

# MÁSTER UNIVERSITARIO EN INGENIERÍA DE MATERIALES AVANZADOS

## TRABAJO FIN DE MÁSTER

***METAL-ORGANIC FRAMEWORKS COMO  
MATRICES POROSAS ORDENADAS PARA EL  
DISEÑO DE CATALIZADORES BIO-MIMÉTICOS***

**Estudiante**  
**Director/Directora**  
**Departamento**  
**Curso académico**

*Alcain Arsuaga, Eneko*  
*Aguirrezabal Telleria, Iker*  
*Ingeniería Química y Medioambiente*  
*2021-2022*

*Bilbao, 26 de junio, 2022*

# Metal-organic frameworks como matrices porosas ordenadas para el diseño de catalizadores bio-miméticos

## RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar un sistema de catalizadores basados en el MOF-808 y sintetizar catalizadores bio-miméticos que imiten los centros catalíticos de las oxidasas de cobre. La manera de obtener estos materiales consiste en sintetizar el MOF-808 inicial, funcionalizarlo con aminoácidos o ácido carboxílicos, y después doparlos con una disolución de cobre. Se ha realizado la caracterización estructural y química de los materiales conseguidos mediante diversas técnicas como XRD, FTIR-ATR, TGA, RMN, UV-Vis en sólido, EPR y XRF. Posteriormente, se probaron los catalizadores para la Oxidación Húmeda Catalítica con Peróxido de Hidrógeno (CWPO) de compuestos fenólicos, para estudiar el tipo de actividad que presentan estos materiales, y la influencia de las funcionalizaciones y grado de dopaje de metal en la actividad catalítica. Además, se realizó una prueba de degradación de fenol en medio acuoso, en la que uno de los catalizadores (MOF-808@His-Cu100) consiguió un grado de conversión de casi el 90% en 20 horas de reacción. Finalmente, se ha llegado a la conclusión de que este sistema de catalizadores puede ser muy interesante para aplicarlo en otro tipo de reacciones.

## LABURPENA

Lan honen helburua MOF-808-an oinarritutako katalizatzaile-sistema bat aztertzea eta kobrezko oxidasen zentro katalitikoak imitatzen dituzten katalizatzaile bio-mimetikoak sintetizatzea. Material horiek lortzeko, hasierako MOF-808-a sintetizatu, aminoazido eta azido karboxiliko batzuekin funtzionalizatu, eta, ondoren, kobrezko disoluzio batean sartzen da, metala adsorbatzeko. Lortutako katalizatzaileei kristal egituraren karakterizazioa eta karakterizazio kimikoa egin zaie XRD, FTIR-ATR, TGA, RMN, UV-Vis solidoan, EPR eta XRF teknikak erabiliz. Ondoren, katalizatzaieak CWPO erreakzioaren bitartez frogatu dira, ze nolako aktibitate mota duten, eta katalisi aktibitatean funtzionalizazioaren eta kobre kopuruaren eragina aztertzeko. Gainera, uretan fenolaren degradazio froga bat egin zen, eta katalizatzaile batek (MOF-808@His-Cu100) ia %90ko bihurketa maila lortu zuen 20 orduko erreakzio batean. Bukatzeko, lan honek erakutsi du katalizatzaile-sistema hau oso interesgarria dela beste erreakzio batzuetan aplikatzeko.

## ABSTRACT

The objective of this work is to study a system of catalysts based on MOF-808 and to synthesize bio-mimetic catalysts that mimic the catalytic centers of copper oxidases. The way to obtain these materials consists of synthesizing the initial MOF-808, functionalizing it with amino acids or carboxylic acids, and then doping them with a copper solution. The structural and chemical characterization of the materials obtained has been carried out using various techniques such as XRD, FTIR-ATR, TGA, NMR, solid UV-Vis, EPR and XRF. Subsequently, the catalysts for the Catalytic Wet Peroxide Oxidation (CWPO) of phenolic compounds were tested, to study the type of activity that these materials present, and the influence of the functionalizations and degree of metal doping on the catalytic activity. In addition, a phenol degradation test was carried out in aqueous medium, in which one of the catalysts (MOF-808@His-Cu100) achieved a degree of conversion of almost 90% in 20 hours of reaction. Finally, it has been concluded that this catalyst system can be very interesting to be applied in other types of reactions.

**PALABRAS CLAVE:** MOF-808, metaloenzimas, catálisis, biomimético, CWPO, fenol



# ÍNDICE

RESUMEN.....	2
LABURPENA.....	2
ABSTRACT .....	3
LISTA DE FIGURAS .....	6
LISTA DE TABLAS .....	8
LISTA DE ACRÓNIMOS.....	9
1. INTRODUCCIÓN .....	10
1.1. Enzimas y ejemplos de metaloenzimas de cobre .....	10
1.1.1. Lacasas (7).....	11
1.1.2. Catecol Oxidasa (8) .....	12
1.1.3. Metano monooxigenasa (9).....	12
1.2. Catalizadores biomiméticos o bioinspirados .....	13
1.2.1. Catalizadores homogéneos como sistemas biomiméticos.....	14
1.2.2. Catalizadores heterogéneos como sistemas biomiméticos .....	15
1.3. Metal-Organic Frameworks.....	16
1.3.1. Funcionalización de MOFs (23).....	18
1.3.2. MOFs como catalizadores biomiméticos o bioinspirados.....	21
1.4. MOF-808.....	21
1.4.1. Descripción y características.....	21
1.4.2. Funcionalización postsintética .....	22
1.5. Proceso catalítico de interés .....	24
1.5.1. Oxidación Húmeda Catalítica con Peróxido de Hidrógeno .....	24
1.5.2. Proceso Fenton .....	25
1.5.3. Ejemplos de MOFs empleados para la CWPO .....	26
1.6. Motivación del trabajo y objetivos.....	27
2. METODOLOGÍA SEGUIDA EN EL DESARROLLO DEL TRABAJO.....	28
2.1. Síntesis de los catalizadores .....	28
2.1.1. Reactivos empleados.....	28
2.1.2. Síntesis del MOF-808.....	28
2.1.3. Funcionalización del MOF-808 .....	29
2.1.4. Dopaje con Cu de los MOF-808 funcionalizados.....	29
2.2. Caracterización de los catalizadores.....	30
2.2.1. Difracción de rayos X en polvo (XRD) .....	30
2.2.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR).....	30
2.2.3. Análisis termogravimétrico (TGA).....	30
2.2.4. Resonancia magnética nuclear de protón ( <sup>1</sup> H-NMR) .....	31

2.2.5.	Resonancia paramagnética electrónica (EPR).....	31
2.2.6.	Espectroscopía ultravioleta-visible en sólido (UV-Vis en sólido) .....	31
2.2.7.	Fluorescencia de rayos X (XRF).....	32
2.3.	Ensayos catalíticos.....	32
2.3.1.	Oxidación Húmeda Catalítica con Peróxido de Hidrógeno (CWPO) de compuestos fenólicos y difenólicos con MOF-808@His-Cu.....	32
2.3.2.	Monitorización de la degradación de fenol por HPLC .....	33
2.3.3.	Comparación de la actividad catalítica según la funcionalización y grado de dopaje de Cu.....	34
2.4.	Diagrama de Gantt.....	35
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	37
3.1.	Caracterización de los catalizadores.....	37
3.1.1.	Difracción de rayos X (XRD).....	37
3.1.2.	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR).....	41
3.1.3.	Análisis termogravimétrico (TGA).....	43
3.1.4.	Resonancia magnética nuclear de protón ( <sup>1</sup> H-NMR) .....	44
3.1.5.	Fluorescencia de rayos X (XRF).....	45
3.1.6.	Espectroscopía ultravioleta-visible en sólido (UV-Vis en sólido) .....	46
3.1.7.	Espectroscopía paramagnética electrónica (EPR) .....	49
3.2.	Ensayos catalíticos.....	51
3.2.1.	Oxidación Húmeda Catalítica con Peróxido de Hidrógeno (CWPO) de compuestos fenólicos y difenólicos con MOF-808@His-Cu.....	51
3.2.2.	Monitorización de la degradación del fenol por HPLC .....	56
3.2.3.	Comparación de la actividad catalítica según la funcionalización y grado de dopaje de Cu.....	57
4.	CONCLUSIONES.....	64
	BIBLIOGRAFÍA.....	66

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representación esquemática del entorno de coordinación del (a) Cu tipo 1 del centro mononuclear, y de los (b) Cu tipo 3 de las lacasas (7).....	11
<b>Figura 2.</b> Representación esquemática del centro dinuclear de Cu de la catecol oxidasa en su forma oxidada (8).....	12
<b>Figura 3.</b> Imagen ampliada de los centros de Cu en la MMOp del <i>M. capsulatus</i> . Los átomos de Cu están representados por las esferas azules (9).....	13
<b>Figura 4.</b> Complejo dinuclear de Mn sintetizado por Karlsson et al (13).....	14
<b>Figura 5.</b> Representación del plegamiento de la cadena polimérica para formar el sitio activo aislado en el trabajo de Tooley et al (15).....	15
<b>Figura 6.</b> Representación de las diferentes estructuras que se pueden obtener combinando diversas geometrías de los centros metálicos y distintos tipos de ligandos (21). ....	17
<b>Figura 7.</b> Esquema general del concepto de MPS en MOFs (23).....	19
<b>Figura 8.</b> Ejemplo esquemático de MPS por interacciones coordinativas del MOF [Cd <sub>3</sub> Cl <sub>6</sub> L <sub>3</sub> ] mediante un complejo de coordinación de Ti (24).....	20
<b>Figura 9.</b> Representación de (a) la jaula tetraédrica y (b) el gran poro con forma de adamantano del MOF-808 (28).....	22
<b>Figura 10.</b> Representación esquemática de la ventana de poro pseudo hexagonal del MOF-808 (a) previo a la funcionalización, (b) funcionalizado con cisteína, (c) funcionalizado con histidina y (d) funcionalizado con cisteína e histidina a proporciones iguales.....	23
<b>Figura 11.</b> Diagrama del mecanismo de degradación del fenol por la oxidación de tipo Fenton. Las etapas de reacción incluyen 1. Oxidaciones, 2. Rupturas de enlace C-C, 3. Transferencia de hidrógeno (31).....	25
<b>Figura 12.</b> Reacción de fenol con 4-AAP para formar el cromóforo.....	33
<b>Figura 13.</b> Comparación del patrón de difracción experimental del MOF-808 con un patrón teórico simulado obtenido a partir del análisis de perfil completo sin modelo estructural. Rojo: puntos experimentales. Negro: patrón teórico simulado. Verde: posiciones de Bragg. Azul: diferencia exp-teó. ....	38
<b>Figura 14.</b> Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@His. Azul: MOF-808@His-Cu.....	39
<b>Figura 15.</b> Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@Cys. Azul: MOF-808@Cys-Cu.....	39
<b>Figura 16.</b> Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@CysHis. Azul: MOF-808@CysHis-Cu.....	40
<b>Figura 17.</b> Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@malic. Azul: MOF-808@malic-Cu.....	40
<b>Figura 18.</b> Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@citric. Azul: MOF-808@citric-Cu.....	40

<b>Figura 19.</b> Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@DMSA. Azul: MOF-808@DMSA-Cu.....	41
<b>Figura 20.</b> Espectros FTIR-ATR del MOF-808 y MOF-808 funcionalizados.....	42
<b>Figura 21.</b> Análisis termogravimétricos de los MOF-808 funcionalizados.....	43
<b>Figura 22.</b> Espectro UV-Vis en sólido de los catalizadores obtenidos.....	47
<b>Figura 23.</b> Ampliación del espectro UV-Vis en sólido de los catalizadores obtenidos en la zona de la banda de transición electrónica del Cu(II).....	48
<b>Figura 24.</b> EPR de las muestras a 10 K y temperatura ambiente de (a) MOF-808@His-Cu100 y (b) MOF-808@Cys-Cu100.....	49
<b>Figura 25.</b> EPR de los materiales MOF-808@His dopadas con 10, 100 y 1000 mg/L de Cu(II).....	50
<b>Figura 26.</b> Espectro EPR de las diferentes muestras de MOF-808 funcionalizado dopadas con Cu(II).....	51
<b>Figura 27.</b> Espectro UV-Vis de los cromóforos generados a partir de la 4-AAP.....	52
<b>Figura 28.</b> Cinéticas de reacción variando la concentración de fenol.....	53
<b>Figura 29.</b> Representación de los valores de velocidad inicial a cada concentración de fenol.....	53
<b>Figura 30.</b> Representación de los inversos de la velocidad inicial respecto del inverso de la concentración de fenol.....	54
<b>Figura 31.</b> Representación de los inversos de la velocidad inicial respecto del inverso de la concentración de catecol, hidroquinona y 2,4-DCP.....	55
<b>Figura 32.</b> Calibrado de fenol, catecol e hidroquinona.....	56
<b>Figura 33.</b> Evolución de la concentración de fenol, catecol, hidroquinona y resto de compuestos que se forman, con el tiempo de reacción.....	57
<b>Figura 34.</b> Representación gráfica de (a) oxidación de hidroquinona con catalizadores con diferentes funcionalizaciones, y (b) oxidación de hidroquinona con catalizadores con diferentes funcionalizaciones y normalizado a un porcentaje de Cu de 10%.....	59
<b>Figura 35.</b> Representación gráfica de (a) oxidación de 2,4-DCP con catalizadores con diferentes funcionalizaciones, y (b) oxidación de 2,4-DCP con catalizadores con diferentes funcionalizaciones y normalizado a un porcentaje de Cu de 10%.....	60
<b>Figura 36.</b> Representación gráfica de (a) oxidación de hidroquinona con catalizadores con diferentes grados de dopaje, y (b) oxidación de hidroquinona con catalizadores con diferentes grados de dopaje y normalizado a un porcentaje de Cu de 10%.....	61
<b>Figura 37.</b> Representación gráfica de (a) oxidación de 2,4-DCP con catalizadores con diferentes grados de dopaje, y (b) oxidación de 2,4-DCP con catalizadores con diferentes grados de dopaje y normalizado a un porcentaje de Cu de 10%.....	62

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Diagrama Gantt temporal de las tareas realizadas durante el trabajo.....	36
<b>Tabla 2.</b> Unidad fórmula para cada material obtenido mediante <sup>1</sup> H-RMN.....	45
<b>Tabla 3.</b> Datos de la fluorescencia de rayos X.....	46
<b>Tabla 4.</b> Valores de $V_{Max}$ y $K_M$ para la oxidación de fenoles y difenoles por el catalizador MOF-808@His-Cu100.....	55

## LISTA DE ACRÓNIMOS

MMOs	Metano monooxigenasa soluble
MMOp	Metano monooxigenasa particulada
MOF	Metal-Organic Framework
PCP	Polímero de coordinación poroso
MPS	Modificación postsintética
H <sub>3</sub> BTC	Ácido 1,3,5-tricarboxílico / ácido trimésico
BTC	1,3,5-tricarboxilato
His	L-Histidina
Cys	L-Cisteína
malic	Ácido L-(-)-málico
citric	Ácido cítrico
DMSA	Ácido (2R, 3S)-rel-2,3-dimercaptosuccínico
CWPO	Oxidación Húmeda Catalítica con Peróxido de Hidrógeno
2,4-DCP	2,4-diclorofenol
4-AAP	4-aminoantipirina
XRD	Difracción de rayos X
FTIR	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier
ATR	Reflectancia total atenuada
TGA	Análisis termogravimétrico
<sup>1</sup> H-NMR	Resonancia magnética nuclear de protón
EPR	Resonancia paramagnética electrónica
UV-Vis	Espectroscopía ultravioleta-visible
ERD	Espectroscopía de reflectancia difusa
XRF	Fluorescencia de rayos X
HPLC	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento
v <sub>0</sub>	Velocidad inicial
v <sub>max</sub>	Velocidad máxima
K <sub>M</sub>	Constante de Michaelis-Menten

# 1. INTRODUCCIÓN

La naturaleza, y en concreto los seres vivos, a través de millones de años de evolución, y como respuesta a las necesidades y presiones generadas por el entorno, han ido encontrando soluciones sofisticadas para coordinar iones metálicos con el objetivo de generar biotecnologías específicas y eficientes. A través del ensamblaje secuencial de unidades simples y repetitivas, los sistemas biológicos han conseguido construir estructuras tridimensionales complejas como las proteínas, las cuales poseen residuos funcionales colocados en configuraciones espaciales específicas. La disposición espacial y química de la secuencia de los aminoácidos que definen cada proteína, conforman los núcleos funcionales capaces de interactuar de manera selectiva y específica con iones metálicos o clústeres, y les dotan de funciones biológicas específicas (1-3).

## 1.1. Enzimas y ejemplos de metaloenzimas de cobre

Las enzimas son proteínas con estructuras únicas que se pliegan entre sí para generar sitios tridimensionales que proporcionan sitios de reconocimiento de sustratos específicos (4). Estas estructuras proteicas son catalizadores biológicos que llevan a cabo reacciones químicas a gran velocidad y con una especificidad muy alta. No obstante, requieren condiciones suaves o incluso muy concretas de temperatura, pH y presión para conseguir actuar correctamente (5). Además, una gran parte de las enzimas requieren de otras estructuras no proteicas para desempeñar su función, denominados cofactores. Éstos se pueden clasificar en metales o compuestos metaloorgánicos, y moléculas orgánicas o cofactores. Las enzimas que contienen iones o clústeres metálicos en su sitio activo se consideran metaloenzimas (6). A continuación se describen brevemente varias metaloenzimas que poseen centros catalíticos con cobre y sus entornos de coordinación. Estas enzimas resultan de especial interés en el presente trabajo, debido a que se van a generar estructuras que intenten reproducir sus centros catalíticos.

### 1.1.1. Lacasas (7)

Las lacasas son consideradas el miembro representativo más sencillo de la familia de las oxidasas multicobre azules. Esto se debe a que solo presentan un centro mononuclear y otro trinuclear, haciendo un total de cuatro átomos de cobre. Estas enzimas de cobre catalizan cuatro oxidaciones un electrón de un sustrato reductor, acopladas a la reducción de cuatro electrones de una única molécula de dioxígeno. Las lacasas son capaces de catalizar la oxidación de una gran variedad de sustratos aromáticos e inorgánicos, por lo que se caracterizan por su amplia versatilidad.

Por un lado, el cobre tipo 1 presente en las lacasas se encuentra como Cu(II) y se coordina de manera trigonal con el átomo de azufre de una cisteína y dos átomos de nitrógeno de los grupos imidazol de dos residuos de histidina. Por otro lado, el centro trinuclear se coordina a ocho histidinas. Los átomos de cobre tipo 3 se coordinan a seis de ellas, y las dos restantes coordinan al cobre tipo 2. Además, el par de átomos de cobre tipo 3 se unen por un ligando puente que contiene oxígeno.

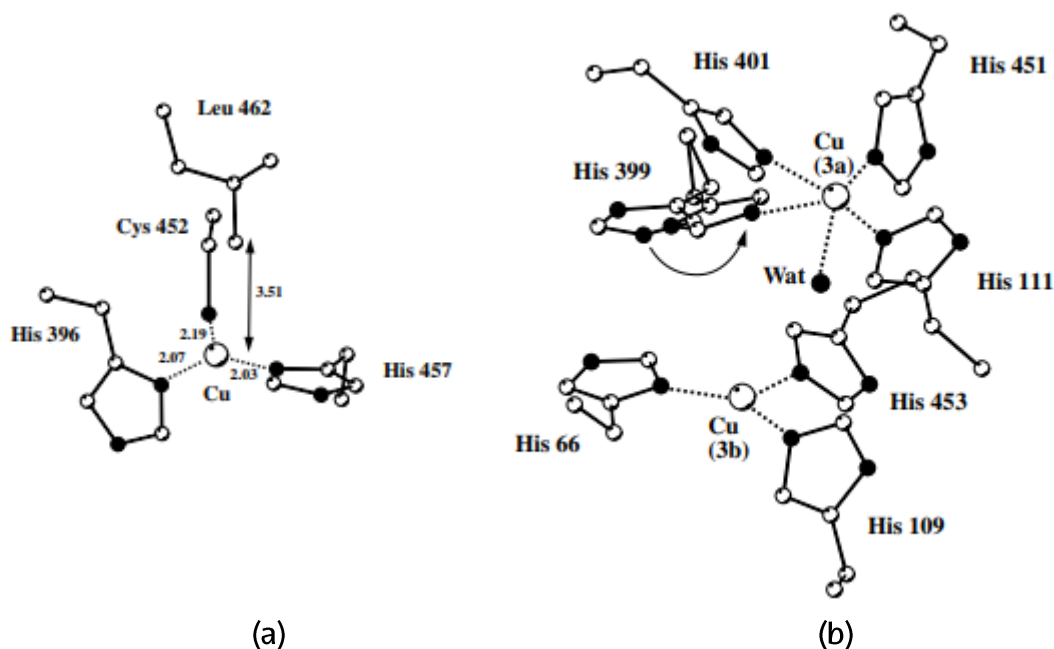


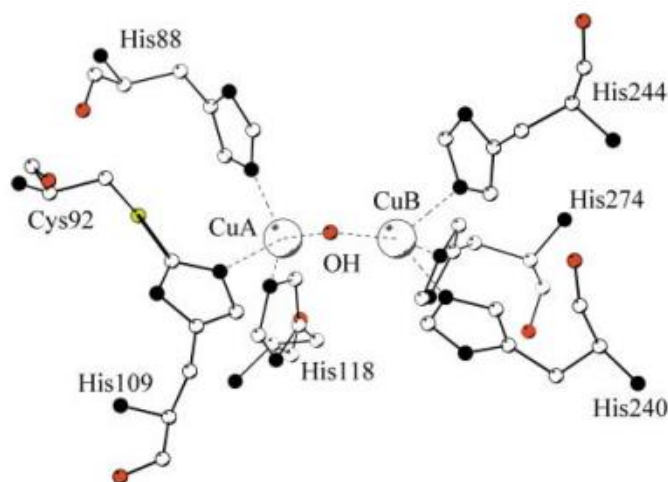
Figura 1. Representación esquemática del entorno de coordinación del (a) Cu tipo 1 del centro mononuclear, y de los (b) Cu tipo 3 de las lacasas (7).



### 1.1.2. Catecol Oxidasa (8)

La catecol oxidasa es una enzima que posee un centro catalítico dinuclear de cobre y cataliza principalmente la oxidación del catecol a través de la reducción de cuatro de electrones del oxígeno para formar agua. Gracias a dicha actividad catecolasa, también es capaz de oxidar sustratos con grupos catecol, y en ciertos casos sustratos fenólicos.

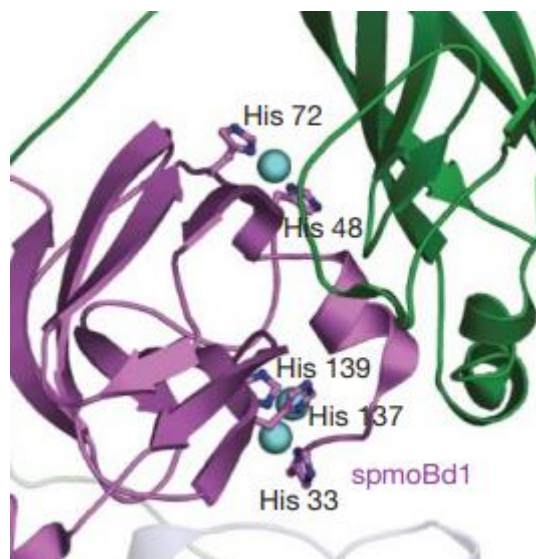
En la forma oxidada (forma activa) de la catecol oxidasa, los dos iones  $\text{Cu}^{2+}$  se encuentran coordinadas por seis residuos de histidina (tres histidinas para cada  $\text{Cu}^{2+}$ ), y ambos iones de cobre se unen por un ligando puente que suele ser un ion hidroxilo. De este modo, la geometría del entorno de coordinación en cada cobre es una pirámide trigonal con número de coordinación cuatro.



**Figura 2.** Representación esquemática del centro dinuclear de Cu de la catecol oxidasa en su forma oxidada (8).

### 1.1.3. Metano monooxigenasa (9)

En la naturaleza, las bacterias metanotróficas son capaces de oxidar el metano a metanol empleando las enzimas metano monooxigenasas. Este tipo de enzimas se diferencia en dos variantes: la metano monooxigenasa soluble (MMOs) y la metano monooxigenasa particulada (MMOp). La primera posee un centro catalítico formado por dos átomos de hierro, mientras que la MMOp tiene tres átomos de cobre. Dos de ellos forman un centro dicobre coordinado por tres residuos de histidina y el otro forma un centro monocobre coordinado por dos histidinas.



**Figura 3.** Imagen ampliada de los centros de Cu en la MMOp del *M. capsulatus*. Los átomos de Cu están representados por las esferas azules (9).

## 1.2. Catalizadores biomiméticos o bioinspirados

Las inigualables propiedades catalíticas de las enzimas ha generado un interés muy grande en el sector de la industria química. La evolución en el campo de la bioingeniería ha permitido adaptar enzimas y metaloenzimas para su uso industrial. Empleando técnicas modernas de biología molecular, es posible producir enzimas de manera barata mediante sistemas de sobreexpresión microbiana. Sin embargo, estos sistemas biológicos no son capaces de soportar condiciones más allá del rango en el cual se da la vida. Esto se debe a la baja estabilidad química y térmica de sus estructuras tridimensionales que se mantienen mediante enlaces e interacciones débiles (10, 11). Con el objetivo de solucionar dicho problema a la hora de su aplicación industrial, se están intentando utilizar complejos de coordinación o materiales que actúen como catalizadores que imiten a las enzimas y sus deseadas propiedades catalíticas. Las características compartidas entre nanomateriales y proteínas, como el tamaño, las propiedades de superficie o la capacidad de autoensamblaje, sugieren que los nanomateriales pueden emplearse para mimetizar proteínas (12). Las posibilidades tan variadas que ofrecen estas soluciones a la hora de generar entornos de coordinación y centros catalíticos permite la aplicación de catalizadores biomiméticos o bioinspirados en una infinidad de reacciones químicas y sustratos diferentes.

### 1.2.1. Catalizadores homogéneos como sistemas biomiméticos

Un primer acercamiento por imitar la actividad de las enzimas y metaloenzimas para poder aplicarlas a nivel industrial consiste en emplear catalizadores homogéneos que repliquen de alguna manera el centro catalítico de biocatalizadores. A continuación, se mencionan un par de ejemplos de este tipo de catalizadores centradas en diferentes aplicaciones.

En un trabajo publicado por Karlsson et al (13), sintetizaron un catalizador homogéneo a partir de un complejo dinuclear de manganeso. Este catalizador pretende imitar la actividad del fotosistema II, presente en los cloroplastos de las plantas, para oxidar el agua y formar  $H_2$  y  $O_2$ . Otro ejemplo podemos encontrar en la publicación de Zhao et al (14), en la que intentan replicar la actividad hidrogenasa de las enzimas [NiFe] hidrogenasas. Para conseguir esto, sintetizan complejos dinucleares y trinucleares de Ni con átomos de azufre actuando como puente entre ellos.

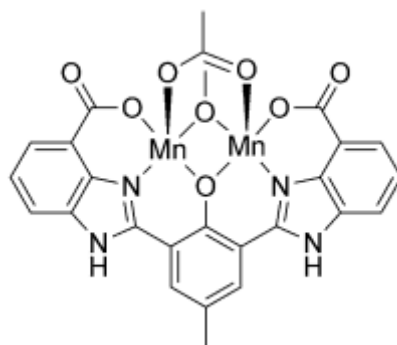


Figura 4. Complejo dinuclear de Mn sintetizado por Karlsson et al (13).

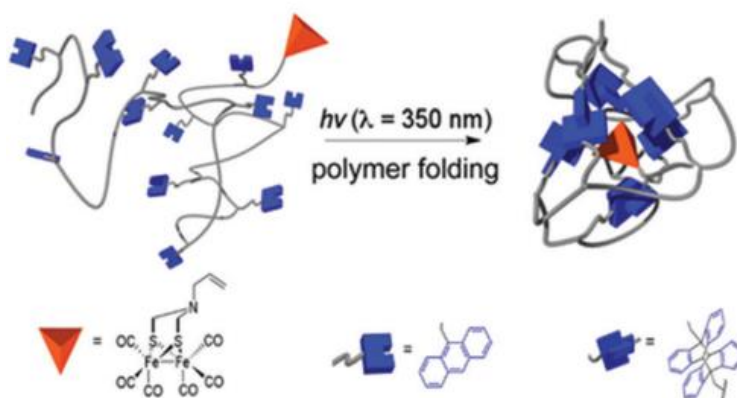
A pesar de que la vía de la catálisis homogénea empleando complejos de coordinación que imiten los centros activos de las enzimas o se inspiren en ellos pueda, en primera instancia, parecer un método muy eficaz, presenta ciertos problemas en la práctica. En medios de reacción líquidos, los catalizadores homogéneos necesitan de procesos de recuperación costosos para su recuperación una vez finalizada la reacción. Los métodos de destilación o extracción con disolventes orgánicos para recuperar el catalizador pueden encarecer el proceso y generar residuos orgánicos. Por ello, la catálisis heterogénea

se convierte en una opción más interesante, ya que necesita de procesos más convenientes como la filtración o centrifugación

### 1.2.2. Catalizadores heterogéneos como sistemas biomiméticos

Entre los soportes que se han empleado para generar catalizadores heterogéneos biomiméticos o bioinspirados se encuentran los polímeros, zeolitas, nanopartículas o MOFs. Varios ejemplos del empleo de estas estructuras para obtener catalizadores biomiméticos con diferentes tipos de actividad se muestran en los siguientes párrafos.

Varias publicaciones combinan las cadenas poliméricas con complejos de coordinación imitando centros activos de metaloenzimas, formando estructuras denominadas nanopartículas poliméricas de cadena única. Estas estructuras se generan gracias a que la cadena polimérica se pliega sobre sí misma tal y como ocurre en la estructura ternaria de las proteínas. De este modo, se consigue crear un sitio activo aislado al igual que en las enzimas. Utilizando esta idea se han logrado sintetizar catalizadores biomiméticos imitando la [FeFe] hidrogenasa (15) y, también, consiguiendo llevar a cabo la adición sulfa-Michael enantioselectiva en medio acuoso (16).



**Figura 5.** Representación del plegamiento de la cadena polimérica para formar el sitio activo aislado en el trabajo de Tooley et al (15).

En cuanto a las zeolitas, se han obtenido estructuras que son capaces de replicar la actividad de metaloenzimas de cobre como la MMOp. En el trabajo publicado por Vanelderen et al (17) emplean Cu-mordenita como catalizador heterogéneo que oxida el metano a metanol a temperaturas relativamente bajas y usando el O<sub>2</sub> de la atmósfera como agente oxidante. Esto es debido a los centros

activos Cu-O-Cu presentes en el material. En otra publicación, se ha demostrado que incorporando centros de Sn en una zeolita de topología beta se conseguía catalizar la condensación aldólica directa del gliceraldehído (18). Esta actividad catalítica se puede considerar análoga a las aldolasas de clase II, puesto que catalizan la reacción aldólica directa de la dihidroxiacetona fosfato (DHAP) y aldehídos.

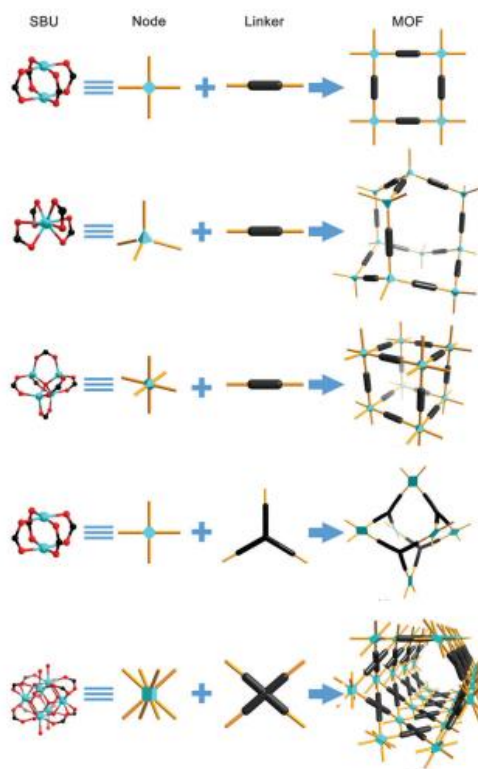
Entre los ejemplos que se pueden encontrar de materiales con nanopartículas que posean actividades de tipo enzimático, se encuentran estructuras porosas de CuO con actividad peroxidasa (19). Estas estructuras se preparan calcinando un precursor de cobre y muestran actividad peroxidasa, puesto que son capaces de oxidar rápidamente sustratos como el 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina, en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Por lo expuesto en los párrafos anteriores, se puede observar que hay diversas alternativas para generar catalizadores heterogéneos biomiméticos o bioinspirados. Asimismo, la variedad de tipos de actividades catalíticas que se pueden lograr es inmensa según los componentes, estructuras o precursores empleados y la metodología utilizada. No obstante, en este tipo de materiales el control del entorno de coordinación de los centros activos es limitado e incierto. Es por eso que los MOFs se presentan como una opción más interesante debido a su gran diversidad a la hora de generar estructuras y centros activos, además de la posibilidad de realizar modificaciones postsintéticas en el material.

### 1.3. Metal-Organic Frameworks

Los MOFs (Metal-Organic Frameworks), también conocidos como polímeros de coordinación porosos (PCPs), son una clase muy versátil y prometedora de materiales porosos. Estos tipos de materiales se forman a partir de nodos o centros metálicos, compuestos por iones metálicos o clústeres, y ligandos orgánicos que conectan los centros metálicos (20). Las diferentes geometrías que pueden tomar los entornos de coordinación de los centros metálicos dependiendo de los iones metálicos o clústeres empleados, y la gran variedad de moléculas que pueden emplearse como ligandos con diversos átomos dadores y disposiciones espaciales, permiten configurar una gran cantidad de estructuras diferentes (21). De hecho, según cómo se extiendan los enlaces de coordinación y los ligandos que forman el

polímero de coordinación, se pueden formar estructuras unidimensionales, en forma de cadenas; bidimensionales, en forma de láminas, o estructuras tridimensionales.



**Figura 6.** Representación de las diferentes estructuras que se pueden obtener combinando diversas geometrías de los centros metálicos y distintos tipos de ligandos (21).

Las propiedades más importantes de los MOFs se centran en su baja densidad, amplias superficies internas, naturaleza abierta y alto grado de porosidad. Además, estos materiales poseen varias ventajas significativas respecto a otros materiales porosos convencionales, como las zeolitas o materiales de carbón activo, debido a la posibilidad de modificar las funcionalizaciones químicas de la estructura, poseer arquitecturas versátiles y tener condiciones de síntesis más suaves. Como resultado de las virtudes de estos materiales, los MOFs se están empleando en un amplio rango de aplicaciones: adsorción de gases, separación, sensores, conducción de protones, liberación controlada de fármacos o catálisis (22).



### 1.3.1. Funcionalización de MOFs (23)

Tal y como se ha mencionado en el apartado anterior, una de las características que diferencian a los MOFs de otros materiales porosos es la posibilidad de sintetizar materiales a medida, ajustando los elementos que lo conforman y obtener las propiedades deseadas.

#### 1.3.1.1. Funcionalización presintética

Para ello se pueden nombrar tres estrategias para funcionalizar el material. La primera consiste en emplear ligandos funcionalizados que tengan grupos funcionales que no enlacen con los centros metálicos y queden libres en la estructura. La segunda, en cambio, se centra en el uso de centros metálicos previamente modificados sustituyendo a los centros metálicos convencionales. Finalmente, la tercera se basa en la incorporación de moléculas en la estructura del MOF sin que existan enlaces covalentes con este. No obstante, estos métodos de funcionalización que son llevadas a cabo antes o durante la síntesis del MOF, pueden presentar problemas durante la formación del material, tanto porque los grupos funcionales incorporados interfieren en el crecimiento de la estructura, como porque las condiciones de síntesis no son apropiadas. Asimismo, encontrar las condiciones de reacción adecuadas para generar un MOF nuevo puede consumir mucho tiempo, por lo que los precursores pre-funcionalizados tienen una aplicación limitada.

#### 1.3.1.2. Funcionalización postsintética

La alternativa a los métodos presintéticos que solventen los inconvenientes presentados radica en modificar químicamente el MOF después de obtener el material cristalino. Las ventajas que ofrece la modificación postsintética (MPS) de MOFs se pueden resumir en: la posibilidad de incluir grupos funcionales en la estructura cristalina sin las restricciones impuestas por las condiciones de síntesis, la mayor facilidad de aislar y purificar el MOF modificado puesto que se trata de un sistema heterogéneo, la libertad de modificar un mismo MOF con diferentes reactivos para conseguir MOFs con idéntica topología pero diferente funcionalización, y el control del tipo de sustituyente incorporado y el grado de funcionalización de este.

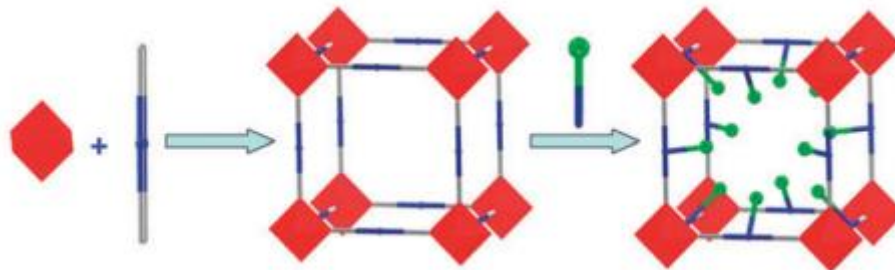


Figura 7. Esquema general del concepto de MPS en MOFs (23).

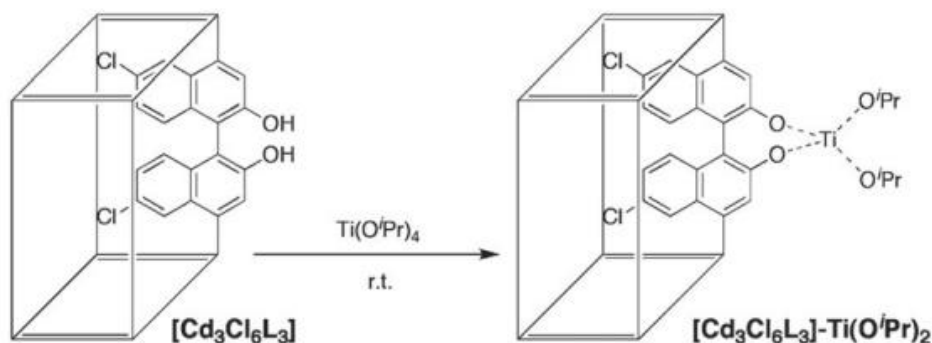
- MPS de MOFs por interacciones no covalentes

Es la vía postsintética más común, y se trata fundamentalmente de la extracción e intercambio de moléculas huéspedes y el intercambio iónico. Un punto a tener en cuenta es que en algunos MOFs, la retirada de las moléculas huésped que ocupan el espacio libre de la estructura puede ser perjudicial y provocar el colapso de la red cristalina.

- MPS de MOFs por interacciones coordinativas

Para este tipo de método postsintético existen dos aproximaciones diferentes. El primero se centra en las vacantes coordinativas de los centros metálicos que conforman el MOF. Bajo condiciones apropiadas, ciertos MOFs pueden desprenderse de ligandos auxiliares coordinados a los centros metálicos, lo cual genera vacantes coordinativas que pueden emplearse para funcionalizar el material. Por otro lado, la segunda aproximación se basa en hacer uso de grupos funcionales libres que posean los ligandos para enlazarlos a metales y formar complejos de coordinación. Sin embargo, comparado con el primer método, la posibilidad de tener grupos funcionales libres que puedan actuar como grupos dadores en un enlace de coordinación es más complicada, ya que, tal y como se ha mencionado previamente, dichos grupos funcionales pueden interferir durante la síntesis inicial en la formación del MOF deseado.





**Figura 8.** Ejemplo esquemático de MPS por interacciones coordinativas del MOF [Cd<sub>3</sub>Cl<sub>6</sub>L<sub>3</sub>] mediante un complejo de coordinación de Ti (24).

- MPS de MOFs por enlaces covalentes

Los métodos sintéticos que permiten la ruptura y formación de enlaces covalentes suponen la herramienta más potente de la química sintética. Puede parecer que la MPS de MOFs mediante la vía de modificaciones covalentes es más complicada debido a la mayor fuerza de estos enlaces respecto a las interacciones coordinativas más débiles que soportan la estructura cristalina. Sin embargo, la arquitectura periódica de estos materiales otorga una estabilidad química y térmica considerable. De hecho, se han conseguido realizar de manera exitosa acoplamiento de amidas, condensación de iminas, N-alquilaciones o reducciones en MOFs.

- MPS de MOFs en tándem

La estabilidad química y térmica de los MOFs permite llevar a cabo más de una MPS en el mismo material. La facilidad para separar los pequeños reactivos de los cristales del MOF ayudan a controlar de manera adecuada el proceso de MPS y, por lo tanto, el grado de modificación en cada paso.

- MPS de MOFs mediante protonación

Mientras que los grupos amino y carbonilo son particularmente atractivos para la modificación covalente de MOFs por su reactividad, la MPS de MOFs basada en reacciones más simples es también posible. De hecho, la protonación resulta ser una forma de modificación efectiva y directa para alterar las propiedades de algunos MOFs.

### 1.3.2. MOFs como catalizadores biomiméticos o bioinspirados

Dentro de los numerosos tipos de actividad enzimática que se pueden lograr mediante los MOFs, se encuentra la actividad tipo lacasa. Para ello se utilizan MOFs que contienen átomos de cobre en su estructura. Un par de ejemplos de estos MOFs se pueden encontrar en los trabajos de Shams et al (25), y Hu et al (26). En el primero, los átomos de cobre actúan de centros metálicos en la estructura del MOF Cu/H<sub>3</sub>BTC. En el segundo en cambio, los átomos de cobre se incorporan a la estructura del MOF UiO-67 mediante MPS por interacciones coordinativas. Este dopaje de Cu es posible debido a que a la hora de sintetizar el MOF inicial, se sustituye el ligando ácido bifeníl-4,4'-dicarboxílico por el ácido 2,2'-bipiridin-5,5'-dicarboxílico. Gracias a esto, los átomos de nitrógeno de los anillos piridínicos posibilitan la coordinación de los iones de Cu.

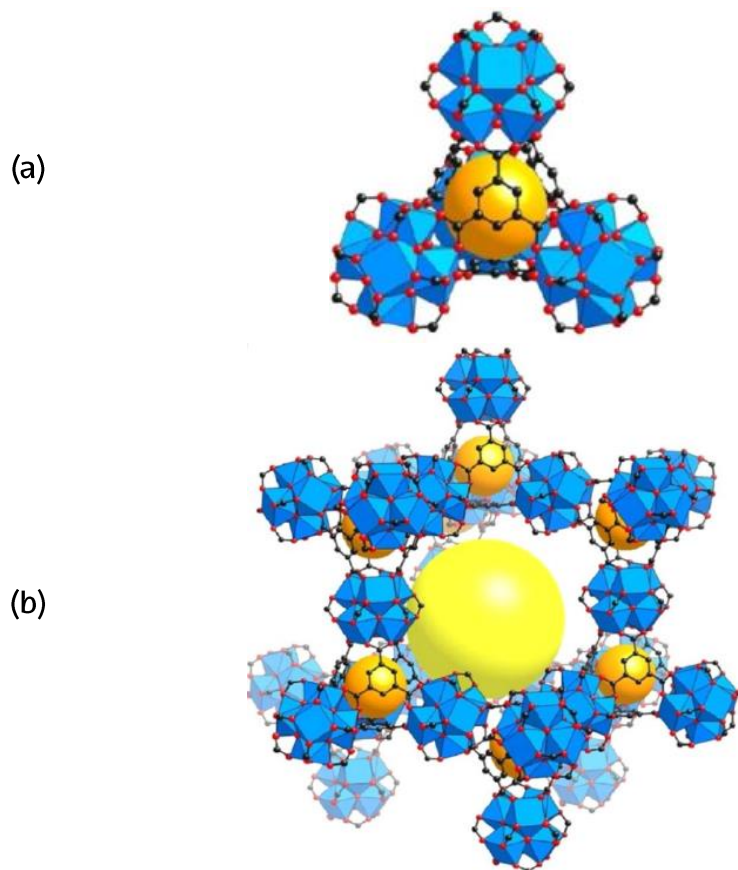
Otro tipo de actividad perteneciente a metaloenzimas de Cu que se ha conseguido a través de los MOFs es la actividad tipo MMOp. Un ejemplo de ello es la publicación de Ikuno et al (27), en la cual se sintetizan clústeres de óxidos de Cu mediante deposición de capa atómica sobre el MOF NU-1000. Los clústeres de Cu se depositan sobre los nodos del MOF, y tienen la capacidad de oxidar el metano con una selectividad del 45-60% a metanol y dimetiléter.

## 1.4. MOF-808

### 1.4.1. Descripción y características

El MOF-808 empleado en este trabajo posee clústeres de Zr<sub>6</sub>O<sub>4</sub>(OH)<sub>4</sub> como centros metálicos, unidos por 6 ligandos de benceno-1,3,5-tricarboxilato (BTC). Cada ligando a su vez enlaza a 3 clústeres, que generan 6 vacantes de coordinación ocupadas por moléculas del modulador empleado en la síntesis del material (generalmente ácidos monocarboxílicos de cadena corta como el ácido fórmico y el ácido acético) para neutralizar la carga. En la estructura tridimensional del MOF, se forman jaulas tetraédricas con diámetros internos de poro de 4,8 Å, con los clústeres inorgánicos en los vértices del tetraedro y los ligandos de BTC en las caras de este. Debido a que las jaulas tetraédricas comparten sus vértices, la conectividad general del MOF-808 se puede simplificar en una red ampliada con estructura de diamante. En dicha red, se forma un gran poro con forma de adamantano con un diámetro interno de 18,4 Å y una abertura de poro

pseudohexagonal con las moléculas de modulador coordinadas a los clústeres orientadas hacia el interior de la abertura (28).



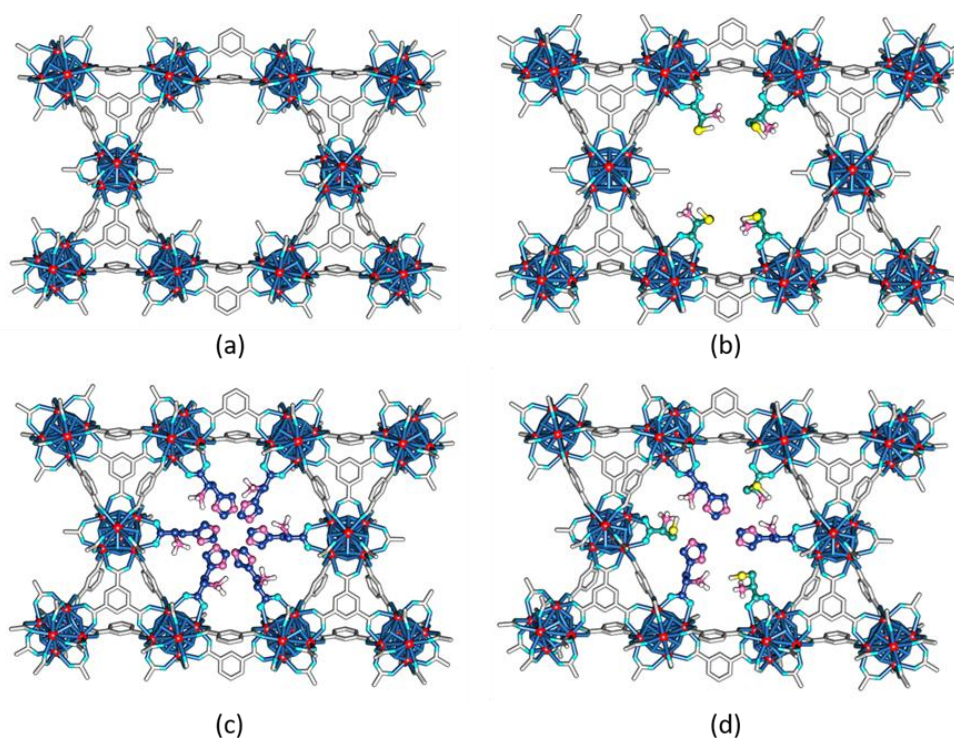
**Figura 9.** Representación de (a) la jaula tetraédrica y (b) el gran poro con forma de adamantano del MOF-808 (28).

#### 1.4.2. Funcionalización postsintética

Las 6 vacantes coordinativas existentes en cada clúster de Zr que son ocupadas por moléculas lábiles, y la orientación de dichas posiciones, son muy interesantes para poder realizar una MPS de interacciones coordinativas y ocupar esas vacantes con diversas moléculas que generen entornos de coordinación relativamente similares a los que se pueden encontrar en metaloenzimas. En este trabajo nos hemos centrado en emplear iones de cobre como centros activos, por lo que nos hemos fijado en gran medida en las metaloenzimas de cobre. Tal y como se ha explicado previamente, las histidinas son los residuos más comunes a la hora de coordinar el cobre en las enzimas. Por lo tanto, la primera aproximación que se

ha realizado es la funcionalización del MOF-808 con moléculas de L-histidina. En un principio, los grupos carboxilato de estos aminoácidos se coordinan a los centros metálicos del MOF, y los grupos imidazol quedan orientados hacia el interior de la ventana del poro.

A parte de funcionalizar el material con histidina, en el trabajo se plantea el uso de otros aminoácidos, moléculas o incluso una mezcla de dos de ellos para evaluar la influencia del entorno de coordinación del metal en la actividad catalítica posterior. Las moléculas empleadas han sido la L-cisteína, ácido málico, ácido cítrico y ácido 2,3-dimercaptosuccínico. Además, se ha realizado una funcionalización combinando histidina y cisteína.



**Figura 10.** Representación esquemática de la ventana de poro pseudo-hexagonal del MOF-808 (a) previo a la funcionalización, (b) funcionalizado con cisteína, (c) funcionalizado con histidina y (d) funcionalizado con cisteína e histidina a proporciones iguales.

Una vez funcionalizado el MOF-808 con los aminoácidos o moléculas correspondientes, se ha instalado el Cu de forma controlada en las posiciones de coordinación proporcionadas por la propia funcionalización por inmersión del material en una disolución acuosa del metal en cuestión. La concentración de la

disolución permite controlar el grado de dopaje de metal, así como su presencia en forma de centros aislados u oxo-clústeres más complejos. En el trabajo se evalúa el efecto de diferentes grados de dopaje a la hora de catalizar la reacción de interés.

## 1.5. Proceso catalítico de interés

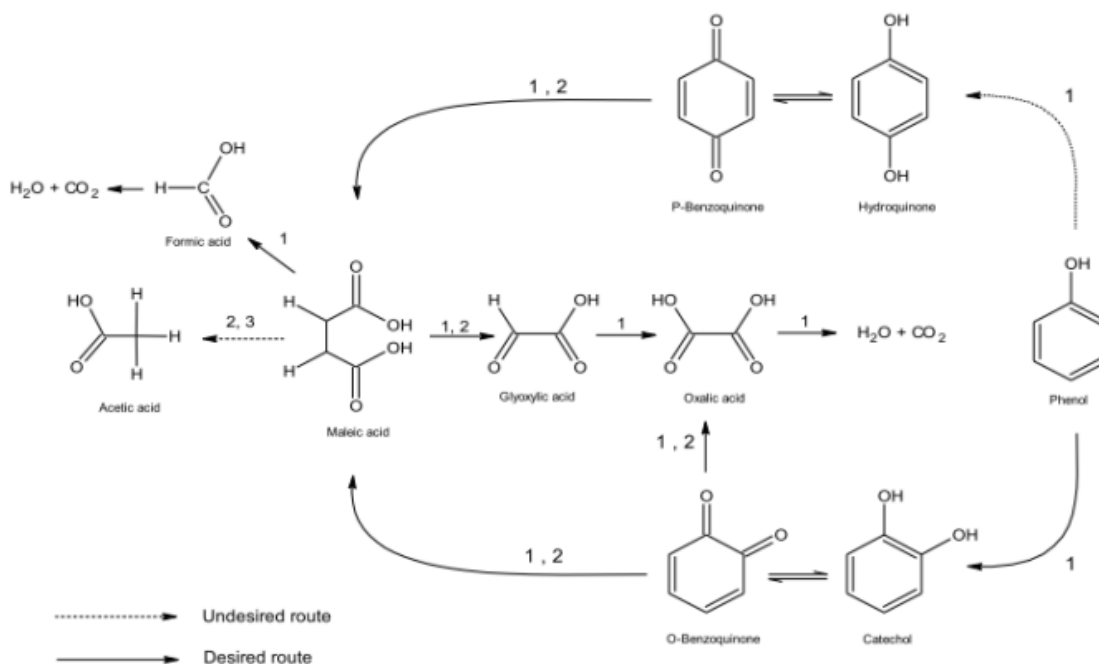
### 1.5.1. Oxidación Húmeda Catalítica con Peróxido de Hidrógeno

Las aguas residuales fenólicas provenientes de industrias petroquímicas, farmacéuticas o del carbón, suponen un serio problema medioambiental y son difíciles de tratar por biodegradación. Para intentar dar solución a esta cuestión, se han estudiado tecnologías basadas en biodegradación, fisorción y oxidación tanto química como foto-catalítica. La biodegradación es adecuada para tratar aguas residuales con una concentración de contaminantes por debajo de 1000 mg/L, mientras que la adsorción física es capaz de funcionar en un rango de concentraciones mayor. Sin embargo, este tipo de adsorbentes necesitan ser regenerados durante el proceso. Por otra parte, el método de la oxidación química puede ser capaz de mineralizar completamente los contaminantes transformándolos en H<sub>2</sub>O y CO<sub>2</sub> (29).

Entre los procesos de oxidación química existentes, la Oxidación Húmeda Catalítica con Peróxido de Hidrógeno (Catalytic Wet Peroxide Oxidation, CWPO), el cual se basa en el proceso Fenton, es una de las más prometedoras para degradar compuestos orgánicos fenólicos. Se trata de una tecnología de bajo coste, puesto que no necesita de materiales o equipos especiales, y opera bajo condiciones suaves (e.g. presión atmosférica y bajas temperaturas). Para llevar a cabo este tipo de oxidación se emplea peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) como agente oxidante, y un catalizador adecuado para promover la descomposición parcial del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y formar radicales hidroxilo (HO·). Estos radicales son especies muy reactivas que son capaces de degradar la mayoría de los compuestos contaminantes presentes en aguas residuales. Además, la CWPO posee otra ventaja significativa: el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es considerado un agente respetuoso con el medio ambiente, puesto que sus productos finales de degradación son oxígeno y agua. Por lo tanto, las tecnologías que se apoyan en la CWPO para el tratamiento de aguas se han vuelto muy interesantes y atractivas desde un punto de vista medioambiental (30). A pesar de la ventaja que supone emplear el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como agente oxidante, los compuestos



aromáticos que se forman como primeros productos de la oxidación del fenol, tales como catecol, hidroquinona o benzoquinona, proporcionan niveles más altos de toxicidad que el propio fenol. Por esta razón, es importante que el catalizador empleado sea capaz de oxidar estos nuevos compuestos que se van formando hasta provocar la ruptura del enlace C-C de las benzoquinonas y generar ácidos dicarboxílicos. A partir de la oxidación de estos ácidos se puede conseguir la mineralización completa del contaminante fenólico inicial (31).

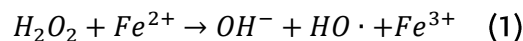


**Figura 11.** Diagrama del mecanismo de degradación del fenol por la oxidación de tipo Fenton. Las etapas de reacción incluyen 1. Oxidaciones, 2. Rupturas de enlace C-C, 3. Transferencia de hidrógeno (31).

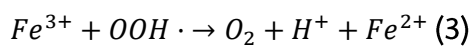
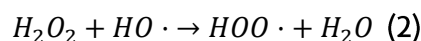
### 1.5.2. Proceso Fenton

A finales del siglo XIX, el investigador británico Henry John H. Fenton publicó un trabajo en el que informaba por primera vez de la oxidación catalítica de compuestos orgánicos utilizando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como agente oxidante (32). En dicho trabajo se observó que se podía oxidar el ácido tartárico empleando pequeñas cantidades del catión hierro(II) (Fe<sup>2+</sup>) y distintos agentes oxidantes, siendo el más eficaz el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En los 1930s, Fritz Haber y Joseph J. Weiss concluyeron que la especie activa no era el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por sí mismo, sino que eran los radicales hidroxilo generados a partir de la reacción del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con el radical superóxido (reacción Haber-Weiss) (33). Según estos autores, la descomposición del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ocurre mediante la interacción de este

compuesto con el  $Fe^{2+}$  en medio ácido, resultando en la oxidación del  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$  y la formación de iones  $OH^-$  y radicales  $HO\cdot$  (34), tal y como se indica en la Ec. (1).



La demostración de la participación del  $Fe^{2+}$  como catalizador no llegó hasta principios de los 1950s, cuando se propuso un mecanismo de dos pasos en los cuales el  $Fe^{2+}$  se regeneraba a partir del  $Fe^{3+}$  para cerrar el ciclo catalítico (35). En el primer paso, el  $H_2O_2$  reacciona con los radicales  $HO\cdot$  formando radicales hidroperoxilo ( $HOO\cdot$ ) y agua, como se observa en la Ec. (2). Mientras que en el segundo paso, el  $HOO\cdot$  reduce el  $Fe^{3+}$ , recuperando así el  $Fe^{2+}$ , como se indica en la Ec. (3).



### 1.5.3. Ejemplos de MOFs empleados para la CWPO

En la literatura se pueden encontrar varias publicaciones en las que se emplean MOFs como soportes para obtener catalizadores que puedan realizar la CWPO. A continuación, se mencionan dos de estas publicaciones.

En el trabajo publicado por Pan et al(29), emplearon el UiO-66 como soporte de especies activas de Cu. Después de incorporar el Cu por impregnación húmeda, calcinaron los materiales para obtener los catalizadores finales. El Cu-UiO-66 calcinado lo utilizaron para la CWPO de concentraciones altas de 4-clorofenol, consiguiendo una conversión del 98% a los 20 minutos, y una conversión total a los 40 minutos.

En otro trabajo realizado por Gholipour y Hosseini (36), sintetizaron un MOF de Cu con ácido 1,4-benzenodicarboxílico como ligando. Este catalizador lo emplearon para la CWPO de fenol. Después de optimizar las condiciones de reacción (concentración de fenol, concentración de catalizador y temperatura), obtuvieron una conversión del 92% en 30 minutos de reacción.

## 1.6. Motivación del trabajo y objetivos

La motivación principal del trabajo presentado se centra en el estudio de un sistema de catalizadores novedoso basado en el uso del MOF-808 como soporte para biomimetizar enzimas, mediante la funcionalización con diversas moléculas (aminoácidos, ácido carboxílicos, etc.). En el caso de este trabajo en concreto, las enzimas seleccionadas para biomimetizar han sido las oxidasas de cobre, y la reacción modelo la CWPO. Sin embargo, la flexibilidad de este sistema de catalizadores es muy grande. Se pueden emplear muchos tipos de moléculas para funcionalizar el MOF-808 y generar entornos de coordinación presentes en otras enzimas o entornos de coordinación únicos. Asimismo, se pueden dopar estos materiales con muchos tipos de iones y clústeres metálicos para optimizar la actividad del catalizador. Por esta razón, este tipo de catalizadores se pueden diseñar tanto para reacciones de oxidación de compuestos contaminantes en aguas residuales, como para oligomerización de etileno, o para reacciones enantioselectivas con el fin de generar compuestos de alto valor añadido en sectores como el farmacéutico.

Los objetivos del trabajo presentado se engloban en los siguientes puntos:

- Sintetizar y funcionalizar, con aminoácidos y ácidos carboxílicos (histidina, cisteína, ácido málico, ácido cítrico y DMSA), el MOF-808 para generar entornos de coordinación semejantes a metaloenzimas de cobre naturales.
- Estudiar la actividad catalítica del catalizador biomimético generado para la CWPO de diferentes contaminantes.
- Estudiar la influencia del entorno de coordinación del metal en la actividad catalítica empleando materiales a partir de MOF-808 con diferentes funcionalizaciones.
- Estudiar la influencia del grado de dopaje de metal en la formación de centros metálicos aislados u oxo-clústeres, y la repercusión del grado de dopaje en la actividad catalítica.
- Conseguir un grado de conversión de degradación o mineralización de fenol en medio acuoso cercano al 90%.



## 2. METODOLOGÍA SEGUIDA EN EL DESARROLLO DEL TRABAJO

En esta sección se describirán los reactivos, equipos y procedimientos empleados para sintetizar los catalizadores y caracterizarlos mediante diferentes técnicas. Además, se explicará la metodología utilizada en los ensayos catalíticos realizados.

### 2.1. Síntesis de los catalizadores

#### 2.1.1. Reactivos empleados

Para la síntesis del MOF-808, el cloruro de zirconio(IV) ( $ZrCl_4$ , 98% de pureza con 1-2% de cloruro de hafnio(IV)) se obtuvo de Alfa Aesar y el ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico o ácido trimésico ( $H_3BTC$ , 95% de pureza) de Sigma Aldrich.

En la funcionalización del MOF-808, la L-Histidina (His, pureza > 98%) se obtuvo de Thermo Fisher Scientific, la L-Cisteína (Cys, pureza >97%) de Sigma Aldrich, el ácido L-(-)-málico (malic, pureza del 97%) de Alfa Aesar, el ácido cítrico (citric) monohidratado de LABKEM, y el ácido (2R, 3S)-rel-2,3-dimercaptosuccínico (DMSA) de Fluorochem. Asimismo, como fuente de Cu(II) para dopar el MOF-808 funcionalizado se empleó cloruro de cobre(II) dihidratado ( $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ , extra puro) de Acros Organics.

Finalmente, para las pruebas de catálisis se utilizaron como reactivos: fenol (pureza > 99,5%), catecol (pureza > 99,0%) y 2,4-diclorofenol (2,4-DCP, pureza > 98,0%) de TCI Chemicals, e hidroquinona (pureza > 99%) de Sigma Aldrich. Además, también se emplearon 4-aminoantipirina (4-AAP, pureza del 97%) obtenido de Alfa Aesar, y  $H_2O_2$  (30% w/v en agua) de Panreac.

#### 2.1.2. Síntesis del MOF-808

La obtención del MOF-808 se realizó mediante síntesis solvotermal. Para ello se disolvieron 3,5 g (15 mmol) de  $ZrCl_4$  en 40 mL de una mezcla de agua y ácido acético en proporción 1:1 en volumen, y 1,05 g (5 mmol) de  $H_3BTC$  en otros 40 mL de la misma mezcla de disolventes. Se utilizó un reactor de borosilicato de 250 ml en el que se añadieron ambas disoluciones, y se introdujo en un baño de silicona con agitación magnética a 105 °C durante 24 horas.

Una vez finalizada la reacción, se separó el MOF en forma de precipitado blanco mediante centrifugación. En un segundo paso se retiró el sobrenadante, y se lavó 3 veces con 40 ml de agua y otras 3 veces con 40 ml de metanol a lo largo de un periodo de 24 horas para cada disolvente. Entre cada lavado, el sólido se recuperó vía centrifugación, descartándose el sobrenadante del proceso. El precipitado final se secó en una estufa a 80 °C durante la noche, y se almacenó en un recipiente cerrado en condiciones ambientales.

### 2.1.3. Funcionalización del MOF-808

Las funcionalizaciones del MOF se efectuaron a través de disoluciones acuosas de histidina, cisteína, ácido málico y ácido cítrico, y una disolución de DMSA en metanol, con una concentración de 0,05 M. En la funcionalización con la mezcla de histidina y cisteína, ambos compuestos se encontraban con una concentración de 0,025 M. Se dispersaron 500 mg de MOF-808, previamente secado a 80 °C, en 250 ml de la disolución de los aminoácidos o ácido carboxílicos correspondientes. La mezcla se introdujo en un baño de silicona con agitación magnética a 60 °C durante 24 horas.

Una vez centrifugada la suspensión, se recuperó el sólido descartando el sobrenadante. El MOF-808 funcionalizado se lavó 2 veces con 40 ml de agua y 2 veces con 40 ml de metanol, y entre cada lavado el sólido se recuperó por centrifugación. En el caso del MOF-808 funcionalizado con DMSA, el precipitado se lavó 3 veces con 40 ml de metanol. El secado se realizó en una estufa a 60 °C durante la noche, y en todos los casos se consiguió un sólido blanco en apariencia de color muy similar al material inicial.

### 2.1.4. Dopaje con Cu de los MOF-808 funcionalizados

Se sumergieron 100 mg de los MOF-808 funcionalizados en 20 ml de disoluciones de Cu(II) con concentraciones de 10, 100 y 1000 mg/L durante 30 minutos. Después de eso, se recuperaron los materiales resultantes por centrifugación y posteriormente, fueron lavados 2 veces con 20 ml de agua y otras 2 veces con 20 ml de metanol. Al igual que en los procedimientos anteriores, los sólidos se recuperaron mediante centrifugación entre cada lavado. Finalmente, los precipitados se secaron en una estufa a 80 °C.

Los materiales obtenidos presentaban colores azules de mayor o menor intensidad debido a la incorporación del Cu(II). Sin embargo, en los MOFs funcionalizados con moléculas que poseen grupos tiol como la cisteína y el DMSA, el color final de la muestra se tornaba verde, o, incluso, de color marrón claro a oscuro, dependiendo de la cantidad de Cu(II) incorporada.

## 2.2. Caracterización de los catalizadores

### 2.2.1. Difracción de rayos X en polvo (XRD)

Los patrones de difracción de rayos X se obtuvieron mediante un difractómetro Philips X'PERT utilizando radiación de cobre ( $\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$ ) en el rango de  $5^\circ < 2\theta < 70^\circ$ , con un incremento progresivo de  $0,026^\circ$  por paso y un tiempo de exposición por paso de 60 segundos.

La comparación y ajuste de los perfiles de difracción se realizó mediante el paquete de programas FULLPROF suite. Se realizaron los ajustes de perfil completos partiendo del grupo espacial y los parámetros de celda del MOF-808 determinados por Furukawa y colaboradores(28).

### 2.2.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)

Los espectros FTIR-ATR se realizaron con un espectrómetro Jasco FT/IR-6100. Se registraron en la región comprendida entre  $600$  y  $4000 \text{ cm}^{-1}$  con una resolución de  $4 \text{ cm}^{-1}$ . Se midieron 64 espectros por muestra, promediándose para obtener los datos finales. Antes de realizar cada medida se adquirió la señal de fondo para sustraerla de la posterior medida de la muestra.

### 2.2.3. Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico se llevó a cabo en un equipo TGA/SDTA851e de Mettler-Toledo. Las medidas se realizaron en atmósfera de aire sintético ( $80\% \text{ N}_2 / 20\% \text{ O}_2$ ) con un flujo de aire de  $40 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$  y en el intervalo de temperaturas  $20$ - $700 \text{ }^\circ\text{C}$  con una rampa de calentamiento de  $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$

#### 2.2.4. Resonancia magnética nuclear de protón (<sup>1</sup>H-NMR)

Para obtener la fórmula molecular de los bloques de construcción tanto del MOF-808 original como del MOF funcionalizado, se realizaron análisis de resonancia magnética nuclear de protones en un Bruker AVANCE 500 a 500 Hz, introduciendo las muestras en una solución de NaOH 1 M a base de D<sub>2</sub>O, para digerir la estructura MOF.

Al integrar las señales asociadas a los (amino)ácidos y el pico de la huella digital (8,26 ppm) asociado a las moléculas de ácido trimésico, se calculó la funcionalidad de (amino)ácido por unidad de fórmula. Para realizar dicho cálculo, se despreciaron los posibles defectos de ligando en la estructura, y se consideró que la fórmula ideal contiene dos moléculas de BTC.

#### 2.2.5. Resonancia paramagnética electrónica (EPR)

Los espectros EPR se registraron a temperatura ambiente y 10 K utilizando un espectrómetro Bruker ELEXSYS 500 (banda X). El espectrómetro se equipó con un resonador de superalto Q ER-4123-SHQ y las muestras se colocaron en tubos de cuarzo. Para establecer una comparación cualitativa de las muestras se utilizó aproximadamente la misma cantidad de muestra y grado de empaquetamiento dentro de los tubos de cuarzo para todas las muestras. El campo magnético se calibró con una sonda de RMN y la frecuencia dentro de la cavidad (~9,395 GHz) se determinó con una frecuencia MW integrada.

#### 2.2.6. Espectroscopía ultravioleta-visible en sólido (UV-Vis en sólido)

La capacidad de absorción del láser de las muestras de polvo se midió mediante espectroscopía de reflectancia difusa (ERD). La ERD se llevó a cabo en el rango de longitud de onda de 200-2200 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible-NIR V-770 Jasco equipado con una esfera integradora de 150 mm de diámetro recubierta con Spectralon con una resolución espectral de 1 nm. Se usó una referencia espectral para medir el 100 % de reflectancia y se usaron atenuadores internos para determinar la reflectancia cero a fin de eliminar el fondo y el ruido. Los polvos se colocaron en una cubeta de cuarzo, se sellaron y se montaron en un portamuestras de teflón para la medición de DRS. Los espectros de reflectancia medidos se convirtieron posteriormente en factores de absorción

de Kubelka-Munk (K-M) para evaluar los espectros de absorción de los polvos. Esta conversión se realizó utilizando la ecuación K-M:  $f(R) = (1 - R^2) / 2R$ , siendo R la reflectividad láser medida de los polvos.

### 2.2.7. Fluorescencia de rayos X (XRF)

Los análisis se efectuaron empleando un espectrómetro secuencial de fluorescencia de rayos X por dispersión de longitud de onda (WDXRF), de la marca PANalytical, modelo AXIOS, dotado con un tubo de Rh, y tres detectores (flujo gaseoso, centelleo y sellado de Xe).

Se realizó el análisis semicuantitativo de cada muestra en polvo mediante software standardless. Este software se basa en la medida de un conjunto de scans, con diferentes cristales analizadores, para determinar la presencia de los distintos elementos. La valoración (semi)cuantitativa se realiza en base al método de Parámetros Fundamentales y a la calibración/sensibilidad instrumental determinada por el software en base a un pequeño conjunto de muestras-patrón, asociado al propio software.

## 2.3. Ensayos catalíticos

### 2.3.1. Oxidación Húmeda Catalítica con Peróxido de Hidrógeno (CWPO) de compuestos fenólicos y difenólicos con MOF-808@His-Cu

Los ensayos iniciales consistieron en oxidar fenol, catecol, hidroquinona y 2,4-DCP con el catalizador MOF-808@His-Cu. Se empleó 4-AAP para generar una reacción cromogénica (figura 12) y poder seguir la reacción mediante espectrofotometría UV-Vis (26). La reacción se testeó con la adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como oxidante.

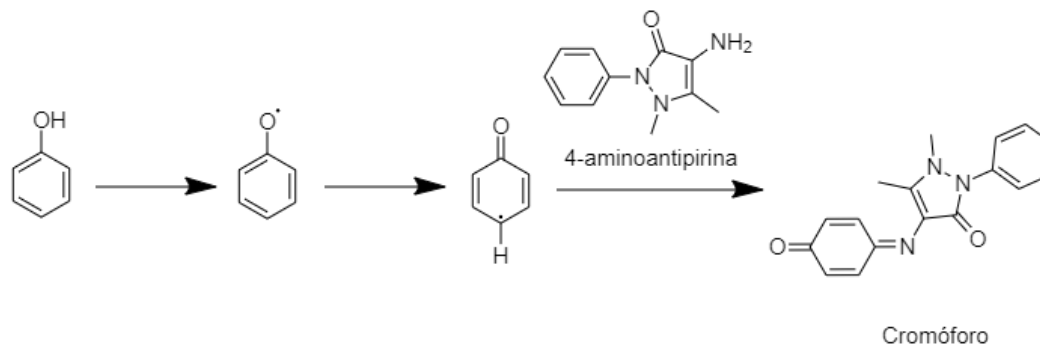


Figura 12. Reacción de fenol con 4-AAP para formar el cromóforo.

Las condiciones de reacción utilizadas fueron 100 mg/L de catalizador, concentraciones variables de reactivo, 500 mg/L de 4-AAP y 2% en volumen de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, en condiciones tipo batch y, a temperatura ambiente y presión atmosférica. El volumen total de reacción fueron 2 ml y todos los compuestos estaban disueltos o dispersos en agua destilada. Como blanco de referencia se utilizaron las mismas condiciones y cantidades de cada compuesto pero suprimiendo el catalizador.

La generación de color debida a la oxidación del contaminante y su unión a la 4-AAP, se siguió mediante un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis de Thermo Scientific. Se emplearon cubetas de plástico con 1 cm de paso de luz y se tomaron medidas de absorbancia a una longitud de onda de 510 nm cada 10 segundos durante 30 minutos. Se tomó 750 nm como longitud de onda de referencia para obtener un valor de absorbancia corregido y eliminar la influencia de la dispersión del catalizador en la medida.

### 2.3.2. Monitorización de la degradación de fenol por HPLC

El equipo de cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) empleado fue un Agilent 1200, y se realizó una cromatografía en fase reversa utilizando la columna ZORBAX SB-C18 (3.0 mm x 150 mm x 3.5 μm) de Agilent, y agua como fase móvil. La velocidad de flujo empleada fue de 0,400 ml/min, la temperatura de la columna fue de 30 °C, se inyectaron 10 μl por medida y se optó por un detector UV-VIS a 210 nm de longitud de onda.

El calibrado del fenol, catecol e hidroquinona se realizó a partir de diluciones de disoluciones madre de 1000 mg/L. Se prepararon 6 patrones con

concentraciones diferentes de cada compuesto: 0, 20, 50, 100, 250 y 500 mg/L. Las medidas se repitieron 3 veces por cada disolución patrón.

El ensayo de degradación de fenol se realizó en condiciones tipo batch en un vial cerrado con agitación y con condiciones de temperatura ambiente y presión atmosférica. En un volumen total de reacción de 20 ml, se añadieron 200 mg/L de MOF-808@His-Cu, 400 mg/L de fenol y 5% en volumen de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, siendo agua el disolvente empleado. Se tomaron muestras de la reacción a 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240 y 1200 minutos con una jeringuilla y filtradas con un filtro de 0,2 µm para eliminar los restos de catalizador. Se realizaron 3 medidas por muestra.

### **2.3.3. Comparación de la actividad catalítica según la funcionalización y grado de dopaje de Cu**

Por un lado, se comparó la actividad de los catalizadores con diferentes funcionalizaciones que tuvieran la proporción más parecido posible de Cu incorporado. Por otro lado, también se hizo una comparación entre los MOF-808@Cys-Cu con diferente cantidad de Cu incorporado. Para ambos casos se emplearon dos reactivos diferentes: hidroquinona y 2,4-DCP.

Las condiciones de reacción para los ensayos con hidroquinona fueron: 200 mg/L de catalizador, 200 mg/L de hidroquinona, 500 mg/L de 4-aminoantipirina y 5% en volumen de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En cambio, para los ensayos con 2,4-DCP se usaron: 150 mg/L de catalizador, 300 mg/L de 2,4-DCP, 500 mg/L de 4-aminoantipirina y 5% en volumen de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ambos ensayos se realizaron en condiciones batch a temperatura ambiente y presión atmosférica, con 2 ml de volumen total y el blanco de referencia utilizado fue agua destilada.

Las medidas se hicieron igual que en el apartado 2.3.1., pero en esta ocasión se tomaron medidas de absorbancia a 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos.

## 2.4. Diagrama de Gantt

Las tareas realizadas se dividieron en:

- a) **Síntesis** del MOF-808 policristalino mediante métodos solvotermales para modificaciones post-sintéticas.
- b) **Funcionalización** del MOF-808 con disoluciones de diferentes compuestos: L-histidina, L-cisteína, ácido málico, ácido cítrico, ácido 2,3-dimercaptosuccínico y mezcla de L-cisteína/L-histidina.
- c) **Adsorción de Cu(II)** empleando los MOF-808 funcionalizados.
- d) **Caracterización estructural** de los materiales obtenidos mediante difracción de rayos X en polvo con el objetivo de determinar la cristalinidad y controlar la degradación y/o variación de su estructura con las modificaciones post-sintéticas.
- e) **Caracterización química** mediante diversas técnicas instrumentales: espectroscopía infrarroja, análisis termogravimétrico, resonancia magnética nuclear, resonancia paramagnética electrónica, espectroscopía ultravioleta-visible y fluorescencia de rayos X. Estas técnicas permiten dilucidar tanto el número de funcionalizaciones introducidas en el MOF-808 por fórmula unidad como la cantidad de iones metálicos adsorbidos y su entorno de coordinación dentro del material.
- f) **Medidas de catálisis** en condiciones batch y detección mediante espectroscopía UV-VIS para la oxidación de compuestos fenólicos o difenólicos empleando peróxido de hidrógeno como oxidante y 4-aminoantipirina.
- g) **Monitorización de la oxidación** de fenol, como compuesto modelo, mediante HPLC con uno o varios de los catalizadores sintetizados. De este modo se puede controlar el transcurso de la reacción y la aparición de los productos sin tener que emplear reactivos adicionales como la 4-aminoantipirina.
- h) **Redacción de la memoria** escrita.



**Tabla 1.** Diagrama Gantt temporal de las tareas realizadas durante el trabajo.

<u>Tareas</u>	<u>2021-2022</u>							
	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun
a) Síntesis								
b) Funcionalización								
c) Adsorción de iones metálicos								
d) Caracterización estructural								
e) Caracterización química								
f) Medidas de catálisis								
g) Monitorización de la oxidación								
h) Redacción de la memoria								

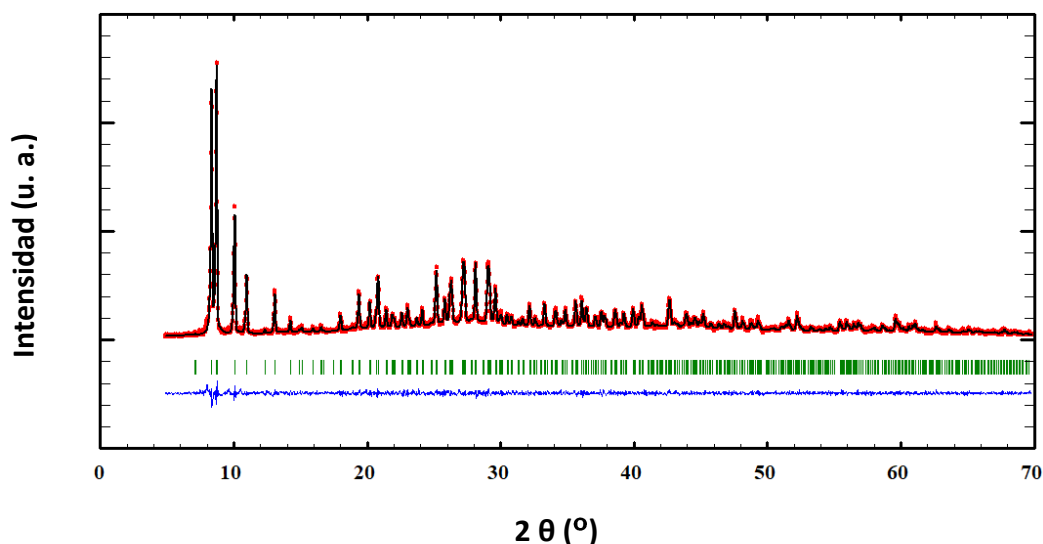
## 3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Caracterización de los catalizadores

#### 3.1.1. Difracción de rayos X (XRD)

El material inicial, MOF-808, así como los modificados con aminoácidos y ácidos dicarboxílicos, y los dopados con cobre, se han estudiado inicialmente mediante difracción de rayos X. La técnica de difracción de rayos X en polvo permite conseguir un patrón de difracción en el que la posición y la intensidad relativa de los máximos de difracción están estrechamente relacionados con la estructura cristalina del mismo. La comparación del patrón de difracción experimental con el simulado a partir de la información estructural del material, nos permite observar si el material se ha obtenido como una fase pura, si la cristalinidad del material es la adecuada, y si la intensidad relativa de los máximos de difracción se mantiene en comparación con la del modelo estructural inicial.

Además de una comparación cualitativa, para el MOF-808, se realizó un ajuste de perfil completo del patrón de difracción partiendo de los parámetros de celda y el grupo espacial obtenidos en el fichero de información cristalográfica del material obtenido en la publicación de Furukawa y colaboradores ("cif" o crystallographic information file) (28). Dicho ajuste se muestra en la figura 13. En él se observa que los máximos de difracción teóricos prácticamente coinciden en posición e intensidad con los datos experimentales, lo que nos indica que el material conseguido no presenta ninguna fase secundaria que se haya podido formar durante la síntesis.



**Figura 13.** Comparación del patrón de difracción experimental del MOF-808 con un patrón teórico simulado obtenido a partir del análisis de perfil completo sin modelo estructural. **Rojo:** puntos experimentales. **Negro:** patrón teórico simulado. **Verde:** posiciones de Bragg. **Azul:** diferencia exp-teó.

Otra información importante que podemos corroborar mediante esta técnica es la evolución de la cristalinidad del material y la conservación de su estructura cristalina durante los procesos de modificaciones postsintéticas. Tanto en la etapa de funcionalización con los aminoácidos y ácidos dicarboxílicos, como en la etapa de dopaje con Cu, el MOF-808 es sometido a ligeros cambios de temperatura, intercambio de moléculas que se coordinan a las posiciones abiertas del clúster de zirconio de la estructura cristalina, dopaje por inmersión en disoluciones de Cu ligeramente ácidas, además de varias etapas de lavado y secado con diferentes disolventes hasta conseguir el material final. Debido a esto, la estructura cristalina puede verse afectada e incluso podría haber colapsado en ciertas condiciones. En las figuras 14-19 se muestran los difractogramas de los materiales obtenidos en cada etapa (MOF-808, MOF-808 funcionalizado y MOF-808 funcionalizado con Cu) para cada una de las funcionalizaciones estudiadas en este trabajo. En términos generales, se observe una ligera pérdida de cristalinidad al término de cada etapa de funcionalización y dopaje con cobre. En prácticamente todos los materiales esta pérdida de cristalinidad es muy ligera y nada significativa. Es decir, se da un ligero incremento de la intensidad del fondo que podría asociarse con una ligera amorfización del parte del material. Estas diferencias son considerablemente mayores en el caso del MOF-808@malic-Cu, y en casi todos los casos se acentúan en el proceso de dopaje de cobre. Aún y con esta pequeña

degradación del material, se puede advertir que los máximos de difracción se mantienen en las mismas posiciones y con intensidades relativas similares a los materiales de partida. Por lo tanto, se ha considerado que la estructura se sigue conservando, a pesar de esa pequeña pérdida de orden en el material al incorporar las funcionalidades en el mismo.

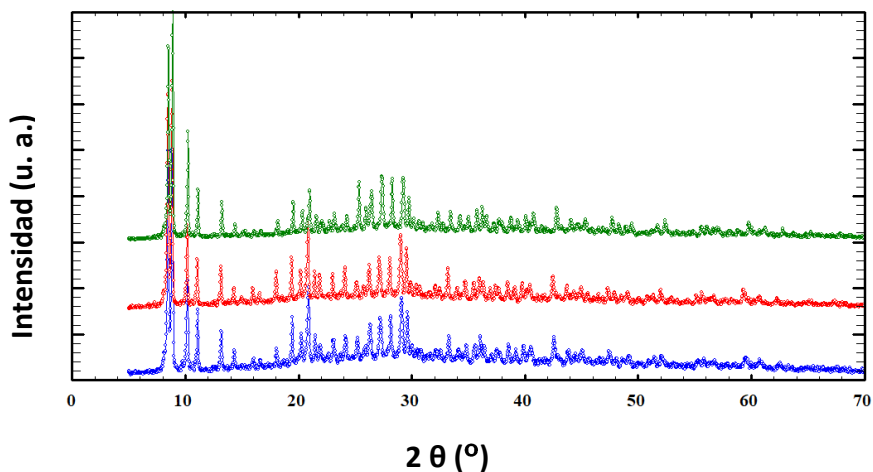


Figura 14. Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@His. Azul: MOF-808@His-Cu.

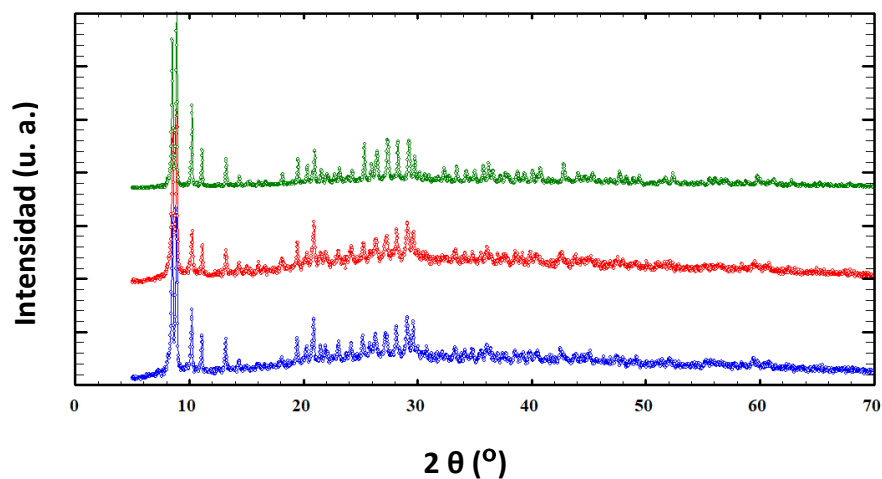


Figura 15. Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@Cys. Azul: MOF-808@Cys-Cu.

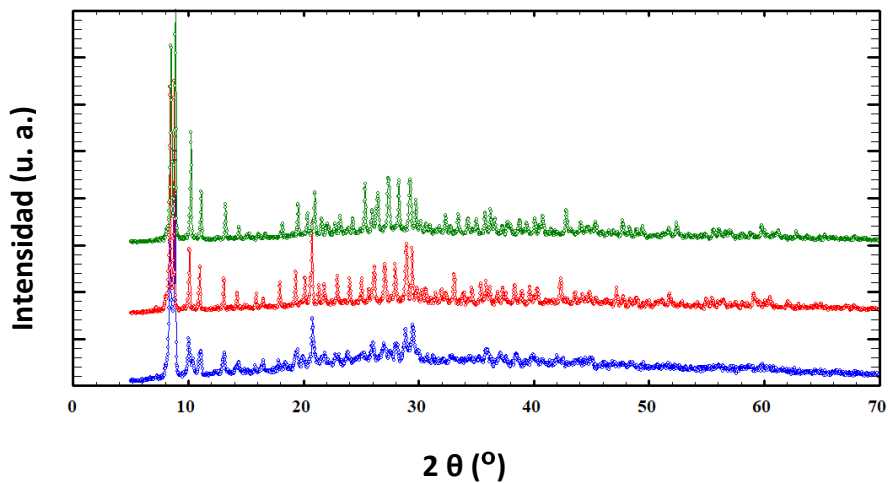


Figura 16. Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@CysHis. Azul: MOF-808@CysHis-Cu.

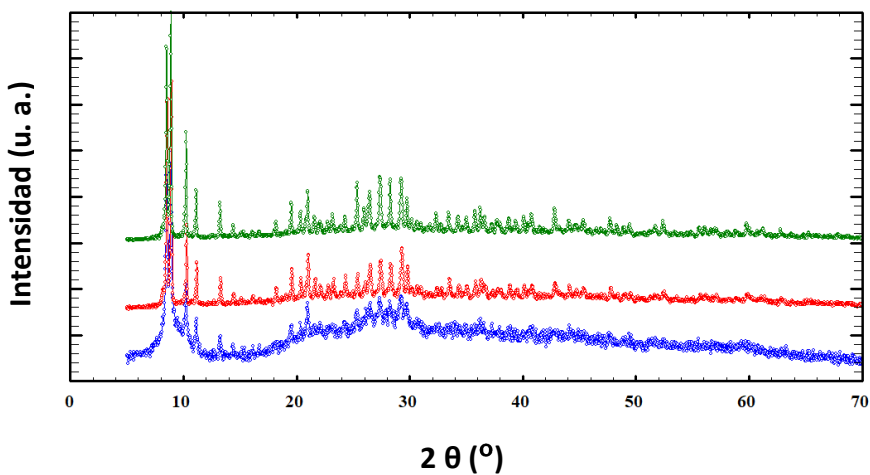


Figura 17. Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@malic. Azul: MOF-808@malic-Cu

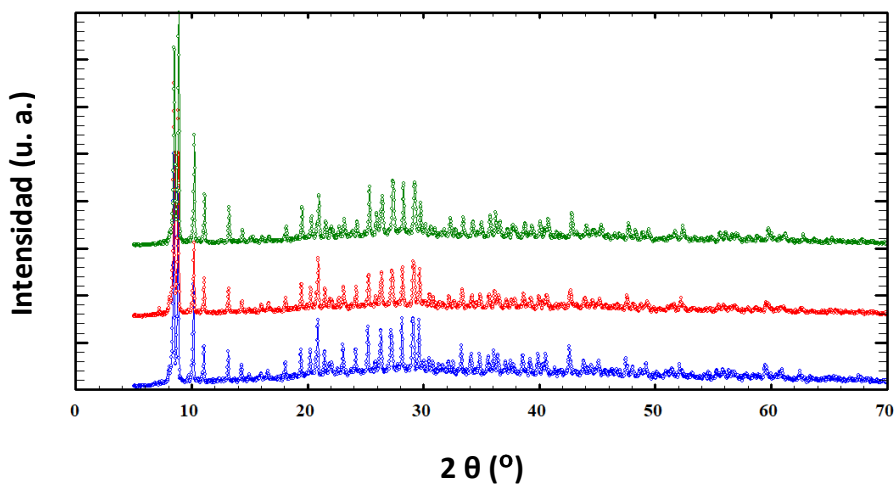


Figura 18. Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@citric. Azul: MOF-808@citric-Cu

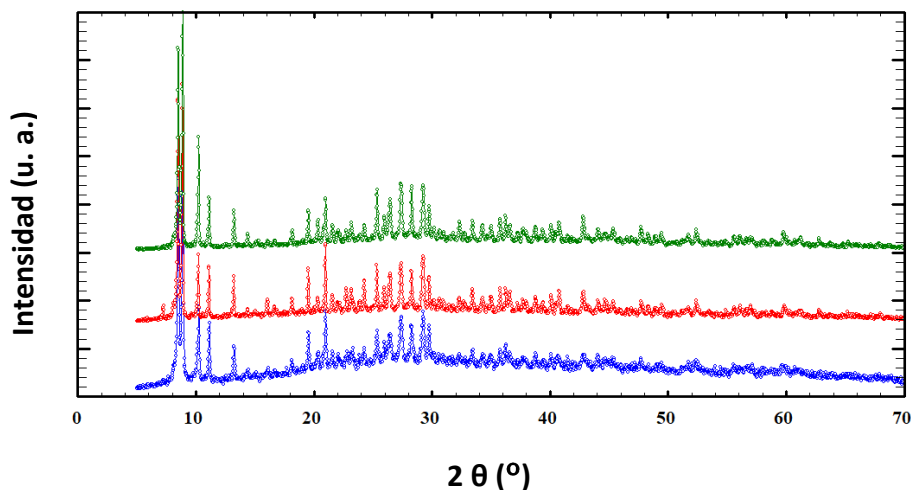


Figura 19. Difractogramas. Verde: MOF-808. Rojo: MOF-808@DMSA. Azul: MOF-808@DMSA-Cu

### 3.1.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)

La espectroscopía infrarroja es una técnica muy útil para la caracterización/detección de grupos funcionales orgánicos e inorgánicos en los materiales. Con ella es posible ver de manera muy sencilla si el material inicial sintetizado, MOF-808, posee los modos de vibración característicos asociados a las unidades orgánicas e inorgánicas que conforman su estructura cristalina. Además, esta técnica nos permite confirmar de manera sencilla que el proceso de funcionalización con los aminoácidos y ácidos dicarboxílicos ha sido exitoso, y como el mismo ha podido afectar a los modos de vibración de la estructura cristalina inicial. En la figura 20, se muestran los espectros FTIR-ATR del MOF-808 y los MOF-808 funcionalizados.

En todos los espectros se aprecia que las bandas principales del MOF-808 se mantienen una vez se ha realizado la funcionalización. Entre las bandas más características e intensas de este material están las situadas a 1625, 1560 y 1445  $\text{cm}^{-1}$ , que se atribuyen a las bandas de vibración características del anillo aromático del ligando BTC y las vibraciones simétrica y antisimétrica de los enlaces C-O asociados a los grupos carboxilo. Además, se observa otra banda de absorción intensa alrededor de 650  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a la vibración Zr-O, lo cual sugiere que la coordinación del clúster de Zr con el BTC ha ocurrido por los grupos carboxílicos (37). A pesar de haber introducido funcionalizaciones en el MOF, los modos de vibración del material inicial no sufren cambios significativos. En

paralelo, las bandas de vibración correspondientes a las funcionalizaciones son muy débiles, pero apreciables en la mayoría de los casos. Es el caso de los materiales funcionalizados con ácidos dicarboxílicos o tricarboxílicos (MOF-808@malic, MOF-808@citric y MOF-808@DMSA), aparece una pequeña banda alrededor de  $1710\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a la vibración del grupo  $\text{-C=O}$ . Es decir, la presencia de una vibración del enlace doble  $\text{C=O}$ , nos indica la presencia de grupos  $\text{COOH}$  en el material. Es por ello, que se puede sugerir que estas moléculas solo se unen por uno de sus grupos  $\text{COO}^-$  al clúster de Zr, y que el otro queda libre en forma de  $\text{COOH}$  apuntando a los poros del material. Esta banda no se observa para las funcionalizaciones de histidina y cisteína, ya que el único grupo carboxilo de estas estaría envuelto en la unión de la molécula a los clústeres de Zr. Para aquellas moléculas con grupos  $\text{-SH}$ , hemos conseguido localizar una banda muy débil alrededor de  $2575\text{ cm}^{-1}$  que estaría relacionada con la vibración de extensión del enlace  $\text{S-H}$ .

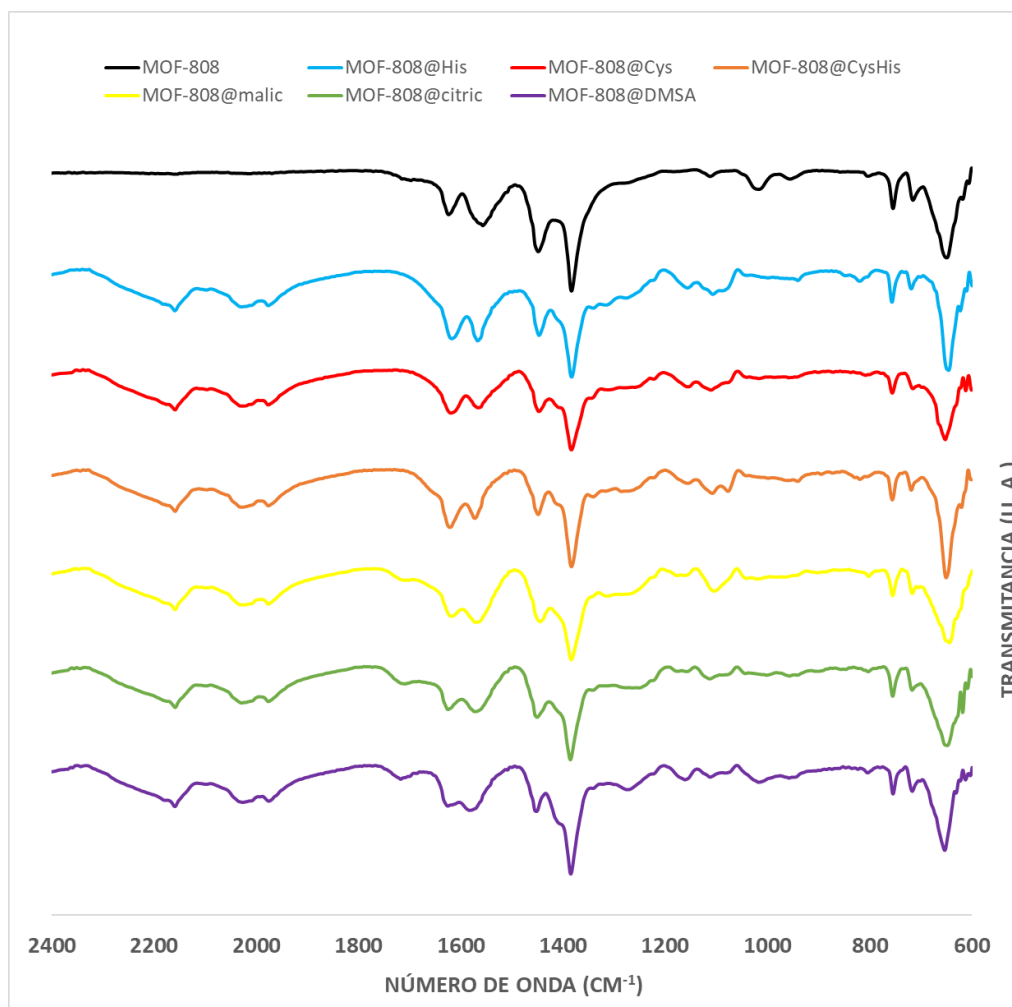
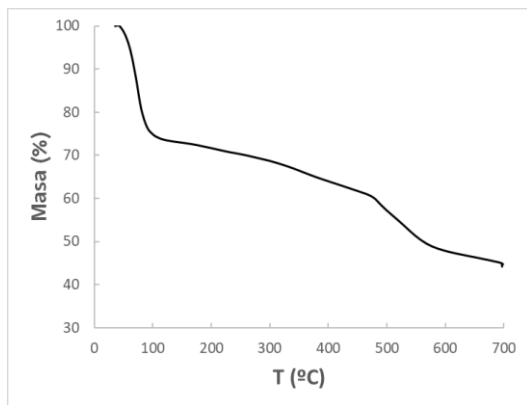


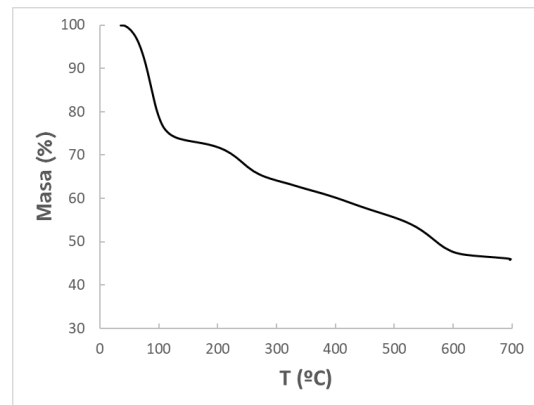
Figura 20. Espectros FTIR-ATR del MOF-808 y MOF-808 funcionalizados.

### 3.1.3. Análisis termogravimétrico (TGA)

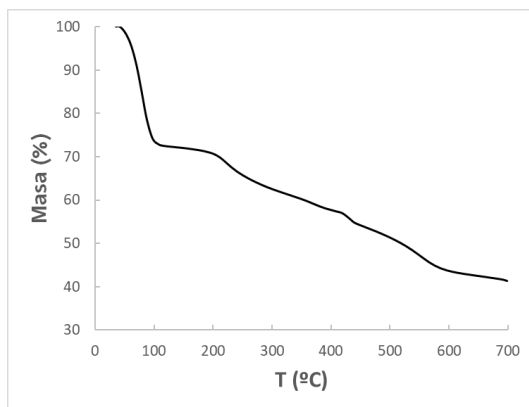
El análisis termogravimétrico permite ver la manera en la que el material va perdiendo sus componentes a medida que aumenta la temperatura. De esta manera, se puede conocer la temperatura necesaria para activar el material o la temperatura de degradación de este.



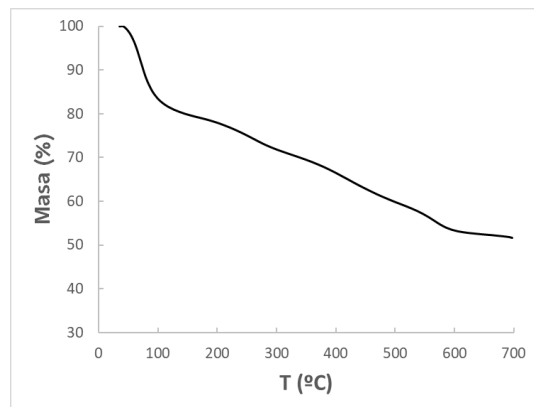
MOF-808@His



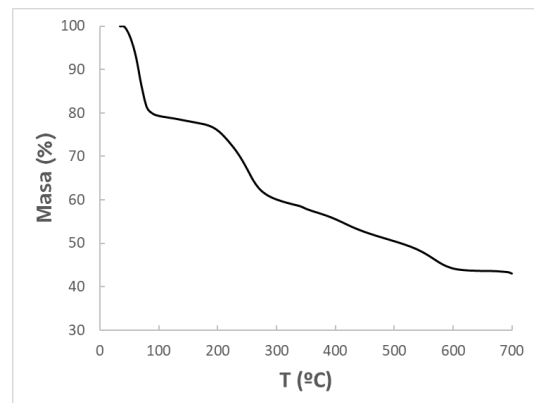
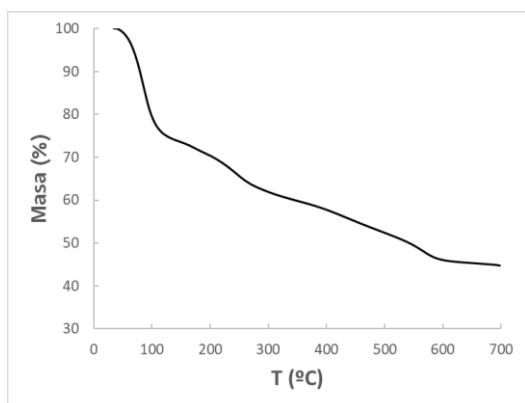
MOF-808@Cys



MOF-808@CysHis



MOF-808@malic





MOF-808@citric

MOF-808@DMSA

**Figura 21.** Análisis termogravimétricos de los MOF-808 funcionalizados.

Ha resultado ser complicado definir a que temperaturas o rangos de temperatura se producen las pérdidas de los componentes de los MOF-808 funcionalizados (figura 21). Sin embargo, se pueden definir tres etapas de pérdida de masa en los TGA realizados si tenemos en cuenta los datos para el material MOF-808 sin funcionalizar (28). La pérdida inicial se produce alrededor de los 100 °C y se atribuye a las moléculas de agua o metanol que se encuentran en los poros del material. La segunda pérdida es más tendida e irregular, pero se acentúa en el rango entre 250-550 °C. A estas temperaturas se produce la pérdida de las moléculas de modulador (ácido fórmico o ácido acético) introducidas en la síntesis del material inicial, se da la pérdida de moléculas de agua y grupos hidroxilo que se localizan en las posiciones del cluster no ocupadas por las moléculas de modulador, y se genera la deshidroxilación completa del clúster, pasando de  $ZrO_4(OH)_4$  a  $Zr_6O_6$ , liberando dos moléculas de agua por clúster. Creemos que la liberación de la funcionalización de los aminoácidos y ácidos carboxílicos se daría a una mayor temperatura dentro de esta segunda etapa de degradación del material, si bien seguramente este parcialmente solapada con las anteriores. Creemos que la fragmentación térmica del aminoácido o de los ácidos carboxílicos pueden inducir una pérdida de masa en forma de pendiente solapada con otras pérdidas paralelas, el lugar de ocurrir a una temperatura concreta. Finalmente, la tercera pérdida se debe a la calcinación del ligando del MOF, que ocurre de 550 a 575 °C para todas las muestras, y que da en último término a la formación de óxido de circonio.

#### 3.1.4. Resonancia magnética nuclear de protón ( $^1H$ -NMR)

Con el uso de la resonancia magnética nuclear de protón se pretende deducir el número de funcionalizaciones por unidad fórmula que posee cada MOF-808 modificado con los aminoácidos o ácidos carboxílicos. La manera de realizar ese cálculo ha sido tomando la señal de los protones del anillo aromático del ligando BTC situado a 7,25 ppm. Suponiendo que no existen defectos de ligando en la estructura del MOF, hay dos BTC por unidad fórmula unidad, y, por lo tanto, seis protones correspondientes al ligando. Siendo esto así, al integrar dicha señal, se ha normalizado su valor a seis protones. De esta manera, las señales de los protones

correspondientes a las funcionalizaciones nos permiten calcular de manera directa el número de funcionalizaciones que hay por cada unidad fórmula. Además de las señales relacionadas con la funcionalización, aparecen señales correspondientes al ácido acético empleado como modulador en la síntesis ( $\approx 1,75$  ppm). En la tabla 2 se muestran los espectros  $^1\text{H-RMN}$  realizados y la integración de las señales de mayor interés. Teniendo en cuenta la integración de las señales de protón obtenidas para cada uno de los materiales, se ha conseguido proponer las siguientes fórmulas químicas para cada uno de ellos:

Tabla 2. Unidad fórmula para cada material obtenido mediante  $^1\text{H-RMN}$ .

<b>Materiales</b>	<b>Unidad fórmula</b>
<b>MOF-808</b>	$\text{Zr}_6\text{O}_4(\text{OH})_4(\text{C}_9\text{O}_6\text{H}_3)_2(\text{CH}_3\text{COO})_{6.0}$
<b>MOF-808@His</b>	$\text{Zr}_6\text{O}_4(\text{OH})_{5.6}(\text{H}_2\text{O})_{5.6}(\text{C}_9\text{O}_6\text{H}_3)_2(\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_2)_{4.4}$
<b>MOF-808@Cys</b>	$\text{Zr}_6\text{O}_{4.0}(\text{OH})_{7.2}(\text{H}_2\text{O})_{3.2}(\text{C}_9\text{O}_6\text{H}_3)_2(\text{C}_3\text{H}_6\text{NO}_2\text{S})_{2.8}$
<b>MOF-808@CysHis</b>	$\text{Zr}_6\text{O}_4(\text{OH})_4(\text{C}_9\text{O}_6\text{H}_3)_2(\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_2)_{2.7}(\text{C}_3\text{H}_6\text{NO}_2\text{S})_{3.3}$
<b>MOF-808@malic</b>	$\text{Zr}_6\text{O}_{4.0}(\text{OH})_{6.0}(\text{H}_2\text{O})_{2.0}(\text{C}_9\text{O}_6\text{H}_3)_2(\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_5)_{4.0}$
<b>MOF-808@citric</b>	$\text{Zr}_6\text{O}_{4.0}(\text{OH})_{4.1}(\text{H}_2\text{O})_{0.1}(\text{C}_9\text{O}_6\text{H}_3)_2(\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_7)_{5.9}$
<b>MOF-808@DMSA</b>	$\text{Zr}_6\text{O}_{4.0}(\text{OH})_{6.1}(\text{H}_2\text{O})_{2.1}(\text{C}_9\text{O}_6\text{H}_3)_2(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{S}_2)_{3.9}$

### 3.1.5. Fluorescencia de rayos X (XRF)

A la hora de dopar los MOF-808 funcionalizados, se han empleado disoluciones de cloruro de Cu(II) de diferentes concentraciones para variar la cantidad de cobre inmovilizado en el material. Debemos de tener en cuenta que la adsorción de cobre por el material va a depender directamente de la afinidad química entre los grupos químicos de las moléculas de aminoácidos o ácidos carboxílicos instalados en el material. Es decir, para una disolución de cobre de la misma concentración, cada material exhibe una capacidad diferente de incorporar Cu a su estructura. Es por ello por lo que para algunas de las funcionalizaciones se ha variado la concentración de la disolución de cobre para lograr incorporar una concentración similar de cobre en todos los materiales. Para medir de manera semicuantitativa la cantidad de Cu introducido en cada catalizador, se ha hecho uso de la técnica de fluorescencia de rayos X de las muestras sólidas.

En la siguiente tabla (tabla 3) se muestran los materiales sintetizados, la concentración de Cu(II) empleada para su dopaje y el porcentaje de Cu en peso incorporado respecto a la cantidad total de metales (Zr, Hf y Cu) presentes en los MOF-808.

**Tabla 3.** Datos de la fluorescencia de rayos X.

Catalizador	[Cu <sup>2+</sup> ] en dopado (mg/L)	Zr (%)	Hf (%)	Cu (%)
MOF-808@His-Cu1000	1000	91,14	2,00	6,86
MOF-808@His-Cu100	100	88,77	2,07	9,16
MOF-808@His-Cu10	10	95,74	2,24	2,02
MOF-808@Cys-Cu1000	1000	86,24	1,99	11,77
MOF-808@CysHis-Cu100	100	86,19	2,16	11,65
MOF-808@malic-Cu1000	1000	93,27	2,37	4,36
MOF-808@citric-Cu1000	1000	90,11	1,98	7,91
MOF-808@DMSA-Cu100	100	76,53	2,35	21,12

### 3.1.6. Espectroscopía ultravioleta-visible en sólido (UV-Vis en sólido)

Mediante la espectroscopía ultravioleta-visible en sólido es posible observar las bandas de absorción del material, que a su vez están relacionadas con la estructura electrónica del mismo. En nuestro caso, las bandas de absorción de mayor interés son las relacionadas con el Cu introducido en los MOF-808 funcionalizados, ya que la posición de las mismas nos permitirá dilucidar si el entorno de coordinación del mismo varía en función del material en el cual se ha inmovilizado.

Para empezar, hay que mencionar que hay un aumento significativo de ruido de fondo en los espectros UV-Vis del MOF-808@DMSA-Cu, tal y como se muestra en la figura 22. Este fenómeno se debe a la co-existencia de iones Cu(I) y Cu(II) relativamente concentrados, lo cual provoca transferencia electrónicas entre estas dos especies, que a su vez da lugar a una elevación del fondo del UV-Vis debido al oscurecimiento del material. Otro aspecto para comentar es que las

bandas situadas en la región del UV (200-300 nm) se corresponde a las transiciones de transferencia de carga entre metales y ligandos, las cuales también se ven afectadas en cierto modo por la incorporación de los aminoácidos o ácidos dicarboxílicos a la estructura del material.

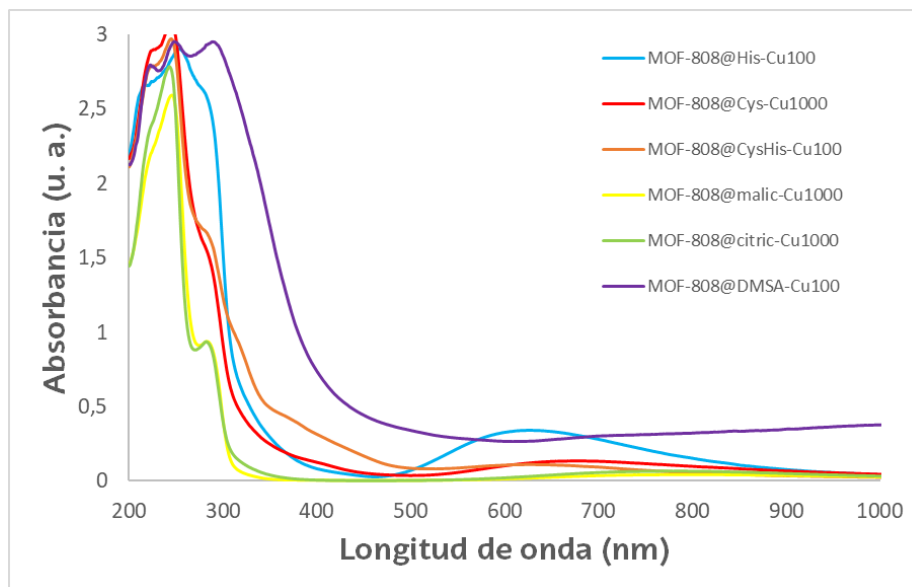
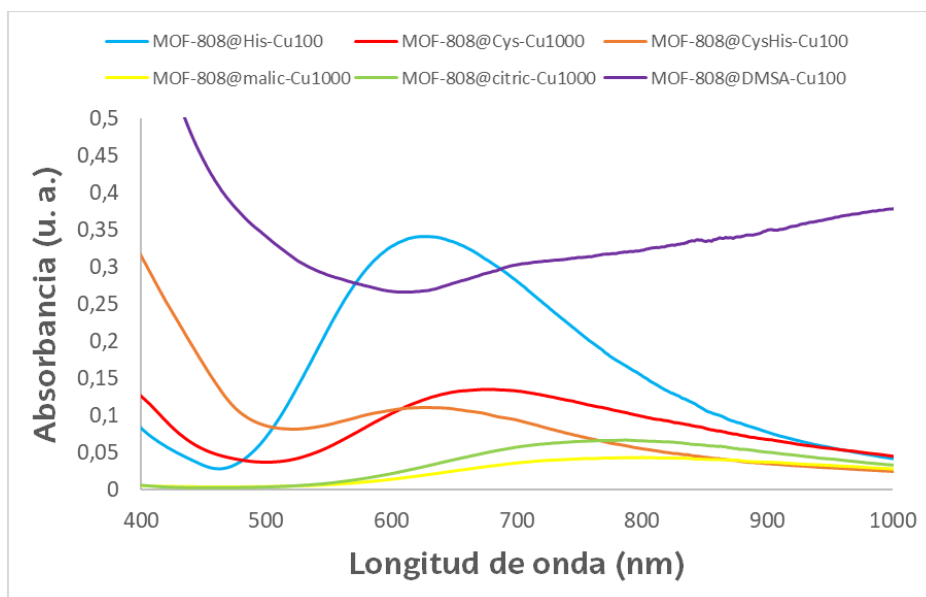


Figura 22. Espectro UV-Vis en sólido de los catalizadores obtenidos.

La figura 23, la cual es una ampliación de la figura 11, permite observar de manera más clara la banda asociada a los cationes de cobre, que está situada entre 500 y 800 nm. Esta banda de absorción está relacionada con la transición electrónica única de un ion Cu(II) con estructura electrónica  $d^9$ . En el caso de la especie Cu(I), su estructura electrónica de capa completa ( $d^{10}$ ), provoca que no haya transiciones electrónicas observables en el rango del visible. Se puede ver que según la funcionalización, la banda de absorción asociada a los átomos de Cu(II) se desplaza significativamente. En los MOF-808 funcionalizados con ácido málico y ácido cítrico, la banda de absorción se desplaza hacia longitudes de onda mayores (niveles de energía menores), por lo que se puede suponer que la coordinación del Cu(II) se da mayormente mediante los grupos carboxílicos, y que por lo tanto, el entorno de coordinación del cobre estará mayoritariamente formado por átomos de oxígeno. En cambio los MOF-808 funcionalizados con His y mezcla Cys/His presentan desplazamientos hacia longitudes de onda menores (niveles de energía mayores), lo que significa que en ambos materiales la coordinación del Cu(II) se produce de manera similar, pero de modo muy diferente a los materiales

funcionalizados con málico o cítrico. Es cierto, que existe también una diferencia apreciable entre la posición de la banda de absorción en el material con cisteína (675 nm) y en homólogo con histidina (610 nm.) Teniendo en cuenta los estudios previos de UV-Vis de complejos de Cu(II), si el entorno de coordinación de plano ecuatorial del cobre estuviese formado exclusivamente por átomos de nitrógeno provenientes de los grupos amino o imidazol de la histidina, se esperaría una posición de la banda localizada en torno a 500 nm, lo cual queda lejos del valor observado para nuestros materiales. Es de esperar que la coordinación del cobre en el material MOF-808@His involucre tanto átomos de nitrógeno del imidazolio como moléculas de agua que completen en entorno del cobre. De este modo, un entorno de coordinación con especies diferentes se ajusta mejor a los valores cercanos a 600-650 nm encontrados en bibliografía para este tipo de coordinaciones (38). En el caso de los átomos de cobre instalados en el compuesto de cisteína, el ligero desplazamiento de la banda a 670 nm sugiere un entorno de coordinación ligeramente diferente, pero similar al del compuesto de la histidina, que posiblemente no involucre átomos de azufre en el proceso. Por último, el MOF-808@DMSA-Cu no presenta ninguna banda en esa zona. Este hecho puede implicar que el Cu(II) incorporado en el material ha sido reducido casi por completo a Cu(I), o que el aumento de la señal base del espectro no permite observar la transición electrónica del Cu(II).



**Figura 23.** Ampliación del espectro UV-Vis en sólido de los catalizadores obtenidos en la zona de la banda de transición electrónica del Cu(II).

### 3.1.7. Espectroscopia paramagnética electrónica (EPR)

La espectroscopia de EPR nos ayuda a comprender el posible entorno de coordinación de los metales una vez estabilizados dentro del MOF. Se han estudiado inicialmente las muestras de His y Cys dopadas con 100 mg/L de Cu(II), tanto a temperatura ambiente como a 10 K. Los dos compuestos muestran el espectro característico de EPR para iones de Cu(II) magnéticamente aislados con un entorno de simetría tetragonal inducida por la coordinación de los ligandos. Si bien es cierto, que en ambas muestras (sobre todo en la de Cys), se observa una segunda contribución asociada a átomos de cobre en forma de clústeres magnéticamente acoplados. Es decir, los mismos se estabilizan lo suficientemente cerca como para establecer interacciones magnéticas entre ellos. El ajuste de los espectros nos permite calcular tanto el valor de  $g$  (perpendicular) de 2,274/2,259 y 2,063/2,062 para la His y Cys; y los valores de  $g$  (paralelo) de 2,274 y 2,259 para la His y Cys, respectivamente (figura 24). Además, la separación entre las bandas de la estructura hiperfina nos permite calcular los valores de separación de las señales del  $g$  paralelo y perpendicular,  $A$  (paralelo) =  $175 \cdot 10^{-4}/183 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$  (His/Cys) y  $A$  (perpendicular) =  $10 \cdot 10^{-4}/15 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ .

Teniendo en cuenta la información obtenida, se puede concluir que los átomos de cobre magnéticamente aislados presentan un entorno de coordinación altamente elongado en el eje axial, es decir un entorno octaédrico o pirámide de base cuadrada con una distancia Cu-O o Cu-N mucho mayor en comparación con las usuales de 2,0 Å observadas en la base del octaedro o de la pirámide de base cuadrada.

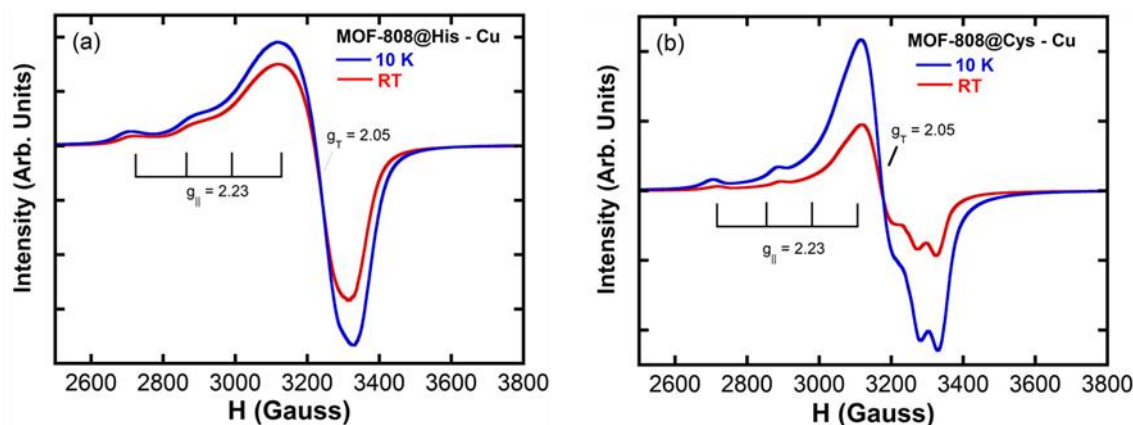


Figura 24. EPR de las muestras a 10 K y temperatura ambiente de (a) MOF-808@His-Cu100 y (b) MOF-808@Cys-Cu100.

El dopaje de cobre en el material también influye de forma importante los modos de coordinación del cobre en el mismo (figura 25). Cuando se realiza el dopaje con una disolución de 10 mg/L, el espectro muestra mayoritariamente una especie de cobre aislada con el mismo entorno de coordinación en toda la muestra. Al aumentar el grado de dopaje, se empieza a observar la presencia de una segunda especie de cobre aislada con un entorno parecido, pero ligeramente diferente al del átomo de cobre observado para la muestra dopada con una disolución de 10 mg/L de cobre. Además, si bien la contribución de los átomos de cobre en forma de clúster es nula para la muestra más diluida en cobre, aumenta significativamente en las de 100 y 1000 mg/L.

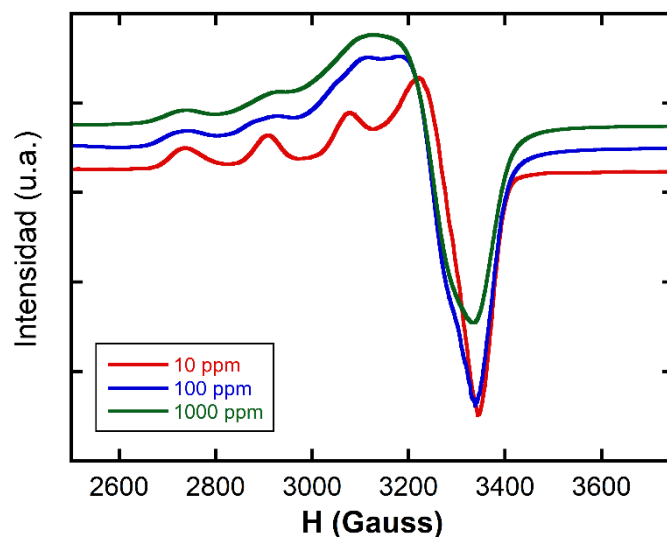


Figura 25. EPR de los materiales MOF-808@His dopadas con 10, 100 y 1000 mg/L de Cu(II).

En buen acuerdo con los resultados que hemos obtenido mediante las medidas de UV-Vis en sólido, los espectros de EPR de cobre en las diferentes funcionalizaciones presentan diferencias muy significativas (figura 26). Como era de esperar, la muestra de DMSA presenta una señal principalmente asociada a clústeres de cobre magnéticamente aislados, si bien se observan también la contribución de cobres aislados cuya estructura hiperfina parece coincidir con las del compuesto funcionalizado con cítrico. Es decir, se podría concluir que los átomos de cobre coordinados por el grupo carboxilo del DMSA están en forma aislada, mientras que aquellos asociados a los grupos tiol presentarían una señal ancha típica de clústeres. El espectro de EPR del cobre en el compuesto de cítrico es muy limpio y presenta mayoritariamente la contribución de una especie de



cobre aislada, mientras que en el málico, se observan dos tipos de cobre aislados con entornos de coordinación similares.

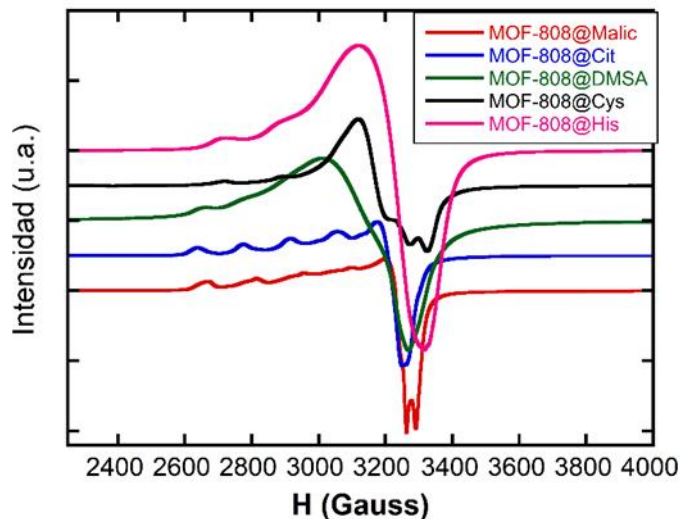


Figura 26. Espectro EPR de las diferentes muestras de MOF-808 funcionalizado dopadas con Cu(II).

## 3.2. Ensayos catalíticos

### 3.2.1. Oxidación Húmeda Catalítica con Peróxido de Hidrógeno (CWPO) de compuestos fenólicos y difenólicos con MOF-808@His-Cu

El primer ensayo de catálisis que se realizó fue para comprobar que tipo de actividad tenían los catalizadores sintetizados. Para ello se midieron las cinéticas de reacción de cuatro reactivos similares: fenol, catecol, hidroquinona y 2,4-diclorofenol. Tal y como se ha mencionado en el apartado 2.3.1., la manera de seguir la reacción fue a través de una reacción cromogénica entre la 4-aminoantipirina y el reactivo correspondiente. En la figura 27 se muestra el espectro de UV-Vis del medio de reacción después de 1 hora con el catalizador de histidina dopado con la disolución de cobre de 100 mg/L. En el espectro se observa claramente que el cromóforo generado por la oxidación de los fenoles o difenoles, y su unión a la 4-aminoantipirina, da lugar a una banda de absorción en el rango del visible, alrededor de 510 nm. Por lo tanto, las medidas de absorción realizadas en todos los ensayos fueron a esa longitud de onda. Además, se ha considerado 750 nm como longitud de onda de referencia para sustraer el aumento de absorbancia provocada por la dispersión del catalizador sólido en el medio de reacción. Es



importante tener en cuenta que la absorbancia de la banda tiene relación con la intensidad del color del cromóforo generado, por lo que para diferentes fenoles o difenoles de partida, incluso llegando a la misma concentración final del cromógeno después de la reacción, la absorbancia de la banda puede diferir significativamente.

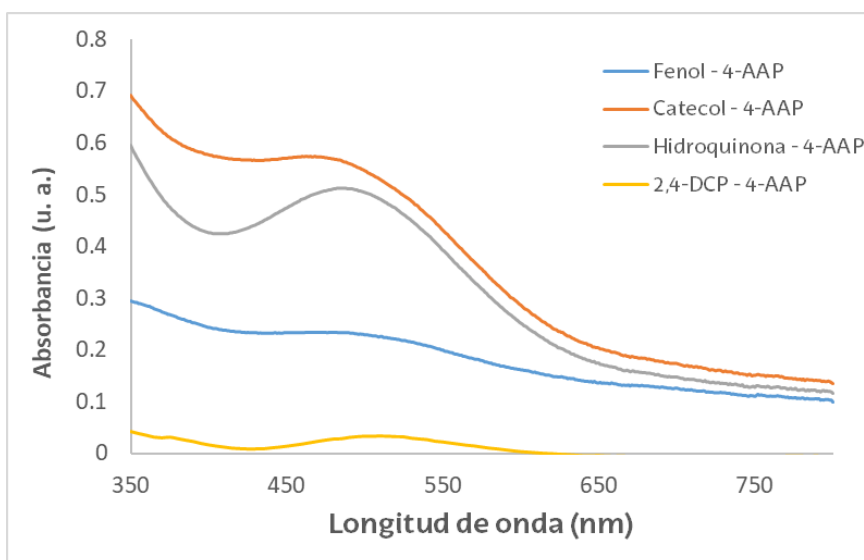


Figura 27. Espectro UV-Vis de los cromóforos generados a partir de la 4-AAP.

En este ensayo se empleó el MOF-808@His-Cu100 como catalizador de referencia. Esta decisión se tomó a raíz de que, en las metaloenzimas de Cu, los iones del metal se coordinan mayoritariamente por residuos de histidina. Por lo tanto, el material más próximo a biomimetizar dichas metaloenzimas debía ser el MOF-808 funcionalizado con histidina. Una de las características de los biocatalizadores es que la velocidad de la reacción es directamente dependiente de concentración del sustrato, hasta que, llegada una concentración de saturación, la velocidad deja de aumentar. Es por ello que se ha monitorizado la absorbancia de nuestro cromóforo con el tiempo para cinéticas de reacción obtenidas variando la concentración de fenol. En estas reacciones, las demás variables, como concentración de catalizador, o peróxido de hidrógeno, se han mantenido constantes. Las cinéticas obtenidas se pueden observar en la figura 28.

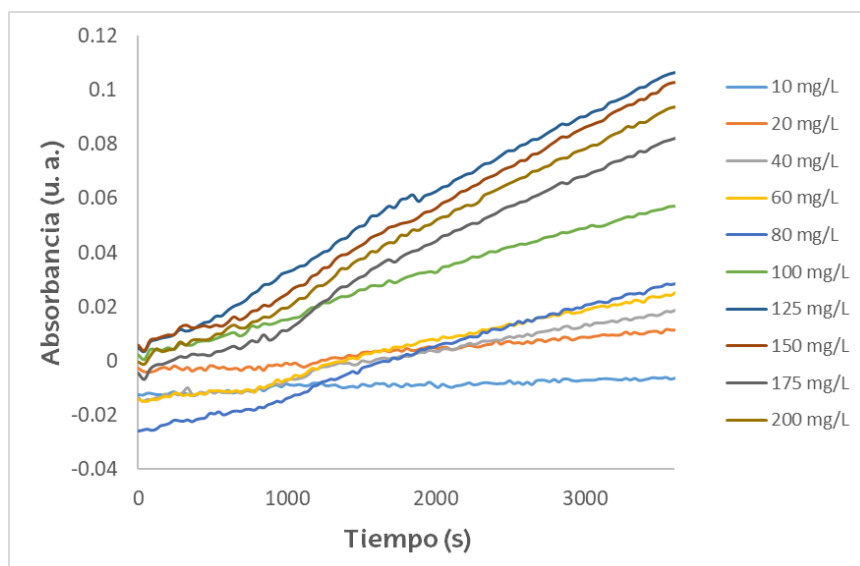


Figura 28. Cinéticas de reacción variando la concentración de fenol.

El ajuste de estas cinéticas de reacción nos ha permitido obtener valores de velocidad inicial ( $v_0$ ) tomando los datos en los primeros 10 minutos de reacción y calculando la pendiente de la recta de regresión. Hay que apuntar que se toma el supuesto de que en esos primeros 10 minutos de reacción, la concentración de reactivo es tan grande respecto al catalizador, que a efectos prácticos se mantiene constante. Con esos datos de  $v_0$  y la concentración de reactivo para cada  $v_0$  se ha obtenido la curva representada en la figura 29. Ahí se puede observar que la  $v_0$  aumenta a la vez que aumenta la concentración de reactivo, hasta que llega a un punto en el que, a pesar de aumentar la concentración, la  $v_0$  se mantiene relativamente constante. Esto se produce por la saturación de los centros activo del catalizador.

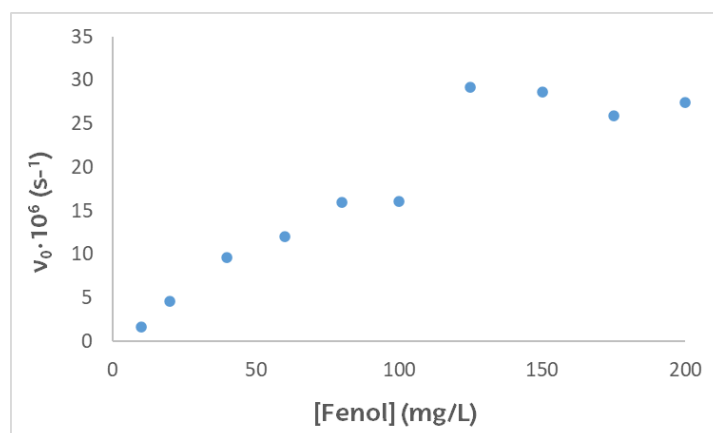


Figura 29. Representación de los valores de velocidad inicial a cada concentración de fenol.

Para conocer si dicha curva se ajusta a la ecuación de Michaelis-Menten (4), característica de las reacciones enzimáticas, se han graficado los inversos de los parámetros que definen dicha ecuación. De esta manera se obtiene la ecuación de Lineweaver-Burk (5). Las dos ecuaciones se describen a continuación:

$$V_0 = V_{max} \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad (4)$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (5)$$

Donde,  $v_0$  y  $v_{max}$  son la velocidad inicial y la velocidad máxima de la reacción,  $[S]$  es la concentración del sustrato y  $K_M$  que es la constante de Michaelis-Menten. La expresión de Lineweaver-Burk resulta muy útil ya que representando los inversos de la  $v_0$  respecto de los inversos de la concentración de reactivo (figura 30), los datos se ajustan a una recta, en caso de que la actividad del catalizador se ajuste realmente a la ecuación de Michaelis-Menten. Asimismo, se podrían obtener los parámetros cinéticos  $v_{max}$  y  $K_M$ .

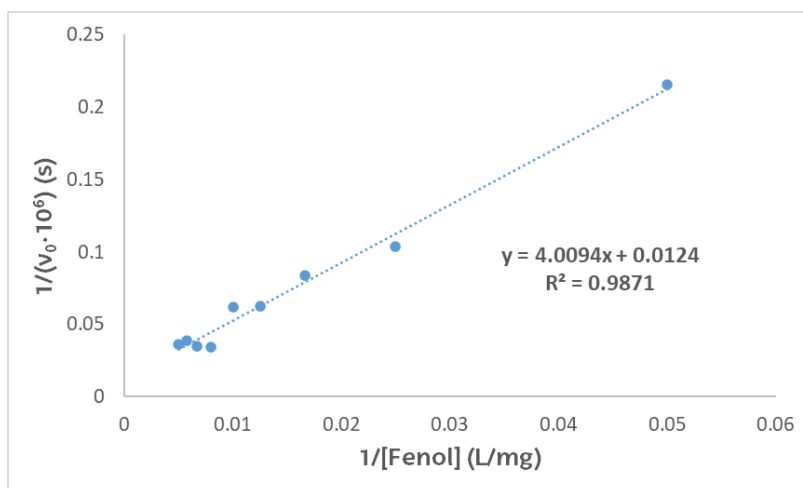


Figura 30. Representación de los inversos de la velocidad inicial respecto del inverso de la concentración de fenol.

Experimentos homólogos para obtener las cinéticas de reacción a diferentes concentraciones se han realizado para el catecol, hidroquinona y 2,4-

DCP. El ajuste de Lineweaver-Burk para los datos de la velocidad de la reacción a diferentes concentraciones del sustrato para las tres moléculas estudiadas se han representado en la figura 31. Si bien la tendencia que se observa en cuanto a la saturación de la velocidad de la reacción es similar que, para la reacción con el fenol, los valores de velocidad máxima de reacción y  $K_M$  difieren significativamente (tabla 4).

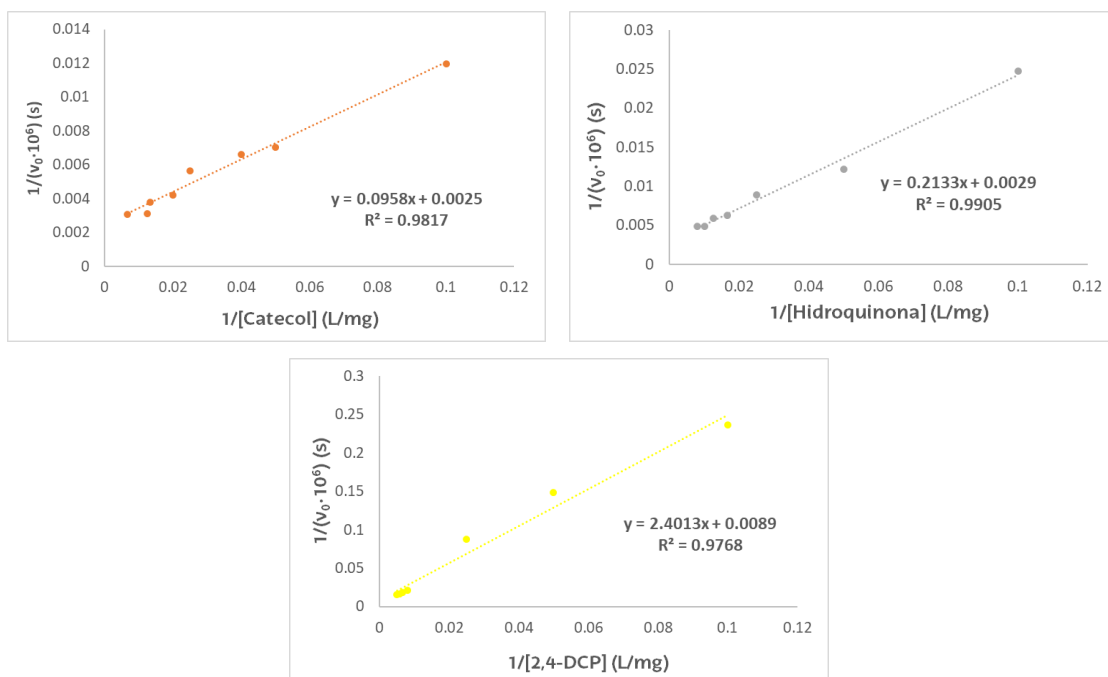


Figura 31. Representación de los inversos de la velocidad inicial respecto del inverso de la concentración de catecol, hidroquinona y 2,4-DCP.

Tabla 4. Valores de  $v_{Max}$  y  $K_M$  para la oxidación de fenoles y difenoles por el catalizador MOF-808@His-Cu100.

Sustrato	$K_M$	$V_{max}$
Fenol	80.64	0.25
Catecol	400	10.44
Hidroquinona	344	4.69
2,4-DCP	112	0.42

La conclusión a la se puede llegar con este ensayo es que el catalizador MOF-808@His-Cu100 posee actividad peroxidasa y es capaz de oxidar diferentes reactivos aromáticos fenólicos y similares. Sin embargo, la velocidad a la que oxida cada sustrato depende principalmente del número de grupos OH en la estructura,

pero también de su posición en el anillo aromático, y de los sustituyentes que existan alrededor de ellos. Además, el tipo de cinética que presenta el catalizador es similar a la de las enzimas. Por último, este catalizador también es activo para la oxidación de estos compuestos sin necesidad de la adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (actividad tipo lacasa), pero se ha observado que la velocidad de reacción disminuye de manera significativa.

### 3.2.2. Monitorización de la degradación del fenol por HPLC

Uno de los problemas que presenta el método colorimétrico con 4-AAP es que es difícil conocer el grado de conversión por dos razones. La primera es que el valor de absorbancia correspondiente a la conversión total no es conocido, y la segunda es que se sospecha que con el paso del tiempo el catalizador es capaz de sobreoxidar el compuesto cromóforo que se genera entre la 4-AAP y el fenol. Por lo tanto, los datos que se obtienen a tiempos demasiado largos pueden llegar a ser poco fiables. Por estas razones, la monitorización de la reacción empleando el HPLC se convierte en un método más adecuado para conocer el grado de degradación del fenol a lo largo del tiempo, sin la necesidad de tener que generar una especie cromófora.

Presuponiendo que el proceso de oxidación de fenol iba a generar catecol e hidroquinona como productos principales, se realizó un calibrado de los tres compuestos. El calibrado se muestra en la figura 32, y se puede observar que los datos se ajustan a una recta.

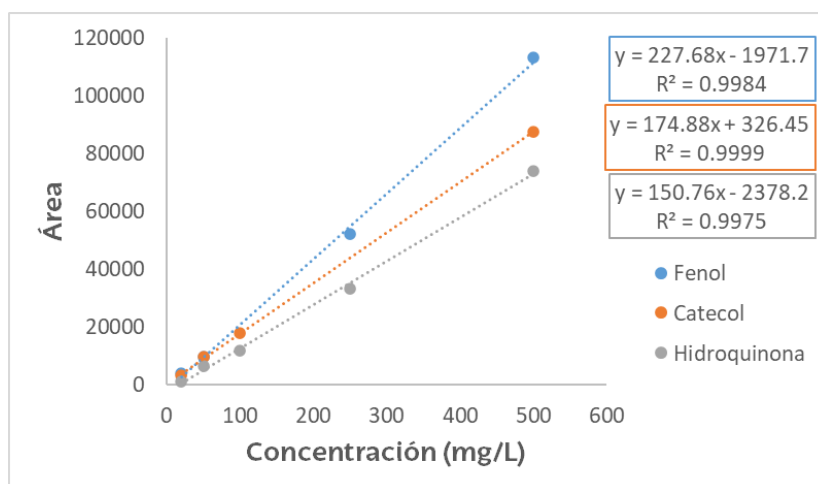


Figura 32. Calibrado de fenol, catecol e hidroquinona.

A continuación, se realizó la reacción con el mismo catalizador que en el ensayo del apartado 3.2.1. y se obtuvieron los datos reflejados en la figura 33. Como bien se hipotetizó de manera previa al ensayo, los primeros productos que se generan al oxidarse el fenol son el catecol e hidroquinona. Sin embargo, a medida que pasa el tiempo, se observa que la suma de las cantidades de los tres compuestos monitorizados no llega al 100% de los mmoles iniciales. Por lo tanto, podemos suponer que la reacción en cadena sigue adelante y que el catecol e hidroquinona se oxidan simultáneamente junto con el fenol. Finalmente, a las 20 horas se obtiene un grado de conversión (oxidación de fenol) del 87,99%.

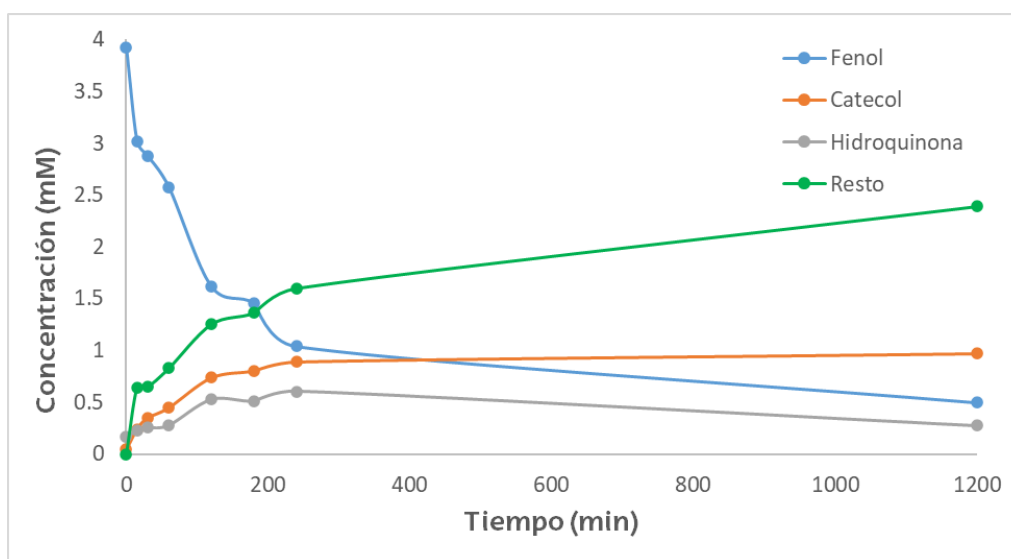


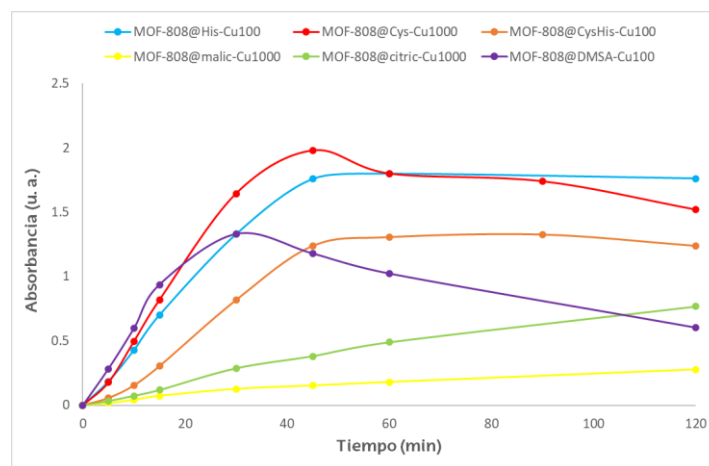
Figura 33. Evolución de la concentración de fenol, catecol, hidroquinona y resto de compuestos que se forman, con el tiempo de reacción.

### 3.2.3. Comparación de la actividad catalítica según la funcionalización y grado de dopaje de Cu

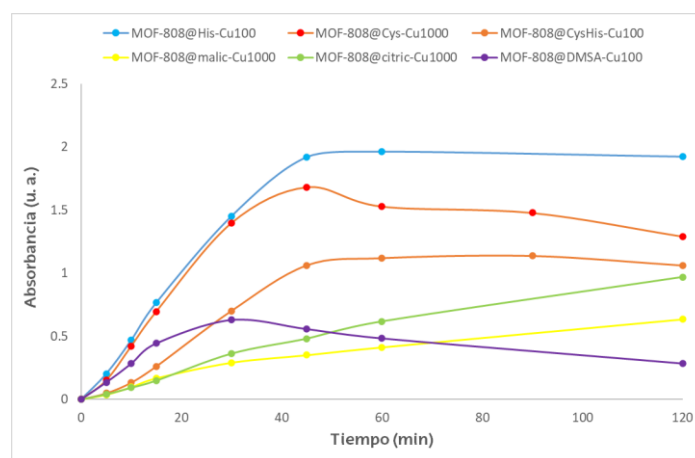
Como último ensayo en este trabajo se ha intentado comparar de manera cualitativa la actividad catalítica según la funcionalización del catalizador y el grado de dopaje. La comparación se ha realizado utilizando hidroquinona y 2,4-DCP para poder ver si el uso de dos sustratos diferentes tiene alguna influencia.

En la comparación según la funcionalización, se han intentado emplear los catalizadores funcionalizados con distintas moléculas que tuvieran un porcentaje de Cu lo más similar posible, los cuales son los indicados en la tabla 3 del apartado 3.1.5. De esta manera, se ha buscado una comparación lo más real y fiable dentro

de las posibilidades que había. En la figura 34a se muestra la evolución de la reacción de oxidación de la hidroquinona con los distintos catalizadores con funcionalizaciones diferentes. En ella se aprecia que el catalizador que mejor funciona es el funcionalizado con Cys, seguido del funcionalizado con His. Por otra parte, el catalizador que presenta menor actividad es el funcionalizado con ácido málico, lo cual era previsible ya que es el material con menor porcentaje de Cu. Otra cuestión para comentar es la disminución de absorbancia que sufren algunos catalizadores después de un tiempo. Esto se debe probablemente a la degradación/oxidación del compuesto cromóforo de 4-AAP catalizada por el mismo catalizador. En la figura 34b se representan los mismos datos que en la figura 34a, pero normalizando la actividad catalítica por centro activo de cobre. Esta normalización nos permite ver la actividad real de los centros catalíticos de Cu. En el caso de la oxidación de la hidroquinona, la normalización no afecta demasiado, pero podemos concluir que los iones de Cu del MOF-808@His-Cu100 son los más activos para este sustrato.



(a)

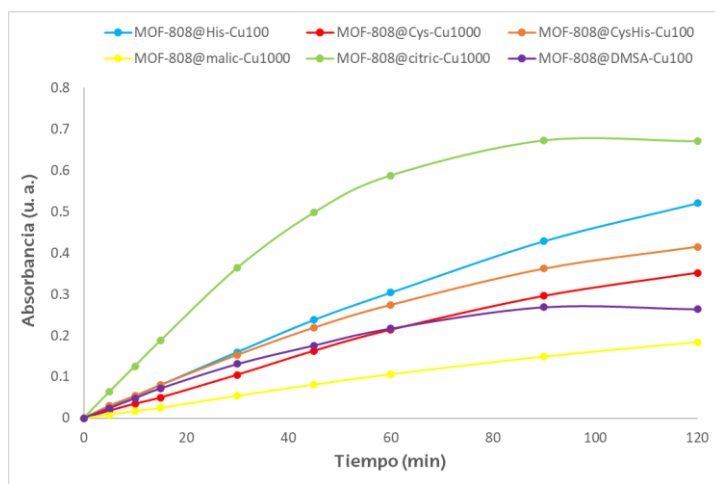


(b)

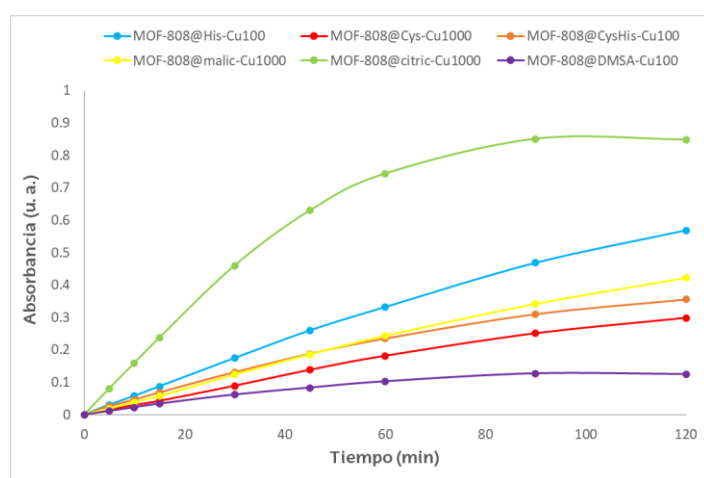
**Figura 34.** Representación gráfica de (a) oxidación de hidroquinona con catalizadores con diferentes funcionalizaciones, y (b) oxidación de hidroquinona con catalizadores con diferentes funcionalizaciones y normalizado a un porcentaje de Cu de 10%.

En la figura 35, en el cual se muestran los datos de la oxidación de 2,4-DCP con distintos catalizadores con y sin normalización, se observa que la afinidad del catalizador al sustrato depende en gran medida de la funcionalización de acompleja en cobre, y que difiere en gran medida de la observada para la oxidación de la hidroquinona en el anterior apartado. En este caso, el catalizador funcionalizado con ácido cítrico presenta la mayor actividad. Esta variación indica que la actividad de los catalizadores se ve influida por el sustrato escogido, a pesar de catalizar el mismo tipo de reacción. Por lo tanto, el reactivo a oxidar se vuelve en otro factor a tener en cuenta para diseñar este sistema de catalizadores. Es decir, la selectividad hacia los sustratos, otra de las características de las metaloenzimas, también se cumple para los materiales desarrollados en este trabajo.





(a)

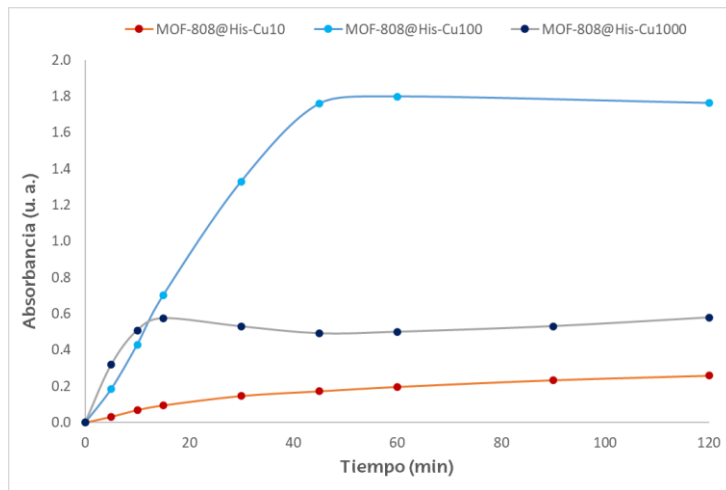


(b)

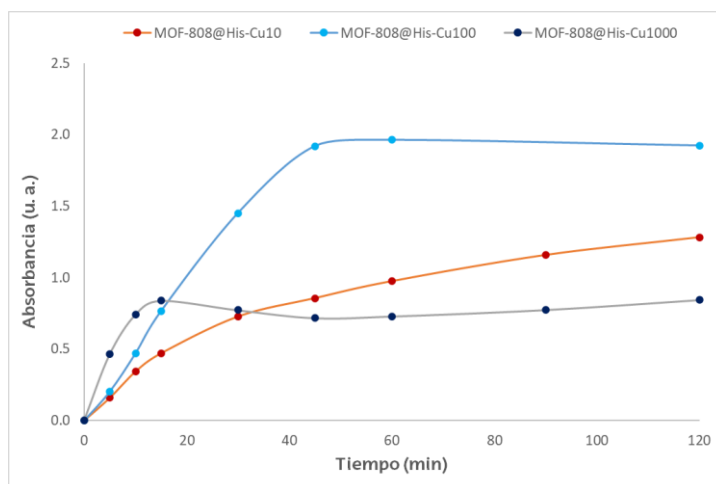
**Figura 35.** Representación gráfica de (a) oxidación de 2,4-DCP con catalizadores con diferentes funcionalizaciones, y (b) oxidación de 2,4-DCP con catalizadores con diferentes funcionalizaciones y normalizado a un porcentaje de Cu de 10%.

Pasando a las comparaciones según el grado de dopaje, se han escogido los catalizadores MOF-808@His-Cu dopados a 10, 100 y 1000 mg/L de Cu(II) como materiales de referencia. En las reacciones de oxidación de hidroquinona, mostradas en la figura 36, y en las de 2,4-DCP, mostradas en la figura 37. Ocurre algo parecido a la comparación anterior. El sustrato empleado altera la actividad cuando se normaliza la misma a unidad de sitio activo. En la oxidación de la hidroquinona, el catalizador con mayor cantidad de Cu es el más activo, tanto por unidad de masa de catalizador como por unidad catalítica de Cu. Sin embargo, al utilizar 2,4-DCP como sustrato, el catalizador con mayor porcentaje de Cu sigue siendo el más activo por unidad de masa, pero el de menor porcentaje de Cu se

convierte en el más activo por unidad catalítica de Cu al normalizar los datos experimentales.

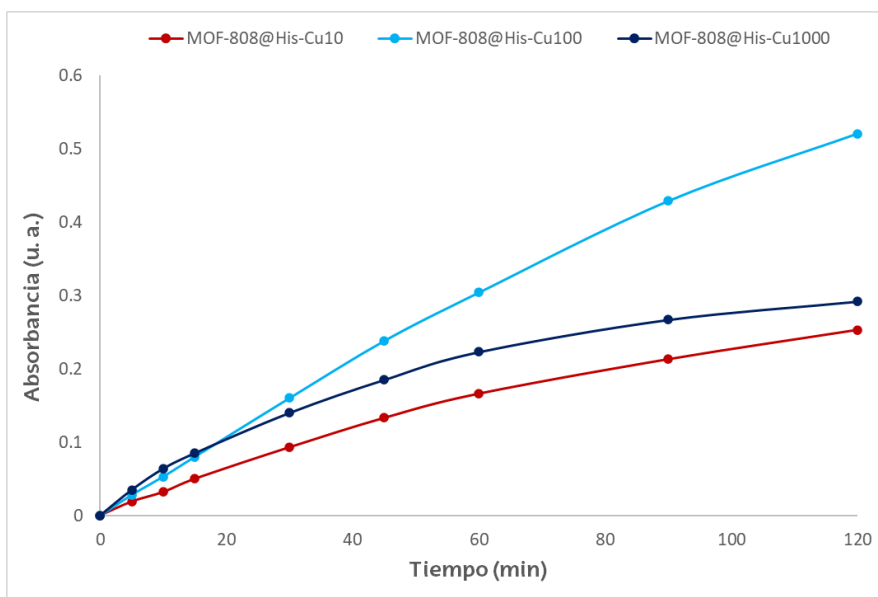


(a)

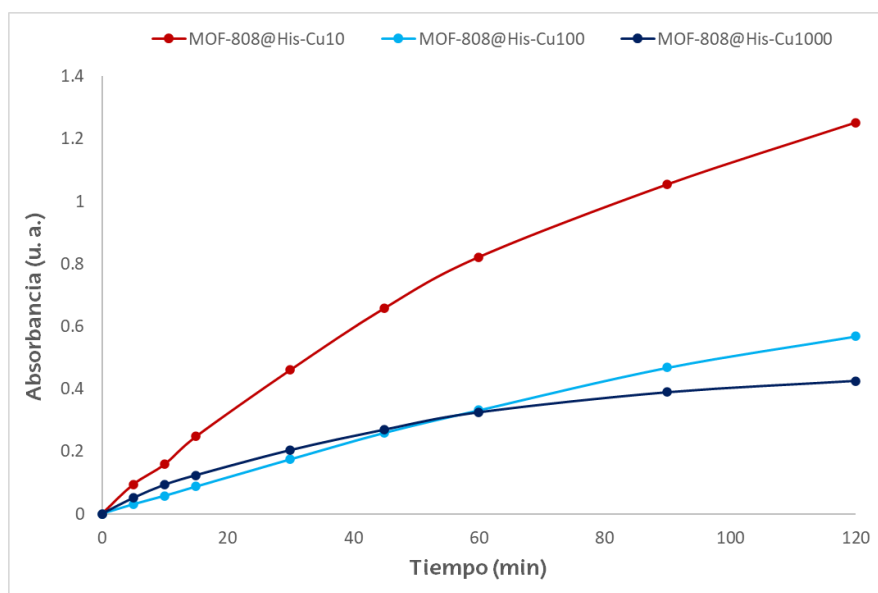


(b)

**Figura 36.** Representación gráfica de (a) oxidación de hidroquinona con catalizadores con diferentes grados de dopaje, y (b) oxidación de hidroquinona con catalizadores con diferentes grados de dopaje y normalizado a un porcentaje de Cu de 10%.



(a)



(b)

**Figura 37.** Representación gráfica de (a) oxidación de 2,4-DCP con catalizadores con diferentes grados de dopaje, y (b) oxidación de 2,4-DCP con catalizadores con diferentes grados de dopaje y normalizado a un porcentaje de Cu de 10%.

El entorno de coordinación de las especies de cobre en el MOF-808@His, y por lo tanto de su actividad para ciertas reacciones, parece depender del grado de dopaje del material. Es decir, el material dopado con la disolución de 10 mg/L de cobre es más esperable que presente unidades catalíticas monoméricas aisladas, mientras que al incrementar la concentración a 100 mg/L, los centros activos en forma de clústeres de cobre irían en aumento, y por lo tanto la actividad y

selectividad del material se vería alterada. Es importante tomar con cuidado los datos del material dopado con la disolución de 1000 mg/L, ya que la concentración final en el mismo es menor que incluso en el material dopado con la disolución de 100 mg/L.

## 4. CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas a través de la realización de este Trabajo de Fin de Máster se recogen en los siguientes puntos:

- Mediante síntesis solvotermal y modificaciones postsintéticas, se han podido obtener materiales basados en el MOF-808 con funcionalizaciones diferentes empleando aminoácidos y ácido carboxílicos. Este método de funcionalización puede permitir diseñar entornos de coordinación concretos en el material en los que inmovilizar metales con actividad bio-catalítica.
- Los MOF-808 funcionalizados adsorben de manera eficaz los iones metálicos de Cu. Además, el grado de dopaje empleado genera centros de Cu de diferentes naturalezas.
- Los catalizadores de Cu sintetizados poseen actividad peroxidasa y son capaces de degradar contaminantes fenólicos en medios acuosos en presencia de un agente oxidante como el  $H_2O_2$ . Asimismo, la manera en la que se relaciona la actividad de estos catalizadores con la concentración de sustrato se asemeja a las enzimas naturales.
- El entorno de coordinación diseñado a través de las funcionalizaciones influye de manera significativa en la actividad catalítica del material para una reacción y sustrato concretos. Por lo tanto, para la optimización de este sistema de catalizadores se debe realizar un análisis minucioso de cada tipo de reacción, sustrato y condiciones.
- De manera general un mayor dopaje con Cu provoca un aumento en la actividad catalítica. Sin embargo, esto puede provocar una reducción en la actividad de cada centro activo.
- Empleando el catalizador MOF-808@His-Cu100 se ha podido conseguir un grado de conversión de fenol en medio acuoso de casi el 90% a las 20 horas de reacción.

- Este trabajo abre la puerta a investigar la utilidad de este tipo de catalizadores en los que se intenta replicar en centro activo de las metaloenzimas en reacciones más allá de la oxidación de fenoles, tales como catálisis enantioselectiva de productos de alto valor añadido.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Moura, I., Pauleta, S. R. & Moura, J. J. G. Enzymatic activity mastered by altering metal coordination spheres. *J. Biol. Inorg. Chem.* **13**, 1185–1195 (2008).
2. Guo, M., Corona, T., Ray, K. & Nam, W. Heme and nonheme high-valent iron and manganese oxo cores in biological and abiological oxidation reactions. *ACS Cent. Sci.* **5**, 13-28 (2019).
3. Jiang, Z., You, Q. & Zhang, X. Medicinal chemistry of metal chelating fragments in metalloenzyme active sites: a perspective. *Eur. J. Med. Chem.* **165**, 172-197 (2019).
4. Bhagavan, N. V. & Ha, C.E. Enzymes and Enzyme Regulation. *Essentials of Medical Biochemistry*. Elsevier, 63–84 (2015).
5. Blanco, A. & Blanco, G. Enzymes. *Medical Biochemistry*. Elsevier, 153– 175 (2017).
6. Robinson, P.K. Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays Biochem.* **59**, 1-41 (2015).
7. Davies, G. J. & Ducros V. Laccase. *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*. John Wiley & Sons. 1-11 (2011)
8. Eicken, C., Gerdemann, C. & Krebs, B. Catechol oxidase. *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*. John Wiley & Sons. 1-12 (2011)
9. Balasubramanian, R., Smith, S. M., Rawat, S., Yatsunyk, L. A., Stemmler, T. L. & Rosenzweig, A. C. Oxidation of methane by a biological dicopper centre. *Nature.* **465**, 115-119 (2010).
10. Fontecilla-Camps, J. C., Amara, P., Cavazza, C., Nicolet, Y. & Volbeda, A. Structure–function relationships of anaerobic gas-processing metalloenzymes. *Nature.* **460**, 814-822 (2009).
11. Gan, L., Jennings, D., Laureanti, J. & Jones, A. K. Biomimetic Complexes for Production of Dihydrogen and Reduction of CO<sub>2</sub>. *Homo- and Heterobimetallic Complexes in Catalysis*. Springer, 233-272 (2016).
12. Kotov, N. A. Chemistry. Inorganic nanoparticles as protein mimics. *Science.* **330**, 188-189 (2010).
13. Karlsson, E. A., Lee, B.-L., Akermark, T., Johnston, E. V., Karkas, M. D., Sun, J., Hansson, O., Backvall, J.-E. & Akermark, B. Photosensitized Water Oxidation by Use of a Bioinspired Manganese Catalyst. *Angew. Chem.* **123**, 11919-11922 (2011).
14. Zhao, J., Shi, Q., Song, D., Li, B., Ren, H., Zhang, D., Sun, X., Li, J. & Wang, N. Effect of the NiN<sub>2</sub>S<sub>2</sub> Metallothiolate Ligands on the Preparation, Structure, and Property of Dinickel Complexes Related to [NiFe]- Hydrogenases Active Site. *Catalysis Letters.* **152**, 98-105 (2022).+
15. Tooley, C. A., Pazicni, S. & Berda, E. B. Toward a tunable synthetic [FeFe] hydrogenase mimic: single-chain nanoparticles functionalized with a single diiron cluster. *Polym. Chem.* **6**, 7646-7651 (2015).
16. Wang, W., Wang, J., Li, S., Li, C., Tan, R. & Yin, D. Iron(II)-folded single-chain nanoparticles: a metalloenzyme mimicking sustainable catalyst for highly enantioselective sulfa-Michael addition in water. *Green Chem.* **22**, 4645-4655 (2020).
17. Vanelderden, P., Snyder, B. E. R., Tsai, M.-L., Hadt, R. G., Vancauwenbergh, J., Coussens, O., Schoonheydt, R. A., Sels, B. F. & Solomon, E. I. Spectroscopic Definition of the Copper Active Sites in Mordenite: Selective Methane Oxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 6383-6392 (2015).
18. Dusselier, M., Van Vouwe, P., De Smet, S., De Clercq, R., Verbelen, L., Van Puyvelde, P., Du Prez, F. E. & Sels, B. F. Toward Functional Polyester Building Blocks from Renewable Glycoaldehyde with Sn Cascade Catalysis. *ACS Catal.* **3**, 1786-1800 (2013).

19. Liu, Y., Zhu, G., Bao, C., Yuan, A. & Shen, X. Intrinsic Peroxidase-like Activity of Porous CuO Micro-/nanostructures with Clean Surface. *Chin. J. Chem.* **32**, 151-156 (2014).
20. Zhou, H.-C. & Kitagawa, S. Metal-Organic Frameworks (MOFs). *Chem. Soc. Rev.* **43**, 5415-5418 (2014).
21. Lu, W., Wei, Z., Gu, Z. Y., Liu, T. F., Park, J., Park, J., Tian, J., Zhang, M., Zhang, Q., Gentle III, T., Bosch, M. & Zhou, H. C. Tuning the Structure and Function of Metal-Organic Frameworks via Linker Design. *Chem. Soc. Rev.* **43**, 5561-5593 (2014).
22. Wang, C., Liu, X., Demir, N. K., Chen, J. P. & Li, K. Applications of water stable metal-organic frameworks. *Chem. Soc. Rev.* **45**, 5107-5134 (2016).
23. Wang, Z. & Cohen, S. M. Postsynthetic modification of metal-organic frameworks. *Chem. Soc. Rev.* **38**, 1315-1329 (2009).
24. Wu, C.-D., Hu, A., Zhang, L. & Lin, W. A Homochiral Porous Metal-Organic Framework for Highly Enantioselective Heterogeneous Asymmetric Catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 8940-8941 (2005).
25. Shams, S., Ahmad, W., Memon, A. H., Wei, J., Yuan, Q. & Liang, H. Facile synthesis of laccase mimic Cu/H3BTC MOF for efficient dye degradation and detection of phenolic pollutants. *RSC. Adv.* **9**, 40845-40854 (2019).
26. Hu, C. Y., Jiang, Z. W., Huang, C. Z. & Li, Y. F. Cu<sup>2+</sup>-modified MOF as laccase-mimicking material for colorimetric determination and discrimination of phenolic compounds with 4-aminoantipyrine. *Microchim. Acta.* **188**, 272 (2021).
27. Ikuno, T., Zheng, J., Vjunov, A., Sanchez-Sanchez, M., Ortuño, M. A., Pahls, D. R., Fulton, J. L., Camaioni, D. M., Li, Z., Ray, D., Mehdi, B. L., Browning, N. D., Farha, O. K., Hupp, J. T., Cramer, C. J., Gagliardi, L. & Lercher, J. A. Methane Oxidation to Methanol Catalyzed by Cu-Oxo Clusters Stabilized in NU-1000 Metal-Organic Framework. *J. Am. Chem. Soc.* **139**, 10294-10301 (2017).
28. Furukawa, H., Gándara, F., Zhang, Y.-B., Jiang, J., Queen, W. L., Hudson, M. R. & Yaghi, O. M. Water adsorption in porous metal-organic frameworks and related materials. *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 4369-4381 (2014).
29. Pan, Y., Jiang, S., Xiong, W., Liu, D., Li, M., He, B., Fan, X. & Luo, D. Supported CuO catalysts on metal-organic framework (Cu-Uio-66) for efficient catalytic wet peroxide oxidation of 4-chlorophenol in wastewater. *Microporous and Mesoporous Materials.* **291**, 109703 (2020)
30. Ribeiro, R. S., Silva, A. M. T., Figueiredo, J. L., Faria, J. L. & Gomes, H. T. Catalytic wet peroxide oxidation: a route towards the application of hybrid magnetic carbon nanocomposites for the degradation of organic pollutants. A review. *Applied Catalysis B: Environmental.* **187**, 428-460 (2016).
31. Azizi, A., Abouseoud, M. & Amrane, A. Phenol Removal by a Sequential Combined Fenton-Enzymatic Process. *Nature Environment and Pollution Technology.* **16**, 321-330 (2017).
32. Fenton, H. J. H. Oxidation of Tartaric Acid in presence of Iron. *J. Chem. Soc. Trans.* **65**, 899-910 (1894).
33. Haber, F. & Weiss, J. Über die Katalyse des Hydroperoxydes. *Naturwissenschaften.* **20**, 948-950 (1932).
34. Haber, F. & Weiss, J. The Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide by Iron Salts. *Proc. R. Soc. Lond. A: Math. Phys. Sci.* **147**, 332-351 (1934).
35. a) Barb, W.G., Baxendale, J. H., George, P. & Hargrave, K. R. Reaction of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. Part 1.-The ferrous ion reaction. *Trans. Faraday Soc.* **47**, 462-500 (1951).



- b) Barb, W.G., Baxendale, J. H., George, P. & Hargrave, K. R. Reaction of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. Part 2.-The ferric ion reaction. *Trans. Faraday Soc.* **47**, 591-616 (1951).
36. Gholipoor, O. & Hosseini, S. A. Phenol removal from wastewater by CWPO process over the Cu-MOF nanocatalyst: process modelling by response surface methodology (RSM) and kinetic and isothermal studies. *New J. Chem.* **45**, 2536-2549 (2021).
37. Xu, J., Liu, J., Li, Z., Wang, X. & Wang, Z. Synthesis, structure and properties of Pd@MOF-808. *J. Mater. Sci.* **54**, 12911-12924 (2019).
38. Patel, R. N., Singh, Y. P., Singh, Y., Butcher, R. J. & Jasinski, J. P. Syntheses, single crystal structures, DFT and antioxidant superoxide dismutase studies of some new mono-/binuclear copper(II) complexes. *Polyhedron*. **129**, 164-181 (2017).