

En el caso de la hidrogenación de $CO_2$ llevada a cabo en el BNL (Nueva York) en el grupo del profesor José Rodríguez, la unidad era prácticamente igual solo que tenía además del reactor convencional, un microrreactor (ver esquema de la **Figura 54**) que nos permitía el uso de 1-2 mg de catalizador. Además, es el mismo reactor que se emplea en el sincrotrón para hacer las medidas *in situ*. El microrreactor consistía en una celda de Clausen (ver **Figura 56**) en la que el reactor es un capilar de cuarzo y el calentamiento se realiza con unas resistencias conectadas a una batería que, en función de la temperatura del termopar interno, aplica más o menos voltaje para

alcanzar la temperatura deseada. Además, en esta unidad disponíamos de espectrometría de masas conectada en línea que nos permitía monitorizar la mezcla a tiempo real y también un cromatógrafo de gases de la casa comercial Agilent con detectores FID y TCD y con unas columnas en serie HP-PLOT-Q 30 m, 0.53 mm, 40 µm y HP-PLOT 5 A 30 m, 0.53 mm, 25 µm *Molesieve porous layer open tubular*, que permiten separar los reactivos ($CO_2$ e $H_2$) ambos detectados en el TCD con tiempos de retención de 2.7 y 10 min, respectivamente, y el producto ($CH_4$) de la reacción detectado en el FID con un tiempo de retención de 14 min. También podemos detectar el gas inerte, Ar, en el TCD con un tiempo de retención de 10.4 min y usarlo como patrón interno.

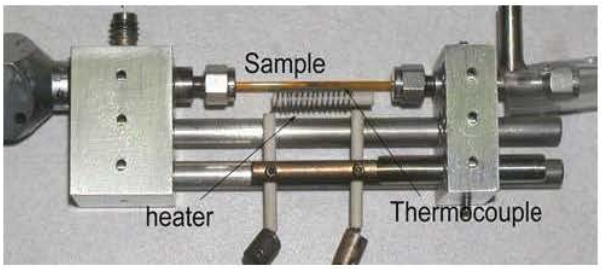



**Figura 56** Celda de Clausen. Imagen obtenida de la página web del "synchrotron catalysis consortium".

El catalizador en polvo, tanto en el caso de un reactor convencional como en el caso del microrreactor, se introduce entre dos fragmentos de lana de cuarzo pura que permiten fijarlo en un punto concreto del reactor (llamado cama) y compactarlo; además, evitan que el catalizador se mueva al fluir los gases y que el termopar entre

en contacto con nuestro catalizador al medir la temperatura a la que éste está realizando la catálisis.

Para llevar a cabo el estudio catalítico de los distintos catalizadores probados en las distintas reacciones de este capítulo se utilizó la velocidad definida como el número de moléculas producidas dividido por el número de sitios activos del catalizador (ver ecuación (III.1) conocida por su nombre en inglés *turnover rate* y por sus siglas en inglés *TOR*. Suele expresarse en unidades de $s^{-1}$.

$$TOR = \frac{Número\ de\ moléculas\ producidas\ por\ unidad\ de\ tiempo}{Número\ de\ sitios\ activos\ del\ catalizador} \qquad \text{(III.1)}$$

En el caso de los AQCs, se supone que todos los átomos del clúster son sitios activos de nuestro catalizador, ya que todavía no existen métodos que nos permitan saber cuántos de los átomos que forman el AQCs son activos y accesibles para llevar a cabo las catálisis en fase gas. Aunque este hecho hace que los *TOR* calculados para las muestras de clústeres puedan ser subestimados, dado el número pequeño de átomos del clúster podemos considerar que el error es prácticamente despreciable.

Además, la actividad catalítica se evaluó también en términos de conversión y selectividad, definidos como:

- La conversión es la cantidad de reactivo que se ha convertido en productos en el transcurso de la reacción química y suele expresarse en unidades de % (ver ecuación V.2).

$$conversión\ (\%) = \qquad \text{(V.2)}$$

$$= \frac{moles\ de\ reactivo\ iniciales - moles\ de\ reactivo\ finales}{moles\ de\ reactivo\ iniciales} \times 100$$

- La selectividad es la cantidad de producto deseado que se ha obtenido con respecto a los otros productos (conocidos como subproductos) de la reacción, también se suele expresar en % (ver ecuación V.3).

$$selectividad\ (\%) = \frac{moles\ de\ producto\ deseado}{moles\ totales\ de\ productos} \times 100 \qquad \text{(V.3)}$$

## 3. Oxidación CO

Los resultados mostrados en esta sección se desarrollaron durante una estancia en el laboratorio del Prof. Enrique Iglesia en la UC Berkeley.

El monóxido de carbono (CO) es fruto de la incompleta oxidación en las combustiones de los compuestos orgánicos. Es un gas altamente tóxico para las personas y perjudicial en el medio ambiente siendo uno de los gases de efecto invernadero. Así, el gobierno de España[136] establece que el límite para la protección de la salud humana es de 10 mg/m$^3$.

La oxidación de CO no supone solo la reducción de la contaminación ambiental por la disminución de los gases de efecto invernadero sino que también se puede aplicar

en diversos ámbitos como para sensores de CO, en láseres de $CO_2$ de alta eficiencia[137], etc.

Además, la oxidación catalítica del CO en la superficies de metales nobles ha sido ampliamente estudiada desde la investigación pionera de Langmuir[138] sobre hilos de Pt. Debido a su simple estructura molecular, los sencillos reordenamientos que supone su reacción, el amplio intervalo de temperaturas de trabajo y lo fácilmente detectable que resultan sus productos y reactivos; hacen que la oxidación de CO sea una reacción atractiva para probar conceptos fundamentales de la catálisis heteogénea[139]. Por este motivo y los apuntados anteriormente, se escogió esta reacción para iniciar el estudio de catálisis heterogénea por AQCs de 5 átomos en fase gaseosa.

Para la catálisis de esta reacción se han utilizado una gran gama de catalizadores metálicos de Ru, Pt, Rh, Au, Ag y Cu, siendo los de Au y Pt los más ampliamente reportados, aunque su alto precio hace inviable su aplicabilidad en muchos de los campos de interés, por lo que se buscan alternativas más económicas.

En la bibliografía se encuentran también diversos ejemplos de clústeres que son activos catalíticamente para la oxidación de monóxido de carbono. Por ejemplo, clústeres de oro[140] presentan actividad en esta catálisis siendo dicha actividad muy dependiente del número de átomos del clúster. Así, clústeres de Au entre 8 y 20 átomos presentan una alta actividad catalítica, mientras que $Au_2$ son completamente inactivos para la oxidación de CO; además, se encuentra una alta dependencia en la catálisis con el soporte utilizado, pues, a mayor deficiencia de oxígeno en el soporte

se observa una mayor actividad[25]. En otro trabajo en el que se emplean clústeres de paladio[141] sobre dióxido de titanio (Pd-AQCs/$TiO_2$) también se encuentra una gran dependencia de la actividad catalítica con el número de átomos, viéndose incrementada dicha actividad desde $Pd_2$ a $Pd_4$ y disminuyendo de nuevo para $Pd_7$ y, finalmente, aumentando de forma gradual hasta $Pd_{25}$.

Los experimentos catalíticos se llevaron a cabo en la unidad de catálisis cuyo esquema se muestra en la **Figura 55**. En el caso de las muestras de cobre, se utilizó $ZrO_2$ como soporte y el método de deposición fue *incipient wetness impregnation* con *loadings* de $Cu_5$ de 0.01 % y 0.1 % (Capítulo VI, Sección 5b). Las muestras se pretrataron a temperatura ambiente durante dos horas: la primera hora con una corriente de 40 mL/min de He y la segunda hora con una corriente de 7 mL/min de $O_2$. Después se procedió a las medidas catalíticas donde se exploraron distintas temperaturas, desde 27 °C a 300 °C y diversas relaciones de gases a saber: entre 0.2 % y 0.8 % de CO y entre 10 % y 20 % de $O_2$ siempre balanceado a un flujo total de 100 mL/min con He. Se encontró que en ninguna de las condiciones las muestras presentan una actividad distinta a la del blanco (muestra preparada con todas las sustancias presentes en las muestras de AQCs pero sin $Cu_5$-AQCs y depositada y tratada de la misma forma que las muestras de clústeres), es decir, en ningún caso se detecta $CO_2$, excepto para las condiciones a 300 °C, en los que se detecta una pequeña cantidad (tanto en el blanco como en la muestra) con unas conversiones entre el 0.01 % y el 0.04 %.

En el caso de las muestras de $Ag_5$ el soporte empleado fue $Al_2O_3$ con un *loading* de 0.6 % (Capítulo VI, Sección 5b) y se exploraron dos métodos de deposición: el

método de deposición lento y el método de deposición rápido (Capítulo VI, Sección 5a). Además, antes de la medida catalítica las muestras se pretrataron durante aprox. 12 h a 200 °C con $O_2$. En este caso se obtuvo una dependencia de la actividad de las muestras en función del método de deposición empleado: cuando se depositaron las muestras siguiendo el método rápido de deposición no se detectó $CO_2$, mientras que en las muestras preparadas mediante el método de deposición lento se obtuvo una conversión del 26 % para la oxidación de CO con una relación de 0.5 % de CO y 10 % de $O_2$, balanceado a un flujo total de 100 mL/min con He a 200 °C. En estas mismas condiciones experimentales se calculó el TOR (sección 2 del presente capítulo) obteniendo un valor de 0.1 $s^{-1}$. Al igual que en el caso anterior se llevaron a cabo medidas del blanco de muestra, encontrando que es inactiva para la oxidación de CO y, por lo tanto, se puede asegurar que la actividad mostrada por las muestras de $Ag_5$-AQCs/$Al_2O_3$ es únicamente debida a la presencia de clústeres de $Ag_5$.

Con el fin de comparar los resultados obtenidos con un catalizador conocido medido en las mismas condiciones experimentales que los AQCs se llevaron a cabo medidas con Pt/$SiO_2$ suministrado por el estudiante de doctorado Ari Fischer del grupo del Prof. Enrique Iglesia, encontrando que, en las mismas condiciones de trabajo, se obtiene un TOR de 0.4 $s^{-1}$ para una muestra con un *loading* de 0.005 %. Aunque el TOR es superior con un *loading* 120 veces menor que el encontrado en el caso de $Ag_5$-AQCs, hay que decir que el platino es uno de los catalizadores más eficientes para esta reacción. Si comparamos los resultados con otros catalizadores de plata vemos que $Ag_5$-AQCs/$Al_2O_3$ presentan un TOR dos órdenes de magnitud superior (ver

**Tabla 8**) a lo reportado previamente. Es importante mencionar que todos los resultados obtenidos han sido la media de, al menos, tres réplicas.

**Tabla 8** Comparación de diferentes catalizadores para la reacción de oxidación de CO.

| Catalizador | *Loading* (%) | Sitios activos específicos x$10^{-6}$ molCO/(m²*h) | TOR ($s^{-1}$) | Reaction Conditions | | Ref. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | T (°C) | $CO/O_2$ | |
| **$Ag_5$ - AQCs/$Al_2O_3$** | 0.6 | - | 0.1 | 200 | 0.5/10 | Esta Tesis |
| **Pt/$SiO_2$** | 0.005 | 0.065 | 0.4 | 200 | 0.5/10 | Esta Tesis |
| **Ag/SBa-15** | 8 | 6.2 | 0.001 | 65 | 1/20 | [142] |
| **Ag/HMS** | 2.7 | 4.0 | 0.004 | 100 | 1/20 | [143] |
| **Ag/$SiO_2$-500** | 8 | 30.0 | 0.002 | 66 | 1/1 | [144] |
| **Ag/$SiO_2$-700** | 5 | 36.0 | 0.003 | 58 | 1/1 | [144] |
| **Ag/HMS** | 2.8 | 3.6 | 0.004 | 20 | 1/20 | [145] |
| **Ag/KIT-6** | 3.78 | 9.0 | 0.003 | 90 | 1/20 | [146] |
| **Ag/SBA-15** | 8 | 6.1 | 0.001 | 60 | 1/20 | [147] |
| **Ag/SBA-15** | 1.42 | 9.5 | 0.008 | 20 | 1/20 | [148] |

En conclusión, podemos decir que los clústeres $Ag_5$-AQCs han demostrado poseer actividad catalítica para la reacción de oxidación de CO. Aunque las actividades son inferiores a las del Pt, son superiores a las de sus análogos de plata. Estos prometedores resultados abren la posibilidad de seguir estudiando esta reacción explorando tanto distintos soportes como utilizando otros clústeres.

## 4. Hidrogenación de propeno

Los resultados mostrados en esta sección se desarrollaron durante la estancia en el laboratorio del Prof. Enrique Iglesia en la UC Berkeley.

La alta demanda mundial de olefinas ligeras y el incremento que se espera para las próximas décadas hace que se vuelva de vital importancia desarrollar nuevas rutas sintéticas efectivas y sostenibles desde el punto de vista medioambiental. La producción de olefinas es fundamental tanto para la industria química y de polímeros como para la producción de combustibles. Actualmente los métodos habituales de obtención de olefinas del petróleo son el craqueo[149] por vapor o el craqueo catalítico fluido (conocido por sus siglas en inglés FCC) y la deshidrogenación de alcanos usando catalizadores[150] de platino u óxido de cromo. Ambos procesos necesitan mucha energía por sus altas temperaturas (por encima de los 450 °C) y presentan una baja selectividad. Por ejemplo, el craqueo térmico de propano produce propileno, etileno, metano e hidrógeno, debido a la baja selectividad de los catalizadores. La obtención de propano es bastante desfavorable y la desactivación catalítica es muy frecuente debido a la deposición de carbón en la superficie de los catalizadores lo

que supone que se tenga que regenerar el catalizador con bastante frecuencia. Además, evitar la rotura del enlace C-C es todavía una de las tareas pendientes a resolver en los catalizadores convencionales.

En la bibliografía se encuentran diversos trabajos que tratan de solventar esta problemática, utilizando catalizadores de paladio[151], zinc[152], platino[153,154], oro[155], etc. Pero todos los catalizadores necesitan altas temperaturas o son caros y, por ello, difícilmente aplicables a escala industrial.

Incluso recientemente, se han realizado estudios de nuevos catalizadores en el mundo subnanométrico[29] para solucionar esta problemática, desde los *single atoms* a los AQCs los investigadores tratan de hidrogenar alquenos con el fin de obtener olefinas de interés. Así, por ejemplo, clústeres de Rh de 2 átomos cargados en zeolitas Y se utilizaron para la hidrogenación de etileno obteniéndose conversiones a etano de 4.9 % después de 1 hora de reacción a 298 K y 1 bar. Por su parte, $Au_2$-AQCs muestran un TOF para la reacción de hidrogenación de etileno muy elevado ~$2.6 \times 10^3\ s^{-1}$. Por último, clústeres de Pt de 12 átomos también fueron utilizados en diversas reacciones de hidrogenación de alquenos mostrando una alta actividad.

Todo esto motivó el estudio de los clústeres de 5 átomos como catalizadores de la reacción de hidrogenación de propeno.

Para ello se utilizaron $Ag_5$-AQCs sintetizados por el método fotoquímico (Capítulo VI, sección 3). Al igual que en el apartado anterior la reacción se llevó a cabo en una unidad de catálisis cuyo esquema se muestra en la **Figura 55** y se exploraron en ella muestras depositadas en $Al_2O_3$ y en carbón (C), usando tanto el método de

deposición lento como el rápido (Capítulo VI, sección 5a), con un *loading* de 0.6 % ( Capítulo VI, sección 5b).

Previamente a todos los experimentos se realizó un pretratamiento a 200 °C con hidrógeno durante aprox. 12 h con el fin de eliminar todo el oxígeno adsorbido en los clústeres.

Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente con un 10 % de propeno y un 80 % de $H_2$ con un flujo total de 50 mL/min balanceado con He. Se obtuvo que la muestra de $Ag_5$-AQCs/$Al_2O_3$ depositada por el método de deposición lento forma propano, es decir, es activa para la hidrogenación de propeno, mostrando una conversión del 100 % (todo el propeno se transforma en propano) mientras que la muestra depositada por el método de deposición rápido es completamente inactiva, es decir, no se observa formación de propano. Como en los estudios realizados con los blancos se observa una conversión del 25 %, el valor real de la conversión es de, al menos, 75 %.

Este resultado, junto con el resultado encontrado anteriormente para la oxidación de CO, nos permite concluir que la deposición lenta es mejor que la deposición rápida. Esto es debido a que la deposición lenta permite un mejor contacto de los AQCs con el soporte y evita la aglomeración de AQCs así como también de los iones sobre los AQCs (lo cual imposibilita la catálisis).

Teniendo en cuenta los buenos resultados de las muestras depositadas en alúmina, se decidió estudiar la catálisis de $Ag_5$-AQCs soportados en grafito, que es un soporte que interacciona mucho menos con los AQCs. Teniendo en cuenta los resultados

anteriores con este soporte solamente se siguió el método rápido de deposición, que no había dado propano en el caso anterior, puesto que, en el caso de la deposición lenta con alúmina como soporte, se obtuvo ya una alta conversión del 100 % (75 % corrigiendo por el valor del blanco). Al depositar los clústeres de esta forma rápida en grafito, en las mismas condiciones experimentales que las detalladas anteriormente (80 % $H_2$, 10 % propeno a 30 °C), se obtuvo una conversión del 50 %, que restado el blanco supone una conversión del 25 %.

Es importante mencionar que todos los resultados mostrados aquí se repitieron, al menos, dos veces obteniendo siempre los mismos resultados.

Por tanto, se puede concluir que el grafito es un mejor soporte para llevar a cabo la catálisis de la hidrogenación de propeno mediada por $Ag_5$-AQCs pues, aun siguiendo un método de deposición muy desfavorable, que no mostraba ninguna actividad en el caso de usar alúmina como soporte, permite obtener ahora un 50 % (25 % corrigiendo con el valor obtenido para el blanco) de conversión.

Gracias a estudios de sincrotrón llevados a cabo en colaboración con el grupo del Prof. Félix Requejo del Instituto de Investigación INIFTA de la Plata se conoce que los AQCs se funden por encima de 300 °C-400 °C en presencia de oxígeno cuando estos están depositados en carbón debido a la baja interacción que este soporte tiene con los AQCs, por el contrario, si los AQCs están depositados en soportes con gran interacción como son los óxidos presentan una gran estabilidad con la temperatura en diversas atmósferas, por ejemplo, $Cu_5$-AQCs depositados en alúmina se mantienen inalterados hasta , por lo menos, 900 °C.

Aprovechando el hecho de que los clústeres depositados en C, $Ag_5$-AQCs/C, se funden a esas temperaturas se hizo un experimento para comprobar que la actividad encontrada en la muestra era debida a la presencia de AQCs. Así, se realizó un tratamiento a 300 °C con $O_2$ durante aprox. 12 h y después se repitió la medida de hidrogenación de propeno de la misma forma que se había llevado a cabo antes, pero en este caso en lugar de obtener un 50 % de conversión del propeno en propano, se detectó la misma conversión que en el blanco propano, es decir, la muestra perdió completamente su actividad. Con este experimento se comprueba que $Ag_5$-AQCs/C se funden a 300 °C en presencia de $O_2$ al igual que se vio en estudios de sincrotrón y se comprueba que la actividad encontrada en las muestras de $Ag_5$-AQCs/C es debida a los AQCs.

Para profundizar en el estudio de la catálisis de $Ag_5$-AQCs en alúmina y grafito se llevaron a cabo cálculos de TOR (Sección 2 del presente capítulo) obteniendo 3.1 $s^{-1}$ y 1.5 $s^{-1}$ para $Ag_5$-AQCs/$Al_2O_3$ y $Ag_5$-AQCs/C, respectivamente. Ambos valores de TOR son superiores a los valores encontrados en la bibliografía (ver **Tabla 9**) para los catalizadores actuales exceptuando el valor del catalizador platino ($Pt/SiO_2$)-que es uno de los que presentan mayor actividad- y que, aun cuando tiene una actividad similar, lo hace a 5 °C en lugar de los 30 °C utilizados con los clústeres. Por su parte con el resto de los catalizadores de la bibliografía se usan temperaturas muy superiores y se obtienen menores valores de TOR. Finalmente, los valores de conversión encontrados para $Ag_5$-AQCs son muy superiores a los encontrados en la bibliografía para la formación de propano utilizando propeno e hidrógeno como reactivos.

Tabla 9 Comparación de diferentes catalizadores para la reacción de hidrogenación de propeno

| Catalizador | T (°C) | Conversión (%) | TOR ($s^{-1}$) | Ref |
|---|---|---|---|---|
| $Ag_5$-AQCs/$Al_2O_3$ | 30 | 100 (75) | 3.1 | Esta Tesis |
| $Ag_5$-AQCs/C | 30 | 50 (25) | 1.5 | Esta Tesis |
| Hidruro de Ir(III)-SBA-15 | 70 | 68 | 0.4 | [156] |
| Cr (III) /$SiO_2$ | 550 | 4 | 0.02 | [157] |
| Pt/$Al_2O_3$ | - | 75 | - | [153] |
| Pt/$SiO_2$ | 5 | - | 2.25 | [154] |
| Pt/ $Al_2O_3$ | 5 | - | 0.92 | [154] |
| [(COD)Rh(CAT)]2-POP | 25 | - | 0.06 | [158] |
| Au/HPG | 100 | 84 | - | [155] |

En resumen, los $Ag_5$-AQCs suponen una alternativa prometedora para hidrogenación de alquenos usando una temperatura de trabajo baja (temperatura ambiente), con unos valores de TOR superiores a los encontrados en la mayoría de los catalizadores bibliográficos y con unas conversiones del 25 % y 75 % (corregidas con el valor obtenido para el blanco) para una deposición rápida en grafito y lenta en alúmina, respectivamente.

Por otro lado, se hicieron cálculos teóricos de la catálisis de los clústeres de $Cu_5$ por el Dr. Héctor Lozano miembro del grupo de investigación en el que se enmarca esta tesis doctoral bajo la supervisión del Prof. Giampaolo Barone de la universidad de Palermo.

Los cálculos DFT se llevaron a cabo en fase gas a nivel PBE después de una optimización previa a los niveles de la B3LYP y ωB97XD. La base 6-31G (d,p) se utilizó para los átomos O, H, S, C y N mientras que para los átomos de Cu se utilizó Lanl2dz. La fiabilidad de las estructuras obtenidas se comprobó con los cálculos de las frecuencias de vibración con la aproximación del oscilador armónico, comprobando si la estructura representa un mínimo de la energía potencial. La distribución de cargas ESP se calculó utilizando el radio de Van der Waals para cada átomo.

La optimización de la estructura de los clústeres de $Cu_5$ libres en fase gas nos da dos isómeros (ver **Figura 57**): uno con estructura plana y el otro con estructura de bipirámide trigonal (TBP). Ambos isómeros presentan tres posiciones de reacción diferentes (etiquetadas como P1, P2 y P3 en la **Figura 57**) para los átomos con respecto a la longitud del enlace Cu-Cu y a la densidad de cargas ESP. La distribución de la densidad de cargas ESP muestra que la estructura plana tiene 4 cargas positivas (posiciones P1 y P2) y una carga negativa predominante en P3, en este caso no se observó interacción con ninguna de las moléculas estudiadas. Por su parte, en el caso de la estructura de bipirámide trigonal, las posiciones ecuatoriales P2 y P3 son positivas mientras que la carga negativa está centrada en las posiciones axiales P1. Estos hechos estructurales y de distribución de cargas van a jugar un papel fundamental en las reacciones con moléculas orgánicas.

La energía del salto de energía entre la estructura de bipirámide trigonal y la plana es ΔE = -30.8 kJ/mol, siendo la estructura plana la más estable.

Dado que los $Cu_5$-AQCs presentan dos isómeros, la modelización de la interacción entre los clústeres y las distintas moléculas orgánicas se llevó a cabo teniendo en cuenta ambos isómeros con el fin de comparar su reactividad. Los estudios computacionales muestran una quimisorción del hidrógeno, del acetileno y del etileno y una fisisorción del metano en los $Cu_5$-AQCs. Además, los clústeres pueden adsorber acetileno (o etileno) e hidrógeno simultáneamente. En todos los casos la quimisorción más estable se obtiene para la estructura de bipirámide trigonal y dentro de ésta las posiciones ecuatoriales son los únicos sitios activos para la quimisorción.

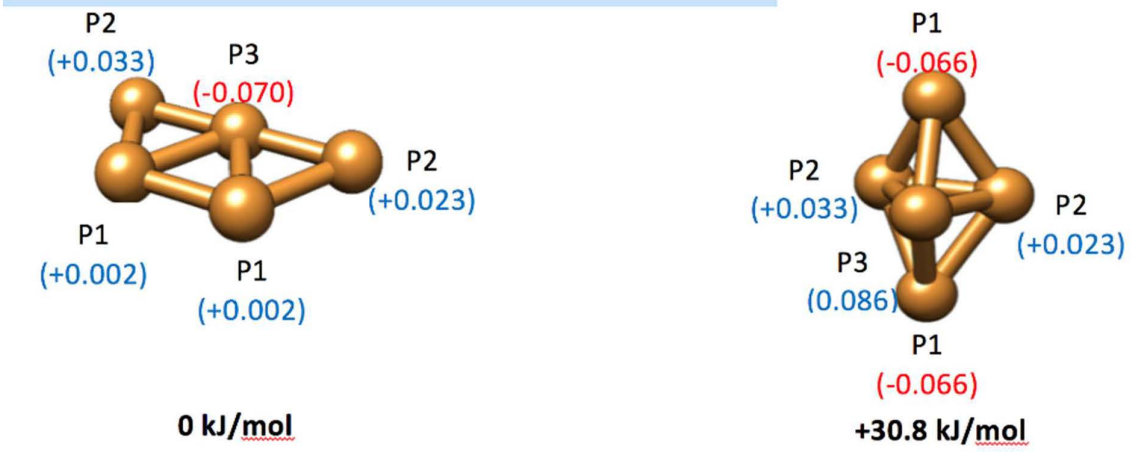



**Figura 57** Estructura DFT optimizada y cargas ESP para $Cu_5$-AQCs en su forma planar (izquierda) y en forma de bipirámide trigonal (derecha)

Una vez optimizadas las estructuras, se procedió con los cálculos de la hidrogenación de acetileno mediada por $Cu_5$-AQCs en su estructura de bipirámide trigonal, en un sistema de quimisorción de acetileno sobre los clústeres de cobre de 5 átomos dándole al sistema suficiente hidrógeno para completar la reacción (ver la estructura 1 en la **Figura 58**).

La reacción de hidrogenación empieza con la disociación de dos de las moléculas de hidrógeno quimisorbidas (estructuras 2 y 3 en la **Figura 58**), produciendo un cambio conformacional en el clúster, pasando de bipirámide trigonal a pirámide de base cuadrada. El primer proceso de hidrogenación del acetileno (estructura 4 en la **Figura 58**) tiene lugar por la transferencia de uno de los hidrógenos disociados al acetileno formando como intermedio el $CHCH_2$. Ocurre un proceso similar para la formación de etileno (estructura 5 en la **Figura 58**) y $CH_2CH_3$ (estructura 6 de la **Figura 58**). Los átomos más activos del clúster son los ecuatoriales lo cual concuerda perfectamente con los cálculos anteriores, pues el sistema siempre tiende a distribuir en esas posiciones los átomos de hidrógeno. Las energías de formación en todo el proceso son muy favorables excepto la formación de la estructura 6 que es desfavorable, lo cual se puede explicar con los resultados previos donde los carbonos $sp^3$ del metano no muestran quimisorción en el clúster. De hecho, la formación del producto final $CH_3$-$CH_3$ (estructura 7 de la **Figura 58**) es favorable por la formación del segundo carbono $sp^3$, lo que permite la salida de la molécula orgánica consiguiendo así la estabilización del sistema.

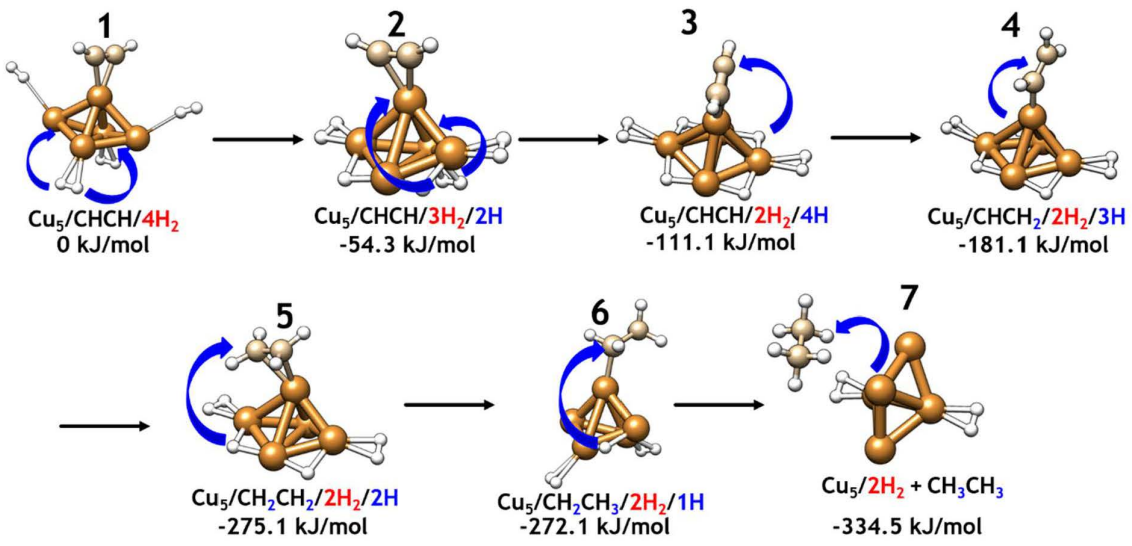



**Figura 58** Estructuras DFT optimizadas y energías relativas para la reacción de hidrogenación de acetileno mediada por $Cu_5$-AQCs.

En conclusión, los clústeres cuánticos de 5 átomos son capaces de catalizar de un modo muy eficiente la hidrogenación de propeno llevando a cabo la reacción con valores de TOR de entre 1.5 y 3.1 $s^{-1}$. Además, la reacción tiene lugar a temperatura ambiente y puede ser modificada según el método de deposición. En ambos casos el producto de hidrogenación de propeno es propano que se obtiene de forma inmediata y muy selectiva. Por su parte, los cálculos teóricos para los $Cu_5$-AQCs concuerdan con los resultados experimentales mostrando que el proceso de hidrogenación de acetileno mediado por los AQCs es completamente favorable dando como resultado etano.

## 5. Hidrogenación $CO_2$

Los resultados mostrados en esta sección se desarrollaron durante una estancia en el laboratorio del Prof. José Rodríguez en el Brookhaven National Laboratory (BNL), Nueva York.

El continuo uso de combustibles fósiles ha hecho que la concentración de $CO_2$ en la atmósfera sea tremendamente elevada (superando los 400 ppm en 2016[159]), que junto con otros gases de efecto invernadero producen el calentamiento global causando problemas climáticos que pueden ser irreversibles. Por ello, la disminución del $CO_2$ atmosférico se ha convertido en un tema urgente, como lo indica un informe reciente de la UNEP (*United Nations Environment Programme*), en el que se estima que si no se toman acciones globales contra el cambio climático, las temperaturas podrían incrementarse en más de 2 °C en 2050 y más de 4 °C en el 2100[160].

La reducción de $CO_2$ se puede alcanzar de tres formas distintas: controlando sus emisiones, capturándolo y almacenándolo, o convirtiéndolo químicamente en compuestos útiles[161, 162]. El almacenamiento de $CO_2$ puede ser una solución rápida al problema, pero puede ocasionar problemas por fugas[162, 163], y no deja de ser un simple método paliativo. Por eso, el hecho de ver el $CO_2$ como una fuente de carbono para usarlo en producir compuestos valiosos es una solución mucho más beneficiosa.

La reducción de $CO_2$ se puede realizar mediante diversos tipos de catálisis[164] a saber: electrocatálisis, fotocatálisis y catálisis térmica. Siendo de todas ellas la más prometedora la catálisis térmica puesto que las otras dos tienen la desventaja de la

baja eficiencia energética, al menos, con las tecnologías actuales. Por su parte la hidrogenación de $CO_2$ usando $H_2$ es una forma de obtener compuestos químicos de interés y combustibles, lo cual no solo reduce las emisiones de $CO_2$, sino que también reduce la dependencia de los escasos combustibles fósiles.

La hidrogenación catalítica de dióxido de carbono se considera el camino para la obtención de olefinas ligeras, hidrocarburos, ácido fórmico, metanol y alcoholes de mayor tamaño para lo que se han estudiado diversos catalizadores (ver **Figura 59**).

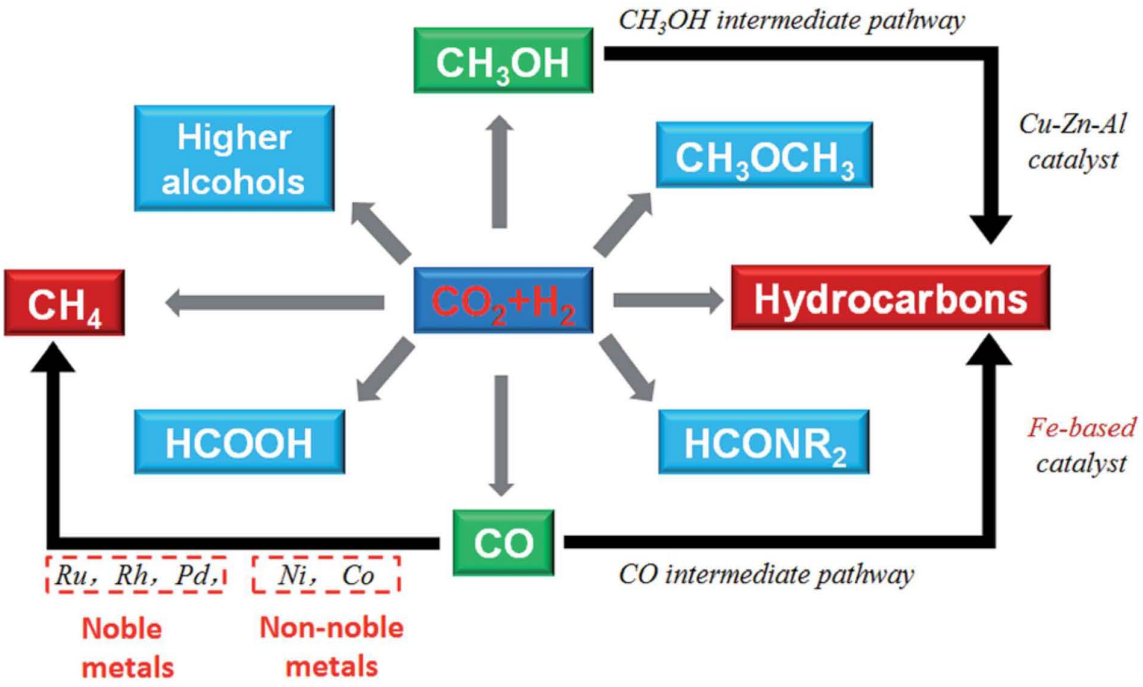



**Figura 59** Esquema de la hidrogenación de $CO_2$[164].

La producción de gas natural sintético es una de las mejores formas de almacenar energía extraída de fuentes renovables por largos períodos de tiempo. El ciclo de energía renovable[164] empezaría por la captura de $CO_2$ de la atmósfera y la generación de $H_2$ por electrolisis del agua usando como fuentes de energía la luz solar o la energía

eólica. Después, el $CO_2$ se hace reaccionar con el $H_2$ generando metano que puede almacenarse para su uso posterior. Desde el 2009 al 2013, en Alemania hubo 5 proyectos sobre la metanación de $CO_2$ en plantas pilotos cuya capacidad estaba entre 25 kW y 6300 kW[164].

La primera vez que se describió la metanación de $CO_2$ fue en el año 1902 por el científico Paul Sabatier y desde aquel entonces múltiples metales se han estudiado en esta reacción, en orden decreciente de actividad[164]: Ru> Rh> Ni> Co> Pt> Pd. Los catalizadores de Co y Ni son los preferidos por el bajo coste que suponen si los comparamos con los catalizadores de Ru, Rh o Pt. Dentro de éstos, los catalizadores de Ni son los más ampliamente utilizados por su alta actividad y selectividad para obtener metano.

Hay muchos factores[164] que influyen en la catálisis de hidrogenación de $CO_2$: la naturaleza del soporte, tradicionalmente se usan óxidos de metales tales como: $Al_2O_3$, $SiO_2$, $TiO_2$, $ZrO_2$ y $CeO_2$, el tamaño de poro, su estructura, la química de su superficie y la interacción metal-soporte.

Nosotros ensayamos en esta tesis doctoral el uso de $Cu_5$-AQCs obtenidos por el método electroquímico (Capítulo VI, Sección 4) y depositados en $TiO_2$, siguiendo el método de deposición *incipient wetness impregnation* (Capítulo VI, Sección 5a) con un *loading* de 0.022 % ( Capítulo VI, Sección 5b) para catalizar la reacción de hidrogenación de $CO_2$.

Para llevar a cabo el estudio catalítico se utilizó una unidad de catálisis provista de microrreactor (ver esquema en la **Figura 54**). En este microrreactor se introdujo ~1

mg de $Cu_5$-AQCs/ $TiO_2$ a través del cual se hizo fluir una mezcla de 60 % $H_2$ y 20 % $CO_2$ balanceada con Ar a un flujo total de 5 mL/min. Además, se exploraron distintas temperaturas 25, 200, 300 y 400 °C, dejando el sistema una hora en cada temperatura.

Se obtuvo un aumento de la formación de metano con la temperatura (ver **Figura 60** A) y unas conversiones de $CO_2$ en metano del 0.01 % y de 0.017 % a 300 °C y 400 °C, respectivamente.

La selectividad fue del 100 % ya que solo se detectó metano y no se detectó ningún otro producto de hidrogenación de $CO_2$.

También se calculó el TOR de la reacción (sección 2 del presente capítulo), que es un valor corregido por el número de sitios activos del catalizador (que como se dijo con anterioridad en el caso de los AQCs se supone que todos los átomos son sitios activos del catalizador, con lo cual si no fuese así se estaría subestimando el valor del TOR) con el fin de poder llevar a cabo una comparación con las actividades de otros catalizadores, obteniendo valores de $8.6 \times 10^{-3}\ s^{-1}$ y $1.5 \times 10^{-3}\ s^{-1}$ para 300 y 400 °C, respectivamente.

También se hizo una representación de Arrhenius (ver **Figura 60** B) a partir de la cual se puede obtener la energía de activación de la reacción de metanación de $CO_2$ catalizada por $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$, obteniendo una barrera de energía muy baja de ≈ 20 kJ/mol.

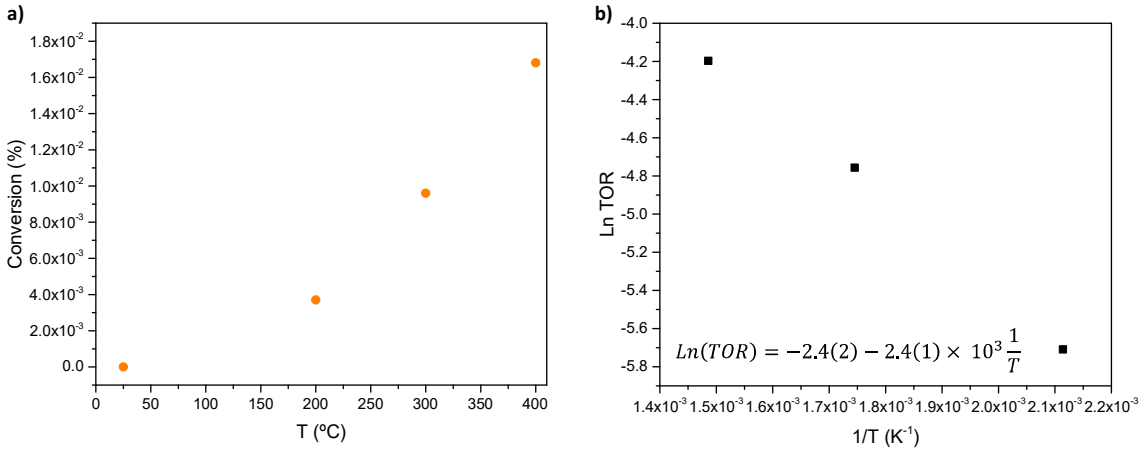



**Figura 60** a) Conversión frente a la temperatura y b) Representación de Arrhenius para la reacción de hidrogenación de $CO_2$ catalizada por $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$ 0.1 %.

Cabe mencionar que, al igual que en las reacciones anteriores, se llevó a cabo un estudio del blanco y no se obtuvo metano, ni ningún otro producto de la hidrogenación de $CO_2$ en ninguna de las condiciones de trabajo.

Con el fin de comparar los resultados obtenidos con un catalizador conocido, se estudió-en las mismas condiciones experimentales que los AQCs- un catalizador comercial de níquel (Ni/$SiO_2$-$Al_2O_3$, 65 %) adquirido en la casa comercial Sigma Aldrich (Anexo 6). Encontrando que presenta una selectividad de ~100 % para la obtención de metano (detectando una cantidad despreciable de CO).

Las conversiones encontradas son de 93 % y 100 % y los valores de TOR son de 7.3 × $10^{-3}$ $s^{-1}$ y 7.9 × $10^{-3}$ $s^{-1}$ para 300 y 400 ºC, respectivamente. Si hacemos el cálculo de la energía de activación, siguiendo la misma metodología que en los clústeres, obtenemos una energía de activación de ~35 kJ/mol.

Aunque los valores de conversión en el caso del catalizador comercial son mayores que en el caso de los AQCs (al igual que el *loading*), obtenemos unos valores de TOR que están en el mismo orden de magnitud que los encontrados en los $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$ y que coinciden con los encontrados en la bibliografía (ver **Tabla 10**). Además, los AQCs presentan una barrera de activación menor que el catalizador de Ni comercial y que catalizadores de la bibliografía.

**Tabla 10** Parámetros catalíticos para $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$ y catalizadores bibliográficos para la hidrogenación completa de $CO_2$, obteniendo $CH_4$.

| Catalizador | Cantidad (mg) | Loading (%) | T (°C) | $CH_4$ conversión (%) | $CH_4$ selectividad (%) | TOR ($s^{-1}$) | $E_a$ (kJ × $mol^{-1}$) | Ref |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **$Cu_5$/$TiO_2$** | 1 | 0.022 | 300<br>400 | 0.010<br>0.017 | 100 | $8.6 \times 10^{-3}$<br>$1.5 \times 10^{-2}$ | 20 | Esta tesis |
| **Ni/$SiO_2$-$Al_2O_3$** | 1.5 | 68 | 200<br>300<br>400 | 7.9<br>93<br>~100 | 100 | $6.2 \times 10^{-3}$<br>$7.3 \times 10^{-2}$<br>$7.9 \times 10^{-2}$ | 35 | Esta Tesis |
| **$Cu_4$/$Fe_2O_3$** | 10% de una monocapa de Cu atómico | | 425 | - | 98 vs 90 en el blanco | $6.5 \times 10^{-2}$ | - | [165] |
| **Ru/$CeO_2$** | 20 | 0.5 | 300 | 83 | 99 | | 76 | [166] |
| **10CoCZ700** | 50 | - | 300 | 60 | 45 | - | - | [167] |
| **RQ Ni** | 500 | 30 | 200 | 60 | 99 | - | - | [168] |
| **Ni/$CeO_2$-C** | 50 | 9.5 | 250<br>255<br>275 | 8<br>10<br>35 | 96<br>97<br>99 | $7 \times 10^{-2}$<br>$9 \times 10^{-2}$ | - | [169] |
| **Ni/$CeO_2$-P** | 50 | 8.0 | 250<br>255 | 30<br>70 | 98<br>99 | 0.23<br>0.49 | - | [169] |

Los pocos ejemplos de cobre subnanométrico que se encuentran en la bibliografía, dan como resultado metanol como producto principal de la reacción utilizando o bien altas presiones[170] o bien altas temperaturas[171]. Por ejemplo, $Cu_4$-AQCs[165] depositados en $Fe_2O_3$ pueden reducir completamente el $CO_2$ transformándolo en metano al igual que en nuestro caso con $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$, pero necesitan temperaturas por encima de los 400 °C mientras que en nuestro caso el catalizador es activo a temperaturas mucho más bajas: 200, 300 y 400 °C, siendo esta última la temperatura más alta estudiada en nuestro caso. Además, la selectividad en nuestro caso es mayor, pues, solo se produce metano mientras que con los tetrámeros de cobre se obtienen además del metano otros subproductos.

Asimismo, nuestro soporte es completamente inerte para la reacción de metanación del $CO_2$, mientras que en el caso de la magnetita el soporte presenta un TOR de 0.01 $s^{-1}$ con una selectividad del 90 % para metano a 425 °C mientras que los $Cu_4$-AQCs/ $Fe_2O_3$ tienen un TOR de 0.065 $s^{-1}$ con una selectividad del 98 % a esa misma temperatura. No se debe olvidar que la cantidad de catalizador que empleamos nosotros es al menos un orden de magnitud inferior que las cantidades usadas en los catalizadores encontrados en la bibliografía, por ejemplo, en el caso de los tetrámeros de cobre en magnetita se usa en torno a 400 veces más cantidad de catalizador.

Por último, si observamos los valores de las energías de activación para ambos catalizadores podemos observar que la barrera de los clústeres de 5 átomos es un poco menor que la encontrada para el $Cu_4$-AQCs/ $Fe_2O_3$ a bajas temperaturas, en donde se obtiene metanol como producto de la reacción, que es de 26 kJ/mol[165] .Si

lo comparamos con un catalizador altamente empleado en la metanación de $CO_2$ como es el $Ru/CeO_2$ , cuya barrera es de 76 kJ/mol, vemos que en ese caso la barrera de activación es casi 4 veces mayor que la del $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$.

En conclusión, la actividad catalítica mostrada por los clústeres de cobre de 5 átomos depositados sobre dióxido de titanio para la metanación del $CO_2$ es una propiedad que se presenta solo en el cobre en forma de clústeres, ya que tanto el cobre metálico como las nanopartículas de cobre son inactivas para esta reacción. Aunque los valores de TOR están por debajo de los que se encuentran para catalizadores de Ni, los resultados están en torno al mismo orden de magnitud lo que parece indicar que los $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$ serán unos catalizadores prometedores cuando se midan en un reactor convencional con mayor cantidad.

Con el fin de completar el estudio de la metanación de $CO_2$ por $Cu_5$ sobre $TiO_2$ se llevaron a cabo medidas *in situ* en la línea NSLS II del sincrotrón del BNL, que nos permite medir el borde K del cobre y, por tanto, podremos conocer cómo se modifica con la interacción de los distintos gases de reacción (ver detalles de la técnica en el Anexo 1c).

Para ello se comenzó con la caracterización del catalizador $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$ midiendo la muestra en el borde K del cobre y comparando su espectro de absorción de rayos X con el que muestran los compuestos clásicos de cobre (ver **Figura 61**), observándose que el espectro que muestran los clústeres no se parece a ninguno de los materiales convencionales. Así, por ejemplo, si observamos el espectro de cobre metálico (con una estructura electrónica de bandas continuas de energía) se ve una oscilación continua y armónica de la energía. Por su parte, si observamos los

espectros de los óxidos de cobre, que presentan una estructura electrónica de semiconductores obtenemos un salto grande de energía, conocido como línea blanca, y después pequeñas oscilaciones de energía parecidas a las encontradas en el cobre metálico. En cambio, si ahora observamos el espectro de los clústeres, tenemos un comportamiento de semiconductor con una línea blanca pronunciada, pero completamente distinta a la de los óxidos de cobre, así mismo la oscilación posterior a este salto de energía es muy espaciada y no coincide con ninguna de las especies convencionales de cobre. Estamos, por tanto, ante un material completamente nuevo que no es cobre metálico, ni cobre óxido, ni hidróxido, sino que es una nueva forma de cobre que presentará, según esto una diferencia en su estructura electrónica y por ello unas propiedades químicas diferentes, como la catálisis observada de la metanación de $CO_2$.

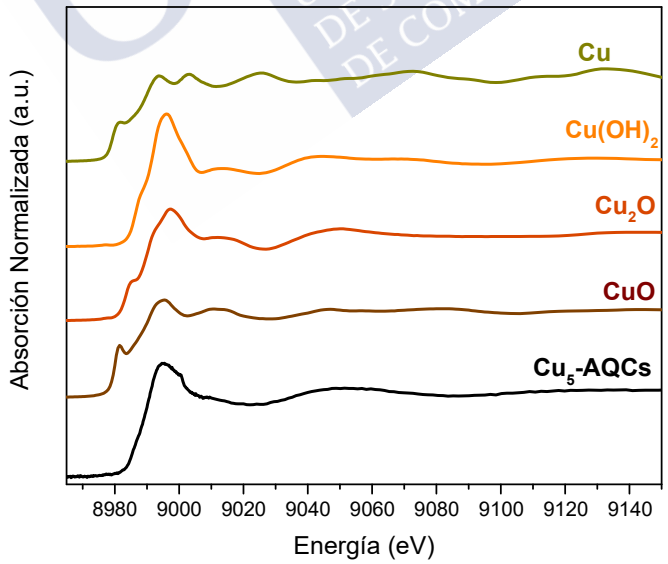



**Figura 61** Absorción de rayos X en el borde k del cobre para $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$ (negro), CuO (marrón), $Cu_2O$ (naranja oscuro), $Cu(OH)_2$ (naranja claro) y cobre metálico (amarillo oscuro).

Una vez que tenemos caracterizada la muestra de $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$ podemos estudiar el cambio en la estructura con los distintos gases de reacción, para ello la medimos en presencia de $H_2$ primero y de $CO_2$ después a temperatura ambiente y a 200 °C (ver **Figura 62**).

En el espectro de absorción de rayos X podemos ver como la interacción del $H_2$ (marrón) y del $CO_2$ (amarillo oscuro) a temperatura ambiente da el mismo espectro de absorción para los $Cu_5$-AQCs lo cual muestra una pequeña reducción con respecto al espectro de los clústeres sin gases (negro). Esto es debido a que el oxígeno atmosférico que tienen adsorbido los clústeres se ve parcialmente desplazado tanto por el $CO_2$ como por el $H_2$ a temperatura ambiente; como ambas son moléculas menos oxidadas, en el espectro de rayos X se observa una reducción; esto se puede ver en la línea blanca que se desplaza ligeramente hacia menores energías. Cuando elevamos la temperatura a 200 °C en $H_2$ (naranja), pretratamiento realizado en los experimentos de catálisis, observamos como se desplaza todavía más hacia menores energías la línea blanca, lo que indica un mayor desplazamiento del oxígeno adsorbido en los $Cu_5$-AQCs por el $H_2$. Cuando a esta temperatura hacemos fluir $CO_2$ observamos una oxidación, es decir, el clúster que estaba completamente unido a hidrógeno pasa a interaccionar con $CO_2$ que es una molécula más oxidada, lo que hace que la línea blanca se desplace a mayores energías.

En conclusión, los clústeres muestran una fuerte interacción tanto con el hidrógeno como con el $CO_2$ a temperaturas muy bajas, lo que concuerda con la actividad encontrada en los experimentos de catálisis para la metanación de $CO_2$.

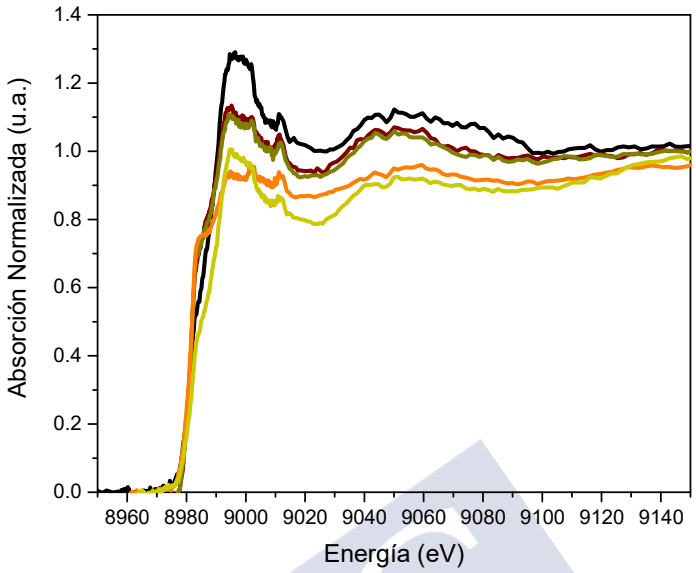



**Figura 62** Absorción de Rayos X en el borde k del cobre para una muestra de $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$ (negra), para esa muestra a temperatura ambiente con $H_2$ (marrón) y con $CO_2$ (amarillo oscuro); para esa muestra a 200 °C con $H_2$ (naranja) y con $CO_2$ (amarillo).

Por último, estudiamos la estructura electrónica en el borde K del Cu para las condiciones de reacción, es decir, fluyendo $H_2$ y $CO_2$ en una relación 3:1 igual que en los experimentos de catálisis previos a temperatura ambiente, 200 °C y 300 °C (ver **Figura 63**). Se puede observar que el espectro es diferente a cuando tenemos la muestra sin gases o con alguno de los gases a esa temperatura. El cambio más pronunciado en el espectro se produce a 300 °C, que es a la temperatura a la que la reacción mostraba anteriormente mayor conversión (junto con la temperatura de 400 °C que no se pudo estudiar en el sincrotrón).

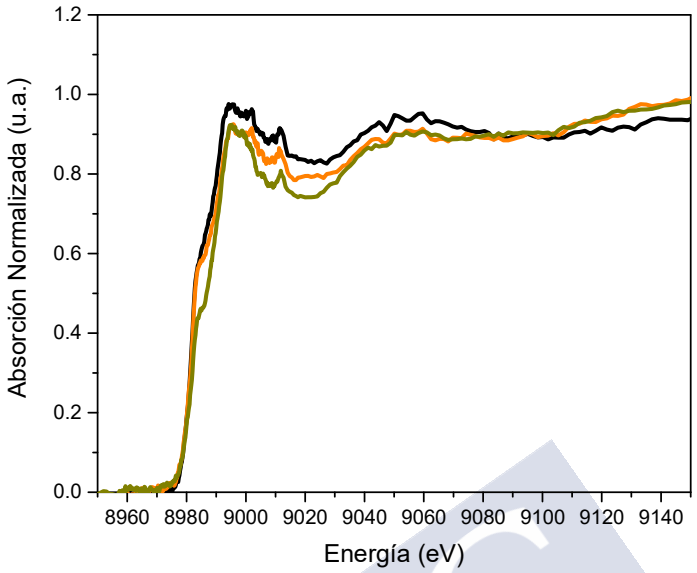



**Figura 63** Absorción de Rayos X en el borde k del cobre para la reacción de metanación de $CO_2$ (3:1 $H_2$ : $CO_2$) catalizada por $Cu_5$-AQCs/$TiO_2$ a temperatura ambiente(negra), 200 °C (naranja) y 300 °C (amarillo).

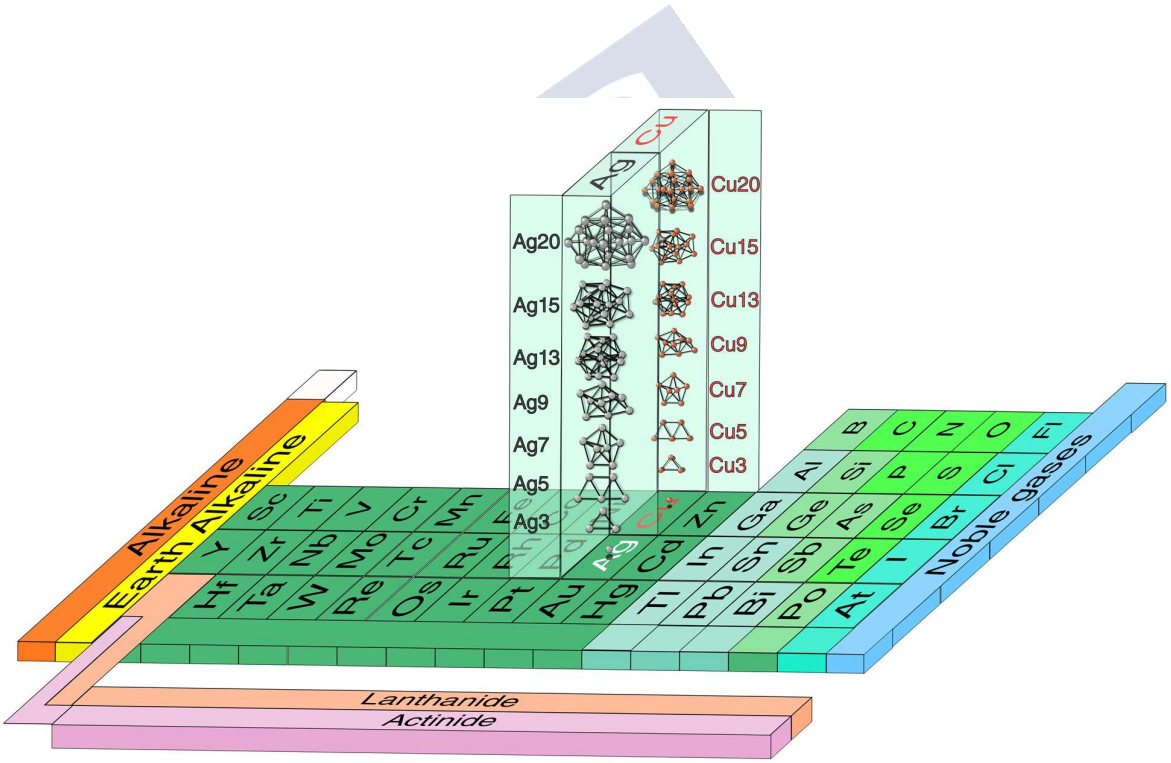
En resumen, en este capítulo hemos visto una nueva propiedad desconocida para el cobre que aparece solo en la escala subnanométrica, como es la metanación de $CO_2$ que se estudió tanto en una unidad de catálisis como en el sincrotrón. Además, se observó una interacción del $CO_2$ a temperatura ambiente con el Cu que no se conoce en otros sistemas lo que hace de estos clústeres de cobre de 5 átomos unos catalizadores prometedores para la hidrogenación de $CO_2$ y que puede contribuir a resolver algunos de los problemas del calentamiento global y de la alta dependencia del petróleo que tenemos en las sociedades actuales como se mencionó detalladamente al inicio de esta sección.

## 6. Conclusiones

En este capítulo hemos visto tres ejemplos de reacciones en fase gas que pueden ser catalizadas de forma eficiente por clústeres de 5 átomos como son: la oxidación de CO, la hidrogenación de propeno y la hidrogenación de $CO_2$. Todas ellas son reacciones relacionadas con problemas actuales, como son el calentamiento global o la alta dependencia que la sociedad actual tiene del escaso, contaminante y no renovable petróleo.

En este capítulo hemos descubierto propiedades químicas de los AQCs diferentes a las de sus homólogos metálicos, ya que en ninguna de las reacciones aquí estudiadas el cobre o la plata (masivos o nanopartículas) presentan actividad y solo los materiales subnanométricos presentan propiedades catalíticas de interés como son: la oxidación de CO, la hidrogenación de propeno y la hidrogenación de $CO_2$.

# VI. Obtención y caracterización de Clústeres Cuánticos de 5 Átomos



## 1. Métodos de obtención de AQCs

A lo largo de toda esta tesis se explicó detalladamente el efecto que el número de átomos del clúster tiene en sus propiedades, siendo posible la realización de una química "a la carta" según las necesidades del experimento y de la aplicación concreta que se le quiera dar al clúster. Por ello, la síntesis de clústeres constituye un verdadero desafío para la química actual, por la necesidad de realizar síntesis de clústeres monodispersos que puedan diferir solamente en 1 ó 2 átomos. ¿Es esto posible? A lo largo de este capítulo explicaremos las técnicas actuales de obtención de AQCs monodispersos, sintetizados en agua sin ningún surfactante o estabilizante, esto es, desnudos, pero ¿cómo? El punto clave de cualquier método sintético de clústeres subnanométricos sin ligandos es el control cinético y a continuación se explica cómo conseguirlo.

Una de las primeras síntesis de clústeres realizadas fue un método físico, conocido como técnica de agregación en fase gas (**Figura 64**). En esta técnica se calienta a altas temperaturas y a vacío una lámina del metal del que se quieren formar los clústeres, con lo que se produce 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 se separaran, previa ionización, con el empleo de campos eléctricos y magnéticos y se analizan posteriormente en un espectrómetro de masas.

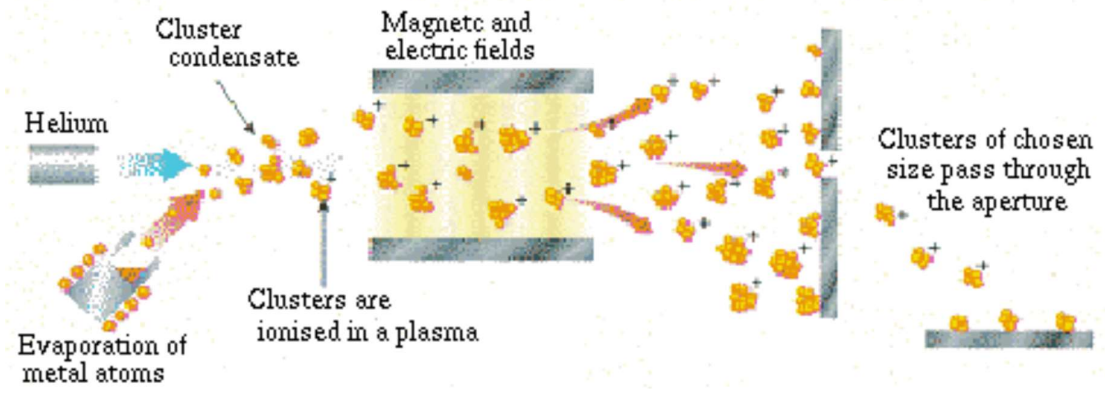



**Figura 64** Ejemplo gráfico y resumido de la técnica de agregación en fase gas[172].

Esta técnica permitió el estudio de clústeres experimentalmente y la confirmación de los modelos desarrollados, como el de *Jellium,* ya comentado. Sin embargo, debido a que solo permite obtener cantidades pequeñas 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 con un mayor grado de eficiencia. Estas técnicas pueden clasificarse en dos tipos: *"top-down"* y *"bottom-up"*.

### a. *Top-down*

En el tipo de síntesis *top-down* los clústeres se sintetizan a partir de precursores de mucho mayor tamaño, como nanopartículas o metal masivo. La técnica más comúnmente utilizada en este tipo de métodos es la de *etching* (traducido al castellano como troceado o corrosión) de nanopartículas. En esta técnica, los clústeres se obtienen como producto de la "corrosión" que ejercen algunos tipos de ligandos (como los tioles) que, o bien van disgregando átomos de la superficie de la

nanopartícula, o bien la rompen en fragmentos de menor tamaño. Esto permite obtener clústeres cuánticos estables caracterizados por números mágicos de capas cerradas.

Un ejemplo de ello, es el uso de un exceso de glutatión como agente corrosivo de nanopartículas protegidas con ácido mercaptosuccínico para sintetizar clústeres de oro de pequeño tamaño con propiedades fotoluminiscentes (**Figura 65**)[173]. En dicho trabajo se muestra cómo se pueden producir clústeres de 8 ó 25 átomos a partir de nanopartículas de entre 4 y 5 nm. El tamaño del clúster final puede ajustarse variando el pH, por ejemplo, a pH 3 se obtienen clústeres de 25 átomos, mientras que a pH entre 7 y 8 se obtienen clústeres de 8 átomos.

También se pueden utilizar polímeros multivalentes coordinados, como la polietilenimina, para el *etching* de nanocristales de oro, lo que permite obtener clústeres de oro con muy buenas propiedades fluorescentes y solubles en agua[174].

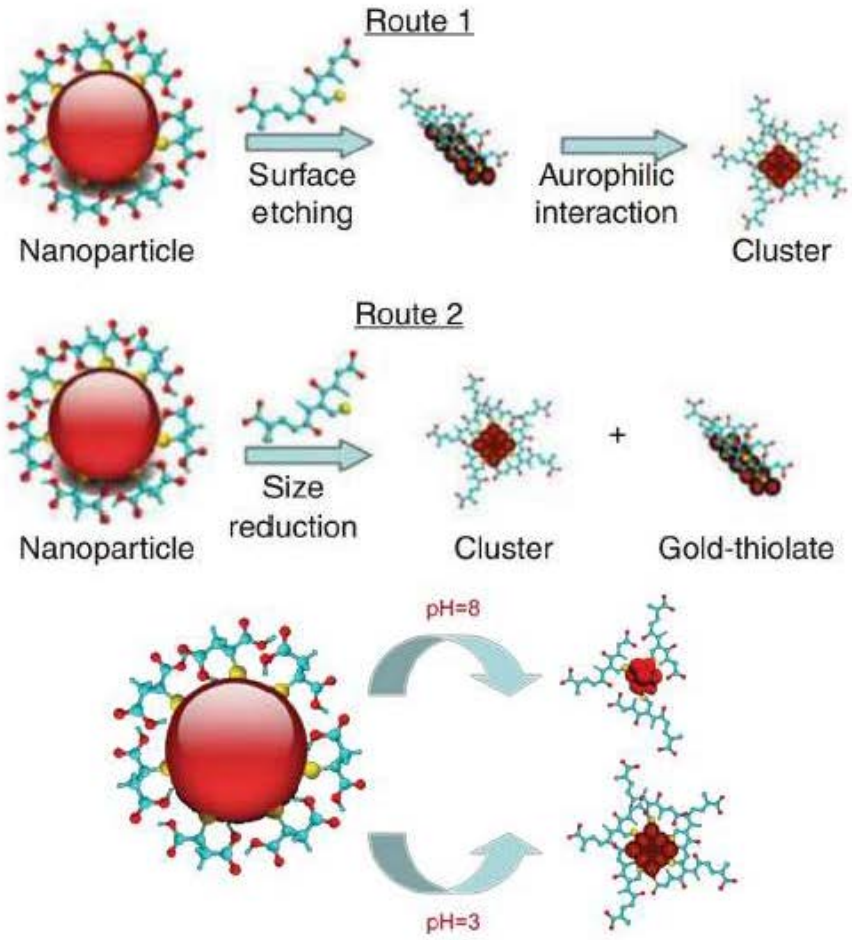



**Figura 65** Esquema representativo de los dos tipos de ataques posibles en la formación de clústeres por *etching* de nanopartículas protegidas con ácido mercaptosuccínico[173].

Una de las consecuencias de este proceso, es que los clústeres quedan protegidos por una capa de ligandos, lo que puede enmascarar sus propiedades, por ejemplo, estos ligandos pueden impedir[29] el acceso de los reactivos en un proceso catalítico e inactivar de este modo la catálisis de los clústeres. Así mismo, con esta técnica es complicado obtener clústeres de un número muy reducido de átomos (≈ ≤ 8 átomos) ya que no suelen interaccionar con este tipo de agentes corrosivos[175,176].

### b. *Bottom-up*

A diferencia del caso anterior, en los métodos *bottom-up* los clústeres se sintetizan a partir de átomos o iones (**Figura 66**)[177]. En este caso la técnica a utilizar depende del tamaño de clúster y de la finalidad que interese. La síntesis de clústeres en disolución incluye la reducción de sales metálicas en presencia de ligandos de unión fuerte[178–180] o jaulas[181], y el control cinético utilizado en síntesis con métodos electroquímicos[15,182,183] o mediante la fotorreducción[184–187].

Las muestras de AQCs utilizadas en esta tesis doctoral se obtuvieron con los métodos electroquímico y fotoquímico, por ello, serán los métodos de síntesis que explicaremos con mayor detalle.

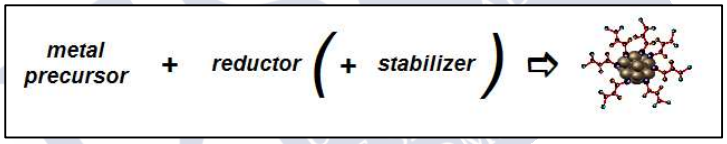



**Figura 66** Representación esquemática del método *bottom-up*[177].

En todos los métodos presentados hasta ahora es necesario el uso de diferentes agentes estabilizantes como surfactantes, polímeros anfifílicos, ligandos orgánicos, etc., con la finalidad de detener el crecimiento, estabilizando, evitando la agregación y evolución hacia nanopartículas de mayores tamaños. Sin embargo, tal y como se mencionó anteriormente, el empleo de estos ligandos protectores puede interferir en las propiedades de los clústeres. Por eso, es necesario disponer de métodos de síntesis de clústeres pequeños y libres de ligandos. Generalmente se piensa que no

es posible la síntesis de clústeres de muy pequeño tamaño sin ligandos, porque no serían estables.

Esta idea está basada en la teoría de nucleación y crecimiento (ver **Figura 67**), según la cual, los núcleos formados durante los primeros pasos de una reacción química son estables solamente a partir de un tamaño determinado, llamado núcleo crítico. Agrupaciones que tengan un tamaño menor al núcleo crítico, se disolverán espontáneamente por su alta presión de Laplace. Por encima de ese tamaño, continúan creciendo para reducir su energía superficial por diversos mecanismos, como la autocatálisis, *Otswald ripening*, etc., hasta que el crecimiento se detiene por la acción de ligandos protectores u otras estructuras.

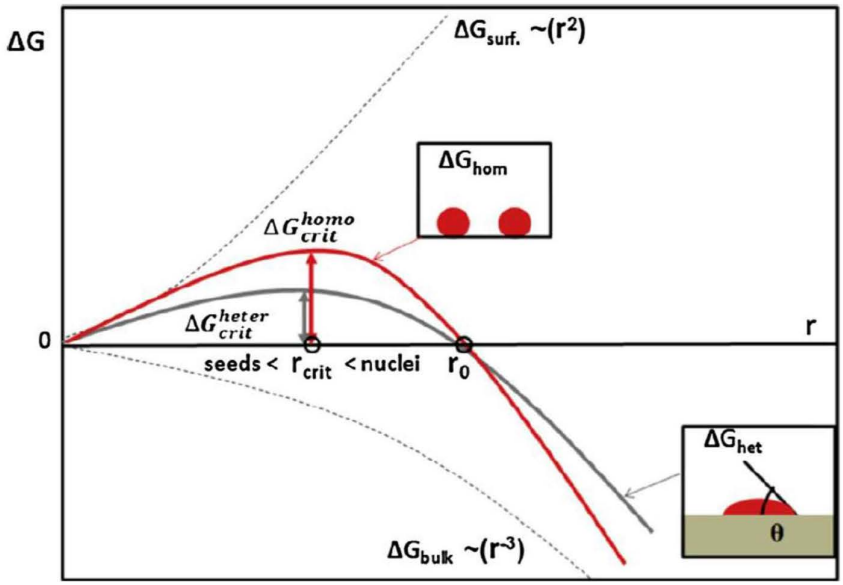



**Figura 67** Diagrama de energía libre para nucleación homogénea y heterogénea, explicando la existencia de un radio crítico en términos del efecto de la competencia entre la superficie y la formación del material masivo[175].

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. Por ejemplo, se ha observado que, una vez que se forman clústeres de pequeño tamaño -sin ningún ligando o estabilizante-, no pueden ser disueltos[188], incluso en condiciones de extrema acidez o basicidad, lo que contradice la base de la teoría de nucleación y crecimiento, que no tiene en cuenta ni su formación ni sus propiedades.

La presencia de los clústeres obliga, pues, a modificar la teoría clásica, entendiendo que es necesario modificar la variación de la energía libre de Gibbs en la síntesis de nanopartículas, de forma que en vez de existir una única energía de activación en el paso de reactivos a productos (**Figura 67**), la curva de energía potencial ha de presentar varios pozos de estabilidad (**Figura 68**) correspondientes a los clústeres más estables que, para reacciones en fase gas, debería coincidir con un número mágico de átomos (C1, C2,···).

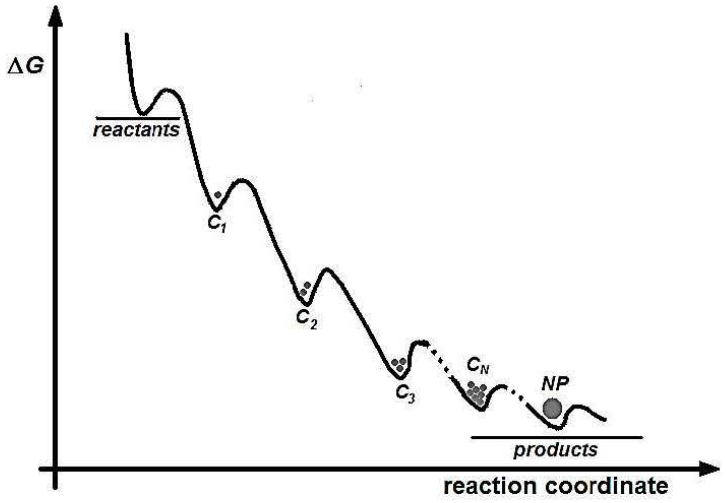



**Figura 68** Representación esquemática de la variación de la energía libre en la síntesis de nanopartículas[175].

En el esquema mostrado en la **Figura 68** los reactivos iniciales, en la parte superior de la curva, representan los iones metálicos en presencia de un reductor. Los productos, en la parte inferior, representan las nanopartículas estables producidas. Una síntesis típica de nanopartículas suele producirse con una reducción rápida, lo que significa que la fuerza motriz (diferencia en los potenciales electroquímicos del catión metálico y del reductor) es más que suficiente para llevar el sistema de un máximo de energía (reactivos) a un mínimo (productos), representados como el primer núcleo estable ($C_N$) que tiene una estructura idéntica a la del metal masivo.

El hecho de 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 teoría de nucleación y crecimiento clásica de formarse y disolverse continuamente[175].

Recientemente Kudera y Manna[189] han combinado los diagramas de energía (extraídos de las **Figura 67** y **Figura 68**) en un único esquema (**Figura 69**) 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.

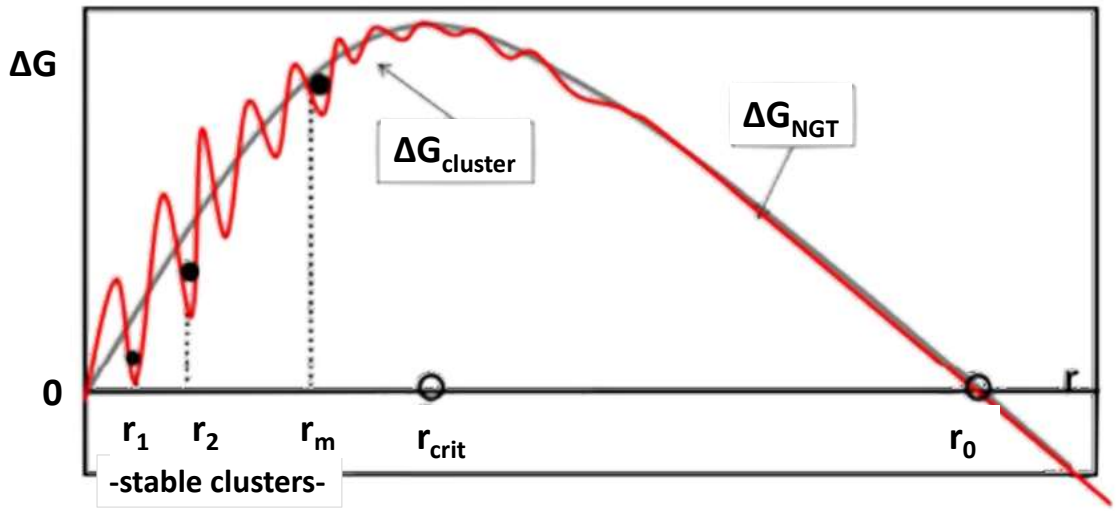



**Figura 69** Comparación cualitativa de la evolución de la energía libre derivada de la teoría clásica NGT ($\Delta G_{NGT}$) y la que incluye la existencia de clústeres estables ($\Delta G_{clúster}$)[175].

Por tanto, cuando se utilizan condiciones suaves, se producen clústeres estables intermedios C2, C3···etc. De modo que, con un control adecuado de la cinética de la reacción, es posible detenerla en un punto intermedio y obtener clústeres estables de pequeño tamaño.

En esta tesis se van a utilizar dos métodos de síntesis de clústeres que usan este principio del control cinético para obtener clústeres monodispersos de pequeño

tamaño en agua sin necesidad de surfactantes o ligandos que los protejan: síntesis electroquímica y síntesis fotoquímica.

La **síntesis electroquímica** es un método interesante de síntesis de clústeres puesto que las condiciones de crecimiento se pueden establecer directamente en función del potencial o densidad de corriente aplicados, lo que permite conseguir un buen control del tamaño final de las partículas por ajuste adecuado de dichos parámetros.

El método empleado para la síntesis se basa en un procedimiento propuesto inicialmente para nanopartículas por Reetz[190] *et al.*, quienes describieron un procedimiento electroquímico que permitía obtener nanopartículas de Pd en el intervalo de tamaños de 2 a 4 nm. Este procedimiento (**Figura 70**) consiste en una electrólisis efectuada en condiciones galvanostáticas, en la que se disuelve anódicamente una lámina del metal de interés, y los cationes formados se reducen sobre un cátodo inerte generando nanopartículas estabilizadas en presencia de sales de tetrabutilamonio. Las ventajas de este método son la elevada pureza de las nanopartículas obtenidas y el control del tamaño que se logra ajustando la densidad de corriente usada.

Se aplica una densidad de corriente constante sobre el ánodo para lograr la oxidación anódica con disolución del metal y formación de cationes. Inicialmente se forman una serie de complejos de este catión metálico con el ion amonio estabilizante que son transportados hasta las proximidades del cátodo, donde son reducidos para generar los llamados "ad-átomos", los cuales sufren agregación en presencia de estabilizantes

dando dispersiones de nanopartículas estabilizadas. Si se usa un disolvente que no es adecuado para dispersarlos, las nanopartículas pueden precipitar en el medio.

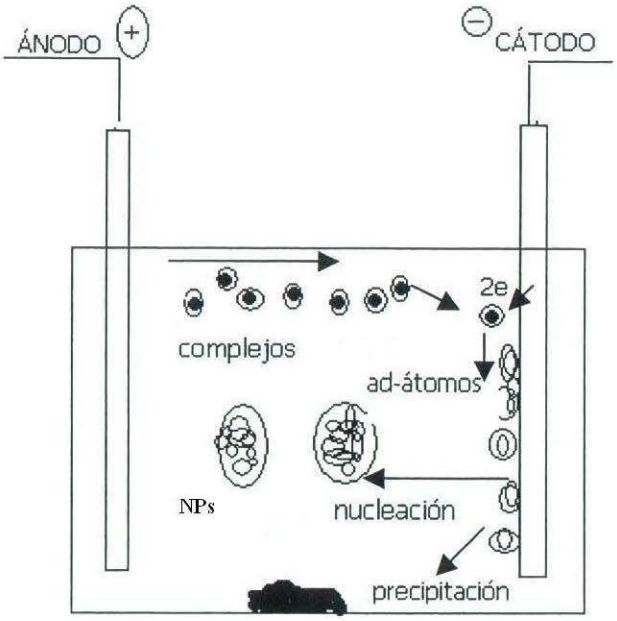



**Figura 70** Modelo para la estabilización de clústeres metálicos con iones tetrabutilamonio [10].

Este método electroquímico se modificó para permitir la síntesis de clústeres en nuestro grupo de investigación[15,182,183,191] y actualmente permite sintetizar clústeres de varios metales entre los que se pueden mencionar Au, Ag[192], Pt y Cu[188], algunos de los cuales serán estudiados en este trabajo.

Otro método empleado en esta tesis doctoral para obtener clústeres es la **síntesis fotoquímica,** que se basa en la reducción de una sal metálica por acción de la luz ultravioleta en presencia de un agente de sacrificio.

La ventaja de esta técnica, al igual que la electroquímica, es que no necesita el empleo de agentes reductores, habiéndose reportado la síntesis de clústeres de plata[184,185] usando ligandos protectores y dendrímeros . Así mismo se han sintetizado clústeres de oro, plata y cobre con microgeles polimericos[186] y otros ligandos como moldes[187].

Al igual que en el caso anterior, en esta tesis doctoral se usó una modificación de esta técnica para generar clústeres subnanométricos de plata[193] pequeños en agua sin ligandos protectores.

Todos los compuestos químicos utilizados en este capítulo fueron comprados a la casa comercial Sigma Aldrich. Además, todas las disoluciones acuosas fueron preparadas con agua de grado Milli-Q usando un sistema Direct-Q8UV de la casa comercial Millipore (Millipore Ibérica S.A., Madrid, Spain).

## 2. $Ag_5$-AQCs obtenidos por métodos electroquímicos

Los clústeres de plata de 5 átomos desnudos, esto es, sin ningún surfactante o agente protector, se sintetizaron utilizando una modificación de un método de síntesis electroquímico desarrollado anteriormente para clústeres de plata[47,194] de 2-3 átomos, así como también del método electroquímico desarrollado por el Dr. José Manuel Blanco Trillo en su tesis[192] doctoral en el grupo de investigación en el que se enmarca la presente tesis.

Esta síntesis electroquímica se llevó a cabo con un potenciostato Biologic con 9 canales (que permiten conectar 9 celdas a la vez y, por tanto, realizar 9 síntesis

simultáneas). Para ello, se utilizaron celdas electrolíticas de 0.5 L con agua Milli-Q y con dos electrodos de plata de 17.5 $cm^2$ de área. La síntesis se llevó a cabo con una agitación vigorosa durante todo el proceso y a una temperatura constante de 30 °C. La síntesis electroquímica consistió en una síntesis por etapas en las que se pasó una corriente constante y ascendente entre 0.250 mA y 4 mA durante 6 horas. Los electrodos de plata se lijaron (con lija de 1000) y se sonicaron previamente a cada etapa. Es importante tener en cuenta que las especies de plata son fotosensibles, es decir, que se reducen en presencia de luz; por este motivo, la síntesis se llevó a cabo en ausencia de luz.

Este método de síntesis genera un exceso de iones que cuantificamos utilizando un electrodo selectivo de iones (ISE), que en nuestro caso es selectivo a los cationes $Ag^+$. La cantidad de iones de plata presente en las muestras se eliminó por precipitación con cloruro sódico (NaCl), adicionando un exceso de 1.5 equivalentes. Además, y con el fin de estudiar las propiedades catalíticas de los clústeres, las muestras necesitaron ser concentradas en un rotavapor. La concentración final se cuantificó por ICP-MS, que mide la concentración de plata total del sistema. De modo que para conocer la concentración de AQCs se tiene que, o bien eliminar el exceso de iones antes de realizar el análisis, o bien restar el valor del electrodo selectivo a iones $Ag^+$ (que no detecta los AQCs) al valor obtenido por ICP-MS (que detecta la plata total, esté en forma de cationes o en forma de AQCs).

Se obtuvieron así concentraciones de $Ag_5$-AQCs en disolución en torno a 3.5 mg/L, para las muestras purificadas con NaCl y concentradas en el rotavapor.

La caracterización de los clústeres subnanométricos en general y de los $Ag_5$-AQCs en particular es una ardua tarea, pues, hoy en día se carece de técnicas sencillas para su caracterización directa, ya que estos materiales subnanométricos no pueden ser observados, por ejemplo, en un microscopio de transmisión electrónica de alta resolución convencional, ya que la irradiación del haz de electrones funde los clústeres formando nanopartículas *in situ*. Sin embargo, se pueden utilizar un conjunto de técnicas de caracterización, por ejemplo, por absorción UV-Visible (**Figura 71** A) donde la ausencia de banda plasmónica (~420 nm para las nanopartículas de plata) indica la ausencia de nanopartículas de plata y de electrones libres debido al confinamiento cuántico. Si comparamos este espectro de absorción con el de las muestras de $Ag_3$-AQCs[47] desnudos observamos un aumento continuo de la absorbancia con la disminución de la longitud de onda que caracteriza los espectros de absorción de los AQCs que, en el caso que aquí nos ocupa empieza a mayores longitudes de onda (~400 nm, 3.1 eV) que en el caso de los trímeros de plata ya reportados (~300 nm, 4.1 eV). Esta disminución en la energía concuerda con la disminución del intervalo de energías prohibido (HOMO-LUMO *gap* o *band-gap*) con el aumento del tamaño que se explicó en la introducción. Debido al carácter semiconductor que presentan los clústeres pequeños se puede hacer un gráfico de Tauc (ver **Figura 71** B) para determinar el *band gap* a partir de su espectro de absorción al igual que se hizo previamente para los clústeres de Cu[21], obteniendo que los clústeres mayoritarios presentan unos *band gaps* de 3.2 y 3.8 eV. Si aplicamos el modelo del *Jellium* (ecuación VI.1), con estos valores del *band gap* y el valor del nivel

Fermi de la plata masiva (5.5 eV), obtenemos que nuestros AQCs están formados por 5 y 3 átomos, respectivamente.

$$E_g = \frac{E_F}{N^{1/3}} \qquad \text{(VI.1)}$$

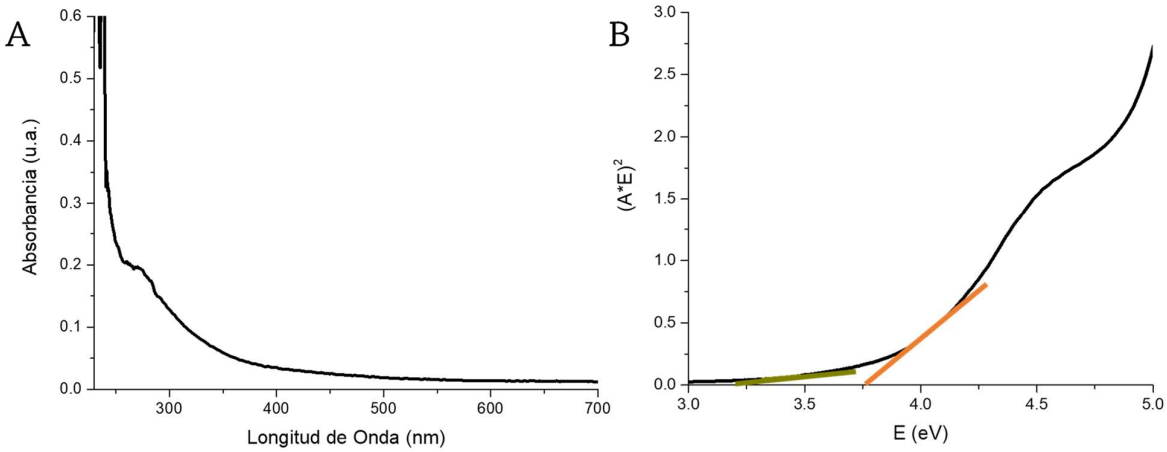



**Figura 71** (A) Espectro de absorción UV-Visible y (B) Representación de Tauc del espectro de absorción UV-Visible con la extrapolación de las dos energías de band-gap de los dos tamaños principales de clústeres en la muestra ($Ag_3$-AQCs ≈ 3.8 eV y $Ag_5$-AQCs ≈ 3.2 eV) de la síntesis electroquímica de clústeres de Ag de 5 átomos desnudos, purificada con NaCl y concentrada en un rotavapor con una concentración de Ag-AQCs de 3.35 mg/L.

Por otro lado, tal y como se mencionaba en la introducción de esta tesis, los clústeres presentan propiedades luminiscentes (ver **Figura 72**), cuya emisión coincide aproximadamente con el *band gap*.

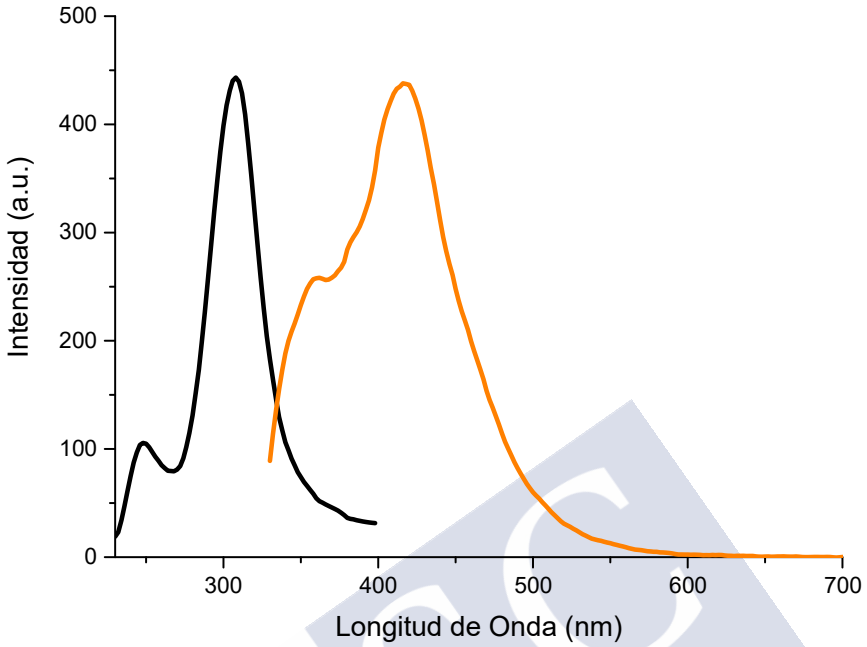



**Figura 72** Espectro de fluorescencia UV-Visible de la síntesis electroquímica de clústeres de Ag de 5 átomos desnudos, purificada con NaCl y concentrada en un rotavapor con una concentración de Ag-AQCs de 3.35 mg/L. Se muestra en negro el espectro de excitación con una longitud de onda de emisión de 415 nm y en naranja se muestra el espectro de emisión excitando a una longitud de onda de 310 nm.

A partir de las dos bandas de emisión de la **Figura 72**, podemos calcular una aproximación de la energía del *band gap* para los clústeres sintetizados mayoritariamente ($\lambda_{em,1}$ = 360 nm, $\lambda_{em,2}$ = 410 nm). Utilizando de nuevo la ecuación deducida por el modelo de *Jellium* (ecuación VI. 1) y aplicando una corrección a la energía obtenida a través de los máximos de emisión encontrados de 0.2 eV (ecuación VI.2), puesto que la alta salinidad del medio acuoso genera una desviación con respecto al vacío, medio en el que está desarrollado el modelo. De este modo,

podemos determinar que el número de átomos que forman los Ag-AQCs sintetizados (ecuación (VI.3) son 3 y 5, respectivamente.

$$\frac{hc}{\lambda} + 0.2\ \text{eV} = \frac{E_F}{N^{1/3}} \qquad \text{(VI.2)}$$

$$N_1 \approx 3\ \text{átomos}\ \ \text{y}\ N_2 \approx 5\ \text{átomos} \qquad \text{(VI.3)}$$

Para confirmar estos datos se procedió a realizar medidas de espectrometría de masas con la ayuda de la Profa. Mª Carmen Blanco, miembro del grupo de investigación en el que se enmarca esta tesis doctoral. En estas medidas se usó la espectrometría de masas (MS) con ionización por electro espray (ESI) y el analizador de tiempo de vuelo (TOF) y se realizaron en un espectrómetro de masas Bruker MicroTOF que operaba con la ionización en modo negativo. En la fuente ESI se empleó control de temperatura y nitrógeno gas (1 µL/ 144 min) para asistir el proceso de ionización cuyas condiciones fueron: voltaje de la fuente a -4.5 kV, temperatura del capilar a 275 °C, voltaje del capilar -35 V, por último, se utilizó el nitrógeno como gas de arrastre y gas auxiliar (5 y 2 unidades arbitrarias, respectivamente). Para el análisis completo del espectro de masas se hizo un barrido entre m/z 100 y 1000 con una velocidad de 1 scan/s. Todos los espectros se obtuvieron en modo *reflectron* de TOF con detección de multietapa para conseguir una selectividad máxima (la resolución de la masa fue 15 000 FWHM). El equipo se calibró siguiendo las indicaciones de la casa comercial.

Debido a las dificultades de carga y descarga de los Ag-AQCs se llevo a cabo una investigación sistemática con el fin de obtener la máxima sensibilidad, a partir de la

cual se puede concluir que las concentraciones de $Cl^-$ y fórmico son cruciales en la señal obtenida consiguiendo, para las mejores condiciones, una sensibilidad de 0.1 ppm.

Por lo tanto, para llevar a cabo la medida se diluyeron las muestras de Ag-AQCs hasta conseguir una concentración de 25 mM de NaCl (valor óptimo para la detección de Ag-AQCs) y se inyectaron directamente en la fase móvil de acetonitrilo que contiene 0.1 % de ácido fórmico y cuya velocidad de flujo es 0.2 mL/min. En todos los experimentos se inyectó un blanco que contiene el NaCl de las muestras para hacer la comparativa (ver **Figura 73**).

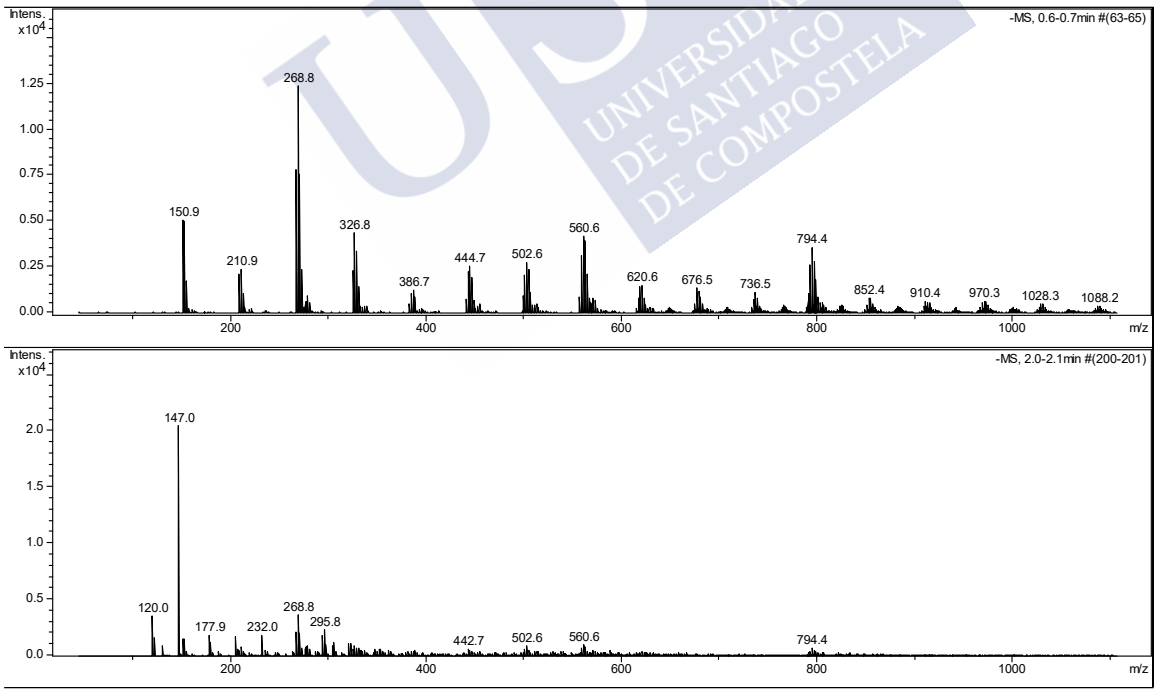



**Figura 73** Espectro de Masas completo para una muestra de Ag-AQCs sintetizada por el método electroquímico (arriba) y su correspondiente blanco (abajo).

Los detalles del análisis de los picos encontrados se muestran en el Anexo 2, a modo de ejemplo, en la **Figura 74** se muestra la ampliación de los picos para un aducto de $Ag_5$ (clúster mayoritario en las muestras producidas por la síntesis electroquímica) y la de un aducto de los $Ag_3$ también presentes en estas muestras obtenidas pero en menor concentración.

Los espectros de masas obtenidos para las muestras de Ag-AQCs sintetizados por el método electroquímico nos permiten demostrar, no solo el tamaño de los clústeres sintetizados, si no también que estos se encuentran desnudos, sin ningún surfactante o agente protector de otro tipo, en disolución acuosa. Además, nos permite corroborar que solo los clústeres de plata de 5 y 3 átomos están presentes en las muestras objeto de estudio. Así mismo nos permite deducir de forma cualitativa que la cantidad de clústeres con 5 átomos es mayoritaria.

Por último, se llevaron a cabo medidas de AFM (ver **Figura 75**) con la ayuda del Dr. Miguel Cuerva, exmiembro del grupo de investigación en el que se enmarca esta tesis doctoral.

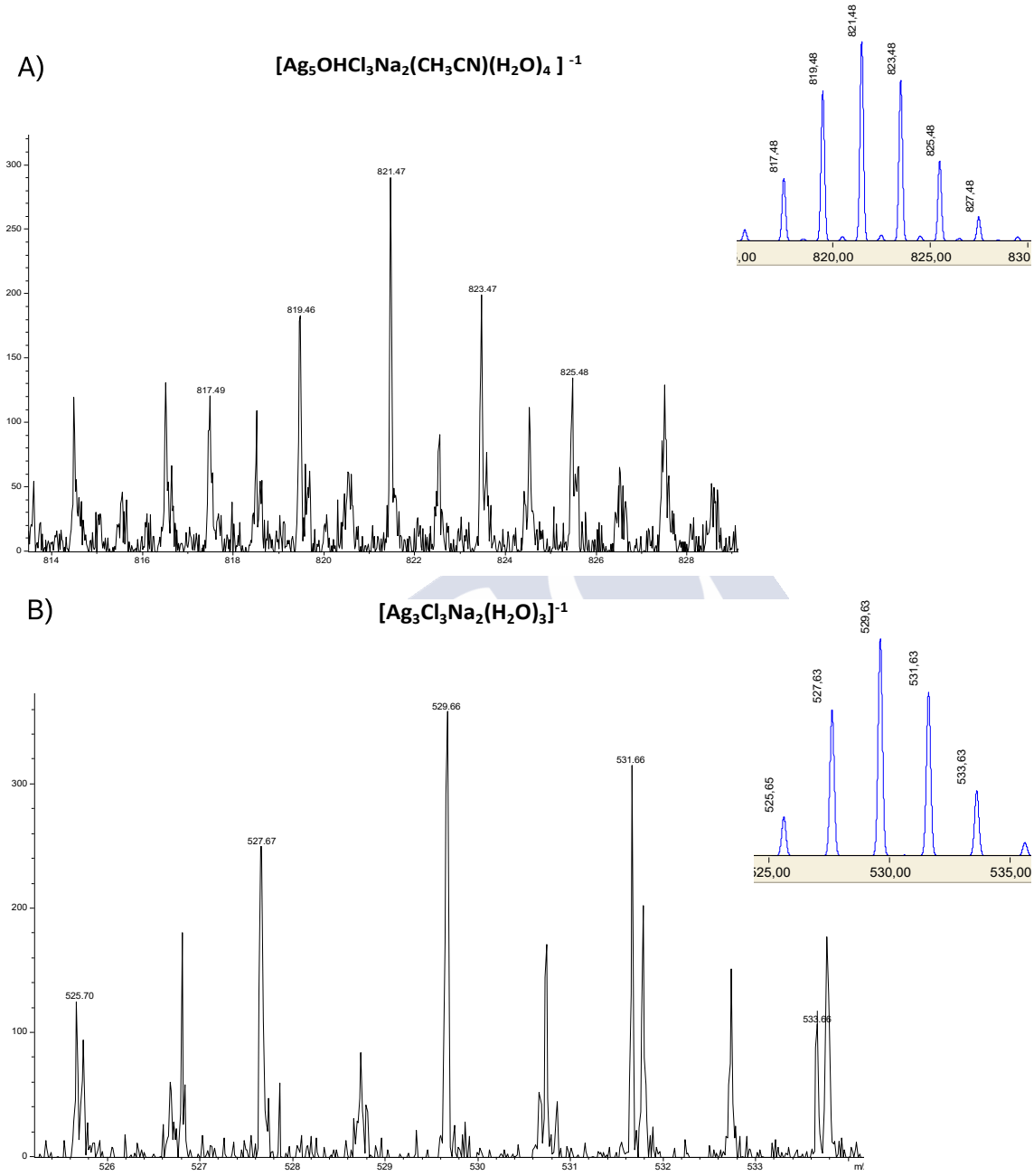



**Figura 74** Región aumentada del espectro de masas mostrado en la **Figura 73** para ver A) los picos detectados de $Ag_5$-AQCs a m/z= 821.48, con los correspondientes aductos y el ajuste teórico, y B) los picos detectados de $Ag_3$-AQCs a m/z = 529.63, con los correspondientes aductos y el ajuste teórico.

En la **Figura 75 A**, puede verse la imagen topográfica de la mica utilizada como soporte la cual presenta una rugosidad media que no supera los 100 pm, mientras que en las imágenes que se obtuvieron después de depositar la muestra de clústeres (**Figura 75** B y C) se observa la presencia de especies de alturas entre 300 y 400 pm, es decir, partículas inferiores a 1 nm que se corresponden a los clústeres obtenidos.

La altura de 300 pm se corresponde, aproximadamente, con el tamaño del clúster de $Ag_5$, lo cual es coherente con los resultados obtenidos por las otras dos técnicas de caracterización, en las cuales se obtuvo que en la muestra estaban presentes mayoritariamente clústeres de 5 átomos y 3 átomos, aunque estos últimos en menor cantidad.

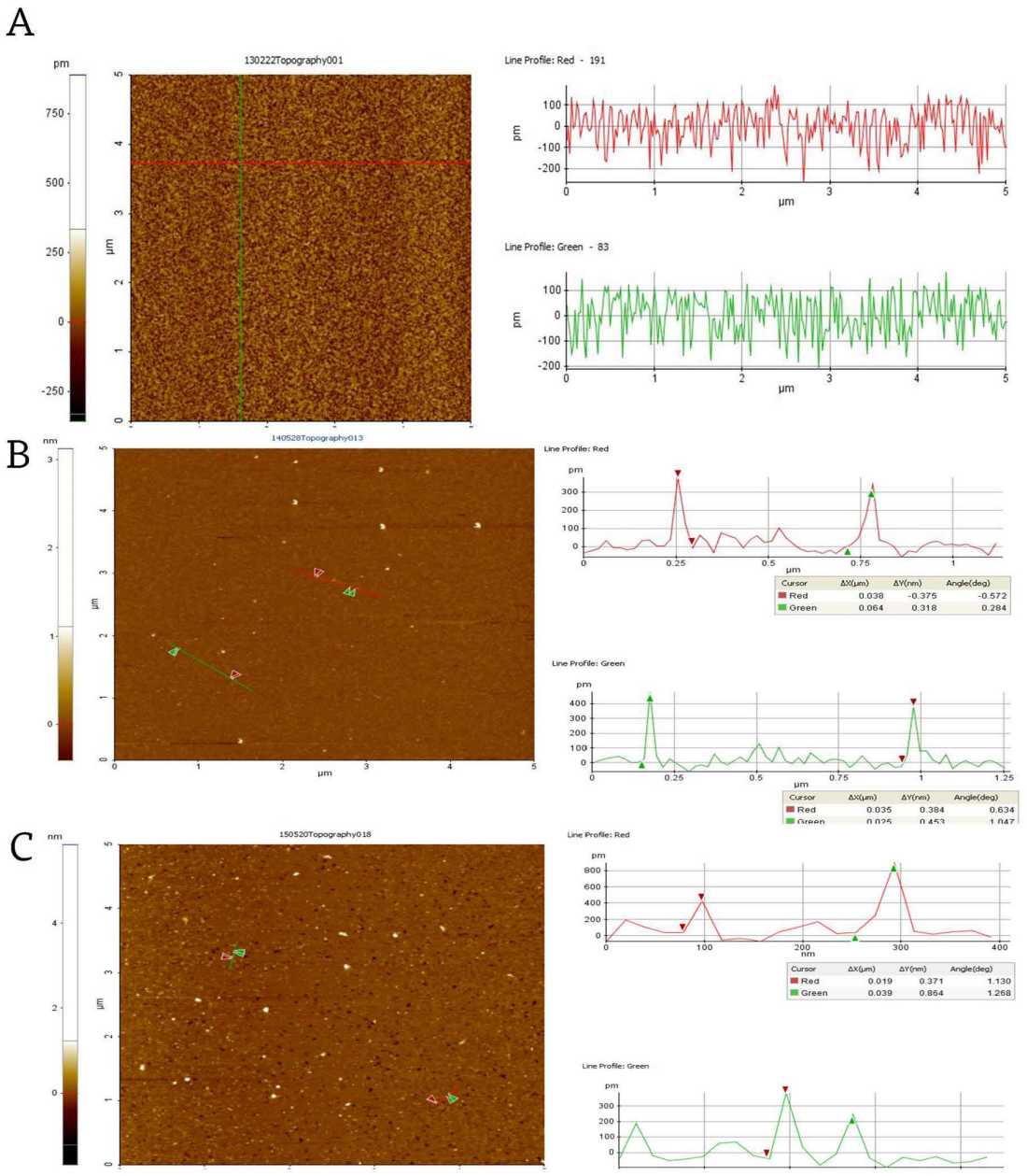



**Figura 75** Imágenes topográficas de NC-AFM (izquierda) y análisis de sección de líneas sólidas (derecha) para (A) blanco de mica limpia y plana (B) y (C) clústeres de plata depositados sobre Mica.

## 3. $Ag_5$-AQCs obtenidos fotoquímicamente

Los clústeres de plata desnudos, esto es, sin ningún surfactante o agente estabilizante obtenidos por el método fotoquímico fueron sintetizados por la estudiante de doctorado Nerea Borja y los detalles de la síntesis así como la caracterización completa de los mismos forman parte de su tesis doctoral y dio fruto a una patente europea[193], donde se pueden ver los detalles experimentales. Simplemente quiero mencionar aquí que, debido al proceso de síntesis, estos clústeres presentan tamaños más dispersos que los obtenidos por el método electroquímico explicado previamente, porque la cinética de la síntesis en este caso es más complicada de controlar. En contraposición, esta síntesis produce directamente clústeres en mucha mayor concentración (~100 mg/L), sin necesidad de concentrar las muestras en un rotavapor (aprox. 6 órdenes de magnitud superior a la técnica electroquímica) y, además, es una síntesis fácilmente escalable.

Cabe mencionar que todos los experimentos realizados en esta tesis doctoral obtenidos con las muestras de AQCs, se acompañan siempre de un experimento con este blanco de la síntesis, con el fin de confirmar que la actividad observada se puede atribuir únicamente a los AQCs.

Previamente a los experimentos se realizaron medidas de ISE e ICP-MS, que como se explicó en el caso de los clústeres obtenidos por la síntesis electroquímica, permiten conocer la concentración de AQCs en la muestra. También se midió el espectro de absorción de las muestras (ver **Figura 76**) donde se observa un espectro

característico de AQCs con ausencia de nanopartículas (no hay banda plasmónica) y se puede estimar que el tamaño de los AQCs obtenidos está entre ≈3 y ≈ 6 átomos.

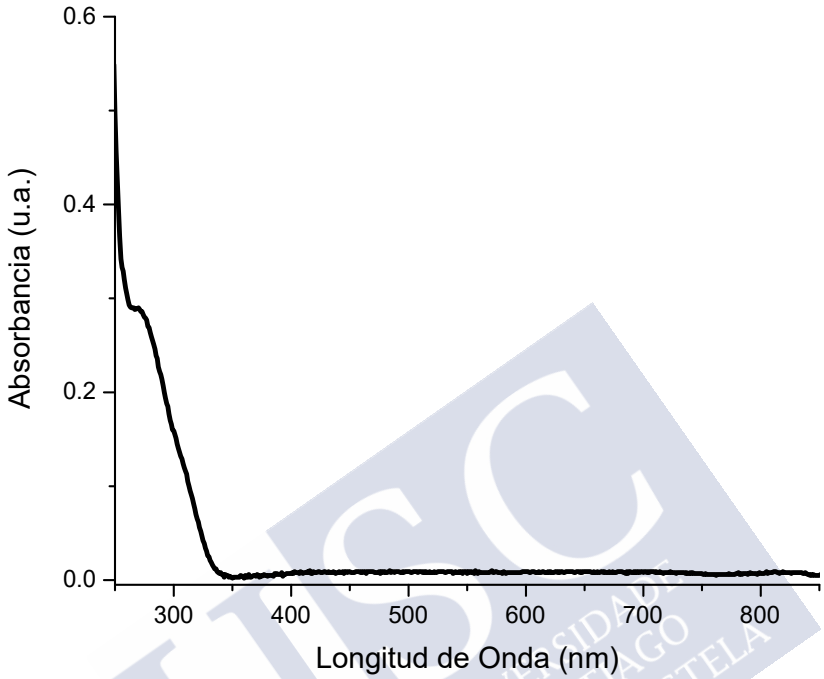



**Figura 76** Espectro de espectroscopía de absorción UV-Visible de la síntesis fotoquímica de clústeres de Ag con una concentración de AQCs de 100 mg/L y una concentración de iones de $Ag^+$ de 400 mg/L.

## 4. $Cu_5$-AQCs

Los clústeres de 5 átomos de cobre desnudos fueron sintetizados por el método electroquímico desarrollado por la Dra. Shahana Huseyinova, miembro del grupo de investigación en el que se enmarca esta tesis doctoral. El método de síntesis de estos pequeños clústeres de cobre[188] desnudos en agua fue desarrollado a lo largo de su

tesis doctotal[195]. La caracterización de los clústeres de cobre de 5 átomos se puede ver con detalle tanto en una publicación reciente[188] como en su tesis[195].

Al igual que para los clústeres de plata, antes de realizar los experimentos catalíticos desarrollados a lo largo de esta tesis doctoral, las muestras se midieron por espectroscopía de absorción UV-Visible y por espectroscopía de fluorescencia con el fin de comprobar la pureza y el tamaño de los clústeres presentes (ver **Figura 77**). Además, se analizaron por ICP-MS y con electrodo selectivo a iones de $Cu^{2+}$ con el fin de determinar la concentración de $Cu_5$-AQCs.

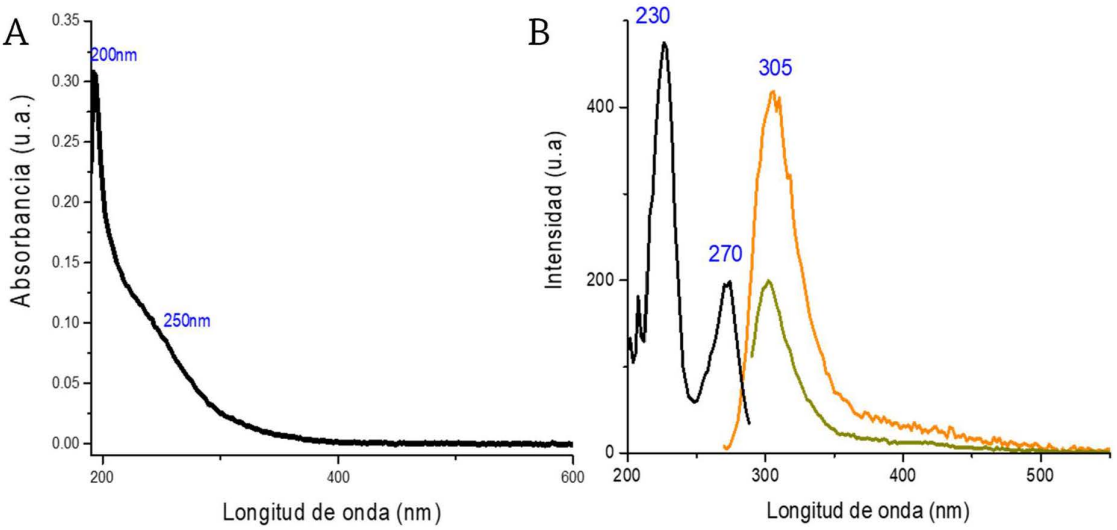



**Figura 77** Espectros de (A) espectroscopía de absorción UV-Visible y (B) espectroscopía de fluorescencia UV-Visible de la síntesis electroquímica de clústeres de Cu de 5 átomos sin iones. En el espectro de fluorescencia (B) se muestra en negro el espectro de excitación con una longitud de onda de emisión de 305 nm, en naranja se muestra el espectro de emisión excitando a una longitud de onda de 230 nm y en verde se muestra el espectro de emisión excitando a una longitud de onda de 270 nm.

Al igual que en el caso de los $Ag_5$-AQCs sintetizados por el método electroquímico, la longitud de onda del máximo de emisión (305 nm), nos permite obtener el tamaño aproximado de los clústeres mediante el modelo del *Jellium* (Ecuación (VI.2), obteniéndose un tamaño aproximado de 5 átomos.

## 5. Utilización de los AQCs como catalizadores heterogéneos

### a. Métodos de deposición

#### *i. Incipient Wetness Impregnation*

La *incipient wetness impregnation*[196] es un proceso de deposición que consiste en añadir la cantidad exacta de líquido que cabe en el interior de los poros de un soporte. Se cree que con este método se consigue que toda la disolución añadida a un soporte se encuentre en el interior de sus poros y así, también el catalizador que contenía dicha disolución.

Para llevar a cabo este método primero debemos de conocer el volumen por masa de soporte, es decir, el volumen de los poros total para una determinada cantidad de soporte. Para ello se pueden utilizar diversas isotermas, generalmente se emplea la isoterma de BET. Pero también se puede conocer la cantidad de líquido que se puede introducir en un determinado soporte de forma aproximada mediante el siguiente

procedimiento experimental: se comienza por pesar de forma muy exacta una cantidad fija de soporte (por ejemplo, 1 g) y sobre él se va añadiendo agua lentamente, gota a gota (medida de forma precisa por pesada y/o con micropipeta automática previamente calibrada). En el punto del soporte donde caen las gotas de agua se forma como una pasta que se remueve con una espátula (siempre desechable) hasta que todo el sólido entra en contacto con el líquido añadido, y, por tanto, la humedad fue adsorbida y el sólido continúa siendo un sólido seco. Se repite el proceso tantas veces como sea necesario hasta el momento anterior a que el sólido comience a estar húmedo y se apelmace.

Para el cálculo del volumen de líquido necesario por masa de catalizador se debe de repetir el proceso anterior tantas veces como sea necesario, hasta obtener 3 veces consecutivas el mismo valor del volumen.

Si no se dispone de ninguna información inicial, es decir, sin una isoterma de BET que nos oriente sobre qué volumen cabría esperar por unidad de masa en nuestro soporte, se debe proceder la primera vez a añadir más volumen del necesario y obtener un polvo apelmazado (es decir, que no se convierte en un polvo seco, aunque lo removamos con una espátula durante unos minutos -menos de 5- a temperatura ambiente). De este modo, fijamos el límite superior del volumen a añadir y lo vamos aproximando sucesivamente hasta obtener el valor final del volumen por unidad de masa que acepta nuestro soporte, tal como se indicó anteriormente.

Una vez conocido el volumen exacto de líquido que cabe en los poros del soporte, se puede comenzar con el proceso de la *incipient wetness impregnation*, para lo cual se

procede como sigue: 1) pesar de forma exacta una cantidad de soporte deseada, 2) añadir lentamente el volumen de disolución que calculamos para esa masa, 3) dejar a temperatura ambiente 2 horas y, finalmente, 4) secar a 80 °C (para catalizadores en agua) durante aprox. 12 horas.

Este proceso puede repetirse con el fin de alcanzar la carga del catalizador (*loading*) -explicado más adelante en este capítulo, sección 5b- deseada para el experimento. En el caso de las muestras de AQCs se repitió este proceso entre 10 y 100 veces, dependiendo del experimento, la concentración inicial de muestra empleada y *loading* final deseado.

### ii. Deposición lenta

Aunque el proceso de la *incipient wetness impregnation* explicado previamente es el proceso de deposición que mejor contacto consigue entre el soporte y el catalizador, como desventaja es un proceso muy lento y tedioso sobre todo cuando se quieren conseguir *loadings* altos o cuando las muestras presentan concentraciones muy bajas. Por ello, nos vimos con la necesidad de diseñar procesos más rápidos, aunque quizá menos precisos, para conseguir un buen contacto soporte–AQCs, para este tipo de muestras.

El método de deposición lenta consiste en añadir gota a gota 1 mL de disolución en 100 mg de soporte, agitarlo magnéticamente durante 1 hora, sonicarlo durante otra hora y secarlo a 100 °C. El proceso se repite tantas veces como sea necesario para

conseguir la concentración de catalizador deseada. La última adición se deja a 100 °C durante aprox. 12 horas.

En el caso de las muestras de clústeres, este proceso se repitió el número de veces necesario para conseguir las concentraciones deseadas para los experimentos (nº de deposiciones: 1-10).

#### iii. Deposición rápida

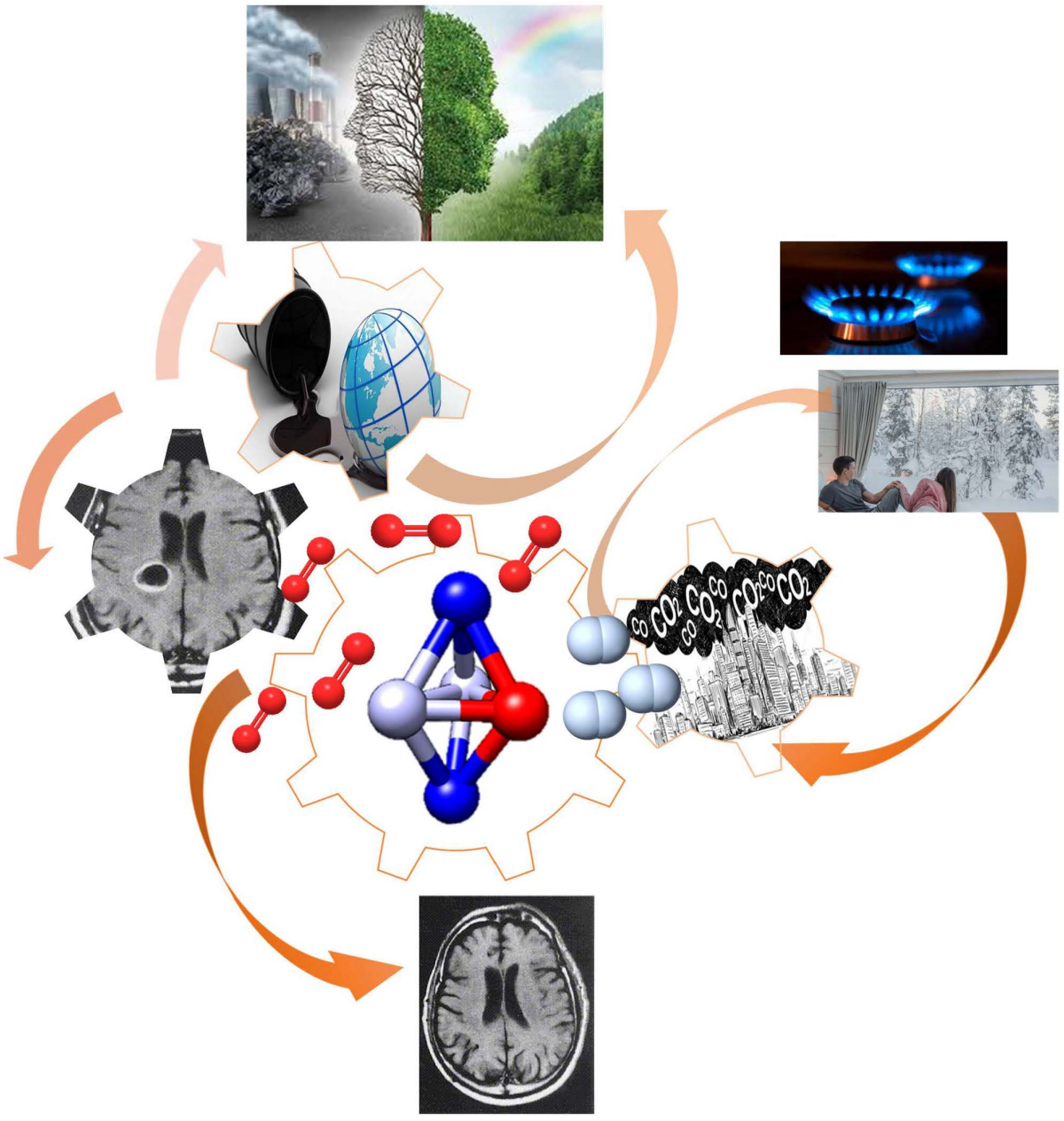
Este método de deposición rápida fue utilizado cuando era preciso disponer de muestras más concentradas, por lo que los métodos anteriores resultaban inviables. En este método se pesan 100 mg de soporte y se añade 1 mL de disolución, que se agita durante una hora y media. Luego, se seca completamente a 100 °C. El proceso se repite tantas veces como sea necesario hasta conseguir la concentración deseada de catalizador.

### b. Cálculo del *loading*

El *loading* es el porcentaje másico de un catalizador en un soporte determinado y se define como:

$$\text{loading}\ (\%) = \frac{\text{mg de AQCs}}{\text{mg soporte}} \times 100 \qquad \text{(VI.4)}$$

# Conclusiones Generales



## 1. Conclusiones

De forma general, en esta tesis, se ha demostrado la gran capacidad catalítica que presentan los clústeres cuánticos de 5 átomos y se ha puesto de manifiesto la versatilidad de las reacciones en las que pueden actuar como catalizadores favoreciendo reacciones en condiciones más suaves que muchos de los catalizadores conocidos.

Las principales conclusiones de la presente tesis doctoral se resumen en los siguientes puntos:

1. Podemos sintetizar clústeres de plata y cobre de 5 átomos desnudos, esto es sin ningún surfactante, en agua, siendo capaces de obtener muestras monodispersas que pueden ser depositadas de forma eficiente en soportes de distinta naturaleza desde óxidos metálicos hasta carbón para ser utilizadas después en catálisis heterogénea.
2. Los clústeres de 5 átomos de plata han demostrado poseer excelentes capacidades catalíticas para la reacción de desactivación del radical modelo DPPH • .
3. La desactivación del radical puede repetirse varios ciclos (al menos 10 ciclos) sin perder efectividad.

4. Los clústeres $Ag_5$-AQCs han demostrado que pueden reducir la degradación de polímeros de interés industrial, necesitando en torno al 4 % de recubrimiento para obtener protecciones importantes frente al envejecimiento.
5. Se ha desarrollado una sencilla prueba para caracterizar, de forma complementaria a las técnicas convencionales, la presencia de $Ag_5$-AQCs usando la de desactivación del radical DPPH•. Esta prueba está siendo utilizado hoy en día en el grupo de investigación en el que se enmarca esta tesis doctoral.
6. Se ha encontrado también que los $Ag_5$-AQCs son unos buenos catalizadores en la reacción de epoxidación de estireno utilizando peróxido de hidrógeno como agente oxidante, para la cual se obtuvo un rendimiento del 56 % y del 77 % después de 3 horas y 24 horas de reacción, respectivamente. Aunque esta reacción sigue siendo objeto de estudio, la catálisis encontrada es muy prometedora y los AQCs han demostrado una vez más ser unos catalizadores muy eficientes ya que pueden usarse cantidades mucho más pequeñas que la utilizadas en los catalizadores convencionales con actividades catalíticas similares.
7. Se demostró por primera vez la gran capacidad de los AQCs de 5 átomos, tanto de plata como de cobre, para activar el oxígeno atmosférico y oxidar completamente a temperatura ambiente compuestos de azufre importantes, tanto a nivel biológico (cisteína y glutatión) como para la industria petroquímica (tiofenol y dibenzotiofeno).

8. Independientemente del azufre estudiado (desde la cisteína al dibenzotiofeno) se obtuvo una gran dependencia en el estado de oxidación del producto obtenido con la relación molar entre los AQCs y el compuesto de azufre ([AQCS]/[Azufre]). Cuando esa relación molar es mayor a ≈ $10^{-3}$ se obtiene la completa transformación del compuesto de azufre en el $S^{+6}$ en unas pocas horas, mientras que para relaciones molares menores a ≈ $10^{-5}$ se obtuvo el dímero del compuesto de azufre ($S^{-1}$). Mientras que para las relaciones intermedias se obtienen mezclas de estados de oxidación intermedios del azufre como, por ejemplo, $S^{+4}$.
9. Los AQCs han demostrado ser unos magníficos catalizadores homogéneos en la reacción de oxidación de azufres y han demostrado también, que cuando son depositados en carbón permanecen activos por lo que pueden ser usados catálisis heterogénea. Esta versatilidad hace que sean fácilmente aplicables en problemáticas reales, como, por ejemplo, en el proceso de desulfuración de una planta petroquímica.
10. Los AQCs han demostrado ser también buenos catalizadores heterogéneos cuando son soportados en óxidos metálicos y empleados en reacciones en fase gas.
11. Los $Ag_5$-AQCs han demostrado ser unos buenos catalizadores para la reacción de oxidación de CO mostrando unos valores de TOR muy superiores a sus análogos de plata y del mismo orden de magnitud que las nanopartículas de platino. Así, dado que los $Ag_5$-AQCs/$Al_2O_3$ pueden ser una buena alternativa a los costosos materiales de platino, esta reacción sigue siendo objeto de

estudio y se están explorando tanto el uso de distintos soportes, como la utilización de $Cu_5$-AQCs.

12. Los clústeres de 5 átomos de plata son capaces de catalizar de un modo muy eficiente la hidrogenación de propeno llevando a cabo la reacción con un *loading* de 0.6 %. Además, la reacción tiene lugar a temperatura ambiente y es muy dependiente del método de deposición empleado. Cuando el método es lento en alúmina se obtiene una conversión del 100 % (al menos 75 % corregida por la actividad del blanco) mientras que con una deposición más rápida en grafito se obtienen conversiones del 50 % (25 % corregida por la actividad del blanco). En ambos casos el único producto de hidrogenación de propeno es propano que se obtiene de forma muy selectiva.
13. En la hidrogenación de acetileno catalizada por $Cu_5$-AQCs los cálculos teóricos llevados a cabo concuerdan con los resultados experimentales mostrando que el proceso de hidrogenación de acetileno mediado por los AQCs es completamente favorable dando como resultado etano.
14. $Cu_5$-AQCs han mostrado catalizar la metanación de $CO_2$, generando metano como único producto lo que puede representar un camino adecuado para el aprovechamiento de este gas contaminante.

En resumen, en esta tesis doctoral se demostró como los materiales a escala subnanométrica muestran unas propiedades totalmente distintas a las que muestran sus análogos nanométricos y masivos, pues las reacciones estudiadas no podrían llevarse a cabo por materiales clásicos de plata o cobre.

Con ello se comprueba una vez más que los materiales en esta escala abren un gran abanico de posibilidades en el campo de la catálisis y constituyen, sin lugar a dudas, un nuevo horizonte químico que se abre ante nosotros en esta escala de transición entre las nanopartículas y los átomos.

## 2. Conclusions

In general, this thesis has demonstrated the great catalytic capacity of 5 atoms quantum clusters and it was shown up their high versatility as catalysts in many different as, favoring reactions under milder conditions than many of the known catalysts.

The main conclusions of this doctoral thesis are summarized in the following points:

1. We can synthesize silver and copper naked (without any surfactant) clusters of 5 atoms in water, being able to obtain monodisperse samples that can be efficiently deposited on supports of different nature from metallic oxides to carbon to be used later in heterogeneous catalysis.
2. Clusters of 5 silver atoms have been shown to have excellent catalytic capabilities for the DPPH • model radical deactivation reaction.
3. The deactivation of the radical can be repeated several cycles (at least 10 cycles) without losing effectivity.
4. $Ag_5$-AQCs have shown that they can reduce the degradation of polymers of industrial interest, requiring around 4 % coating to obtain important protection against aging.
5. A simple test has been developed to characterize, in a complementary way to conventional techniques, the presence of $Ag_5$-AQCs using the DPPH • radical

deactivation test. This test is being used today in the research group in which this doctoral thesis is framed.

6. $Ag_5$-AQCs have also been found to be good catalysts in the styrene epoxidation reaction using hydrogen peroxide as an oxidizing agent, for which a yield of 56 % and 77 % was obtained after 3 hours and 24 hours of reaction, respectively. Although this reaction is still under study, the catalysis found is very promising and AQCs have once again proven to be very efficient catalysts since much smaller amounts can be used than those used in conventional catalysts with similar catalytic activities.
7. The great capacity of 5-atom AQCs, both silver and copper, to activate atmospheric oxygen and completely oxidize, at room temperature, sulfur compounds, important both at the biological level (cysteine and glutathione) and for the petrochemical industry (thiophenol and dibenzothiophene) was demonstrated for the first time.
8. Regardless of the sulfur studied (from cysteine to dibenzothiophene), a dependence on the oxidation state of the product obtained with the molar ratio between the AQCs and the sulfur compound ([AQCS] / [Sulfur]) was found. When this molar ratio is greater than ≈ $10^{-3}$, the complete transformation of the sulfur compound into $S^{+6}$ is obtained in a few hours, while for molar ratios less than ≈ $10^{-5}$ the product of the reaction is the dimer of the sulfur compound ( $S^{-1}$). While in the molar ratio between the previous ones (≈ $10^{-4}$) the products show a oxidation state of $S^{+4}$.

9. The clusters remain active for the oxidation of suphur compounds in heterogeneous catalysis (deposited in carbon). This versatility makes them easily applicable in real problems, such as, for example, in the desulfurization process of a petrochemical plant.
10. AQCs have also proven to be good heterogeneous catalysts when supported on metal oxides and used in gas phase reactions.
11. $Ag_5$-AQCs have proven to be good catalysts for the CO oxidation reaction, showing TOR values much higher than their silver analogs and of the same order of magnitude as platinum nanoparticles. Thus, $Ag_5$-AQCs/$Al_2O_3$ can be a good alternative to expensive platinum materials. This reaction continues to be studied and both, the use of different supports and the use of $Cu_5$-AQCs, are being explored.
12. Clusters of 5 silver atoms are capable to catalyze very efficiently the hydrogenation of propene carrying out the reaction with a loading of 0.6 %. Furthermore, the reaction takes place at room temperature and it is highly dependent on the deposition method. When it is used the “slow method” in alumina a conversion of 100 % (at least 75 % corrected by blank experiment value) is obtained while, with the “fast deposition” method is used in carbon conversions of 50 % (25 % corrected by blank experiment value) are obtained. In both cases the only propene hydrogenation product is propane, meaning the AQCs show high selectivity.
13. In the hydrogenation of acetylene catalyzed by $Cu_5$-AQCs, the theoretical calculations carried out agree with the experimental results showing that the

acetylene hydrogenation process mediated by the AQCs is completely favorable, resulting in ethane.

14. $Cu_5$-AQCs suprisingly catalyze the methanation of $CO_2$, generating methane as the only product, which may represent an adequate way to use this contaminating gas in a enviromentally friendly way.

In summary, in this doctoral thesis it was demonstrated how materials at a subnanometric scale show properties that are totally different from those shown by their massive and nanometric analogues, since the reactions studied here could not be carried out by classical silver or copper materials. This proves, once again, that materials on this scale open up a wide range of possibilities in the field of catalysis and constitute certainly a new chemical horizon that shows up in front us on this range between nanoparticles and atoms.

# Referencias Bibliográficas



1. Feynman, R. P. There's plenty of room at the bottom. *Engineering and science* **23**, 22–36 (1960).

2. Daniel, M.; Astruc, D. 'Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology.' *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **104**, 293 (2004).

3. Gonella, F.;Mazzoldi, P. 'Metal Nanocluster Composite Glasses'. *Handb. Nanostructured Mater. Nanotechnol.* **4**, 81 (2000).

4. Freestone, I.; Meeks, N.; Sax, M.; Higgitt, C. 'The Lycurgus cup - A Roman nanotechnology.' *Gold Bull. (London, U. K.)* **40**, 270 (2007).

5. Binning, G.; Rohrer, H.; Gerber, C.; Weibel, E. 'Surface studies by scanning tunneling microscopy.'. *Phys. Rev. Lett.* **49**, 57 (1982).

6. Faraday, M. 'Experimental Relations of Gold (and other metals) to Light'. *Philos. Trans.* **147**, 145 (1857).

7. Roduner, E. Size matters: why nanomaterials are different. *Chem. Soc. Rev.* **35**, 583 (2006).

8. Li, J.; Li, X.; Zhai, H.; Wang, L. Au20: A Tetrahedral Cluster. *Sci. (Washington, DC, U. S.)* **299**, 864 (2003).

9. Edwards, P. P., Johnston, R. L. & Rao, C. N. R. On the size-induced metal-insulator transition in clusters and small particles. (2000).

10. Buceta Fernandez, D. Caracterización y propiedades catalíticas de clústeres cuánticos subnanométricos. (2011).

11. Chou, M. Y.; Cleland, A.; Cohen, M. L. 'Total energies, abundances, and electronic shell structure of lithium, sodium, and potassium clusters.' *Solid State Commun.* **52**, 645 (1984).

12. Calvo Fuentes, J.;Rivas Rey, J.;Lopez-Quintela, M. A. 'Synthesis of subnanometric metal nanoparticles'. in *Encyclopedia of nanotechnology, ed. Bhushan, B. , Springer Verlag* (2011).

13. Chen, M.; Dyer, J. E.; Li, K.; Dixon, D. A. Prediction of Structures and Atomization Energies of Small Silver Clusters, (Ag)n. *J. Phys. Chem. A* **117**, 8298–8313 (2013).

14. Guvelioglu, G. H.; Ma, P.; He, X.; Forrey, R. C.; Cheng, H. F. Principles Studies on the Growth of Small Cu Clusters and the Dissociative Chemisorption of H 2. *Phys. Rev. B* **73**, 155436 (2006).

15. Santiago González, B. *et al.* One step synthesis of the smallest photoluminescent and paramagnetic PVP-protected gold atomic clusters. *Nano Lett.* **10**, 4217–4221 (2010).

16. Lin, C. J.; Yang, T.; Lee, C.; Huang, S. H.; Sperling, R. A.; Zanella, M.; Li, J. K.; Shen, J.; Wang, H.; Yeh, H.; Parak, W. J.; Chang, W. H. 'Synthesis, Characterization, and Bioconjugation of Fluorescent Gold Nanoclusters toward Biological Labeling Applications.'. *ACS Nano* **3**, 395 (2009).

17. Santiago-gonzález, B. *et al.* Journal of Colloid and Interface Science Synthesis of water-soluble gold clusters in nanosomes displaying robust photoluminescence with very large Stokes shift. **455**, 154–162 (2015).

18. Xavier, P. L.; Chaudhari, K.; Verma, P. K.; Pal, S. K. . P. & T. Luminescent Quantum Clusters of Gold in Transferrin Family Protein, Lactoferrin Exhibiting FRET. *Nanoscale* **2**, 2769 (2010).

19. Muhammed, M. A. H.; Shaw, A. K.; Pal, S. K.; Pradeep, T. Quantum Clusters of Gold Exhibiting FRET. *J. Phys. Chem. C* **112**, 14324–14330 (2008).

20. Corma, A. *et al.* Exceptional oxidation activity with size-controlled supported gold clusters of low atomicity. *Nat. Chem.* **5**, 775–81 (2013).

21. Vilar-Vidal, N., Rivas, J. & López-Quintela, M. A. Size dependent catalytic activity of reusable subnanometer copper(0) clusters. *ACS Catal.* **2**, 1693–1697 (2012).

22. ttia, Y. A.; Vazquez-Vazquez, C.; Blanco, M. C.; Buceta, D. . & Lopez-Quintela, M. A. A Gold Nanorod Synthesis Catalysed by Au Clusters. *Faraday Discuss.* **191**, 205–213 (2016).

23. 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.* **136**, 1182–1185 (2014).

24. Halder, A., Curtiss, L. A., Fortunelli, A. & Vajda, S. Perspective: Size selected clusters for catalysis and electrochemistry. *J. Chem. Phys.* **148**, (2018).

25. Harding, C. *et al.* Control and Manipulation of Gold Nanocatalysis: Effects of Metal Oxide Support Thickness and Composition. *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 538–548 (2009).

26. Kwon, G. *et al.* Size-dependent subnanometer Pd cluster (Pd4, Pd6, and Pd17) water oxidation electrocatalysis. *ACS Nano* **7**, 5808–5817 (2013).

27. Riha, S. C. *et al.* Atomic Layer Deposition of a Submonolayer Catalyst for the Enhanced Photoelectrochemical Performance of Water Oxidation with Hematite. *ACS Nano* **7**, 2396–2405 (2013).

28. Imaoka, T. *et al.* Magic Number Pt13 and Misshapen Pt12 Clusters: Which One is the Better Catalyst? *J. Am. Chem. Soc.* **135**, 13089–13095 (2013).

29. Liu, L. & Corma, A. Metal Catalysts for Heterogeneous Catalysis: From Single Atoms to Nanoclusters and Nanoparticles. *Chem. Rev.* **118**, 4981–5079 (2018).

30. Grundner, S. *et al.* Single-site trinuclear copper oxygen clusters in mordenite for selective conversion of methane to methanol. *Nat. Commun.* 1–9 (2015).

31. Bal, R.; Tada, M.; Sasaki, T.; Iwasawa, Y. Direct Phenol Synthesis by Selective Oxidation of Benzene with Molecular Oxygen on an Interstitial-N/Re Cluster/Zeolite Catalyst. *Angew. Chem., Int. Ed.* **45**, 448–452 (2006).

32. Thomas, J. M.; Johnson, B. F.; Raja, R.; Sankar, G.; Midgley, P. A. High-Performance Nanocatalysts for Single-Step Hydrogenations. *Acc. Chem. Res.* **36**, 20–30 (2003).

33. Vajda, S.; Pellin, M. J.; Greeley, J. P.; Marshall, C. L.; Curtiss, L., A.; Ballentine, G. A.; Elam, J. W.; Catillon-Mucherie, S.; Redfern, P. C. . & Mehmood, F. . et al. Subnanometre Platinum Clusters

as Highly Active and Selective Catalysts for the Oxidative Dehydrogenation of Propane. *Nat. Mater.* **8**, 213–216 (2009).

34. Baxter, E. T.; Ha, M.-A.; Cass, A. C.; Alexandrova, A. N. . & Anderson, S. L. Ethylene Dehydrogenation on Pt4,7,8 Clusters on Al2O3: Strong Cluster Size Dependence Linked to Preferred Catalyst Morphologies. *ACS Catal.* **7**, 3322–3335 (2017).

35. Lee, S.; Di Vece, M.; Lee, B.; Seifert, S.; Winans, R. E.; Vajda, S. Oxidative Dehydrogenation of Cyclohexene on Size Selected Subnanometer Cobalt Clusters: Improved Catalytic Performance via Evolution of Cluster-Assembled Nanostructures. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **14**, 9336–9342 (2012).

36. Lee, S.; Di Vece, M.; Lee, B.; Seifert, S.; Winans, R. E.; Vajda, S. Support-Dependent Performance of Size-selected Subnanometer Cobalt Cluster-based Catalysts in the Dehydrogenation of Cyclohexene. *ChemCatChem* **4**, 1632–1637 (2012).

37. Worz, A. S.; Judai, K.; Abbet, S.; Heiz, U. Cluster Size- Dependent Mechanisms of the CO+NO Reaction on Small Pdn (n≤ 30) Clusters on Oxide Surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 7964– 7970. (2003).

38. Judai, K.; Abbet, S.; Worz, A. S.; Heiz, U.; Henry, C. R. Low- Temperature Cluster Catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 2732– 2737 (2004).

39. Ahmed, F.; Nagumo, R.; Miura, R.; Suzuki, A.; Tsuboi, H. . & Hatakeyama, N.; Takaba, H.; Miyamoto, A. CO Oxidation and NO Reduction on a MgO(100) Supported Pd Cluster: A Quantum Chemical Molecular Dynamics Study. *J. Phys. Chem. C* **115**, 24123–24132 (2011).

40. Liu, X.; Tian, D.; Ren, S.; Meng, C. Structure Sensitivity of NO Adsorption–Dissociation on Pdn (n = 8, 13, 19, 25) Clusters. *J. Phys. Chem. C* **119**, 12941–12948 (2015).

41. Shimizu, K.-i.; Satsuma, A.; Hattori, T. Catalytic Performance of Ag-Al2O3 Catalyst for the Selective Catalytic Reduction of NO by Higher Hydrocarbons. *Appl. Catal., B* **25**, 239–247 (2000).

42. Shibata, J. Ag Cluster as Active Species for SCR of NO by Propane in the Presence of Hydrogen over Ag-MFI. *J. Catal.* **222**, 368–376 (2004).

43. Satsuma, A.; Shibata, J.; Shimizu, K.-i.; Hattori, T. Ag Clusters as Active Species for HC-SCR Over Ag-Zeolites. *Catal. Surv. Asia* **9**, 75–85 (2005).

44. Selva, J., Martı, S. E., Buceta, D., Blanco, M. C. & Lo, M. A. Silver Sub-nanoclusters Electrocatalyze Ethanol Oxidation and Provide Protection against Ethanol Toxicity in Cultured Mammalian Cells. 6947–6954 (2010).

45. Martinez, S. E.; Egea, G. Novel Molecular Targets for the Prevention of Fetal Alcohol Syndrome. *Recent Pat. CNS Drug Discov.* **2**, 23–35 (2007).

46. 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.* **6**, 6717–6724 (2015).

47. Buceta, D. *et al.* Ag 2 and Ag 3 Clusters: Synthesis, Characterization, and Interaction with DNA. *Angew. Chemie Int. Ed.* 1–6 (2015).

48. John Wiley & Sons, H. Encyclopedia of Radicals in Chemistry, Biology and Materials (Eds. C. Chatgilialoglu, A. Studer). (2012).

49. Troll, W. & Wiesner, R. The role of oxygen radicals as a possible mechanism of tumor promotion. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **25**, 509–528 (1985).

50. Moeller, B. J., Cao, Y., Li, C. Y. & Dewhirst, M. W. Radiation activates HIF-1 to regulate vascular radiosensitivity in tumors: Role of reoxygenation, free radicals, and stress granules. *Cancer Cell* **5**, 429–441 (2004).

51. Halliwell, B. 2001, 18, 685-716. *Drugs Aging* **18**, 685–716 (2001).

52. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M.T.D. Cronin, M. Mazur, J. T. ,. 2007, 39, 44-84. *Int. J. Biochem.*

*Cell Biol* **39**, 44–84 (2007).

53. Lazzari, M. & Chiantore, O. Drying and oxidative degradation of linseed oil. *Polym. Degrad. Stab.* **65**, 303–313 (1999).

54. N.A. Porter, S.E. Caldwell, K. A. M. No Title. *Lipids* **30**, 277–290 (1995).

55. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* **28**, 25–30 (1995).

56. G. Scott, P. D. S. No Title. **48**, 315–324 (1995).

57. G. Gryn'ova, J.L. Hodgson, M. L. C. No Title. *Org. Biomol. Chem.* **9**, 480–490 (2011).

58. Yeo, J., Jeong, M. K. & Lee, J. Application of DPPH absorbance method to monitor the degree of oxidation in thermally-oxidized oil model system with antioxidants. *Food Sci. Biotechnol.* **19**, 253–256 (2010).

59. Lee, J., Chung, H., Chang, P.-S. & Lee, J. Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *Food Chem.* **103**, 662–669 (2007).

60. dos Santos, A. B. *et al.* Antioxidant properties of plant extracts: An EPR and DFT comparative study of the reaction with DPPH, TEMPOL and spin trap DMPO. *J. Braz. Chem. Soc.* **20**, 1483–1492 (2009).

61. Gacche, R. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory related activities of selected synthetic chalcones: structure–activity relationship studies using computational tools. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo).* **56**, 897–901 (2008).

62. Hristea, E. N., Caproiu, M. T., Pencu, G. & Hillebrand, M. Reaction of 2,2-Diphenyl-1-picryhydrazyl with HO, O2, HO– and HOO – Radicals and Anions. 130–143 (2006).

63. N.S. Allen, M. E. London 1992. *Fundam. Polym. Degrad. Stab. Elsevier,* (1992).

64. M. Gómez, D. Reggio, M. L. 2019, 191, 156-161. *Talanta* **191**, 156–161 (2019).

65. L. Gonon, J.-L. G. Polymer 2000, 41, 1669-1678. *Polymer (Guildf).* **41**, 1669–1678 (2000).

66. Kamata, K., Yonehara, K. & Sumida, Y. Efficient Epoxidation of Olefins with > 99 % Selectivity and Use. **300**, 2001–2004 (2003).

67. Laha, S. C. & Kumar, R. Selective Epoxidation of Styrene to Styrene Oxide over TS-1 Using Urea – Hydrogen Peroxide as Oxidizing Agent. **70**, 64–70 (2001).

68. Pan, F., Zhang, B. & Cai, W. The e ff ect of hydrophilicity / hydrophobicity of TiO 2 -SiO 2 composite aerogels in the epoxidation reaction. **98**, 121–125 (2017).

69. D. Mitchell, T. M. K. . 25, 1231–1238 (1995). *Synth. Commun* **25**, 1231–1238 (1995).

70. Noyori, R., Aoki, M., Sato, K. & Noyori, R. Green oxidation with aqueous hydrogen peroxide. 1977–1986 (2003).

71. Chemical, S. *et al.* Sumitomo Chemical and Monsanto Expand Weed Control Collaboration to Monsanto and Sumitomo Chemical expand their weed management collaboration to South America. **8**, (2014).

72. Dow Products and Businesses News, 2002, Aug. 1; http://www.dow. com/dow_news/prodbus/2002/20020801a.htm.

73. Abolfazl, Bezaatpour Sahar, Khatami Kamellia, N. Cis-dioxo-Mo(VI) salophen complex supported on Fe3O4@SiO2 nanoparticles asa an efficient magnetically separable and reusable nanocatalyst for selective epoxidation of olefins. *J Iran Chem Soc* (2017).

74. Shadab, Akbarpour Abolfazl, Bezaatpour Elham, Askarizadeh Mandana, A. Covalent supporting of novel dioxo-molybdenum tetradentate pyrrole–imine complex on Fe3O4 as high-efficiency nanocatalyst for selective epoxidation of olefins Shadab. *Appl. Organomet. Chem.* (2017).

75. Mahdinejad, F., Bahramian, B. & Mamarabadi, M. Application of surface modi fi ed nano ferrite nickel in catalytic reaction ( epoxidation of alkenes ) and investigation on its antibacterial and

antifungal activities. *Mater. Sci. Eng. C* **78**, 1–11 (2017).

76. Bepari, R. A., Bharali, P. & Das, B. K. Controlled synthesis of and γ-Fe2O3 nanoparticles via thermolysis of PVA gels and studies on α-Fe2O3 catalyzed styrene epoxidation. *J. Saudi Chem. Soc.* **21**, S170–S178 (2017).

77. Li, A. T. & Li, Z. Epoxide Conversions. 20–22

78. Tischler, D. & Berkel, W. J. H. Van. Flavin Dependent Monooxygenases . *Arch. Biochem. Biophys.* (2013).

79. Montersino, S., Tischler, D., Gassner, G. T. & Berkel, W. J. H. Van. Catalytic and Structural Features of Flavoprotein Hydroxylases and Epoxidases. (2011).

80. Lu, J., Bravo-suárez, J. J., Takahashi, A., Haruta, M. & Oyama, S. T. In situ UV – vis studies of the effect of particle size on the epoxidation of ethylene and propylene on supported silver catalysts with molecular oxygen. **232**, 85–95 (2005).

81. Zemichael, F. W., Palermo, A., Tikhov, M. S. & Lambert, R. M. Propene epoxidation over K-promoted Ag / CaCO 3 catalysts : the e ect of metal particle size. **80**, 93–98 (2002).

82. Benz, L. *et al.* Landing of size-selected Agn+ clusters on single crystal TiO2(110)-(1×1) surfaces at room temperature. *J. Chem. Phys.* **122**, (2005).

83. Bocquet, M. *et al.* New Insights into Ethene Epoxidation on Two Oxidized Ag { 111 } Surfaces. 5620–5621 (2003).

84. Zhang, Q. *et al.* Gas – phase epoxidation of propylene by molecular oxygen over Ag – Cu – Cl / BaCO 3 catalyst : Effects of Cu and Cl loadings. *Chinese J. Catal.* **38**, 65–72 (2017).

85. Zhu, H. Stable Copper Nanoparticle Photocatalysts for Selective Epoxidation of Alkenes with Visible Light. (2017).

86. Hu, X., Bai, J. & Li, C. Ag-doped 4A-zeolite as an efficient catalyst in the epoxidation of styrene. *React. Kinet. Mech. Catal.* **120**, 359–370 (2017).

87. Y. Lei, F. Mehmood, S. Lee, . Greeley, B. Lee, S. Seifert, R. E. Winans, J. W. Elam, R. J. Meyer, P. C. Redfern, D. Teschner, R. Schlögl, M. J. Pellin, L. A. Curtiss, S. V. Increased Silver Activity for Direct Propylene Epoxidation via Subnanometer Size Effects. *Science (80-. ).* **328**, (2010).

88. Albanese, D. C. M., Foschi, F. & Penso, M. Sustainable Oxidations under Phase-Transfer Catalysis Conditions. (2016).

89. Bepari, R. A., Bharali, P. & Das, B. K. Controlled synthesis of a - and c -Fe 2 O 3 nanoparticles via thermolysis of PVA gels and studies on a -Fe 2 O 3 catalyzed styrene epoxidation. *J. Saudi Chem. Soc.* **21**, S170–S178 (2017).

90. Huang, K., Lv, F. & Wu, D. Self-Assembly of Lotus-Type Holes Two-Dimensional NiO Nanosheets and Its Efficient Catalytic Property for Styrene Epoxidation. 31–37 (2019).

91. Zhang, Y., Yang, F., Gao, R. & Dai, W. Applied Surface Science Manganese-doped CeO 2 nanocubes as highly e ffi cient catalysts for styrene epoxidation with TBHP. *Appl. Surf. Sci.* **471**, 767–775 (2019).

92. Liu, J., Chen, T., Jian, P. & Wang, L. Hierarchical 0D / 2D Co 3 O 4 hybrids rich in oxygen vacancies as catalysts towards styrene epoxidation reaction. *Chinese J. Catal.* **39**, 1942–1950 (2018).

93. Giles, G.I., Tasker, K.M. y Jacob, C. Hypothesis: the role of reactive sulfur species in oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* **31**, 1279–1283 (2001).

94. Brannan, R. G. Reactive Sulfur Species Act as Prooxidants in Liposomal and Skeletal Muscle Model Systems. *J. Agric. Food Chem.* **58**, 3767–3771. (2010).

95. Giles, G.I., et al. Reactive sulphur species: an in vitro investigation of the oxidation properties of disulphide S-oxides. *Biochem. Journal,* **364**, 579–585. (2002).

96. Jones, D. P. Radical-free biology of oxidative stress. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **295**, 849-868. (2008).

97. Gruhlke, M.C.H. and Slusarenko, A. J. The biology of reactive sulfur species (RSS). *Plant Physiol.*

*Biochem.* **59**, 98–107. (2012).

98. Meister, A. Selective modification of glutathione metabolism. *Science (80-. ).* **220**, 472–477 (1983).

99. Arnér, E. S. J. & Holmgren, A. The thioredoxin system in cancer. *Seminars in Cancer Biology* **16**, 420–426 (2006).

100. Winterbourn, C. C. & Hampton, M. B. Thiol chemistry and specificity in redox signaling. *Free Radical Biology and Medicine* **45**, 549–561 (2008).

101. Harris, I. S. *et al.* Glutathione and Thioredoxin Antioxidant Pathways Synergize to Drive Cancer Initiation and Progression. *Cancer Cell* **27**, 211–222 (2015).

102. De Berardinis, R. J. & Chandel, N. S. Fundamentals of cancer metabolism. *Science Advances* **2**, (2016).

103. Porto, V. Importancia de las interacciones de los clusters de plata con células tumorales humanas. (2017).

104. Kan, H., et al. Short-term association between sulfur dioxide and daily mortality: The Public Health and Air Pollution in Asia (PAPA) study. *Enviromental Res.* **110**, 258-264. (2010).

105. Gauderman, W.J., e al. Association Between Air Pollution and Lung Function Growth in Southern California Children: Results From a Second Cohort. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **166**, 76–84 (2002).

106. Koch, T.A., et al. Environmental challenges facing the chemical industry. *New J. Chem.* **20**, 163–173 (1996).

107. Directiva (UE) 2016/802 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 11 de mayo de 2016, relativa a la reducción del contenido de azufre de determinados combustibles líquidos. *D. Of. la Unión Eur.* **132**, 58–78 (2016).

108. *Real Decreto 290/2015, de 17 de abril, por el que se modifica el Real Decreto 61/2006, de 31 de*

*enero, por el que se fijan las especificaciones de gasolinas, gasóleos, fuelóleos y gases licuados del petróleo, se regula el uso de determinados... Boletín Oficial del Estado de España* **93**,

109. Srivastava, V. . et al. An evaluation of desulfurization technologies for sulfur removal from liquid fuels. *RSC Adv.* **2**, 759–783 (2012).

110. Collins, F.M., Lucy, A.R. y Sharp, C. J. Oxidative desulphurisation of oils via hydrogen peroxide and heteropolyanion catalysis. *J. Mol. Catal.* **117**, 397-403. (1997).

111. Dunleavy, J., et al. Final Analysis: Sulfur as a Catalyst Poison. *Platin. Met. Rev.* **50**, 110 (2006).

112. Javadli, R., de K. Desulfurization of heavy oil. *Appl. Petrochemical Res.* **1**, 3–19 (2012).

113. Bose, D. et al. Design Parameters for a Hydro desulfurization (HDS) Unit for Petroleum Naphtha at 3500 Barrels per Day. *World Sci. News,* **9**, 99–111 (2015).

114. Hensen, E.J.M., et al. On the sulfur tolerance of supported Ni(Co)Mo sulfide hydrotreating catalysts. *J. Catal.* **215**, 353–357 (2003).

115. Startsev, A. N. The Reaction Mechanisms of H2S Decomposition into Hydrogen and Sulfur: Application of Classical and Biological Thermodynamics. *J. Thermodyn. Catal.* **8**, (2017).

116. Ma, X., Sakanishi, K., Mochida, I. Three-stage deep hydrodesulfurization and decolorization of diesel fuel with CoMo and NiMo catalysts at relatively low pressure. **73**, 1667–1671 (1994).

117. Gaofei, Z.., Fengli, Y., Rui, W. Research advances in oxidative desulfurization technologies for the production of low sulfur fuel oils. *Pet. Coal* **51**, 196–207 (2009).

118. Mortaheb, H.R., Ghaemmaghami, F., Mokhtarani, B. A review on removal of sulfur components from gasoline by pervapo,. *Chem. Eng. Res. Des.* **90**, 409–432 (2012).

119. Sadare, O.O., Obazu, F. , Daramola, M. O. Biodesulfurization of Petroleum Distillates—Current Status, Opportunities and Future Challenges. *Environments* **4**, 85 (2014).

120. 'Experiments for the edition of singlet peaks and simplification of 1H NMR spectra of complex

mixtures'. *J. Agric. Food. Chem.* **62**, 1190–1197 (2014).

121. Wishart, D. S. *et al.* HMDB : a knowledgebase for the human metabolome. **37**, 603–610 (2009).

122. Prof. C. Boswell, Dr. G. E. Francis, M. M. B. and M. M. J. Solubility of Oxygen in Water. *Nature* **173**, (1954).

123. Xing, W. *et al. Chapter 1 - Oxygen Solubility, Diffusion Coefficient, and Solution Viscosity*. *Rotating Electrode Methods and Oxygen Reduction Electrocatalysts* (Elsevier B.V., 2014).

124. Marques, A. & Marin, M. Hydrogen Peroxide Oxidation of Mustard-Model Sulfides Catalyzed by Iron and Manganese Tetraarylporphyrines . Oxygen Transfer To Sulfides versus H 2 O 2 Dismutation and Catalyst Breakdown. 7588–7595 (2001).

125. Michela Quaranta, a M. M. and I. K. A new method to measure oxygen solubility in organic solvents through optical oxygen sensing. *RSC Anal.* **138**, 6243–6245 (2013).

126. Vallés-garcía, C. *et al.* Tuning the active sites in reduced graphene oxide by hydroquinone functionalization for the aerobic oxidations of thiophenol and indane. *Mol. Catal.* **493**, 111093 (2020).

127. Molaei, S. Highly ordered mesoporous La ( III ) -substituted 5- oxopyrrolidine-2-carboxylic acid ( Glp ) immobilized on SBA- 15 as a very efficient nanocatalyst for green aerobic oxidative coupling of thiols to disulfides. 1–14 (2020).

128. Gaur, R., Yadav, M., Gupta, R., Arora, G. & Rana, P. Aerobic Oxidation of Thiols to Disulfides by Silver-Based Magnetic Catalyst. 2502–2508 (2018).

129. Li, Y. & Jiang, X. Green Oxidation of Sulfide to Sulfoxide and Sulfone. (2019).

130. Molaei, S., Tamoradi, T., Ghadermazi, M. & Choghamarani, A. G. Highly Efficient Oxidative Coupling of Thiols and Oxidation of Sulfides in the Presence of MCM-41 @ Tryptophan-Cd and MCM-41 @ Tryptophan-Hg as Novel and Recoverable Nanocatalysts. *Catal. Letters* **148**, 1834–1847 (2018).

131. Mane, V. B., Waghmode, S. A. & Dagade, S. P. Research Journal of Pharmaceutical , Biological and Chemical Sciences Nanocrystalline Supported Ceria as a Highly Efficient Catalyst for The Oxidative Coupling of Thiophenol . **9**, 80–90

132. Khodaei, M. M. Preparation and characterization of Cu ( II ) Schiff base complex functionalized boehmite nanoparticles and its application as an effective catalyst for oxidation of sulfides and thiols. 1–10 (2019).

133. Wen, C. *et al.* TBHP / TBAI-mediated oxidation of thiophenols for the synthesis of tert -butyl arylsulfinates. *Tetrahedron Lett.* **59**, 3609–3611 (2018).

134. Rostami, A., Moradi, S. & Shokri, Z. Comptes Rendus Chimie Fe 3 O 4 as a magnetically reusable Fenton nanocatalyst for the oxidation of thiols to sulfonic acid and sul fi des to sulfoxides and sulfones. *Comptes rendus - Chim.* **21**, 80–87 (2018).

135. Shariati, M., Rostami, A., Imanzadeh, G. & Kheirjou, S. Enzymatic regeneration of DDQ in aerobic oxidation of sulfides and oxidative coupling of thiols : New bioinspired cooperative catalytic system. *Mol. Catal.* **461**, 48–53 (2018).

136. https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/calidad-del-aire/salud/monoxido-carbono.aspx.

137. Online, V. A., Melander, M., Laasonen, K. & Akola, J. CO oxidation catalyzed by neutral and anionic Cu 20 clusters : relationship between charge and activity. 7067–7076 (2015).

138. Langmuir, I. The mechanism of the catalytic action of platinum in the reactions 2Co + O2= 2Co2 and 2H2+ O2= 2H2O. *Trans. Faraday Soc.* **17**, 621 (1922).

139. Allian, A. D. *et al.* Chemisorption of CO and Mechanism of CO Oxidation on Supported Platinum Nanoclusters. 4498–4517 (2011).

140. Landman, U., Yoon, B., Zhang, C., Heiz, U. & Arenz, M. Factors in gold nanocatalysis: Oxidation of CO in the non-scalable size regime. *Top. Catal.* **44**, 145–158 (2007).

141. Chuang, I. L. *et al.* Electronic Structure Controls Reactivity of Size-Selected Pd Clusters Adsorbed on TiO2 Surfaces. 826–830 (2009).

142. Zhang, X., Qu, Z., Yu, F., Wang, Y. & Zhang, X. Journal of Molecular Catalysis A : Chemical Effects of pretreatment atmosphere and silver loading on the structure and catalytic activity of Ag / SBA-15 catalysts. *"Journal Mol. Catal. A, Chem.* **370**, 160–166 (2013).

143. Zhang, X., Qu, Z., Jia, J. & Wang, Y. Ag nanoparticles supported on wormhole HMS material as catalysts for CO oxidation : Effects of preparation methods. *Powder Technol.* **230**, 212–218 (2012).

144. V.V. Dutova, G.V. Mamontova, V.I. Zaikovskiib, c, L.F. Liottad, O. V. V. Low-temperature CO oxidation over AgSiO2catalysts Effect of OHAgratio. 598–609 (2018).

145. Qu, Z., Zhang, X., Yu, F. & Jia, J. Microporous and Mesoporous Materials A simple one pot synthesis of mesoporous silica hosted silver catalyst and its low-temperature CO oxidation. *Microporous Mesoporous Mater.* **188**, 1–7 (2014).

146. Yang, Y. *et al.* Facile synthesis of Ag / KIT-6 catalyst via a simple one pot method and application in the CO oxidation. *J. Porous Mater.* **24**, 1661–1665 (2017).

147. Zhang, X. *et al.* Study of catalytic activity at the Ag / Al-SBA-15 catalysts for CO oxidation and selective CO oxidation. *Chem. Eng. J.* **283**, 1097–1107 (2016).

148. Zhang, X., Qu, Z., Yu, F. & Wang, Y. High-temperature diffusion induced high activity of SBA-15 supported Ag particles for low temperature CO oxidation at room temperature. *J. Catal.* **297**, 264–271 (2013).

149. Ren, T.; Patel, M.; Blok, K. 2006, 31 (4), 425–451. *Energy* **31(4)**, 425–451 (2006).

150. Zangeneh, F. T., Sahebdelfar, S. & Bahmani, M. Propane Dehydrogenation over a Commercial Pt-Sn/Al2O3 Catalyst for Isobutane Dehydrogenation: Optimization of Reaction Conditions. *Chinese J. Chem. Eng.* **21**, 730–735 (2013).

151. Kovtunov, K. V. *et al.* Heterogeneous addition of H2 to double and triple bonds over supported Pd catalysts: a parahydrogen-induced polarization technique study. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **14**, 11008 (2012).

152. Schweitzer, N. M. *et al.* Propylene hydrogenation and propane dehydrogenation by a single-site Zn2+on silica catalyst. *ACS Catal.* **4**, 1091–1098 (2014).

153. Zhivonitko, V. V. *et al.* Role of different active sites in heterogeneous alkene hydrogenation on platinum catalysts revealed by means of parahydrogen-induced polarization. *J. Phys. Chem. C* **115**, 13386–13391 (2011).

154. Boualleg, M. *et al.* Selective and regular localization of accessible Pt nanoparticles inside the walls of an ordered silica: Application as a highly active and well-defined heterogeneous catalyst for propene and styrene hydrogenation reactions. *J. Catal.* **284**, 184–193 (2011).

155. Qi, C. *et al.* Switching of reactions between hydrogenation and epoxidation of propene over Au/Ti-based oxides in the presence of H2and O2. *J. Catal.* **281**, 12–20 (2011).

156. Rimoldi, M., Fodor, D., Van Bokhoven, J. A. & Mezzetti, A. A stable 16-electron iridium(iii) hydride complex grafted on SBA-15: A single-site catalyst for alkene hydrogenation. *Chem. Commun.* **49**, 11314–11316 (2013).

157. Delley, M. F. *et al.* X-H bond activation on Cr(III),O sites (X = R, H): Key steps in dehydrogenation and hydrogenation processes. *Organometallics* **36**, 234–244 (2017).

158. Kraft, S. J. *et al.* Rhodium catechol containing porous organic polymers: Defined catalysis for single-site and supported nanoparticulate materials. *Organometallics* **33**, 2517–2522 (2014).

159. Kahn, B. Earth's CO2 Passes the 400 PPM Threshold—Maybe Permanently. *Clim. Cent.* (2016).

160. A Roadmap for moving to a competitive low carbon economy in 2050. *Eur. Comm.* (2011).

161. Sakakura, T., Choi, J.-C. & Yasuda, H. Transformation of Carbon Dioxide. *Chem. Rev.* **107**, 2365–2387 (2007).

162. Analysis, C. dioxide utilisation for production of transport fuels: process and economic & Ioanna Dimitriou,*a Pelayo Garcı´a-Gutie´rrez, a Rachael H. Elder, a Rosa M. Cue´llar-Franca, b A. A. and R. W. K. A. Carbon dioxide utilisation for production of transport fuels: process and economic analysis. *Energy Environ. Sci.* **8**, 1775–1789 (2015).

163. Ma, X., Wang, X. & Song, C. "Molecular Basket" Sorbents for Separation of CO2 and H2S from Various Gas Streams. *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 5777–5783 (2009).

164. Li, W. *et al.* RSC Advances A short review of recent advances in CO 2 hydrogenation to hydrocarbons over. 7651–7669 (2018).

165. Yang, B., Yu, X., Halder, A., Zhang, X. & Zhou, X. Dynamic Interplay between Copper Tetramers and Iron Oxide Boosting CO 2 Conversion to Methanol and Hydrocarbons under Mild Conditions` . *ACS Sustain. Chem. Eng.* **7**, 14435–14442 (2019).

166. Aisulu Aitbekobva, Liheng Wu. Cody J. Wrasman, Alexwey Boubnov, Adam S. Hoffman, Emmett D. Goodman, Simon R. Bare, M. C. Low-temperature restructuring of CeO2-supported Ru nanoparticles determines selectivity in CO2 catalytic redcution. *Appl. Catal. B* **219**, 715–726 (2017).

167. Parastaev, A. *et al.* Boosting CO2 hydrogenation via size-dependent metal–support interactions in cobalt/ceria-based catalysts. *Nat. Catal.* (2020).

168. Wang, H. *et al.* Undercoordinated Site-Abundant and Tensile-Strained Nickel for Low-Temperature CO. 2–6 (2018).

169. Rui, N. *et al.* Highly active Ni / CeO 2 catalyst for CO 2 methanation : Preparation and characterization. *Appl. Catal. B Environ.* **282**, (2021).

170. Vidal, A. B. *et al.* CO 2 Activation and Methanol Synthesis on Novel Au/TiC and Cu/TiC Catalysts. (2012).

171. Liu, C. *et al.* Carbon Dioxide Conversion to Methanol over Size-Selected Cu $_4$ Clusters at Low

Pressures. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 8676–8679 (2015).

172. Qureshi, T. How are small clusters made? Available at: http://tabish.freeshell.org/physics/Sr/.

173. 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 pHDependent Ligand Etching. *Nano Res.* **1**, 333–340 (2008).

174. Duan, H.; Nie, S. 'Etching Colloidal Gold Nanocrystals with Hyperbranched and Multivalent Polymers: A New Route to Fluorescent and Water-Soluble Atomic Clusters.' *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 2412 (2007).

175. Piñeiro, Y. *et al.* Large stability and high catalytic activities of sub-nm metal (0) clusters: Implications into the nucleation and growth theory. *J. Colloid Interface Sci.* (2015).

176. 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.* 3371–3373 (2007).

177. Lo, M. A. Synthesis of Subnanometric Metal Nanoparticles ´. (2015).

178. Zheng, J.; Zhang, C.; Dickson, R. M. 'Highly fluorescent, water-soluble, size-tunable gold quantum dots'. *Phys Rev Lett* **93**, 077402 (2004).

179. Schaeffer, N.; Tan, B.; Dickinson, C.; Rosseinsky, M. J.; Laromaine, A.; McComb, D. W.; Stevens, M. M.; Wang, Y.; Petit, L.; Barentin, C.; Spiller, D. G.; Cooper, A. I.; Levy, R. 'Fluorescent or not? Size-dependent fluorescence switching for polymer-stabilized gold clusters in the 1.1-1.7 nm size range.'. *Chem. Commun.* **3986.**, (2008).

180. Negishi, Y., Nobusada, K. & Tsukuda, T. Glutathione-protected gold clusters revisited: Bridging the gap between gold(I)-thiolate complexes and thiolate-protected gold nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 5261–5270 (2005).

181. Royon, A.; Bourhis, K.; Bellec, M.; Papon, G.; Bousquet, B.; Deshayes, Y.; Cardinal, T.; Canioni, L. 'Silver Clusters Embedded in Glass as a Perennial High Capacity Optical Recording Medium.' *Adv. Mater.* **22**, 5282 (2010).

182. Vilar-vidal, N., Blanco, M. C., Lo, M. A. & Serra, C. Electrochemical Synthesis of Very Stable Photoluminescent Copper Clusters †. 15924–15930 (2010).

183. Rodríguez-Vázquez, M. J. *et al.* Synthesis of atomic gold clusters with strong electrocatalytic activities. *Langmuir* **24**, 12690–12694 (2008).

184. Peyser, L. A.; Vinson, A. E.; Bartko, A. P.; Dickson, R. M. Photoactivated Fluorescence from Individual Silver Nanoclusters. *Science (80-. ).* **291**, 103–106 (2001).

185. Zheng, J.; Dickson, R. M. Individual Water-Soluble Dendrimer- Encapsulated Silver Nanodot Fluorescence. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 13982–13983 (2002).

186. Zhang, J.; Xu, S.; Kumacheva, E. Photogeneration of Fluorescent Silver Nanoclusters in Polymer Microgels. *Adv. Mater.* **17**, 2336–2340. (2005).

187. Lu, Y. Z.; Chen, W. Q. T.; Schmid, G.; Baumle, M. . G., 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.* **41**, 3594–3623. (2012).

188. Huseyinova, S. *et al.* Synthesis of Highly Stable Surfactant-free Cu 5 Clusters in Water. (2016).

189. Kudera, S.; Manna, L. Bottom-Up Synthesis of Nanosized Objects. *Colloid. Found. Nanosci. Elsevier,* 47–80 (2014).

190. Reetz, M. & Helbig, W. Size-selective synthesis of nanostructured transition metal clusters. *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 7401–7402 (1994).

191. Rodrı, L. Electrochemical Synthesis of Silver Nanoparticles. 9683–9688 (2000).

192. Trillo, J. M. B. Sintesis Electroquimica y Propiedades Quimicofisicas de Clusteres Cuánticos Subnanometricos. (Universidade de Santiago de Compostela, 2017).

193. M.A. Lopez-Quintela, D. B. Process for producing atomic quantum clusters. (2019).

194. Porto, V. *et al.* Silver Atomic Quantum Clusters of Three Atoms for Cancer Therapy : Targeting Chromatin Compaction to Increase the Therapeutic Index of Chemotherapy. **1801317**, 1–8 (2018).

195. Huseyinova, S. Electrochemical / chemical synthesis , purification , characterization and properties of atomic quantum clusters of different sizes. (2017).

196. Sietsma, J. R. A., Dillen, A. J. Van, Jongh, P. E. De & Jong, K. P. De. *Application of ordered mesoporous materials as model supports to study catalyst preparation by*. *Scientific bases for the preparation of heterogeneous catalysts* **162**, (Elsevier Masson SAS, 2006).

197. Walter, M. *et al.* A unified view of ligand-protected gold clusters as superatom complexes. (2008).

198. Cuerva-Vidales, M. Clústeres cuánticos subnanometricos: síntesis y propiedades. (2018).

199. Troncoso, A. M. & Garc, M. C. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **71**, 230–235 (2007).

200. Musialik, M. & Litwinienko, G. Scavenging of dpph • Radicals by Vitamin E Is Accelerated by Its Partial Ionization : the Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer. 5–8 (2005).

201. Becke, A. D. Densityfunctional thermochemistry. III. The role of exact exchange Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Cit. J. Chem. Phys* **98**, 5648 (1993).

202. Lee, C., Yang, W. & Parr, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B* **37**, 785–789 (1988).

203. Hariharan, P. C. & Pople, J. A. The influence of polarization functions on molecular orbital hydrogenation energies. *Theor. Chim. Acta* **28**, 213–222 (1973).

204. Francl, M. M. *et al.* Self-consistent molecular orbital methods. XXIII. A polarization-type basis set for second-row elements. *J. Chem. Phys.* **77**, 3654–3665 (1982).

205. Hay, P. J. & Wadt, W. R. Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg. *J. Chem. Phys.* **82**, 270–283 (1985).

206. Chung, L. W. *et al.* The ONIOM Method and Its Applications. *Chemical Reviews* **115**, 5678–5796 (2015).

207. Rappé, A. K., Casewit, C. J., Colwell, K. S., Goddard, W. A. & Skiff, W. M. UFF, a Full Periodic Table Force Field for Molecular Mechanics and Molecular Dynamics Simulations. *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 10024–10035 (1992).

208. Cossi, M., Rega, N., Scalmani, G. & Barone, V. Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model. *J. Comput. Chem.* **24**, 669–681 (2003).

209. Peng, C. & Bernhard Schlegel, H. Combining Synchronous Transit and Quasi-Newton Methods to Find Transition States. *Isr. J. Chem.* **33**, 449–454 (1993).

210. Frisch, J. *et al. Gaussian 09, Revision A.01.* (Gaussian Inc., 2009).

# Anexos




Cuántica
Cu5-AQCs
Medioambiente
Ag5-AQCs
Salud
Fascinantes
Catálisis

# Anexo 1. Técnicas de caracterización

## a. Espectroscopía de Absorción UV-Vis

La espectroscopia UV-Vis se basa en la interacción de la materia con las ondas electromagnéticas de la luz. Como es sabido la materia está constituida por átomos y moléculas, cuya energía es la suma de las energías de rotación, vibración y electrónica.

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 (ver **Figura A. 1**), 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 igual a la diferencia de energía entre los niveles fundamental y excitado. También existe el fenómeno inverso, una especie puede emitir energía en diversas formas para relajarse desde un estado excitado a un fundamental, de hecho, si este fenómeno emite un fotón se conoce con el nombre de fluorescencia que se explica más adelante

en este mismo capítulo. Esta energía de los estados electrónicos suele estar en el rango del espectro ultravioleta-visible (UV-Visible) y por ello, se suele hablar de absorción UV-Visible y de fluorescencia UV-Visible.

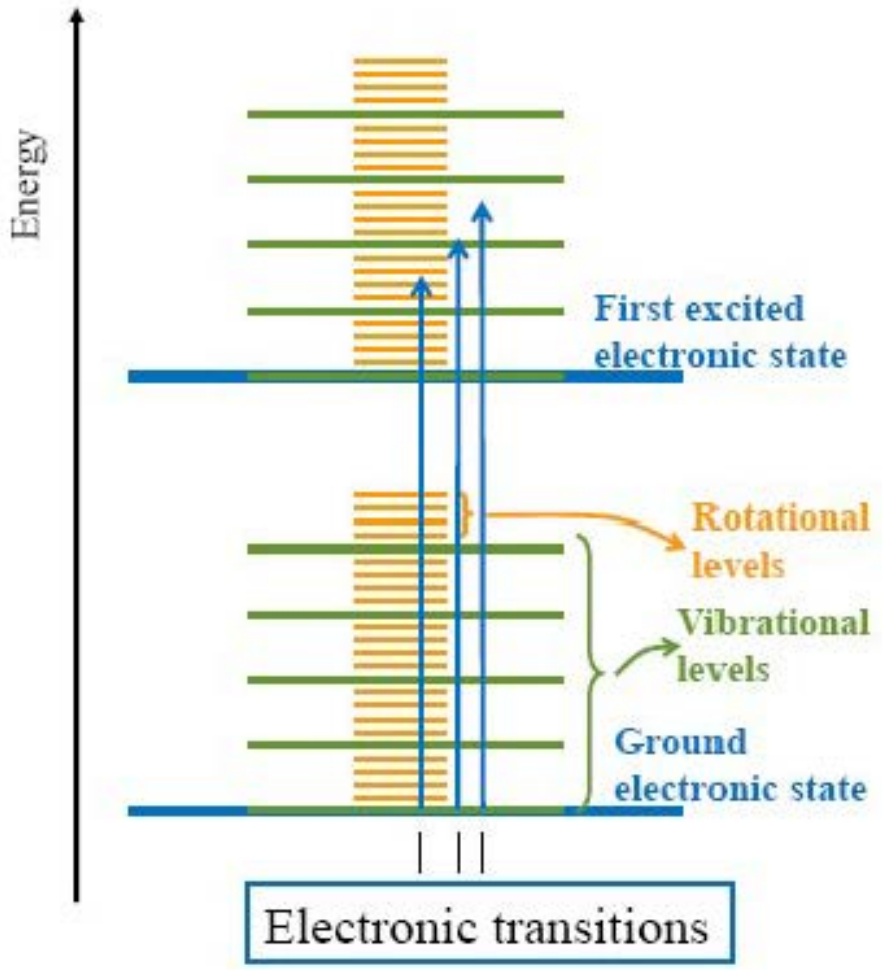



**Figura A. 1** Diagrama de la cuantificación de la energía electrónica, vibracional y rotacional y representación de una absorción electrónica.

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 < λ/10) se conoce como dispersión Rayleigh y si la partícula es mayor (aproximadamente d > λ/10) se conoce como la dispersión Mie.

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 (**Figura A. 2**) 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.

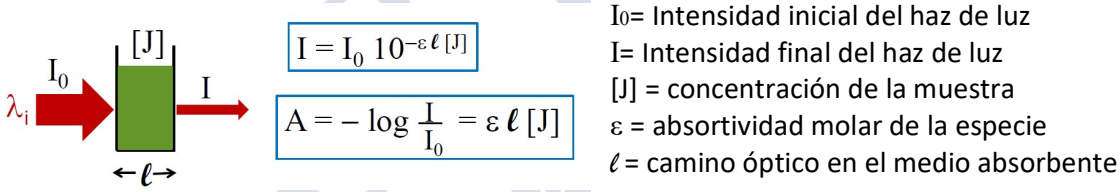



**Figura A. 2** Ley de Lambert-Beer

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 2-5 nm presentan bandas plasmónicas a 530 nm, 420 nm y 570 nm respectivamente. Pero, al reducirse el tamaño de la partícula por debajo del nanómetro, esta resonancia plasmónica desaparece 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. Por el contrario, los clústeres más pequeños (que son los estudiados en esta tesis doctoral), 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 (ver **Figura A. 3**).

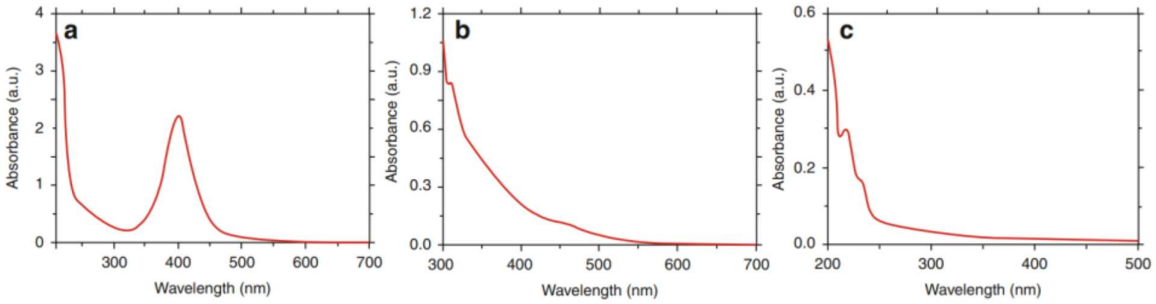



**Figura A. 3** Espectros de absorción UV-visible de (A) nanopartículas de plata, (B) clústeres de plata de tamaño grande y (C) clústeres de plata de tamaño pequeño (ref:[12]).

Por todo ello la técnica UV-VIS es muy útil para caracterizar los clústeres cuánticos atómicos que se estudian en esta tesis doctoral 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 determinar además la presencia de nanopartículas.

Los espectros de absorción UV-Visible se han realizado con un espectrofotómetro Thermo Evolution 300, las medidas se llevaron a cabo a temperatura ambiente usando una cubeta de cuarzo Hellma de 1 cm de paso óptico (Hellma GmbH & Co. KG.,

Müllheim, Germany). Además, se midió en un rango de longitudes de onda entre 190 y 800 nm y los espectros se tomaron utilizando como blanco el disolvente en el que se encuentraba la muestra problema.

### b. Espectroscopía de Fluorescencia UV-Vis

El fenómeno de fotoluminiscencia ocurre cuando una especie química, electrónicamente excitada, pierde su energía en forma parcial o total a través de la emisión de fotones. Los fenómenos luminiscentes más conocidos son la fluorescencia y la fosforescencia, y se distinguen por los estados excitados desde donde se produce la desactivación al estado fundamental. En esta tesis doctoral se utilizará la fluorescencia como técnica de caracterización ya que 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.

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 (como también se explicó en el apartado anterior), pudiendo acabar en diferentes estados vibracionales del estado electrónico 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: relajaciones no radiantes (conversión interna, cruce entre sistemas, relajaciones vibracionales) y relajaciones

radiantes (fluorescencia y fosforescencia). La fluorescencia es uno de esos procesos y tiene como resultado la emisión de luz (Figura A. 4).

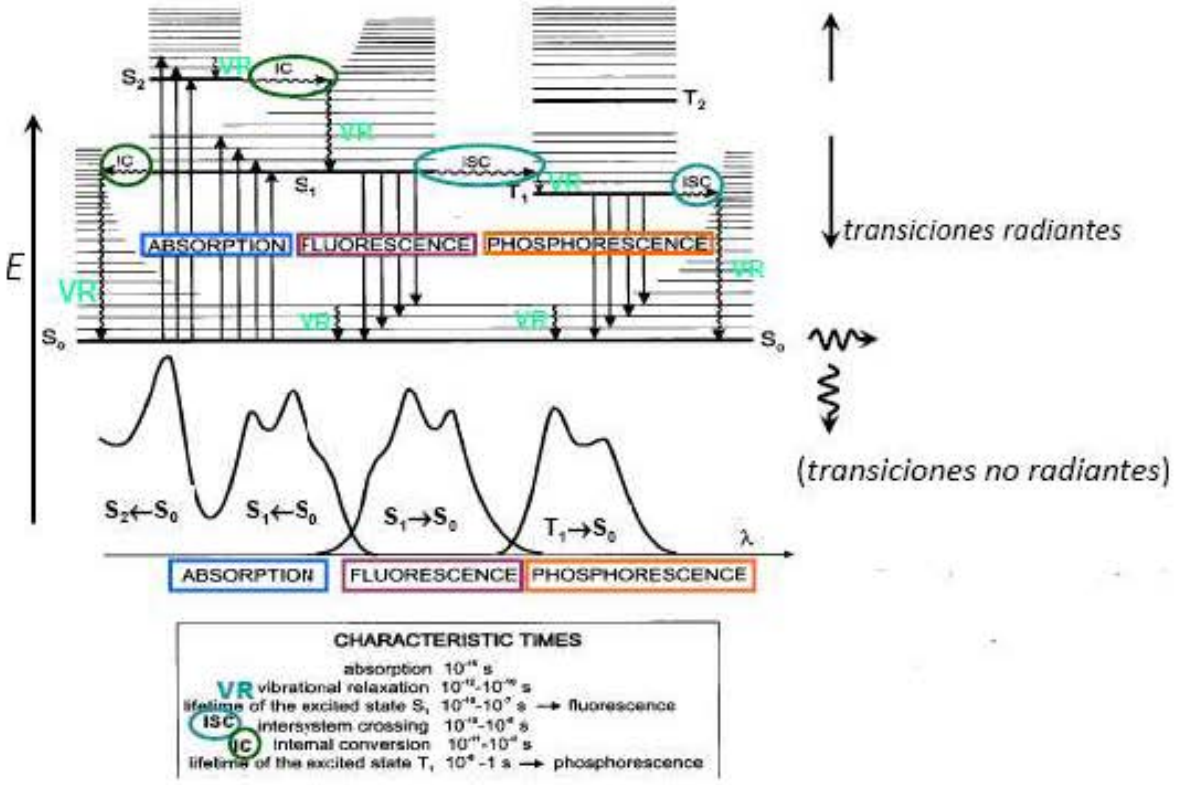



Figura A. 4 Diagrama de Jablonski, presentando los diferentes niveles energéticos y las posibles transiciones energéticas

Uno de los aspectos más interesantes de esta técnica, es su sensibilidad, con límites de detección que son a menudo tres órdenes de magnitud más pequeños que los encontrados en espectroscopía de absorción, lo que facilita mucho el poder trabajar con muestras muy diluidas o de baja concentración. Por otra parte, se ha visto también que la fluorescencia 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* (Eg) y utilizando la ecuación del modelo de Jellium[11] se puede determinar el número promedio de átomos de los clústeres que componen una muestra y estimar así la monodispersidad de la misma.

Debe tenerse en cuenta que el espectro de fluorescencia de una sustancia depende de su entorno, por lo que resulta importante establecer y controlar en qué condiciones se determinan las propiedades fluorescentes. En el caso que nos ocupa en esta tesis doctoral como sintetizamos clústeres desnudos en agua sin agentes protectores, surfactante u otras sustancias que puedan interferir en la medida, podemos utilizar los espectros de fluorescencia con el modelo del *Jellium* sin cometer a penas error en la estimación del tamaño de los AQCs.

El modelo del *Jellium* fue comprobado y comparado con resultados experimentales y cálculos DFT para clústeres pequeños de oro[197] observando que las predicciones de este sencillo modelo son muy buenas para clústeres desnudos mientras que si los clústeres están con ligandos que interaccionan fuertemente con ellos, la estimación de este modelo es peor. En el caso que nos ocupa en esta tesis doctoral, por tanto, el modelo del *Jellium* junto con los espectros de emisión fluorescentes serán herramientas muy útiles para conocer el número de átomos que están formando nuestros clústeres.

Los estudios de fluorescencia (emisión y excitación) se realizaron en un fluorímetro Varian Cary Eclipse (Lámpara de Xenón 80 Hz y 75 W) 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 1 cm.

### c. Espectroscopías 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.

Esta técnica se basa en el efecto fotoeléctrico explicado por Einstein a principios del siglo XX. El efecto fotoeléctrico consiste en la emisión de electrones por la incidencia de un fotón sobre la superficie. Pero no fue hasta mediados de los 60 cuando Siegbahn y colaboradores desarrollaron la técnica, la cual 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. 1-5 nm de profundidad.

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 A. 5**). En esta tesis doctoral se empleará la absorción de rayos X (XAS) y por ello, se explicará con más detalle.

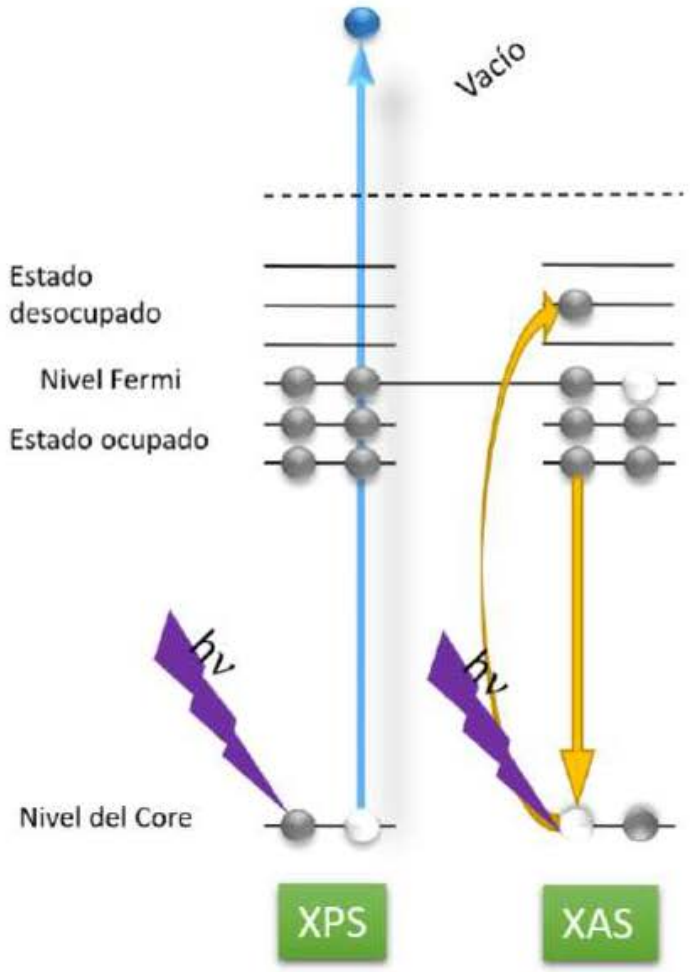



**Figura A. 5** Diagrama simple[198] que muestra las diferencias entre XPS y XAS.

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 A. 6**).

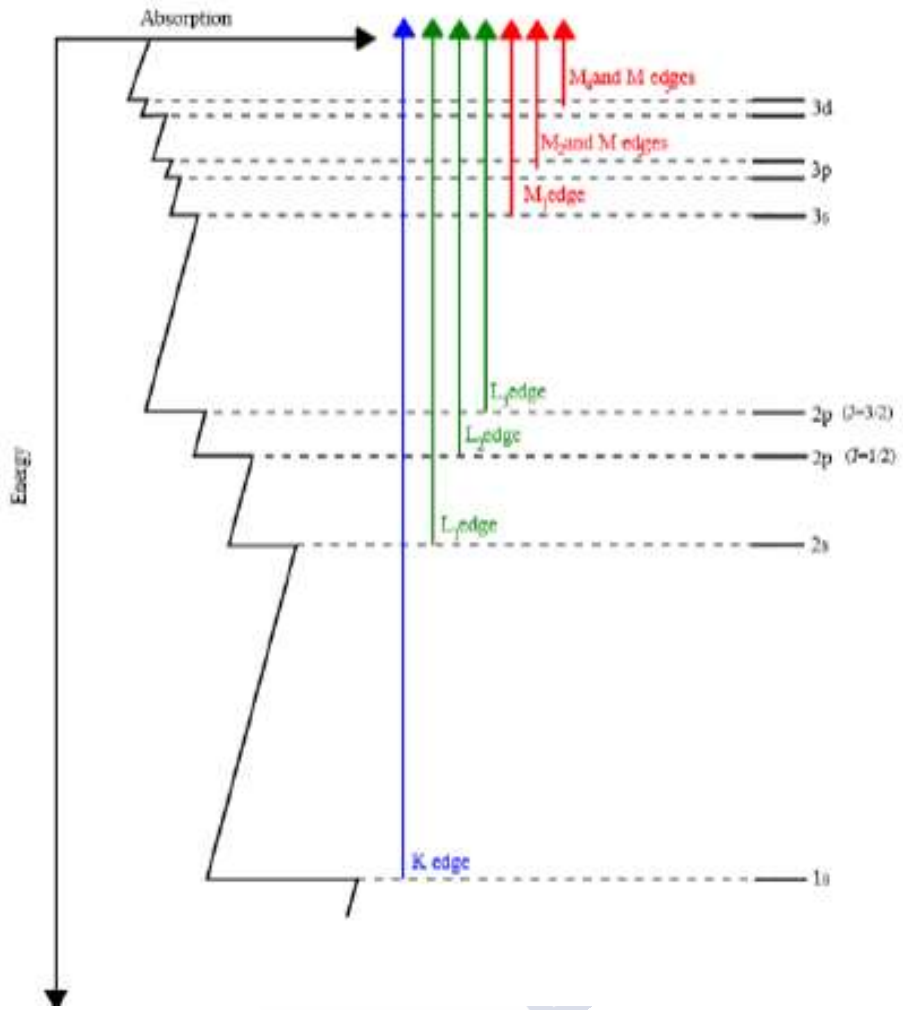



**Figura A. 6** Diagrama de las transiciones de los bordes de absorción en XAS. (Figura cortesía de Wikipedia)

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 (ver **Figura A. 7**):

- 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 50 eV 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.

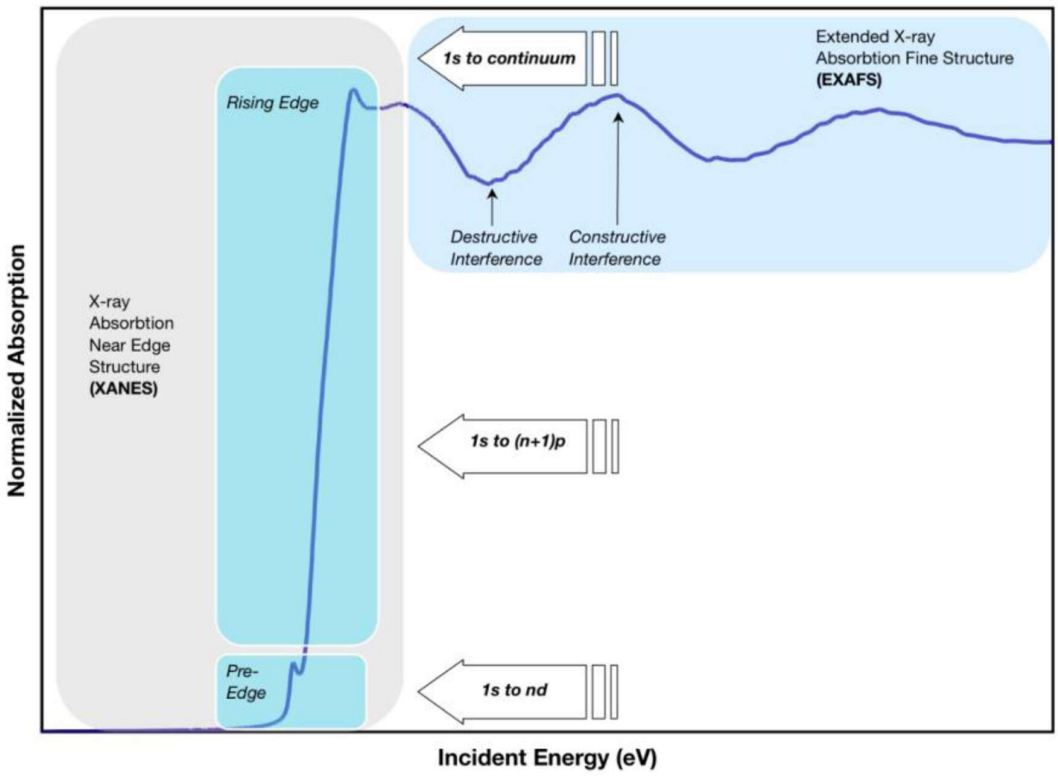



**Figura A. 7** Ilustración esquemática del borde de absorción de Rayos-X. (Figura cortesía de Wikipedia)

La espectroscopía EXAFS se usa para conocer el entorno químico local de, es decir, las primeras 2-3 capas de átomos alrededor del átomo que absorbe de un determinado elemento. La interacción de un intenso haz de luz de rayos X

monocromático, que se genera con radiación sincrotrón, con una muestra produce la absorción de energía que hace que disminuya la intensidad del haz entrante. Esta absorción (al igual que ocurría en el caso de radiación UV-visible) solo se produce si la energía del fotón es suficiente como para excitar un electrón del núcleo; este fenómeno se ve como un borde de absorción en el espectro de absorción de rayos X. Las variaciones en la oscilación de absorción de rayos X como una función de la energía de los fotones por encima del borde de absorción se conoce como EXAFS. Estas oscilaciones dan información sobre el número atómico, la distancia y el número de coordinación con los átomos vecinos.

La espectroscopía XANES se define en líneas generales como el análisis de los espectros obtenidos en los experimentos de absorción de rayos X. Es una técnica sensible al elemento específico y al enlace que determina la densidad de estados vacíos en una molécula. Usa radiación sincrotrón y nos da información de las propiedades electrónica, estructurales y magnéticas de la materia. Los rayos X son radiación electromagnética ionizante que tienen suficiente energía como para excitar un electrón desde el núcleo de un átomo hasta un estado vacío por debajo del umbral de ionización llamado estado excitónico, o hasta el continuo que está por encima del umbral de ionización.

La energía del borde aumenta cuando aumenta el estado de oxidación, este hecho se puede explicar usando un modelo electrostático: los átomos con un mayor potencial de oxidación necesitan más energía de rayos X para excitar sus electrones del núcleo porque el núcleo tiene menor apantallamiento y, por tanto, mayor carga efectiva.

### d. Cromatografía de Gases

La cromatografía es una técnica analítica usada para la separación de mezclas químicas. El objetivo de toda cromatografía es conseguir una separación que ayude a identificar a los componentes y/o a conocer su concentración. La cromatografía se basa en la distribución de los componentes de la muestra entre una fase móvil (que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico) y una fase que permanece estacionaria (que puede ser un sólido, un gel o un líquido).

Existen diversos tipos de clasificaciones de las cromatografías existentes según el mecanismo de separación que empleen (adsorción, reparto, cambio iónico, exclusión por tamaños, afinidad), según la naturaleza de las fases móviles implicadas (de gases, líquida, de fluidos supercríticos) y según la disposición de las fases en el espacio (columna o plana).

Conceptos básicos en cromatografía:

- El cromatograma que representa la señal de un detector frente al tiempo. Los componentes aparecen en él como picos que emergen desde la línea base.
- El tiempo de retención que es el tiempo medio de permanencia de un analito en la columna. Se mide en el máximo de la distribución.
- El tiempo muerto que es el tiempo medio que tarda una sustancia que no se retiene en recorrer la columna (tiempo que la fase móvil tarda en recorrer la columna).

- El tiempo de retención corregido que es el tiempo medio de permanencia de un analito en la fase estacionaria que se obtiene de la diferencia de los dos tiempos anteriores. Los distintos componentes presentan diferentes valores del tiempo de retención y eso es lo que permite su separación.
- El factor de retención o factor de capacidad es una medida de la fuerza con que la fase estacionaria retiene un soluto.
- La selectividad o el factor de separación indica la capacidad de un sistema cromatográfico para eluir distintas especies químicas a diferentes velocidades y, por tanto, para separarlas.
- La eficacia de la columna es una medida del ensanchamiento de los picos durante el proceso de separación en la columna. La eficacia de la columna depende del número de platos teóricos (N) por unidad de longitud de la columna (L). Un plato teórico es un tramo de columna en el que se produce un equilibrio de distribución entre las fases.

La teoría de platos considera a la columna como si estuviera formada por secciones separadas en las que se produce la distribución del soluto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Cada sección de la columna es un plato teórico y presupone que existen condiciones de equilibrio durante toda la elución, lo cual es completamente falso porque las fases se mueven tan rápido una con respecto a la otra que no da tiempo a que se alcance el equilibrio. Cuanto mayor es N en una columna más eficaz es. La longitud de la columna y el número de platos teóricos que contiene se relacionan a través de la altura equivalente a un plato teórico (H). $L=HN$

En esta tesis doctoral emplearemos la cromatografía de gases que se utiliza para la separación de analitos volátiles o volatilizables. El analito es transportado por una fase móvil gaseosa inerte (He en nuestro caso) que no contribuye al proceso de separación, es simplemente un gas portado de los analitos a través de la fase estacionaria, en nuestro caso una columna sólida.

Esta cromatografía permite analizar cualquier tipo de muestra: sólida, líquida o gaseosa, siempre y cuando sus componentes sean estables a las temperaturas de trabajo. La cantidad de muestra introducida no debe de causar sobresaturación de la columna o del detector, aunque suele ser la columna la que limita la máxima cantidad de muestra a usar.

Las partes de un cromatógrafo de gases se pueden ver en la siguiente figura (**Figura A. 8**)

1. Fase móvil.
2. Inyector .
3. Horno de la columna.
4. Columnas
5. Fase estacionaria.
6. Detector.
7. Sistema de registro de datos.

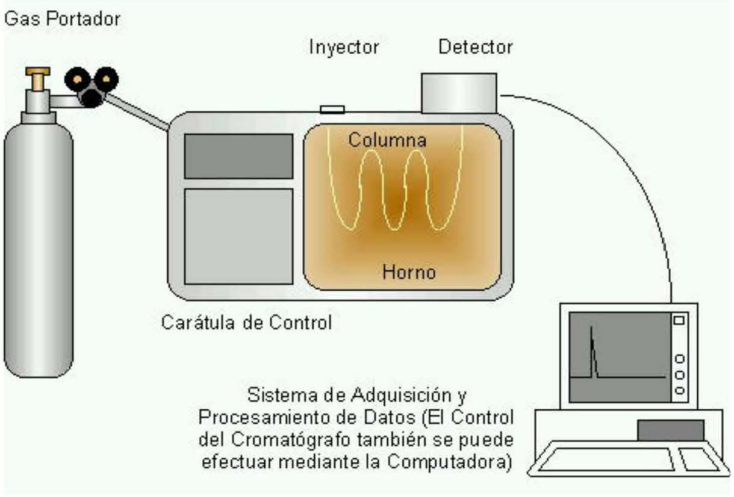



**Figura A. 8** Esquema de un cromatógrafo de gases.

El factor clave en la cromatografía de gases es el control de la temperatura la cual se controla en el inyector, en la columna y en el detector. La temperatura de la columna es la variable más importante y por ello, debe controlarse rigurosamente y por ese motivo, la columna se encuentra en el interior de un horno termostatizado. De hecho, la temperatura de la columna es la responsable de la separación pues, afecta a la distribución de los analitos entre la fase móvil (volatilidad) y la fase estacionaria (reparto, adsorción). En conclusión, el éxito de la separación depende de la temperatura y la temperatura de la columna depende del punto de ebullición de los analitos y del grado de separación que se requiere.

La separación por cromatografía de gases se puede llevar a cabo por elución isotérmica, es decir, a una temperatura constante este método suele emplearse para separar mezclas en las que los componentes tienen punto de ebullición muy parecidos o la separación mediante gradiente de temperatura también llamada temperatura programada que consiste en un aumento programado de la temperatura, esta configuración se utiliza cuando se pretende separar solutos cuya volatilidad varía en un intervalo amplio de temperaturas; a medida que la temperatura aumenta, la presión de vapor del analito aumenta y este eluye más rápidamente (ver ejemplo en **Figura A. 9**). La columna alcanza la temperatura durante la separación y las especies se separan según su rango de polaridades o la presión de vapor.

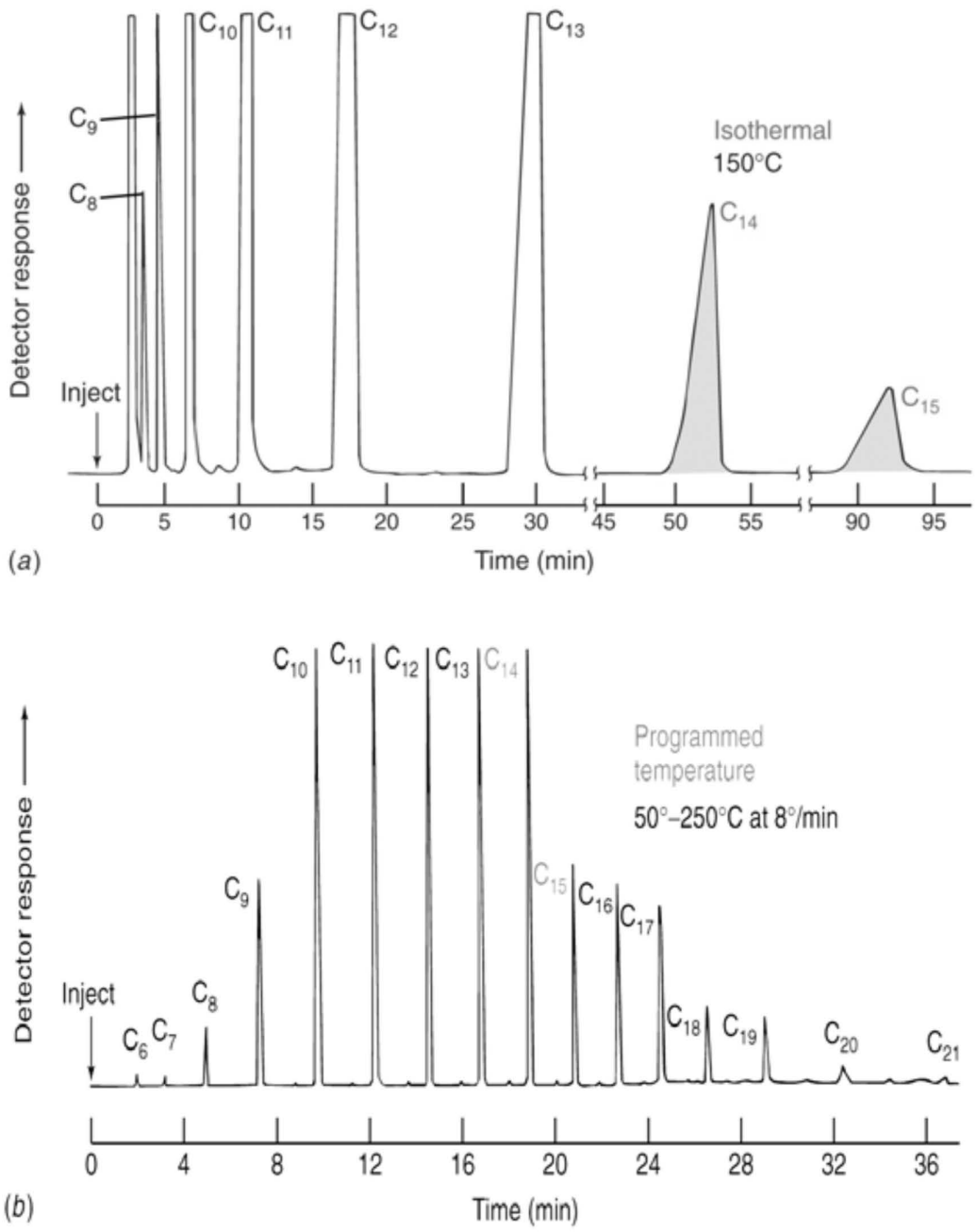



**Figura A. 9** Ejemplos de separación con isoterma a 150 °C (a) y con preprograma de temperaturas entre 50 y 250 °C a 8 °C/min (b).

El sistema de detección en cromatografía se sitúa a la salida de la columna de separación y deben de tener un volumen pequeño para evitar la mezcla de los componentes separados por columna. La señal eléctrica del detector se amplifica, se convierte en una señal digital y se envía a un ordenador para su procesado. Las características que definen a un detector son: la selectividad, la sensibilidad, la estabilidad, el tiempo de respuesta, el límite de detección, el intervalo de linealidad, si supone la destrucción o no de la muestra, etc. Los detectores más empleados en cromatografía de gases son el detector de ionización de llama (FID), el detector de conductividad térmica (TCD), estos dos fueron los empleados en la presente tesis doctoral, espectrometría de masas (MS) y el detector por captura electrónica (ECD).

El detector de ionización de llama (FID) es uno de los más utilizados, su repuesta es casi universal a los compuestos orgánicos y es un detector destructivo. El funcionamiento consiste en quemar en una llama aire-hidrógeno los compuestos orgánicos que contienen átomos de carbono que al quemarse producen cationes que conducen una corriente eléctrica desde la punta de la llama del quemador que actúa como ánodo hasta un colector catódico situado sobre la llama (ver **Figura A. 10**, izquierda). Esta corriente eléctrica es la señal que da el detector y es proporcional al número de átomos en la llama. La repuesta FID es máxima para los hidrocarburos, baja para las sustancias que contienen N, S o halógenos y el FID es insensible a los grupos carbonilo, amina, alcohol y a los gases no combustibles (agua, $CO_2$, $SO_2$ y $NO_x$).

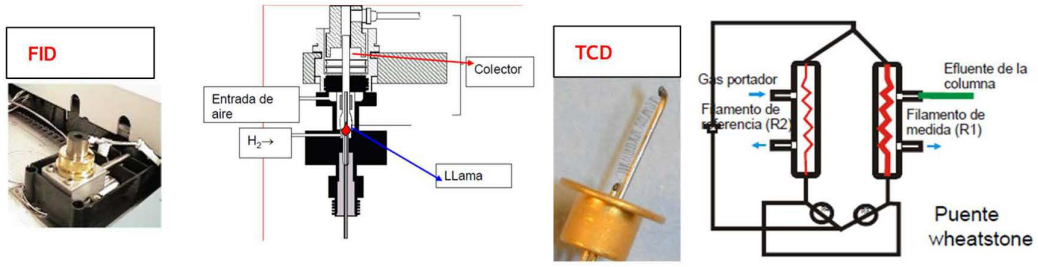



**Figura A. 10** Esquema de un detector FID (izquierda) y de un detector TCD (derecha)

El detector de conductividad térmica (TCD) consiste en dos celdas metálicas idénticas, cada una contiene un filamento de wolframio-renio. El efluente de la columna fluye a través de una celda y el gas portador (He) fluye a través de la otra. En un lado de la muestra el gas fluye por el filamento mientras que en el lado de referencia el gas puede pasar sobre el el filamento y difundir a través de él. Los filamentos se calientan con una corriente eléctrica y la temperatura depende de la conductividad térmica del gas que fluye alrededor. Los gases portadores (He o $H_2$) presentan conductividades térmicas entre 6 y 10 veces mayores que los compuestos orgánicos, por tanto, cuando un compuesto orgánico eluye se produce un aumento de la temperatura porque se disipa peor, con lo que aumenta la resistencia y se produce un cambio de corriente que es la señal del detector, la cual se amplifica, se digitaliza y se envía a un ordenador. En los cromatógrafos de gases se usan dos pares de TCD, un par localizado en la salida de la columna para detectar los componentes separados mientras van saliendo, el otro par localizado antes del inyector o en una columna de referencia separando las resistencias de los dos pares y están en un circuito de puente de Wheatstone (ver esquema en **Figura A. 10**, derecha). Este tipo

de detección presenta un amplio rango lineal (~$10^5$), tiene una repuesta universal tanto de especies orgánicas como inorgánicas, no es destructivo y es barato, en contrapunto tiene una baja sensibilidad (no es muy adecuado para columnas capilares) y no es selectivo (lo cual es una consecuencia directa de que dé una respuesta universal).

La cromatografía de gases permite tanto la separación de los componentes de una muestra como nos proporciona información cualitativa y cuantitativa de los mismos. Se emplea para compuestos muy volátiles y estables térmicamente y se aplica en la determinación de contaminantes de aguas, pesticidas y diversos compuestos de la atmósfera. Se emplea en la industria agroalimentaria para la determinación de alcoholes, esteres, ácidos de cadena corta, etc. Así como en la industria del petróleo para la detección de los hidrocarburos. Por último, se emplea en los análisis clínicos y toxicológicos para la detección de medicamentos, de drogas, suero y orina.

### e. Resonancia Magnética Nuclear

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) es una técnica no destructiva que permite la elucidación de la estructura química, dinámica e interacciones moleculares en muestras de origen muy diverso aportando incluso resultados cuantitativos. Mediante RMN se pueden estudiar moléculas en estado sólido, semi-sólido y en disolución y su rango de aplicación es muy amplio, cubre desde los compuestos químicos y biológicos en estado puro (ej. proteínas, DNA, etc),

hasta las mezclas de compuestos tales como alimentos, preparados farmacéuticos, muestras de tejidos blandos o fluidos de organismos vivos, etc. Además, el rango de tamaño molecular que puede estudiarse va desde las pequeñas moléculas orgánicas y péptidos hasta proteínas o DNA con un límite de tamaño de aproximadamente 80 kDa.

En esta tesis doctoral se va a usar la resonancia magnética nuclear en disolución que permite determinar la estructura tridimensional y dinámica de moléculas disueltas tanto en agua como en cualquier otro disolvente.

El origen de la resonancia magnética radica en una propiedad de origen cuántico que afecta a las partículas subatómicas (electrones, neutrones y protones) que constituyen la materia, se trata del fenómeno del espín. El espín aparece de forma natural como un cuarto número cuántico de la función de onda cuando se resuelve la ecuación de onda de Schrödinger incluyendo el efecto relativista y representa una propiedad general de las partículas que puede entenderse fácilmente por analogía con las propiedades de los electrones. Es sabido que los electrones que circulan por una bobina generan un campo magnético en una determinada dirección. De manera análoga, los electrones del átomo circulan alrededor del núcleo y generan un campo magnético que llevará asociado un determinado momento angular. Existe un momento angular asociado a la partícula misma ya se trate del electrón, protón y neutrón, y éste se describe mediante el número cuántico de espín que puede tomar valores de + ½ y –½.

De particular interés para la resonancia magnética nuclear es el espín de los protones y neutrones del núcleo atómico. En el núcleo atómico, cada protón se puede aparear con otro protón con espín antiparalelo (algo análogo a lo que sucede con los electrones en los enlaces químicos). Los neutrones también pueden hacerlo. Los pares de partículas que resultan de combinar un espín de signo positivo con otro negativo, da como resultado un espín neto de valor cero. Por esta razón núcleos con número de protones y neutrones impar dan lugar a un espín neto, donde el número de desapareamientos contribuye con ½ al total del número cuántico de espín nuclear, denominado I. Por tanto, entre los elementos de la tabla periódica, cada isótopo de un determinado átomo, dependiendo de cuál sea el número de protones y neutrones del núcleo, va a tener un determinado valor de I. Por ejemplo, el $^{12}C$ tiene un número par de neutrones y protones y por tanto, su I=0 y es inactivo en RMN, mientras que el $^{13}C$ o el $^{1}H$, presentan un número impar y son un núcleos activos en RMN. Ambos son los núcleos que se medirán en esta tesis doctoral.

El momento de espín angular que un núcleo puede tomar va desde +I a –I en pasos enteros y este valor se conoce como el número cuántico magnético, m. Para un núcleo dado, el número total de estados posibles del momento angular es (2I+1). El momento angular de espín es una magnitud vectorial.

Cuando una partícula subatómica con espín se introduce en un campo magnético externo, su posible estado energético se desdobla en una serie de niveles cuantizados (ver, **Figura A. 11**, izquierda). Los núcleos con espines I = ½ de una molécula pueden ser considerados como pequeños imanes con direcciones Norte/Sur (dos posibles estados de energía). En ausencia de campo magnético los

espines se encuentran desordenados pudiendo apuntar en cualquier dirección. En presencia de un campo magnético intenso ($B_0$) los "imanes" de los espines nucleares de la muestra tenderán a orientarse preferentemente, aunque no exclusivamente, en la dirección del campo magnético externo (**Figura A. 11**, derecha) generándose un pequeño exceso de población en el nivel de menor energía.

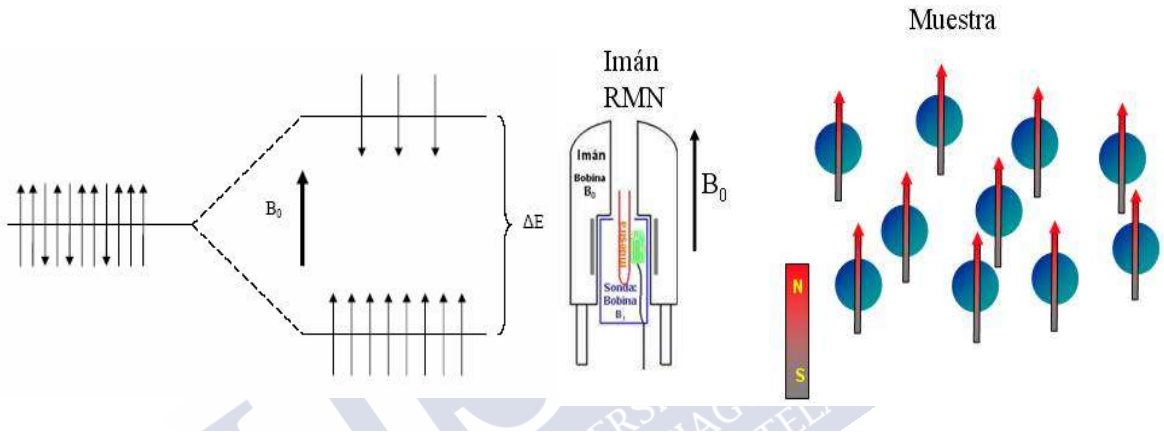



**Figura A. 11** Desdoblamiento de los niveles de energía degenerados de espín por la acción de un campo magnético externo (izquierda) y situación de equilibrio de los espines dentro de un campo magnético (derecha). (Figura cortesía de la página web de la unidad de resonancia magnética nuclear de la USC).

La situación de resonancia entre los dos estados se consigue aplicando una radiación electromagnética (generalmente en la región de las radiofrecuencias, MHz) que tenga exactamente el valor de energía ΔE. La energía de un fotón es E = hν, donde ν es su frecuencia que se conoce como frecuencia de Larmor.

Un pequeño pulso en la región de las radiofrecuencias (MHz) aplicado en un plano perpendicular al campo magnético del imán genera un segundo campo magnético que puede inducir transiciones (cambios de población) entre los estados del espín.

Esto sucederá cuando el pulso tenga exactamente la energía exacta ΔE que separa los dos estados +½ y -½, o dicho de otro modo, cuando su frecuencia coincida con la frecuencia de Larmor. A nivel macroscópico, durante el tiempo que dura el pulso, este segundo campo magnético se producen rotaciones de los espines nucleares "imanes". Cuando el pulso deja de aplicarse los espines dejan de rotar y quedan alineados en una dirección en principio arbitraria que puede no ser la misma que la situación de equilibrio (ver **Figura A. 12**). Las energías implicadas para producir estas transiciones son muy débiles, entran en el rango de las frecuencias de radio (MHz) y de las microondas (GHz) por lo que no producen efectos destructivos en la muestra.

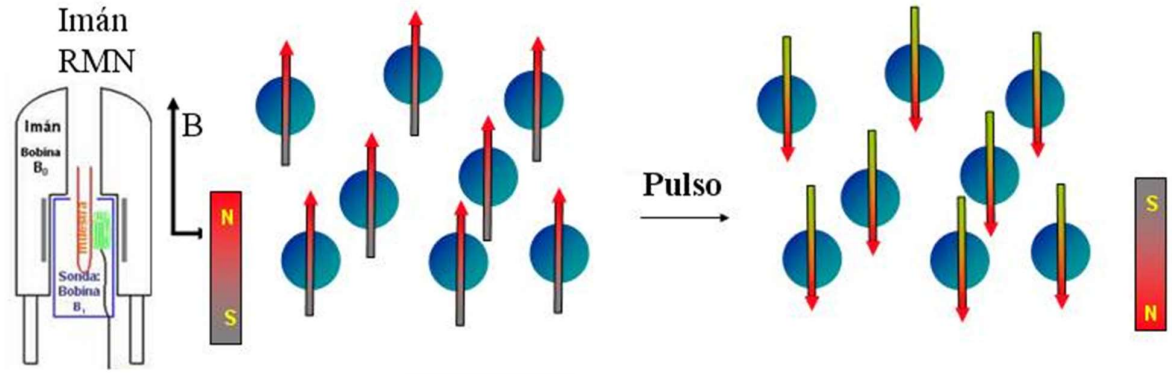



**Figura A. 12** Situación fuera del equilibrio creada tras la aplicación de un pulso de la frecuencia adecuada (radiofrecuencia. (Figura cortesía de la página web de la unidad de resonancia magnética nuclear de la USC).

Cuando el pulso cesa, los espines nucleares que se encuentren fuera del equilibrio tienden a recuperar espontáneamente el estado inicial de población de equilibrio. Esto se consigue emitiendo el exceso de energía en forma de una onda de radio a la

frecuencia de Larmor de los espines (ver **Figura A. 13**). Esta señal es amplificada y digitalizada convenientemente y es lo que se conoce como un espectro de RMN.

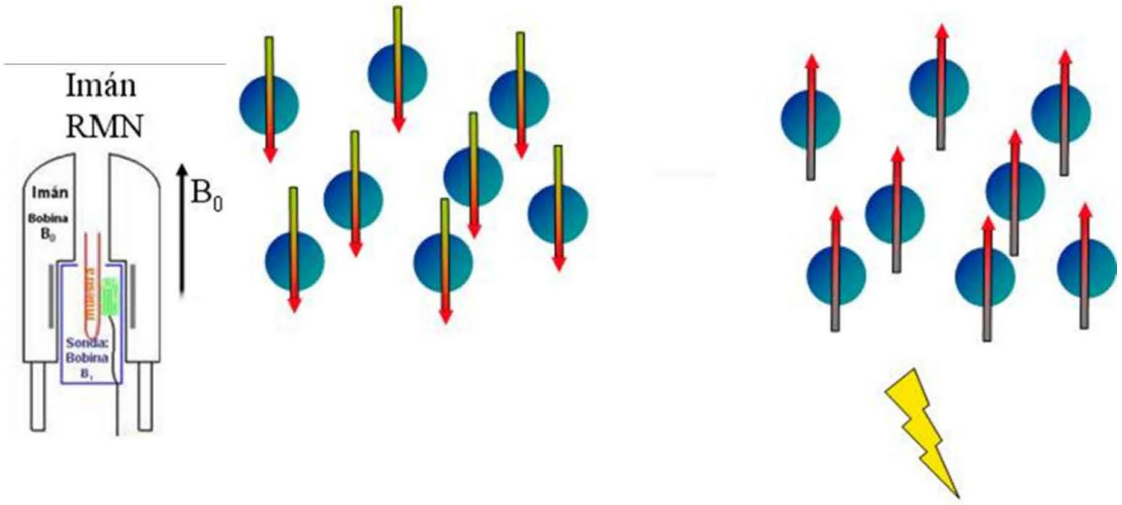



**Figura A. 13** Vuelta a la situación de equilibrio después del pulso de la **Figura A. 12** que nos lleva a la situación inicial donde los pequeños imanes están alineados con $B_0$ y emitiendo el exceso de energía y produciendo la señal de RMN. (Figura cortesía de la página web de la unidad de resonancia magnética nuclear de la USC).

Un hecho singular que diferencia la RMN de otros tipos de espectroscopía, es la lentitud de los procesos de relajación que conducen a los espines nucleares de vuelta a la condición inicial de equilibrio. Este hecho ha permitido el desarrollo de las modernas técnicas multipulso que han dado lugar a una amplia gama de experimentos de RMN en una y múltiples dimensiones y que en la actualidad permiten abordar el estudio de muestras de una gran complejidad.

En base a lo explicado anteriormente pudiera parecer que un núcleo determinado resonaría siempre a una radiofrecuencia concreta sin importar el compuesto químico

del que forma parte, pero esto no ocurre así, lo que sucede es que el campo magnético que se siente en las inmediaciones del núcleo no es el mismo para todos los núcleos de la muestra. Existen efectos locales de los demás núcleos vecinos, especialmente de aquellos núcleos con espines activos a la RMN, así como un efecto de apantallamiento de campo debido a la nube de electrones circundantes que hacen que el campo efectivo que siente cada núcleo sea ligeramente diferente según su entorno químico y menor al del propio campo magnético externo $B_0$.

Dado que el campo magnético efectivo en general va a ser diferente para cada tipo de núcleo no equivalente (con entorno químico diferente), también lo va a ser el gap de energía entre sus estados $\alpha$ y $\beta$, y en definitiva también su frecuencia de resonancia característica. Las diferencias de apantallamiento en las inmediaciones de cada núcleo van a dar lugar a diferentes picos en el espectro (frecuencias) de RMN. La RMN, por tanto, es una prueba de la estructura química.

En este punto es importante destacar el hecho de que incluso para un mismo núcleo en dos moléculas iguales, existen diferencias de apantallamiento químico según cual sea su orientación respecto al campo magnético $B_0$ del imán y, por tanto, deberían dar lugar a frecuencias de resonancia diferentes. En realidad, esto es lo que sucede para muestras estáticas, por ejemplo, sólidos, sin embargo, para el caso de moléculas en disolución, el rápido movimiento de rotación molecular hace que estas diferencias se promedien y sólo se obtenga una única frecuencia para cada tipo de núcleo no equivalente. Para moléculas en disolución, en general se puede obviar el efecto de la orientación de la molécula respecto al campo.

El desplazamiento químico, $\delta$ mide la diferencia de frecuencia respecto a un compuesto de referencia. El compuesto de referencia para RMN de $^{1}H$ y $^{13}C$ es el tetrametilsilano, TMS ($(CH_3)_4$ Si) que define el cero en la escala de partes por millón (ppm).

En resumen, la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) es una técnica no destructiva (la muestra se recupera intacta tras los experimentos) que permite estudiar casi cualquier elemento (isótopo) de la tabla periódica ($^{1}H$, $^{13}C$, $^{31}P$, $^{15}N$, $^{23}Na$, $^{27}Al$, $^{29}Si$, ...). La información molecular se obtiene por medio de espectros de RMN. Existe una enorme variedad de tipos de espectros de RMN y cada uno de ellos es sensible a un tipo de información molecular (estructura covalente o de enlaces químicos, proximidad espacial entre átomos, difusión traslacional molecular, difusión rotacional, etc.). Los espectros de RMN modernos pueden tener una o más dimensiones (1D, 2D, 3D, 4D, ...) lo que permite obtener información molecular de una forma rápida y precisa y que a su vez evita problemas en los análisis debidos a una posible congestión de señales.

Todas medidas de RMN que se muestran en esta tesis doctoral fueron realizadas en un espectrómetro Bruker NEO 750 con un campo magnético de 17.61 T (750 MHz resonancia $^{1}H$) con una sonda para RMN en disolución de PA-TXI-HFCN ($^{1}H$ $^{19}F/^{13}C/^{15}N$) con sistema de sintonía y *matching* automáticos y gradientes PFG en eje z.

## Anexo 2. Espectrometría de Masas para la Síntesis Electroquímica de $Ag_5$-AQCs

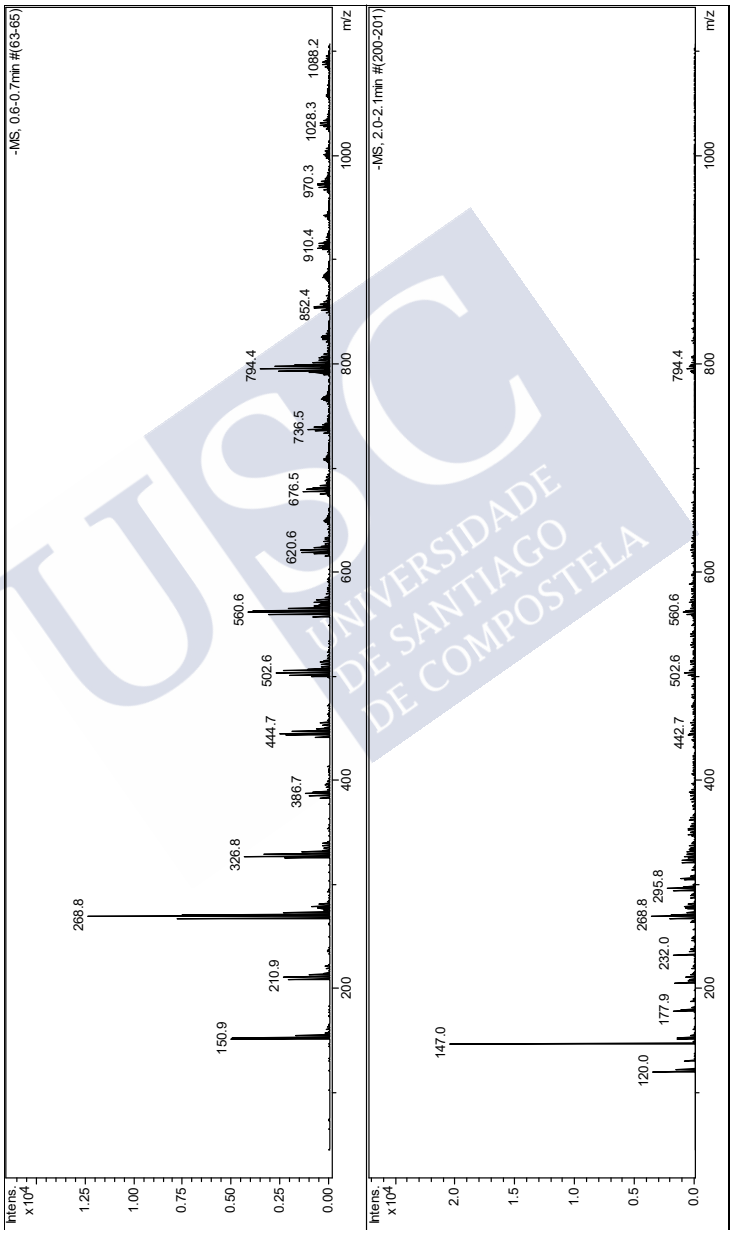



**Figura A. 14** Espectro de Masas completo para una muestra de Ag-AQCs sintetizada por el método electroquímico (arriba) y su correspondiente blanco (abajo).

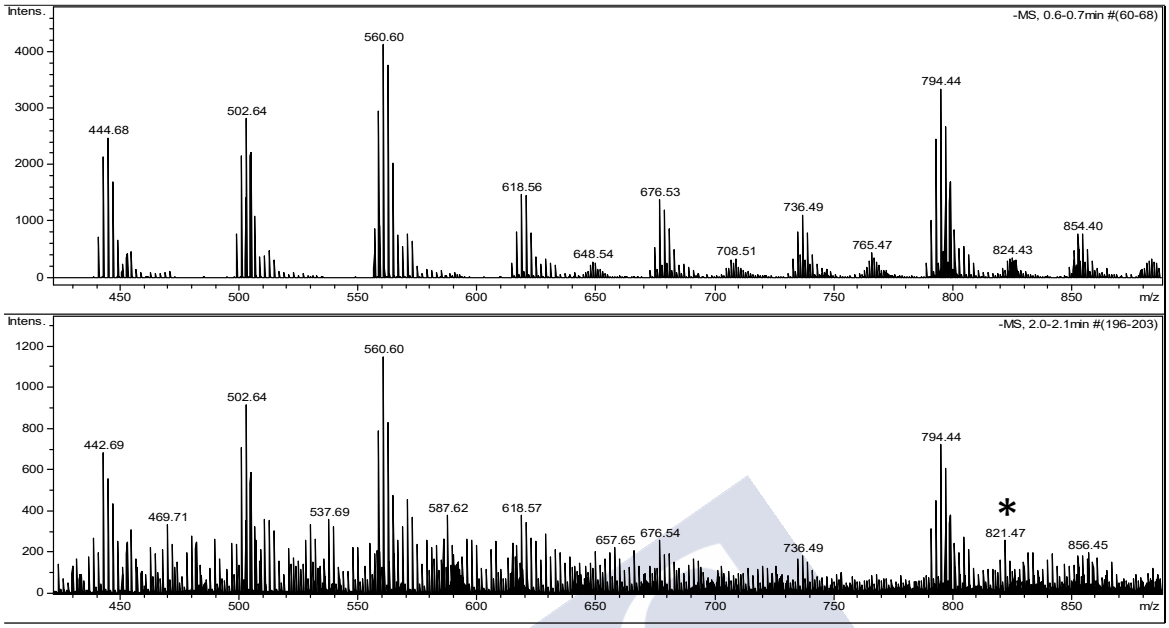



**Figura A. 15** Región aumentada del espectro de masas completo (**Figura A. 14**) para ver el pico característico de Ag-AQCs marcado con un *, correspondiente al aducto de $Ag_5$-AQCs (identificado en la **Figura A. 18**)

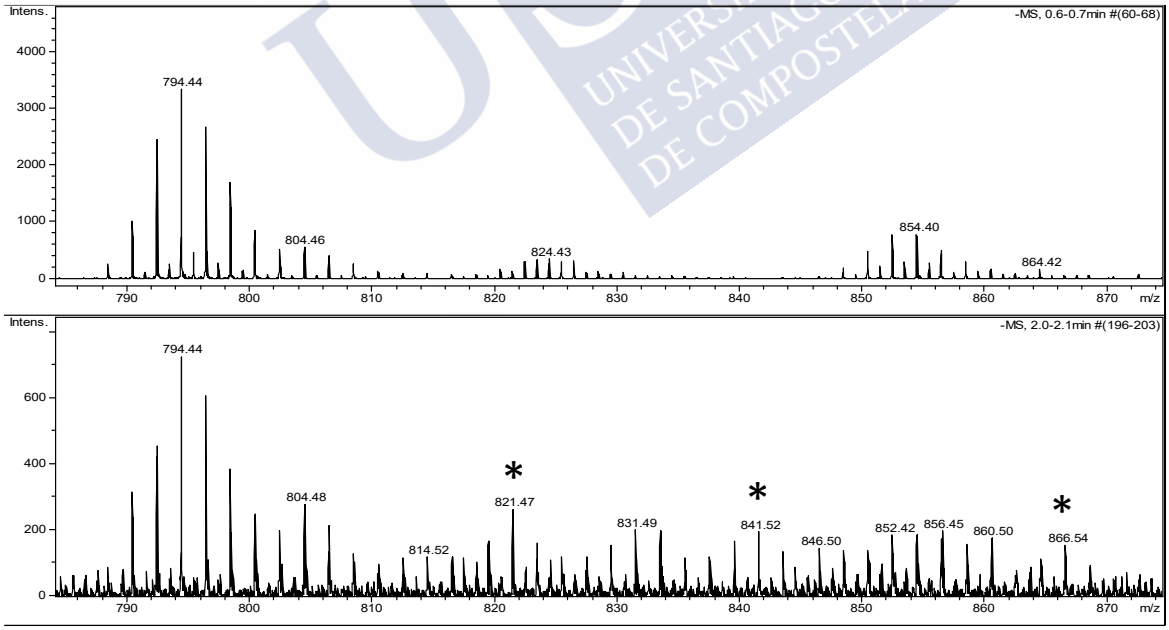



**Figura A. 16** Región aumentada del espectro de masas mostradp en la **Figura A. 15** para ver todos los Ag-AQCs detectados marcados con un *, correspondiente a los diferentes aductos de $Ag_5$-AQCs (identificado en las **Figura A. 18**, **Figura A. 19**, **Figura A. 20**)

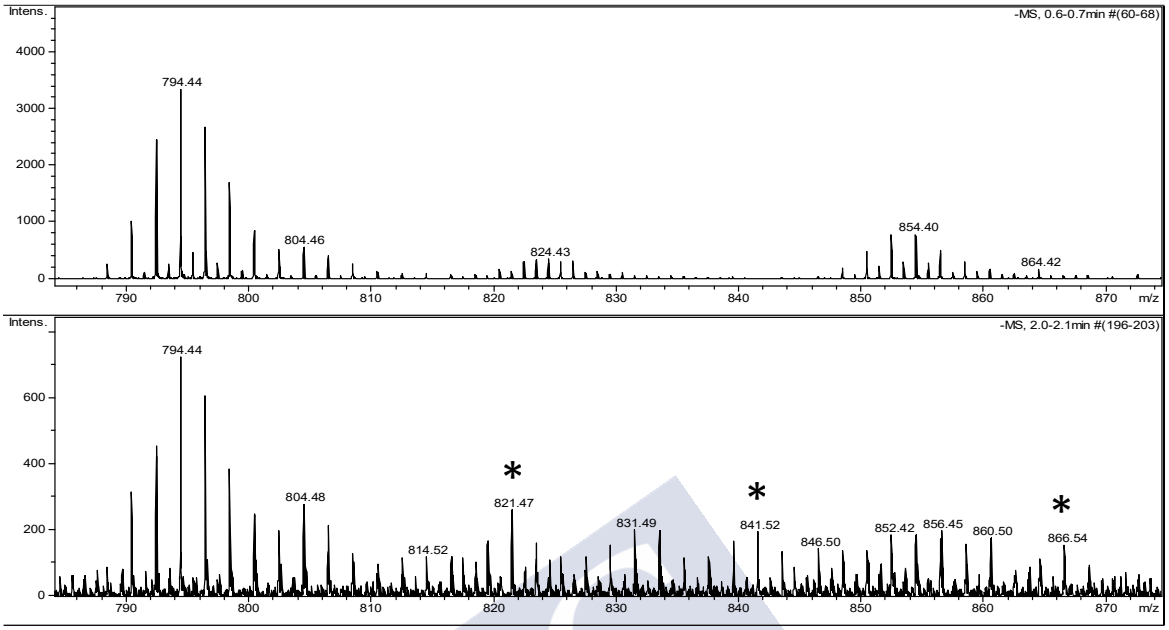



**Figura A. 17** Región aumentada del espectro de masas mostradp en la **Figura A. 15** para ver todos los Ag-AQCs detectados marcados con un *, correspondiente a los diferentes aductos de $Ag_3$-AQCs (identificado en la **Figura A. 21**, **Figura A. 22**) y $Ag_2$-AQCs (identificado en la **Figura A. 23**).

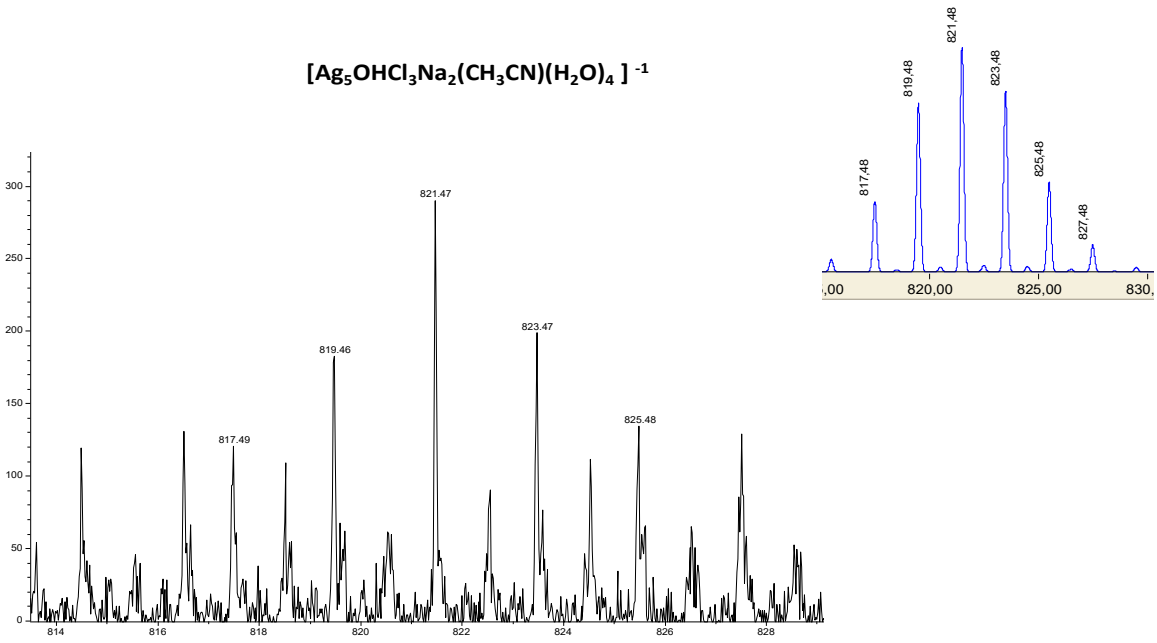



**Figura A. 18** Región aumentada del espectro de masas mostradp en la **Figura A. 16**para ver los picos detectados de $Ag_5$-AQCs a m/z= 821.48 con los correspondientes aductos y el ajuste teórico.

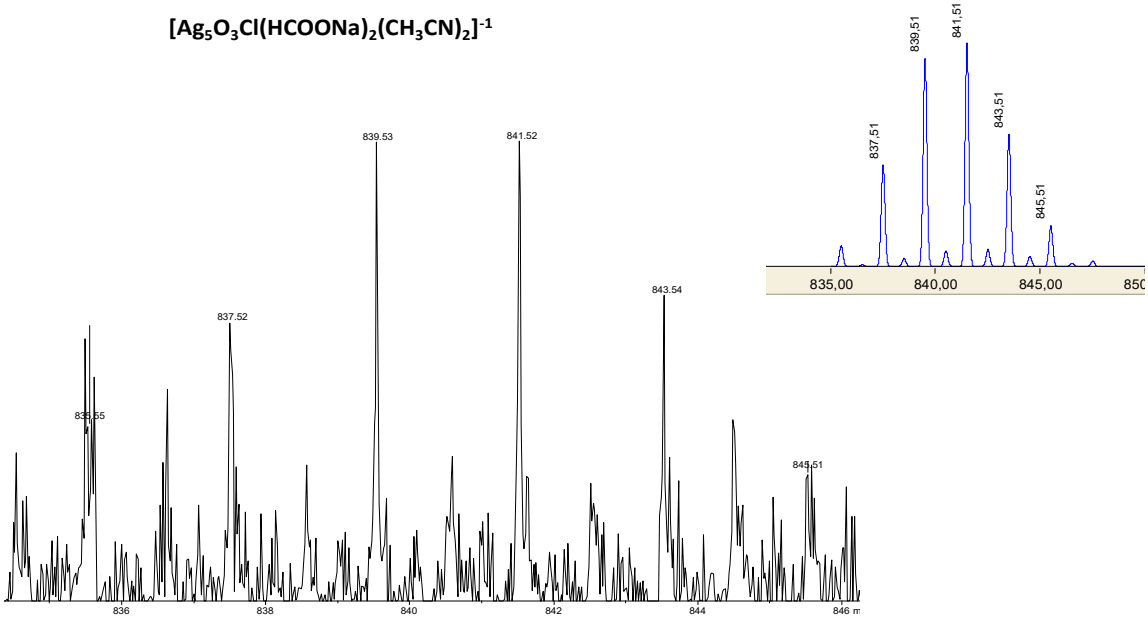



**Figura A. 19** Región aumentada del espectro de masas mostradp en la **Figura A. 16** para ver los picos detectados de $Ag_5$-AQCs a m/z= 841.51 con los correspondientes aductos y el ajuste teórico.

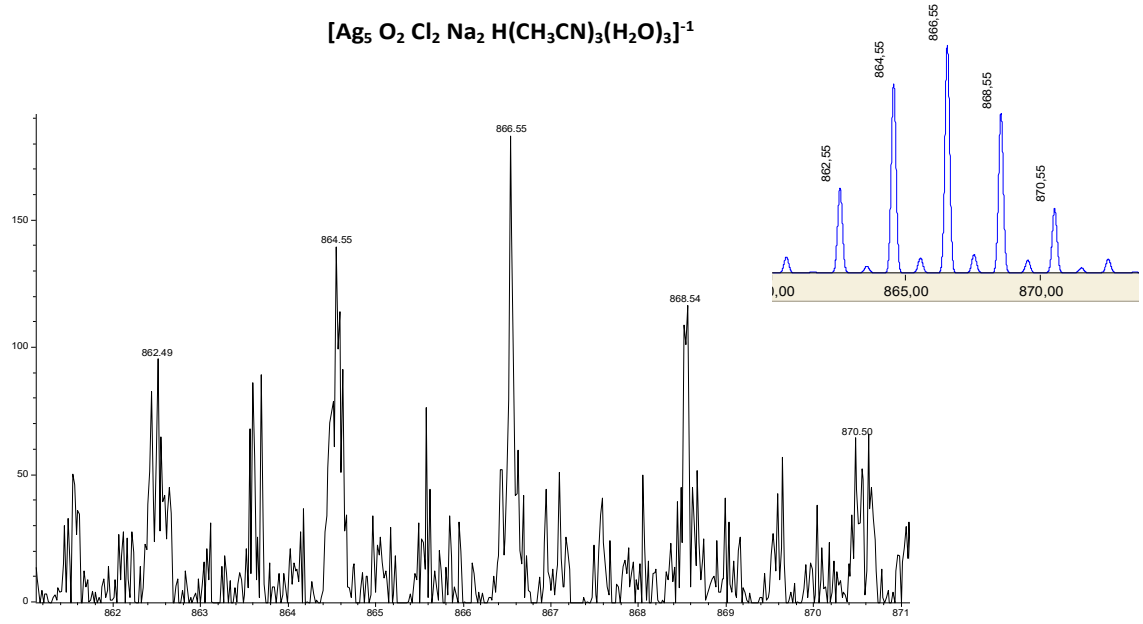



**Figura A. 20** Región aumentada del espectro de masas mostradp en la **Figura A. 16** para ver los picos detectados de $Ag_5$-AQCs a m/z= 866.55 con los correspondientes aductos y el ajuste teórico.

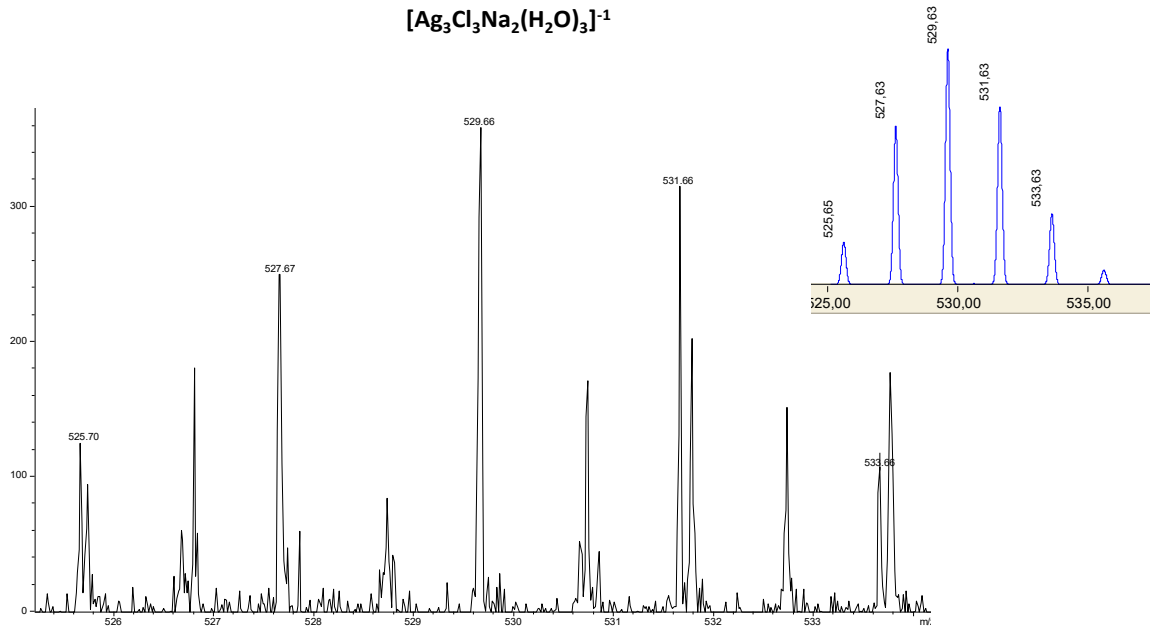



**Figura A. 21** Región aumentada del espectro de masas mostradp en la **Figura A. 17**para ver los picos detectados de $Ag_3$-AQCs a m/z= 529.63 con los correspondientes aductos y el ajuste teórico.

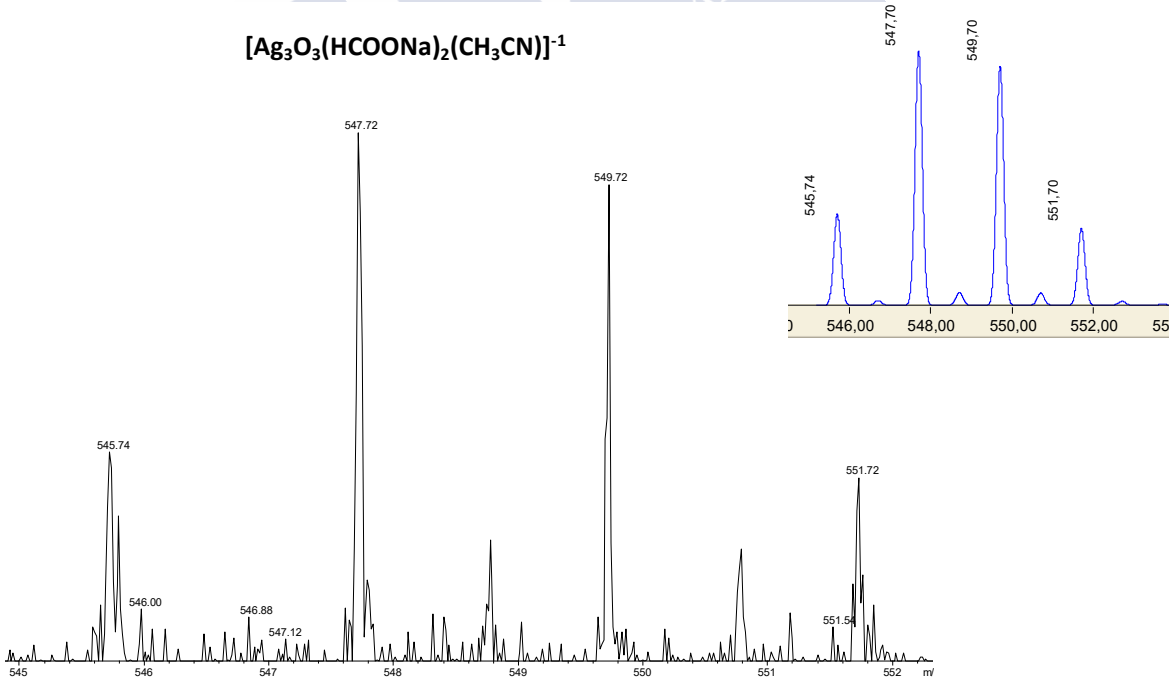



**Figura A. 22** Región aumentada del espectro de masas mostradp en la **Figura A. 17** para ver los picos detectados de $Ag_3$-AQCs a m/z= 547.70 con los correspondientes aductos y el ajuste teórico.

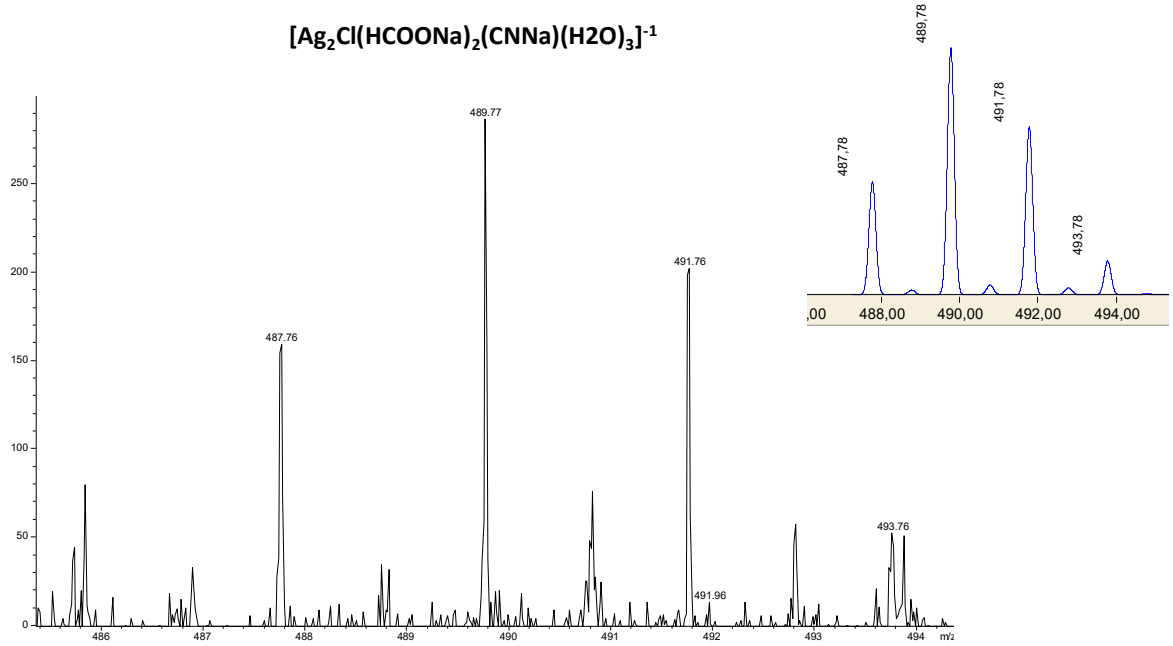



**Figura A. 23** Región aumentada del espectro de masas mostradp en la **Figura A. 17** para ver los picos detectados de $Ag_3$-AQCs a m/z= 489.78 con los correspondientes aductos y el ajuste teórico.

## Anexo 3. Caracterización de Muestra $Ag_3$-AQCs

Los clústeres de Ag de 2-3 átomos se sintetizaron utilizando el método de síntesis electroquímico desarrollado anteriormente en el grupo de investigación en el que se enmarca esta tesis para clústeres de plata[47,194] de dichos tamaños.

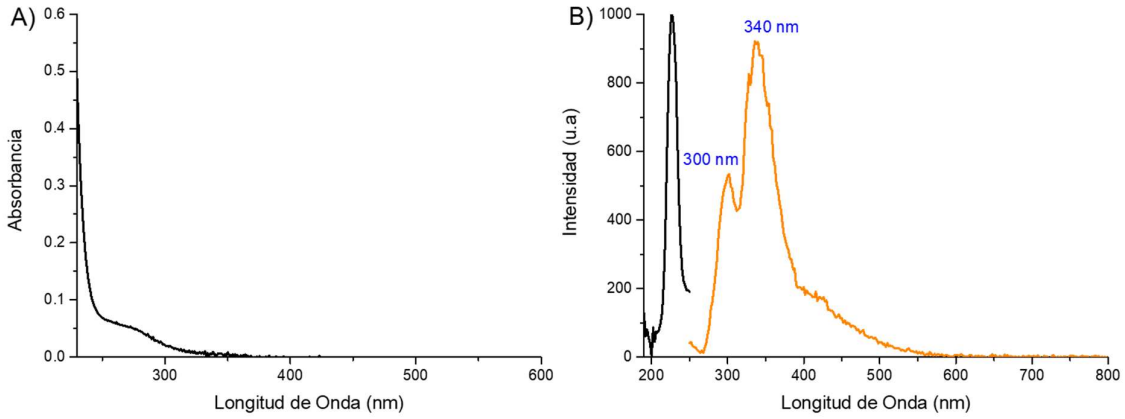



**Figura A. 24** (A) Espectro de espectroscopía de absorción UV-Visible, (B) Espectro de fluorescencia UV-Visible de la síntesis electroquímica de clústeres de Ag de 2-3 átomos desnudos, purificada con NaCl y concentrada en un rotavapor con una concentración de $Ag_5$-AQCs de 0.12 mg/L. En el espectro de fluorescencia (B) se muestra en negro el espectro de excitación con una longitud de onda de emisión de 340 nm y en naranja se muestra el espectro de emisión excitando a una longitud de onda de 230 nm.

A partir de las dos bandas de emisión de **Figura A. 24 B** podemos calcular una aproximación de la energía del *band gap* para los clústeres sintetizados mayoritariamente ($\lambda_{em,1}$ = 300 nm, $\lambda_{em,2}$ = 340 nm). Utilizando de nuevo la ecuación deducida por el modelo de *Jellium* (ecuación A.1) y el valor de la energía del nivel de

Fermi de la Ag (5.5 eV) podemos determinar el número de átomos que forman los Ag-AQCs sintetizados (ecuación A.2).

$$\frac{hc}{\lambda} = \frac{E_F}{N^{1/3}} \quad \text{(A.1)}$$

$$N_1 \approx 2 \text{ átomos} \ \text{y} \ N_2 \approx 3 \text{ átomos} \quad \text{(A.2)}$$

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

## Anexo 4. Comparación de las constantes cinéticas del proceso de reducción del DPPH • por metanol catalizado por $Ag_5$-AQCs con otros antioxidantes de la bibliografía.

| | k/($M^{-1}s^{-1}$) | k/($M^{-2}s^{-1}$) | [DPPH • ]/[AQCs] | Referencia |
|---|---|---|---|---|
| **[$Ag_5$- AQCs] = 3.7 x $10^{-8}$ M** | 290 | - | 3 x $10^3$ | Esta Tesis |
| **[$Ag_5$- AQCs] = 4.6 x $10^{-8}$ M** | 474 | - | 2.4 x $10^3$ | Esta Tesis |
| **[$Ag_5$- AQCs] = 7.4 x $10^{-8}$ M** | 732 | - | 1.5 x $10^3$ | Esta Tesis |
| **[$Ag_5$- AQCs] = 3.7 x $10^{-7}$ M** | 1507 | - | 3 x $10^2$ | Esta Tesis |
| **$Ag_5$- AQCs** | - | $3.25 \times 10^9$ | **~ 1.8x$10^3$** | **Esta Tesis** |
| **Phenolic acids** | ~380 | - | 9.5 | 199 |
| **Flavan-3-ols** | ~349 | - | 9.5 | 199 |
| **Flavonols** | ~412 | - | 9.5 | 199 |
| **Resveratrol** | 138 | | 9.5 | 199 |
| **Ascorbic Acid** | 330 | | 9.5 | 199 |
| **Trolox** | 306 | | 9.5 | 199 |
| **Vitamin E α-tocopherol (TOH)** | 390 | - | ~3.6 x $10^{-2}$ | 200 |
| **2,2,5,7,8-pentamethyl-6-hydroxychroman (PMHC)** | 350 | | | |
| **2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT)** | 2.4 | | ~2.7 x $10^{-2}$ | |

## Anexo 5. Cálculos DFT para la completa oxidación de azufres catalizada por $Ag_5$-AQCs ($S^{-2} \rightarrow S^{+6}$)

Los cálculos teóricos siguientes fueron realizados por Prof. Giampaolo Barone de la Universidad de Palermo.

Los cálculos DFT y QM/MM se han llevado a cabo usando B3LYP[201,202] con una optimización geométrica completa y usando el funcional 6-31G(d,p)[203,204] para los átomos H, C, N, O y S y Lanl2dz[205] para Ag. El método ONIOM[206] se usó para las dos capas QM/MM y el campo de fuerzas UFF[207] se usó en la capa más baja. El agua como disolvente se consideró con el método C-PCM[208]. Las estructuras de los estados de transición se encontraron usando la sincronización de estados guiada por el método quasi-Newton[209]. Los cálculos de frecuencia, con la aproximación del oscilador armónico, se llevaron a cabo en las geometrías optimizadas para confirmar que se corresponden con estructuras de mínima energía (todas con frecuencias de vibración real) o estados de transición (con una frecuencia de vibración imaginaria). Todos los cálculos se llevaron a cabo con el programa Gaussian09[210].

Para llevar a cabo los cálculos teóricos se escogió como modelo el tiol más simple que existe, el metanotiol ($CH_3SH$) y los clústeres de plata de 5 átomos. Se obtuvo que dos moléculas de tiol interaccionan con una molécula de oxígeno absorbido sobre clúster $Ag_5(O_2)_5$ y en una primera fase pierde tanto el hidrógeno como el grupo metilo, cada uno de ellos se adsorbe a un radical superoxo y forma la especie adsorbida SOO en dos etapas de reacción con dos estados de transición (ver **Figura A. 25**).

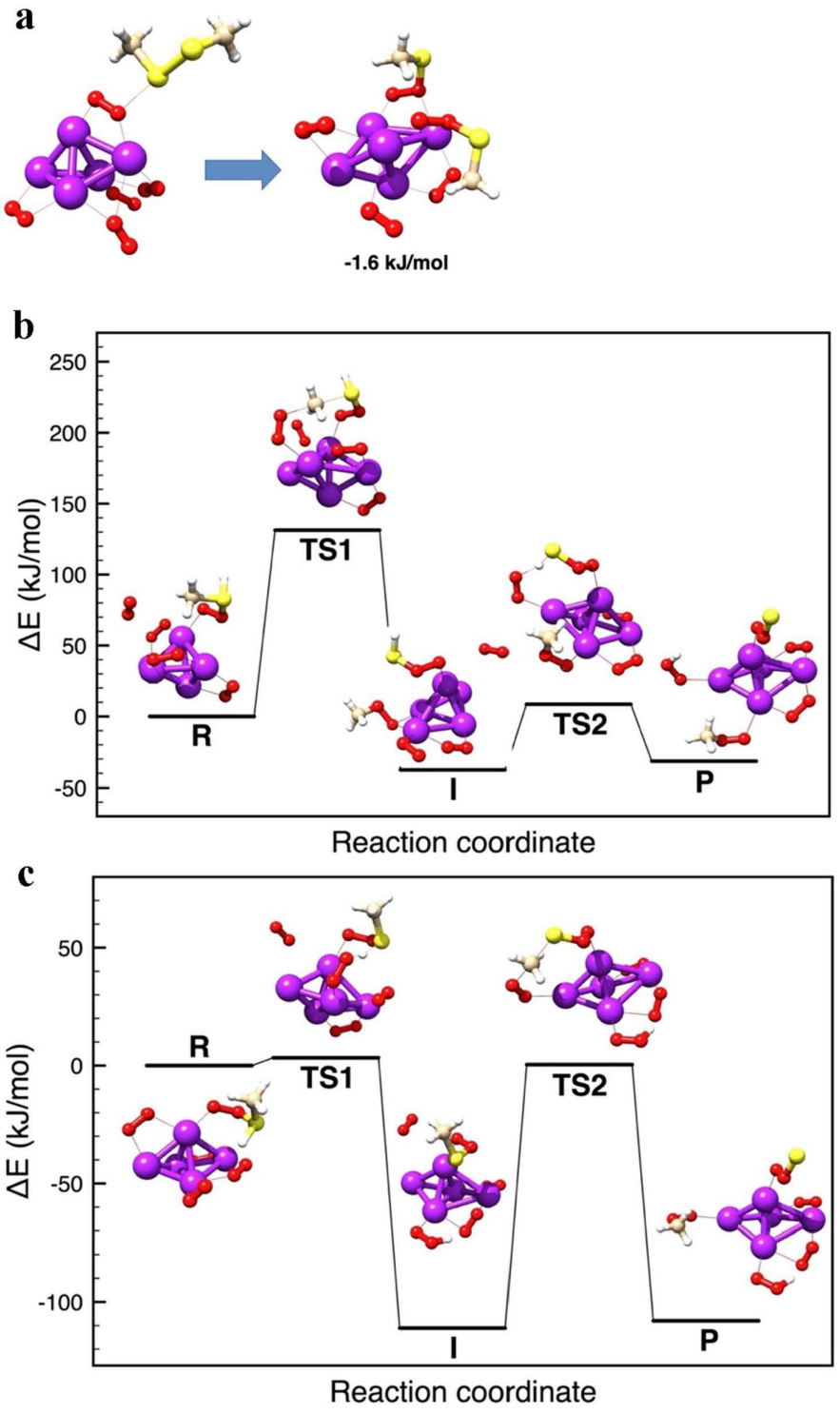



**Figura A. 25** Reacción de $CH_3SSCH_3$ (a) y de $CH_3SH$ (b,c) en $Ag_5/(O_2)_5$ con rotura del S-S y formación de SOO como especies intermedias que forman preferentemente el $OOSCH_3$ como primer intermedio (c) y eliminando el grupo metilo como segunda etapa.

En la segunda fase de la reacción (ver **Figura A. 26**) la especie SOO se puede oxidar a sulfato a través de cuatro intermedios y cinco estados de transición.

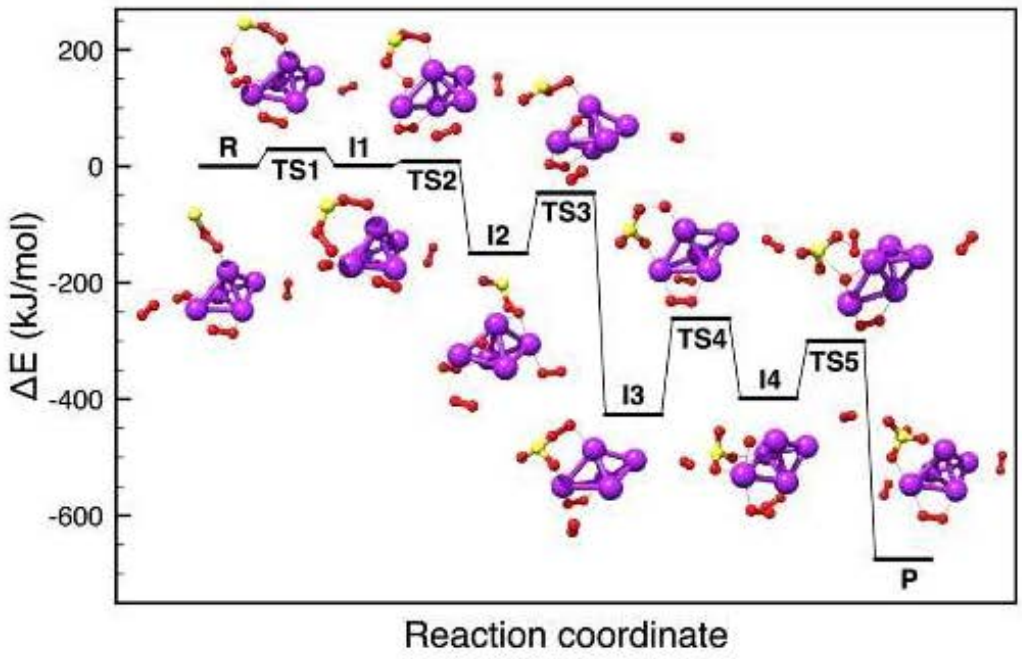



**Figura A. 26** Reacción de oxidación de SOO en $Ag_8/(O_2)_8$ a las especies sulfato.

La reacción de oxidación del grupo tiol a sulfato mediada por la acción de $Ag_5$-AQCs oxigenados es energéticamente muy favorable (ver esquema resumen en la **Figura A. 27**) y siguiendo este mecanismo de reacción el clúster de $Ag_5$ separa el átomo de S de la parte orgánica de la molécula en el primer paso de oxidación.

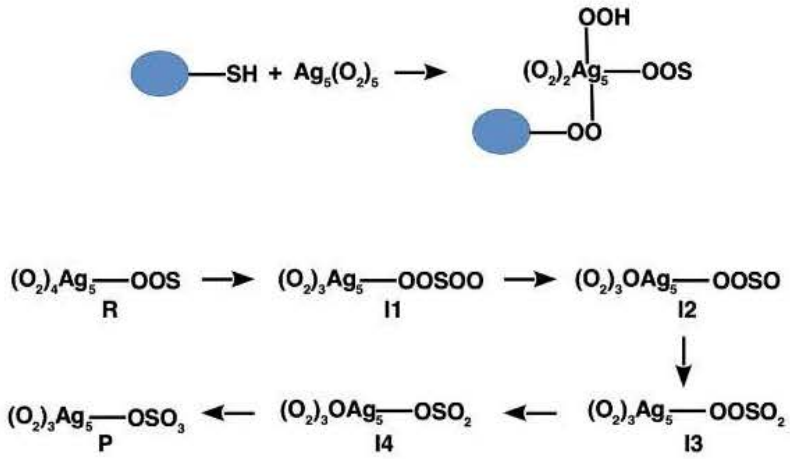



**Figura A. 27** Esquema resumen de reacción desde el grupo tiol al grupo sulfato en un clúster de $Ag_5$ oxigenado.

# Anexo 6. Resultados de la hidrogenación de $CO_2$ catalizada por $Ni/SiO_2$-$Al_2O_3$

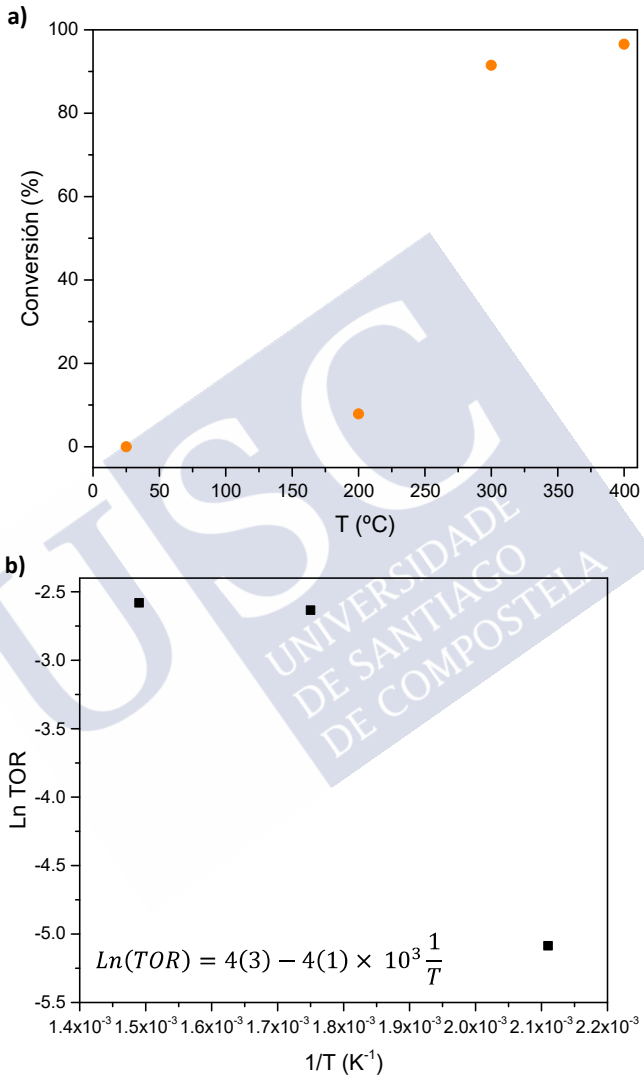



**Figura A. 28** a) Conversión frente a la temperatura y b) Representación de Arrhenius para la reacción de hidrogenación de $CO_2$ catalizada por el catalizador comercial de la casa Sigma Aldrich $Ni/SiO_2$-$Al_2O_3$ cuyo *loading* es 68 %.

# Agradecimientos