

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**USO DE PIGMENTOS BACTERIANOS COMO SENSIBILIZADORES EN
CELDA SOLARES**

Por:

Irene Morales Atilano

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS con Orientación
en Microbiología Aplicada**

Diciembre, 2020

RESUMEN

Irene Morales Atilano

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del estudio: USO DE PIGMENTOS BACTERIANOS COMO FOTSENSIBILIZADOES EN CELDAS SOLARES.

Número de páginas: Candidato para el Grado de Maestría en Ciencias con Orientación en Microbiología Aplicada.

Área de estudio: Microbiología Aplicada

La búsqueda de energías renovables para la generación de electricidad ha ido en aumento en los últimos años. Por lo que el desarrollo en celdas solares ha incrementado, especialmente en celdas solares sensibilizadas por pigmentos (DSSC por sus siglas en inglés). Se ha buscado el uso de pigmentos de origen orgánico que tengan mayor disponibilidad y menor costo. Por esto mismo, se ha decidido usar pigmentos de origen bacteriano como sensibilizadores.

Se reactivaron cepas productoras de pigmentos, y se evaluaron los medios de cultivos según la literatura para la producción. De las cepas proporcionadas solo una presentó coloración, posteriormente se caracterizó por pruebas bioquímicas API 20E, tratándose de *Serratia marcescens*. A continuación, se pasó a la producción y purificación de los pigmentos. La caracterización de los pigmentos se llevó a cabo por espectrofotometría de UV-Vis, FTIR y fotoestabilidad.

Se prepararon los electrodos de trabajo y se realizaron pruebas de inmovilización. También se tomaron imágenes SEM de cortes transversales de los electrodos sensibilizados, y se les realizó un mapeo elemental EDS, dónde se observó que la distribución del pigmento por las capas de TiO₂ fue uniforme.

Finalmente se evaluaron los parámetros fotoelectroquímicos de las celdas solares. Se usaron electrodos de referencia de platino, oro y carbono para cada uno de los pigmentos. La eficiencia más alta fue la celda sensibilizada con pigmento naranja usando el electrodo de carbono, alcanzando un valor del 0.53%.

Firma del asesor: _____

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Juan Francisco Villarreal Chiu por permitirme realizar este proyecto dentro de su equipo de trabajo, así como por su apoyo y paciencia para resolver todas mis dudas.

A la Dra. Melissa Marlene Rodríguez Delgado por toda la ayuda y asesoría brindada a lo largo de este proyecto.

Al comité tutorial: las doctoras Alcione García González, Pilar del Carmen Morales San Claudio y Alma Elizabeth Gómez Loredo, por la retroalimentación recibida que ayudó a mejorar el presente proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por la beca otorgada.

A todas las amistades formadas en estos dos años, por el apoyo y hacer que esta experiencia fuera más entretenida e interesante.

DEDICATORIA

A mi madre, la jefa de la casa, que a pesar de no entender bien de lo que trata mi proyecto, me ha apoyado incondicionalmente en todo lo que he necesitado.

A mi papá, por tener la paciencia de un santo y responder a todas mis preguntas (a pesar de que la veracidad de sus respuestas sigue en cuestión), que a pesar de que ya son 11 años que ya no está con nosotros, todas sus enseñanzas y valores siguen conmigo.

A mi hermana, por aceptarme en su casa sin ningún pretexto, y que a pesar de que ambas tuvimos que ajustarnos a vivir juntas, nunca hubo peleas, por todos los consejos.

A mi hermano, por todo el apoyo moral y culinario cada que regresaba a casa, por los pequeños consejos, y las risas y tardes de series para eliminar el estrés.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo 1	1
Introducción.....	1
1.1 Funcionamiento de una DSSC.....	3
1.2 Sensibilizadores	6
1.2.1 Sensibilizadores bacterianos	7
Capítulo 2.....	8
Antecedentes	8
Capítulo 3.....	13
Hipótesis y objetivos.....	13
3.1 Aportación científica.....	13
3.2 Hipótesis	13
3.3 Objetivo General	13
3.4 Objetivos específicos	13
Capítulo 4.....	14
Metodología.....	14
4.1 Obtención, purificación y caracterización de los pigmentos bacterianos.	14
4.1.1 Reactivación de las cepas	14
4.1.2 Evaluación de los medios de cultivo seleccionados para las cepas.	15
4.1.3 Caracterización bioquímica de las cepas.....	16
4.1.4 Producción, extracción y purificación de los pigmentos.....	16
4.1.5 Caracterización de los pigmentos.	18
4.1.6 Pruebas de fotoestabilidad de los pigmentos.	18
4.2 Construcción de la celda solar	18
4.2.1 Preparación del electrodo de trabajo.	18
4.2.2 Prueba de inmovilización.	19
4.2.3 Mapeo elemental de los electrodos de trabajo.	19
4.2.4 Preparación de los electrodos de referencia,.....	20
4.3 Evaluación de los parámetros electroquímicos	20
Capítulo 5.....	22
Resultados y Discusión	22
5.1 Obtención, purificación y caracterización de los pigmentos bacterianos.	22

5.1.1 Reactivación de las cepas y evaluación de los medios de cultivo.	22
5.1.2 Caracterización bioquímica.....	24
5.1.3 Producción y purificación de los pigmentos.	25
5.1.4 Caracterización y pruebas de fotoestabilidad de los pigmentos	26
5.2 Caracterización de la sensibilización de los electrodos de trabajo.	31
5.2.1 Prueba de inmovilización.	31
5.2.2 Mapeo elemental de los electrodos de trabajo.	33
5.3 Evaluación de los parámetros electroquímicos	37
Capítulo 6.....	44
Conclusiones.....	44
Bibliografía	46
Anexos	61

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ensayos de reactivación de las cepas de <i>P. aeruginosa</i> para su empleo en la producción de pigmentos.....	23
Tabla 2. Ensayos de reactivación de las cepas 02AM y 03NA para su empleo en la producción de pigmentos.	24
Tabla 3. Parámetros fotoelectroquímicos de celdas solares sensibilizadas con el pigmento rojo.....	41
Tabla 4. Parámetros fotoelectroquímicos de celdas solares sensibilizadas con el pigmento naranja.....	42
Tabla 5. Parámetros fotoelectroquímicos de DSSC sensibilizadas con pigmentos bacterianos.....	43
Tabla 5. Tabla de reactivos utilizados.....	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura y funcionamiento de una DSSC.	4
Figura 2. Resultado de prueba API 20E de la cepa 03NA.....	25
Figura 3. Espectro de absorción en la región UV-Vis del pigmento rojo purificado.	26
Figura 4. Espectro de FTIR del pigmento rojo.	27
Figura 5. Espectro de FTIR de prodigiosina producida por <i>Serratia marcescens</i> , obtenido por Omnia <i>et al.</i> (59).....	27
Figura 6. Espectro FTIR del pigmento naranja.	28
Figura 7. Espectro FTIR de DDQ, obtenido por Chen <i>et al.</i> (69).....	30
Figura 8. Prueba de fotoestabilidad del pigmento rojo	31
Figura 9. Prueba de inmovilización del pigmento rojo.	32
Figura 10. Imagen SEM con mapeo elemental del electrodo sensibilizado con el pigmento rojo.....	35
Figura 11. Imagen SEM con mapeo elemental del electrodo sensibilizado con el pigmento naranja.....	35
Figura 12. Análisis EDS del pigmento rojo.	36
Figura 13. Análisis EDS del pigmento naranja.	36
Figura 14. Curvas de corriente–voltaje de celda solar sensibilizada con el pigmento rojo, con los diferentes electrodos de referencia (A) carbono, (B) oro y (C) platino.	38
Figura 15. Curvas de corriente–voltaje de celda solar sensibilizada con el pigmento naranja, con los diferentes electrodos de referencia (A) platino, (B) carbono y (C) oro.	39

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
Abs	Absorbancia
ml	Mililitros
mg	Miligramos
g	Gramos
L	Litro
nm	Nanómetros
FTIR	Espectrometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier
UV-vis	Espectroscopía de Ultravioleta-Visible
h	Hora
rpm	Revoluciones por minuto
min	Minuto
μl	Microlitros
UV	Ultravioleta
mV	Milivoltios
ITO	Óxido de indio y estaño
DSSC	Celda solar sensibilizada por pigmentos, por sus siglas en inglés.
SEM	Microscopio electrónico de barrido, por sus siglas en inglés

Capítulo 1

Introducción

En los últimos años, se ha registrado un importante aumento en la demanda energética como consecuencia del incremento de la población a nivel mundial (1). Para poder satisfacer dicha demanda, se emplean comúnmente, una gran diversidad de combustibles fósiles, tales como el petróleo, gasolina, gas natural, carbón, entre otros. Sin embargo, se sabe que, a mediano plazo, las reservas de estos recursos no renovables se verán fuertemente afectadas por su disponibilidad y comercialización (2,3). Además, cabe destacar que el proceso de combustión que se genera a partir del empleo de estos recursos, tiene un impacto negativo en el medio ambiente debido a los contaminantes que se liberan a la biósfera (2). Es por esto por lo que, en las últimas décadas se ha intentado impulsar el uso de energías alternativas que minimicen el impacto al medio ambiente, mientras proveen de energía renovable a la sociedad. Entre dichas energías alternativas, se encuentra la energía solar. Esta forma de energía resulta ser muy ventajosa por su fácil adquisición y transformación, ya que mediante los dispositivos fotovoltaicos (PV) o también conocidos como celdas solares, se convierte la energía solar en electricidad (1,4,5).

Históricamente, las celdas solares de primera y segunda generación han sido fabricadas a partir de materiales de sílice y sus derivados. Éstas, han registrado eficiencias de conversión muy competitivas. Sin embargo, presentan altos costos de producción, lo que ha sido un importante impedimento para su comercialización. A raíz de esto, en el año 1991, Grätzel creó la tercera generación de celdas solares,

a la cual denominó como celdas solares sensibilizadas con pigmentos (DSSC, por sus siglas en inglés) (6). Estas nuevas celdas tienen la ventaja de presentar bajos costos de producción en comparación con las generaciones anteriores, además de presentar una fabricación simple y con un material de mayor flexibilidad. Por otra parte, estos DV pueden trabajar en condiciones de luz tenue o difusa (7–9). Es por esto por lo que se considera que las DSSC, pueden llegar a generar una rápida expansión comercial orientada al mercado basado en aplicaciones a pequeña escala, o inclusive convertirse en una fuente convencional de electricidad para hogares y PyMES (10).

Estas celdas deben dichas ventajas competitivas a su composición, ya que el electrodo de trabajo se encuentra recubierto de un óxido metálico semiconductor nanoporoso de bajo costo (como el TiO_2), el cual está unido a un pigmento fotosensibilizador (8). La unión entre estos componentes es muy importante para el rendimiento de la celda solar resultante, pues la afinidad entre el pigmento y el semiconductor permite que los electrones libres o débilmente unidos a las moléculas del pigmento puedan ser energizadas por la luz visible y puedan ser transferidos con facilidad a través del DV (11).

Los pigmentos que actualmente han mostrado mayor eficiencia en los DV son los compuestos derivados del rutenio (12). No obstante, estos compuestos presentan una serie de desventajas muy importantes que afectan no solo a la comercialización de las DSSC, sino también a su aceptación por la sociedad. Esto es porque, además de presentar altos costos en la producción de dichos pigmentos, sus procesos de fabricación generan residuos muy tóxicos para el ser humano y el medio ambiente

(11,13). Esto ha causado que, en los últimos años, las investigaciones en DSSC se estén enfocando en la búsqueda de materiales alternativos más nobles que puedan sustituirlos. Entre estos materiales alternativos se encuentran los pigmentos naturales, los cuales se presentan en una amplia gama de organismos, incluyendo plantas (14), animales (15), insectos (16) y microorganismos (17). Además, dado que estos pigmentos pueden ser obtenidos a gran escala como subproducto de otros procesos más importantes, sus costos de producción suelen ser muy bajos. Otra ventaja es que suelen requerir métodos de extracción y purificación poco complejos y más amigables con el medio ambiente (11), por lo que este proyecto plantea utilizar diferentes pigmentos bacterianos como potenciales fotosensibilizadores en celdas solares, a fin de mejorar la eficiencia del DV.

1.1 Funcionamiento de una DSSC

Las celdas solares de tercera generación están constituidas a partir de cinco componentes: un soporte mecánico conductor, un material semiconductor, un sensibilizador, un electrolito y un contra electrodo (18), los cuales se disponen como en la Figura 1.

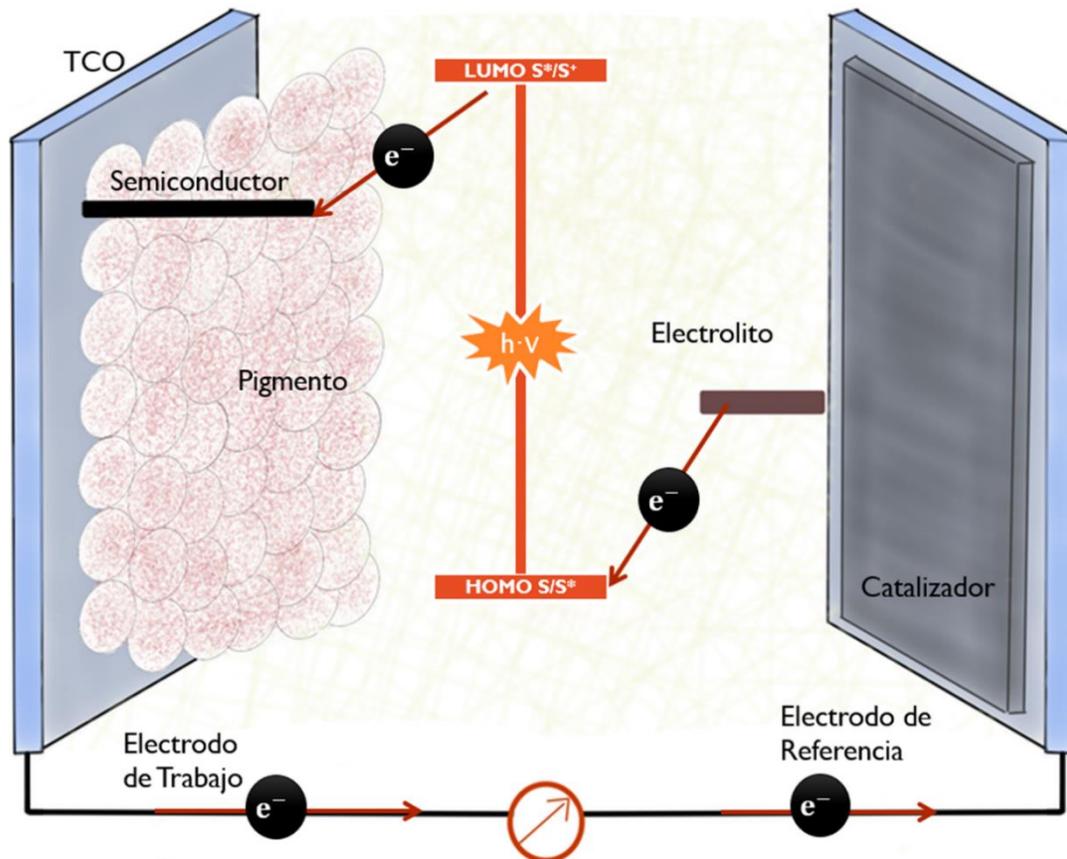


Figura 1. Estructura y funcionamiento de una DSSC.

El funcionamiento de la celda comienza cuando un fotón incide en la molécula del pigmento, lo cual genera que este pase de un estado basal a uno excitado. A fin de regresar a su estado basal, la molécula excitada inyecta electrones a la banda de conducción del óxido metálico del semiconductor, los cuales fluyen por los poros del semiconductor al óxido conductor transparente (TCO), pasando después por la carga externa hasta alcanzar finalmente al contraelectrodo. El pigmento oxidado es reducido por acción del electrolito, el cual pasa a su forma oxidada, que después es restablecido al recuperar su carga en el contraelectrodo, lo que completa así, el ciclo bioelectroquímico (19,20).

Como todo sistema bioelectroquímico, los parámetros necesarios para la evaluación de una DSSC pueden obtenerse a partir de una curva de corriente-voltaje, de la cual, mediante fórmulas establecidas, se calcula el resto de los parámetros (8), tales como:

Circuito de voltaje abierto (V_{oc}): El voltaje máximo disponible en una celda solar cuando la corriente es nula (21).

Densidad de corriente de corto circuito (J_{sc}): La fotocorriente por unidad de área. Es dependiente de las propiedades electroquímicas del pigmento y su relación con el semiconductor. Es por ello que una J_{sc} alta se relaciona con la capacidad del pigmento en absorber luz y de inyectar electrones a la banda de conducción del semiconductor (11).

Factor de llenado (FF): Es la relación entre la potencia máxima obtenida del dispositivo y la potencia máxima teórica y se calcula con la Ec.1 (20). El valor máximo del FF es 1 (11).

$$FF = \frac{J_{max} \times V_{max}}{J_{sc} \times V_{oc}} \quad \text{Ec. 1}$$

Eficiencia de conversión de energía solar a energía eléctrica (η): La relación entre la potencia de salida máxima con la potencia de la radiación incidente. Esta eficiencia puede verse afectada por la resistencia con la lámina del TCO, la resistencia de intercambio iónico del electrolito con el pigmento o con el contraelectrodo y se calcula con la Ec. 2(20).

$$\eta = \frac{J_{sc} \times V_{oc} \times FF}{P_{inc}}$$

Ec. 2

1.2 Sensibilizadores

Debido al funcionamiento mismo de las DSSC, el pigmento sensibilizador es considerado como el componente más importante, ya que es el responsable de recolectar directamente la luz e inyectar los electrones a la banda de conducción del semiconductor.

De entre los sensibilizadores que han presentado mayores eficiencias de conversión se encuentran los pigmentos de polipiridilo de rutenio. Estos presentan la capacidad absorber la luz en un amplio espectro hasta alcanzar la región del infrarrojo cercano, además de presentar niveles de energía HOMO y LUMO compatibles con el TiO_2 y el electrolito (22). A pesar de esto, se ha dado atención al empleo de otro tipo de pigmentos, ya que los pigmentos de polipiridilo de rutenio presentan altos costos de producción derivado de la difícil síntesis de estos compuestos y a la cantidad de residuos tóxicos que se generan durante el proceso (9,23).

Los pigmentos provenientes de plantas han sido de los más utilizados como sensibilizadores, debido a su fácil producción, bajo costo, gran viabilidad y baja toxicidad (24). Las características que más se toman en cuenta para el uso de este tipo de pigmentos son: el anclaje de las moléculas del pigmento en la superficie del material semiconductor y el rango de absorción. Esto es, porque la estructura va a determinar la fuerza de unión con el semiconductor que se verá reflejado con el flujo de electrones a la banda de conducción (25). Los principales pigmentos que se han

encontrado son aquellos formados por clorofila, carotenoides, antocianinas, betalaninas y flavonoides.

1.2.1 Sensibilizadores bacterianos

A pesar de la gran cantidad de pigmentos naturales provenientes de plantas que han sido usados como sensibilizadores, se ha iniciado la búsqueda de nuevas fuentes para la obtención de pigmentos. Dado que existe una gran cantidad de bacterias que llegan a producir pigmentos de manera natural, se ha empezado a considerar este tipo de pigmentos para la sensibilización de DSSC. Ésto principalmente debido a que los cultivos microbianos pueden generar grandes producciones de biomasa que aumentan el rendimiento en la producción de pigmentos, además de que éstos pueden extraerse de manera sencilla, derivando en una alternativa menos costosa y favorable para el medio ambiente.

Capítulo 2

Antecedentes

En los años 70's, la búsqueda de fuentes alternas de energía llevó al Dr. Melvin Calvin a proponer el uso por primera vez de la energía solar como fuente para generar electricidad. Su modelo proponía, simulando el proceso de la fotosíntesis llevado a cabo por las plantas, utilizar un sensibilizador que absorbiera la luz y que estuviera unido a una membrana sintética (26). Esta idea progresó satisfactoriamente hasta alcanzar el desarrollo de los dispositivos fotovoltaicos de primera generación que son producidos a partir de silicio mono y policristalino (27), los cuáles son los dispositivos que actualmente tienen las eficiencias más altas en el mercado (28). Posteriormente, se desarrollaron dispositivos de segunda generación, los cuales consisten en celdas de capa delgada formadas por compuestos semiconductores policristalinos amorfos, tales como el telururo de cadmio (CdTe) o selenita de cobre indio y galio (CIGS). Estos dispositivos han alcanzado eficiencias similares a las de la primera generación (~20%) (29). Sin embargo, su comercialización ha sido muy limitada debido al costo excesivo de los elementos raros que la componen, además de la alta toxicidad del cadmio, por lo que la fabricación a gran escala no ha sido recomendada (30). Esto conduce a una tercera generación, donde el objetivo principal es reducir los costos de elaboración y optimizar la eficiencia. Este objetivo no fue alcanzado sino hasta el año 1991, cuando Grätzel creó la primera celda solar sensibilizada con pigmentos, la cual se acercaba más a la idea original del Dr. Calvin. A través de este tipo de celdas y

empleando un sistema coloidal de pigmentos derivados de plantas, llegó a obtener como resultados eficiencias de conversión del 7.9% (6).

A partir de este punto, se comenzó una búsqueda intensiva inicial de pigmentos de origen vegetal que pudieran usarse como sensibilizadores. De estos estudios, se describieron a los pigmentos pertenecientes al grupo de los flavonoides y beta alaninas, como aquellos que presentaron mayores eficiencias de conversión. Por ejemplo, Zhou y colaboradores en 2011, demostraron que el pigmento extraído del mangostán, una molécula flavonoide, obtuvo la mayor eficiencia de conversión (1.17%) con respecto a 20 diferentes tipos de pigmentos extraídos de plantas (31). A su vez, Calogero y colaboradores en el año 2012, evaluaron pigmentos que contenían antocianinas y beta alaninas extraídos de diferentes frutas, obteniendo hasta un 2.06% de eficiencia de conversión (32).

A pesar de los avances logrados en materia de la búsqueda de pigmentos derivados de plantas como sensibilizadores de DSSC, los años posteriores fueron enfocados principalmente a la optimización del funcionamiento del sistema bioelectroquímico, empleando los pigmentos recientemente descubiertos, pero llevando a cabo modificaciones al sistema. De esta manera, Towannang y sus colaboradores lograron obtener en el año 2015, una eficiencia del 2.63% utilizando el pigmento del mangostán como sensibilizador y llevando a cabo modificaciones en el electrolito (disulfido / tiolato (T_3/T^-)) y el contraelectrodo empleados (cáscara de mangostán carbonizada y Poli(3,4-etilendioxitiofeno)-poli(estireno sulfonato) (PEDOT-PSS)) (33). Por otra parte, Sahare y colaboradores en el 2015, reportaron el uso del pigmento extraído del nimbo de la India, modificando el electrodo de

trabajo usando un film de Ti/TiO₂ y un electrodo de referencia de Pt/PET, logrando una eficiencia del 2.81% (34). De manera similar, Matsuura y colaboradores en 2016, emplearon un electrodo de trabajo utilizando pastas de TiO₂ que contenían partículas de tinta de calamar de tamaños controlados, logrando eficiencias de conversión de hasta un 3.2% (15).

A la par de la búsqueda intensiva inicial de pigmentos de origen vegetal que pudieran usarse como sensibilizadores, se llevaron a cabo estudios para investigar los complejos de polipiridilo de rutenio como alternativa debido a su amplio espectro de absorción, lo cual se sabe favorece su desempeño fotovoltaico (12). A pesar de que este tipo de sensibilizadores han alcanzado eficiencias de conversión mayores al 10% (35), este tipo de pigmentos presentan un alto costo en la producción de la celda y tienen una ruta de síntesis y purificación muy complejas (16,36). Además, al contener metales pesados, generan residuos tóxicos peligrosos para el medio ambiente (9,27). Es por esto por lo que las investigaciones sobre los compuestos del rutenio dejaron de ser favorecidas casi en su totalidad.

No fue sino hasta el año 2016, que gracias a los trabajos de Órdenes-Aenishanslins *et al* (13), se inició una nueva búsqueda de pigmentos naturales que pudieran ser empleados como sensibilizadores para DSSC. A diferencia de la búsqueda inicial, esta nueva etapa ha permanecido enfocada al uso de pigmentos de origen bacteriano, ya que se hipotetiza que su producción no solo resultaría más económica al poderse emplear residuos agroindustriales como fuentes de carbono para su producción a lo largo del año de manera independiente de los ciclos de cultivo de las plantas, sino que también resultaría en un proceso ecológicamente

viable, ya que al emplear biorreactores, no se tendría que deforestar o destinar tierras de cultivo a la producción de plantas que podrían invadir o extinguir las vegetaciones locales (36).

De esta manera, a partir de los trabajos iniciales de Órdenes-Aenishanslins *et al* (13), se identificaron dos bacterias aisladas del suelo de la Antártica, *Hymenobacter actinosclerus* y *Chryseobacterium chaponense*, las cuales generaron un pigmento rojo y amarillo, respectivamente. Ambos pigmentos fueron caracterizados por métodos instrumentales y a diferencia de los pigmentos estudiados anteriormente, ambos pertenecieron al grupo de las xantófilas, siendo identificados como luteína y cantaxantina. Sus experimentos demostraron que la celda sensibilizada con luteína presentó una eficiencia de conversión del 0.0323%, mientras que la celda con cantaxantina obtuvo una eficiencia del 0.0332%. Estudios posteriores llevados a cabo por Montagni y colaboradores donde emplearon la xantofila de *H. actinosclerus* como sensibilizador a manera de pigmento crudo, purificado o mezclado con ácido quenodesoxicólico, reportaron eficiencias muy por debajo de lo antes logrado por Órdenes-Aenishanslins, obteniendo para el pigmento crudo, una eficiencia de conversión del 0.03%, mientras que, para el pigmento purificado y mezclado, obtuvieron eficiencias aún menores, siendo 0.008% y 0.009%, respectivamente (37).

Por otra parte, se estudió recientemente el pigmento eumelanina obtenido a partir de *Streptomyces fildesensis*. En los trabajos realizados por Silva *et al.*, se evaluaron los parámetros eléctricos de la celda en relación con la concentración del pigmento,

reportándose una eficiencia máxima de 0.026% a una concentración de 6,500 µg/mL, y una eficiencia mínima de 0.011% a una concentración de 21 µg/mL(17).

Además de los pigmentos antes mencionados, se han estudiado proteínas y citocromos de origen bacteriano. Ejemplo de esto es el estudio de los complejos de proteínas PPCs obtenidos de *Rhodopseudomonas palustris* CQV97 y *Rhodobacter azotoformans* R7, donde se utilizaron los complejos de recolección de luz 2 y 4 (LH2 y LH4) y el centro de reacción (RC) de ambas cepas. Para estos experimentos se reportó que el RC de *R. azotoformans* presentó una mayor eficiencia de conversión con un 0.57%, seguida del LH2 de la misma cepa con 0.42% (38).

A la fecha, el estudio más reciente sobre el estudio de pigmentos microbianos empleados como sensibilizadores para DSSC fue realizado en el Laboratorio de Innovación y Desarrollo Biotecnológico por Hernández Velasco *et al.*, en 2020, donde emplearon la prodigiosina producida por la cepa nativa *Serratia marcescens* 11E, logrando demostrar mediante el empleo de un esquema básico de una DSSC y un contraelectrodo de carbono se puede obtener una eficiencia del 0.032% (39).

Capítulo 3

Hipótesis y objetivos

3.1 Aportación científica

Se determinará la funcionalidad de pigmentos bacterianos como fotosensibilizadores, que mejoren la eficiencia de las celdas solares.

3.2 Hipótesis

La eficiencia de las celdas solares con pigmentos bacterianos usados como fotosensibilizadores que presentan grupos aromáticos, es superior al 0.033%.

3.3 Objetivo General

Utilizar pigmentos de origen bacteriano que presenten grupos aromáticos afines al TiO_2 , como sensibilizadores en celdas solares, para mejorar la eficiencia de la celda solar.

3.4 Objetivos específicos

- a) Cultivar bacterias pigmentadas procedentes del cepario del Laboratorio de Innovación y Desarrollo Biotecnológico (antes Laboratorio de Biotecnología 1).
- b) Producir, extraer y purificar los pigmentos bacterianos.
- c) Caracterizar los pigmentos bacterianos.
- d) Construir la celda solar sensibilizada por pigmentos.
- e) Evaluar la eficiencia de los parámetros electroquímicos de la celda solar sensibilizada y sin sensibilizar.

Capítulo 4

Metodología

4.1 Obtención, purificación y caracterización de los pigmentos bacterianos.

4.1.1 Reactivación de las cepas

Las bacterias empleadas en este trabajo están contenidas en el cepario del Laboratorio de Innovación y Desarrollo Biotecnológico (antes Laboratorio de Biotecnología 1) de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL. Las cepas empleadas fueron: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Pseudomonas aeruginosa* nativa donada por FCB, cepas nativas no identificadas denominadas como 02AM y 03NA.

Primero se procedió con su reactivación a partir de muestras preservadas en glicerol. Para esto, se preparó caldo nutritivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante, vertiéndose de 5 a 6 mL de medio en tubos Hosch y se esterilizaron por 15 minutos a 121 °C y 15 psi de presión en una autoclave automática (Tuttnauer 2540M). Una vez atemperados, los tubos fueron inoculados empleando una alícuota de 50 µL de las muestras preservadas en glicerol. Estos se incubaron a 28 °C durante 24 horas en una incubadora con agitación SHEL-LAB 1575 a 150 rpm.

Posteriormente, se prepararon placas con agar nutritivo que fueron empleadas para sembrar por la técnica de estría cruzada cada cepa reactivada. Los cultivos que se obtuvieron de las placas se utilizaron para la posterior producción de los pigmentos.

A fin de corroborar la identidad de las cepas reactivadas, se les realizó una tinción de Gram, la cual se realizó tomando una asada de la placa y se colocó en un

portaobjetos, después se agregó una gota de agua y se dejó secar. Una vez que la muestra secó, se agregó cristal violeta y se dejó por 1 minuto. Transcurrido el tiempo el portaobjetos se enjuagó con agua destilada, a continuación, se agregó lugol y se dejó por 3 minutos, seguido de una adición de alcohol-acetona por 1 minuto. Se enjuagó con agua destilada y se agregó safranina durante 1 minuto. Finalmente, la muestra se enjuagó y se dejó secar para su posterior observación al microscopio óptico empleando el objetivo 100X, mediante la adición de una gota de aceite de inmersión.

4.1.2 Evaluación de los medios de cultivo seleccionados para las cepas

A partir de los resultados de la tinción Gram, se realizó una revisión de la literatura para encontrar los posibles medios de cultivo y las condiciones de incubación óptimas para la producción de pigmento de cada cepa.

Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* se inocularon en: caldo nutritivo y se incubaron a 30 y 37 °C (40), medio Pseudomonas a 30 y 37°C (41), medio King A modificado a 37 °C(42) y medio succinato a 25 °C (43).

La cepa denominada 02AM se inoculó en: caldo nutritivo a 25 y 30 °C (44), Medio triptocaseína de soya a 25 y 30 °C (45) y medio marino a 25 y 37 °C (46). Finalmente la cepa denominada 03NA se cultivó en caldo nutritivo a 25 y 30°C (47) y medio R2A a 30 y 37 °C (48). Todos los cultivos estuvieron a una agitación constante de 150 rpm.

4.1.3 Caracterización bioquímica de las cepas

Según los resultados de la evaluación de los medios de cultivo, se tomó la única cepa que presentó pigmentación para realizar la identificación por medio de pruebas bioquímicas. Se utilizó el sistema automatizado api 20E™. Se suspendió una colonia en 5 mL de agua estéril, posteriormente con la suspensión se rellenaron los pocillos de la tira, llenando hasta la cúpula los pocillos de CIT, VP y GEL. Posteriormente se rellenó con aceite mineral estéril la cúpula de los pocillos ADH, LDC, ODC, URE, H₂S. Finalmente se colocó la tira en una cámara húmeda y se dejó incubar a 37°C por 24 h.

4.1.4 Producción, extracción y purificación de los pigmentos

La producción del pigmento se llevó a cabo mediante la siembra de la cepa 03NA en caldo nutritivo, el cual se preparó según el fabricante. Una vez preparado el medio, se inoculó con una asada de la cepa tomada de una caja Petri con agar nutritivo sembrado por estría, el medio se incubó durante 24 horas a 25 °C a 150 rpm.

Transcurridas las 24 horas se realizó una resiembra en 10 mL de caldo nutritivo, y se inoculó tomando 4 mL del escalamiento anterior, se incubó durante 48 horas a 25 °C a 150 rpm. Pasadas las 48 horas de incubación, se prepararon 100 mL de caldo nutritivo en un matraz, se esterilizó y se dejó enfriar a temperatura ambiente para después inocular el medio con 4 mL del cultivo del último escalamiento, se incubó por 48 horas a 25 °C a 150 rpm.

Para llevar a cabo la extracción de los pigmentos, se empleó el siguiente procedimiento: En tubos Falcon de 50 mL, se colocaron 25 mL de cultivo en cada uno y se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 minutos a una temperatura de 8 °C. Una vez centrifugado se retiró y guardó el sobrenadante y se agregaron nuevamente 25 mL de medio en cada tubo, se centrifugaron a las mismas condiciones y se guardó el sobrenadante. A continuación, se agregaron 3 mL de cloroformo a cada tubo Falcon y se sometieron a un tratamiento de ultrasonificación durante 1 minuto, dejando 2 minutos de reposo para enfriar la muestra, este proceso se repitió 3 veces con cada tubo Falcon. Una vez que todos los tubos fueron ultrasonificados se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min a 8 °C, después se recuperó la fase líquida que contenía el pigmento y se transfirió a un vial ámbar. Al sobrenadante también se le realizó un proceso de extracción, colocando en un embudo de separación acetona y el sobrenadante en una relación 2:1, se mezcló y se dejó decantar hasta ver una separación de fases, y se recolectó la fase que contenía el pigmento.

Una vez que el solvente se evaporó por completo, se continuó con la purificación de los pigmentos mediante cromatografía en columna, utilizando sílica gel en cloroformo como fase estacionaria, y una mezcla de cloroformo: metanol (9:1) como fase móvil. La columna se preparó colocando un disco delgado de algodón en el fondo de una bureta, posteriormente se le adicionó la fase estacionaria, preparada con ~13 g de sílica gel en 50 mL de cloroformo, la cual se dejó empacar por gravedad. Por otra parte, previo a su purificación, los pigmentos fueron diluidos cada uno en ~ 1 mL de cloroformo.

Al compactarse la fase estacionaria, se añadió la solución del pigmento y se agregó la fase móvil, hasta recuperar la fracción del pigmento purificado, el cual se recogió en un vial previamente secado y pesado.

4.1.5 Caracterización de los pigmentos

Ya que los solventes se hayan evaporado, se realizaron barridos mediante espectrofotometría de UV-Vis para determinar el espectro de absorción de cada uno de los pigmentos. Posteriormente se realizó la caracterización de cada pigmento mediante espectrometría FT-IR.

4.1.6 Pruebas de fotoestabilidad de los pigmentos

Se preparó una solución de pigmento rojo en cloroformo de 1 mg/mL, se colocó en un vial de vidrio sellado y se expuso a radiación solar por 6 horas. Tomando lectura de la absorbancia cada hora en el espectrofotómetro de UV-Vis, a una longitud de onda de 540 nm.

4.2 Construcción de la celda solar

4.2.1 Preparación del electrodo de trabajo

Se lavaron los vidrios recubiertos con ITO (1 cm x 1 cm). Se preparó una solución de acetona: isopropanol (1:1) y se colocaron los vidrios en un baño de sonicación por 10 min. Posteriormente se preparó una solución de acetilcetona – etanol (1:1) e isopropóxido de titanio (IV) al 0.1 M, la cual se depositó sobre el vidrio ITO por medio

de Spray pirolisis a una temperatura de 300 °C. Se colocaron las pastas de TiO₂ por el método de Doctor Blade. Primero se aplicó la pasta transparente y después la pasta reflectora. Finalmente, el vidrio se calentó a 450 °C por 30 min.

La sensibilización de los electrodos de trabajo se realizó por drop casting. Se preparó una solución de 10 mg/mL de los pigmentos diluidos en cloroformo, y se dejó caer gotas de la solución sobre los electrodos y se esperó hasta que se secase la solución en el electrodo.

4.2.2 Prueba de inmovilización

Se preparó una solución de 10 mL de pigmento rojo en cloroformo de 1 mg /mL, y se colocó en un vial ámbar, posteriormente se agregó un electrodo de trabajo sin sensibilizar y se midió la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 540 nm por 7 horas.

4.2.3 Mapeo elemental de los electrodos de trabajo

Se realizó un corte transversal a dos electrodos de trabajo previamente sensibilizados uno con el pigmento rojo y otro con el pigmento naranja. Se colocaron en un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-7800F y se realizó una ampliación de 30,000X y se tomó una micrografía de los cortes para ver las capas y realizar un mapeo elemental de cada electrodo.

4.2.4 Preparación de los electrodos de referencia

Para electrodo de platino, se preparó con una solución de ácido cloroplatínico hexahidratado al 0.02 M en etilenglicol. A continuación, se cubrió el vidrio ITO con 200 μ L de la solución de platino y se calentó a 180 °C por 5 min, y al final se lavó tres veces con etanol (49).

El electrodo de carbono se recubrió con una pasta comercial de carbono por el método de Dr. Blade, mientras que los electrodos de oro se prepararon recubriendo los vidrios ITO con una lámina de oro por medio de evaporación con rotación. Los vidrios se colocaron en una cámara de vacío con una pistola de electrones y evaporación térmica con un vacío de 2×10^{-5} lb. Los pellets de oro con pureza de 99.999% se evaporaron y se depositaron a una velocidad de 5.0 – 5.2 Å/s. Con un espesor final de 50 nm.

4.3 Evaluación de los parámetros electroquímicos

Una vez listos los electrodos de trabajo y de referencia, se armaron las celdas solares bajo un esquema tipo sándwich, el cual consiste en colocar el electrodo de trabajo, el de referencia y una solución de electrolito de KI/I₂ 0.5 M/0.03 M. Fijando los electrodos con pinzas. También se armaron celdas con electrodos de trabajo sin sensibilizar.

Las pruebas electroquímicas se realizaron por triplicado en un simulador solar Sciencetech 55150 acoplado a un potencióstato Gamry PCI-740^a, para registrar las curvas de corriente – voltaje y conocer la fotorespuesta. Las mediciones se

realizaron en condiciones constantes de temperatura e irradiación de un sol de intensidad como fuente de energía (~ 100 mW ·cm² y AM 1.5).

La densidad de corriente (J_{max}) y el voltaje (V_{max}) para la potencia máxima (P_{max}) se obtuvieron de las gráficas corriente – voltaje que se midieron por medio del simulador solar. De esa curva se detectaron los valores de la densidad de corriente en circuito cerrado (J_{sc} , en unidades mA·cm²) y voltaje en circuito abierto (V_{oc} en unidades de V). Estos últimos parámetros serán empleados para calcular el factor de llenado FF (Ecuación 1).

$$FF = \frac{J_{max} \times V_{max}}{J_{sc} \times V_{oc}} \quad \text{Ec. 1}$$

La eficiencia de conversión fotoeléctrica de la celda solar será obtenida mediante la Ecuación 2.

$$\eta = \frac{J_{sc} \times V_{oc} \times FF}{P_{inc}} \quad \text{Ec. 2}$$

Capítulo 5

Resultados y Discusión

5.1 Obtención, purificación y caracterización de los pigmentos bacterianos

5.1.1 Reactivación de las cepas y evaluación de los medios de cultivo

A partir del antecedente que en el Laboratorio de Innovación y Desarrollo Biotecnológico se contaba con dos cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, se recurrió a la literatura para revisar las condiciones específicas de crecimiento que fomentaran la producción de los pigmentos que ésta especie produce. De esta manera se determinaron las condiciones para producir de manera natural, piocianina (pigmento de color verde-azulado), piorrubina (pigmento de color rojo) y pioverdina (pigmento de color fluorescente) a través del empleo de los medios de cultivo *Pseudomonas*, King A modificado y succinato, respectivamente (40–43). Al intentar reactivar las cepas en los medios de cultivo seleccionados, bajo las condiciones recomendadas por la literatura, no se observó crecimiento en ninguno de los experimentos a pesar de múltiples repeticiones (Tabla 1). Estos resultados establecieron el antecedente de que las cepas de *P. aeruginosa* y probablemente algunas otras que se encuentran contenidas en el cepario del laboratorio, perdieron su viabilidad y no podrán ser utilizadas nuevamente.

Tabla 1. Ensayos de reactivación de las cepas de *P. aeruginosa* para su empleo en la producción de pigmentos.

Cepa empleada	Pigmento a producir	Medio de cultivo para la producción	Temperatura de cultivo (°C)	Crecimiento observado
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	Piocianina	Caldo nutritivo	30	X
			37	X
	Piorrubina	Medio Pseudomonas	30	X
			37	X
	Pioverdina	Medio King A Modificado	37	X
	Pioverdina	Medio succinato	25	X
<i>P. aeruginosa</i> nativa donada por la Facultad de Ciencias Biológicas	Piocianina	Caldo nutritivo	30	X
			37	X
	Piorrubina	Medio Pseudomonas	30	X
			37	X
	Pioverdina	Medio King A modificado	37	X
	Pioverdina	Medio succinato	25	X

Afortunadamente, dos de las cepas de interés para este estudio, las bacterias designadas como 02AM y 03NA, pudieron ser reactivadas sin problemas empleando caldo nutritivo. La cepa 02AM, cuya identificación previa en el cepario está registrada como *Micrococcus spp.*, posee la cualidad de generar un pigmento amarillo, el cual, según la literatura, podría pertenecer a la familia de los carotenoides (50,51). Al observar su morfología bajo el microscopio, se determinó que la cepa 02AM crece en forma de cocos Gram positivos, lo cual corresponde con lo reportado para el género *Micrococcus* (50,51). De esta manera, se prosiguió a la preparación y cultivo de 02AM en los medios seleccionados, los cuales fueron incubados en las condiciones óptimas reportadas para la producción del pigmento. Sin embargo, a pesar de las múltiples repeticiones y cambios en las condiciones de

cultivo, no se logró obtener el pigmento deseado (Tabla 2). Por el contrario, la cepa 03NA, que al reactivarse en caldo nutritivo presentó una pigmentación rojiza anaranjada, logró una pigmentación satisfactoria en los ensayos preliminares de monitoreo para la selección de medio de cultivo y temperatura (Tabla 2). Bajo el microscopio, la cepa 03NA presentó una morfología de bacilos Gram negativos. Sin embargo, no se tenían registros previos de este alisado bacteriano en el cepario debido a que no había sido empleado anteriormente, por lo que se procedió a realizar una caracterización bioquímica para su identificación.

Tabla 2. Ensayos de reactivación de las cepas 02AM y 03NA para su empleo en la producción de pigmentos.

Cepa empleada	Pigmento a producir	Medio de cultivo para la producción	Temperatura de cultivo (°C)	Crecimiento observado
Nativa designada como 02AM	Amarillo (sin caracterizar)	Caldo nutritivo	30	X
		Tryptocaseína de soya	25	X
			30	X
			25	X
			37	X
Medio marino	25	X		
Nativa designada como 03NA	Naranja (sin caracterizar)	Caldo nutritivo	30	✓
		Medio R2A	25	✓
			30	X
			27	X
			27	X

5.1.2 Caracterización bioquímica

Para la caracterización bioquímica de la cepa 03NA se utilizó un kit de identificación API® 20E de la marca bioMérieux. Al compararse los resultados de la prueba con la tabla de referencia del fabricante (Figura 2), la cepa pudo identificarse como *Serratia marcescens*. Las características morfológicas de este género coinciden con las obtenidas experimentalmente para la cepa 03NA. Cabe destacarse que esta bacteria perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, posee como característica

principal, la generación de un pigmento rojizo conocido como prodigiosina (52), el cual es un metabolito secundario que está vinculado a los procesos de supervivencia del microorganismo (53).

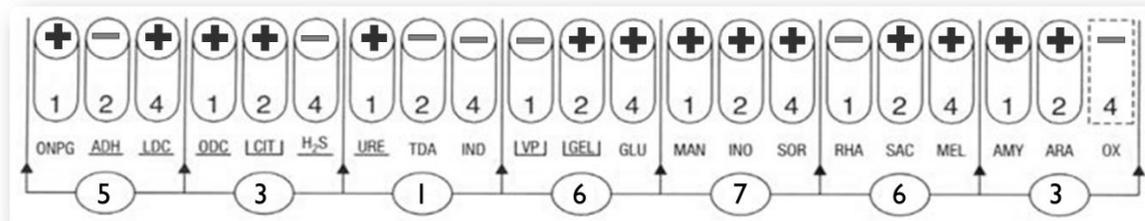


Figura 2. Resultado de prueba API 20E de la cepa 03NA

5.1.3 Producción y purificación de los pigmentos

Dado que la cepa 03NA fue identificada como *Serratia marcescens*, se emplearon las condiciones ya reportadas por nuestro laboratorio para la producción, extracción y purificación del pigmento producido por *S. marcescens* 11E. De esta manera, al emplear el caldo nutritivo como medio de producción e incubando el ensayo a 25 °C, se obtuvo la pigmentación del medio de cultivo de acuerdo con lo registrado en los ensayos iniciales de monitoreo y en la tesis de Hernández-Velasco (39), No obstante, a pesar de las grandes similitudes entre la cepa 03NA y su congénere *Serratia marcescens* 11E, se pudo observar que después de centrifugar el medio de cultivo para separar las bacterias, se presentó en el sobrenadante una pigmentación rojiza que no se encontró previamente en la cepa 11E, sugiriendo que la cepa 03NA es productora de un segundo pigmento. Esto es bastante inusual dado que *Serratia marcescens* es ampliamente conocida por la producción de

prodigiosina, sin embargo, el estudio realizado por Wang et al en 2012 presentó una cepa de *Serratia marcescens* RB3 capaz de producir betacaroteno (54). También en otros estudios se ha detectado la presencia de benzoquinonas a partir de la degradación de enzimas sin especificar pertenecientes a *Serratia marcescens* (55,56).

5.1.4 Caracterización y pruebas de fotoestabilidad de los pigmentos

Para identificar el pigmento intracelular rojo producido por la cepa 03NA, se llevó a cabo un barrido de la muestra por espectrofotometría de UV-Vis en un rango de 300 a 800 nm. Como se puede observar en la Figura 3, el espectro presenta una señal dominante a 540 nm acompañada de un pico menor a los 510 nm, los cuales corresponden a la descripción histórica de la prodigiosina realizada por Hubbard y Rimington en 1950 (57,58).

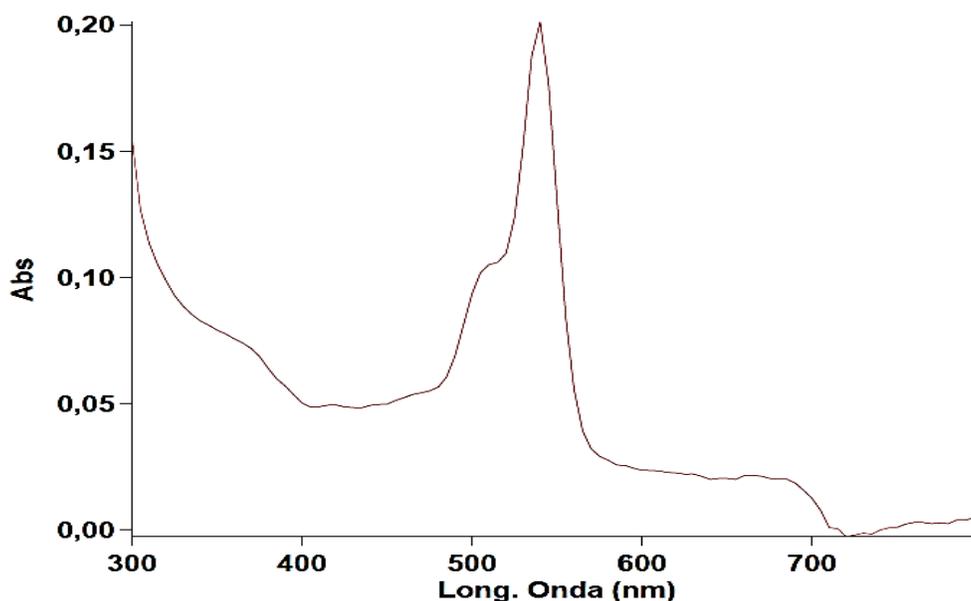


Figura 3. Espectro de absorción en la región UV-Vis del pigmento rojo purificado.

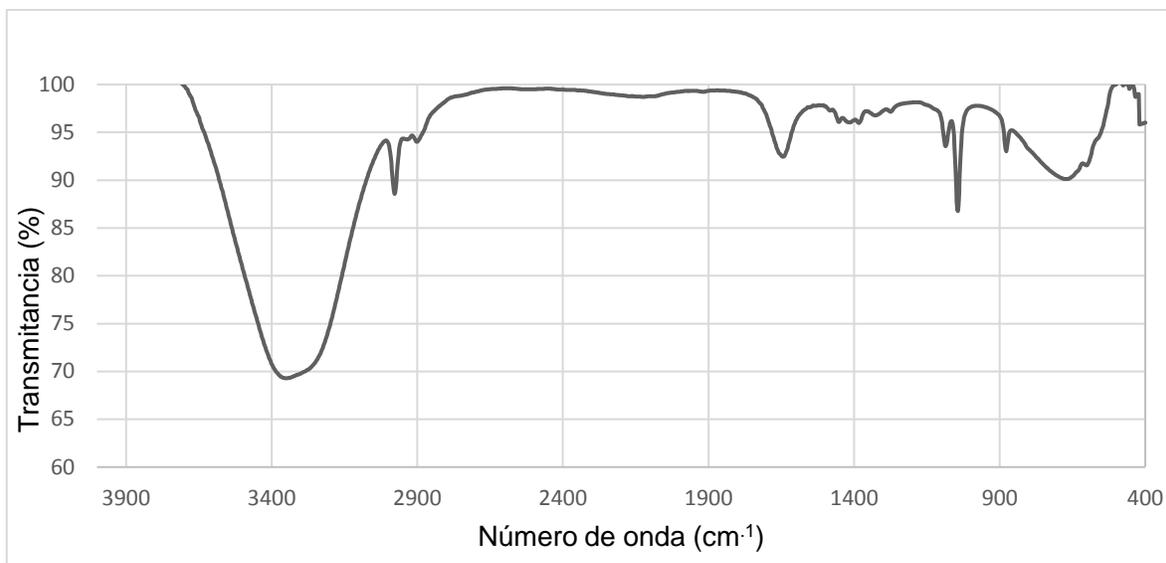


Figura 4. Espectro de FTIR del pigmento rojo.

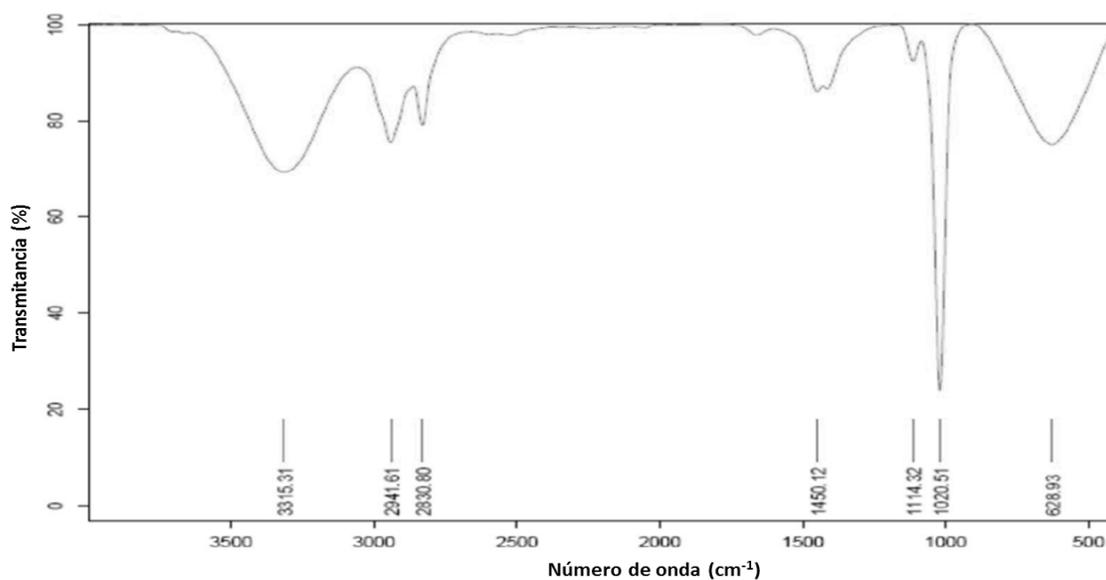


Figura 5. Espectro de FTIR de prodigiosina producida por *Serratia marcescens*, obtenido por Omnia *et al.* (59).

Los pigmentos se caracterizaron por medio de FTIR, por triplicado. La Figura 4 muestra el espectro del pigmento rojo. Se pueden apreciar señales relacionadas con grupos pertenecientes a la prodigiosina, como la banda que se observa a 3347 cm^{-1} que se atribuye al estiramiento de N-H presente en las aminas (39). Las

bandas ubicadas a 2977 y 2898 cm^{-1} representan el estiramiento simétrico y asimétrico de los grupos metilo y metileno que se encuentran en la cadena alifática de la molécula, en 1641 y 1452 cm^{-1} son debido a los grupos $-\text{NH}$ y el estiramiento de $\text{C}=\text{C}$ (60). La presencia de estas bandas concuerda con el comportamiento de los espectros reportados en diferentes estudios donde se caracterizó prodigiosina extraída de *Serratia marcescens* mostrando bandas alrededor de 3400, 2900, 1600, 1400, 1200 y 700 cm^{-1} (52,61–64). En la Figura 5 se presenta el espectro obtenido por Omnia *et al*, el cual también se obtuvo de prodigiosina extraída de *Serratia marcescens* (59), como se puede observar se comporta de una manera muy similar al espectro FTIR del pigmento rojo de este proyecto. Esto sugiere que el pigmento rojo podría tratarse de prodigiosina.

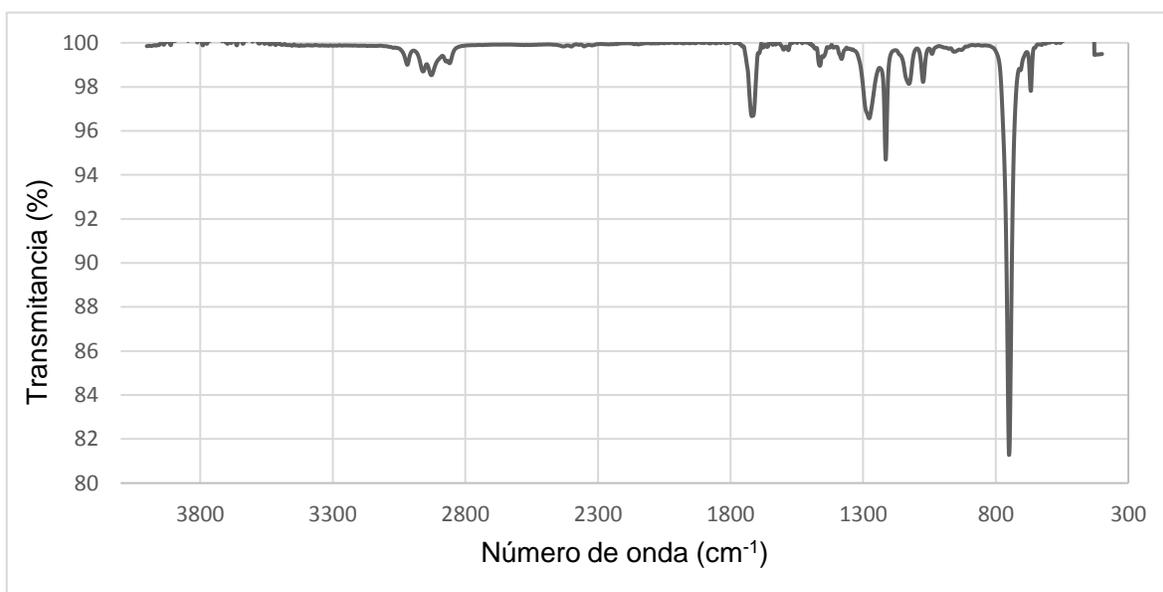


Figura 6. Espectro FTIR del pigmento naranja.

El espectro de FTIR del pigmento naranja (Figura 6) muestra bandas principalmente entre los ~ 700 y ~ 1800 cm^{-1} , este comportamiento es característico de los

compuestos derivados de las quinonas (65). Las bandas de 750, 1214 y 1714 cm^{-1} se deben a las vibraciones de balanceo de C–H, estiramiento de C–C y C–C=O respectivamente (66). Por otro lado, vibraciones de baja intensidad entre 2859 y 3000 cm^{-1} representan el estiramiento de C–H (67). Inicialmente se había pensado que el pigmento naranja podría tratarse de betacaroteno debido al antecedente de una cepa de *Serratia marcescens* que produce dicho pigmento (54). Sin embargo, las bandas del espectro de FTIR obtenido, no coinciden con las bandas características al betacaroteno (68). Por otro lado, el espectro muestra similitud a los espectros obtenidos por Makuraza *et al.*, donde se obtuvieron los espectros teóricos y experimentales de 1,2-benzoquinona y 1,4-benzoquinona (66). El espectro de FTIR obtenido por Chen *et al.*, que se observa en la Figura 7 muestra un comportamiento similar con bandas en 1675 y 1553 cm^{-1} representando el enlace C=O de los grupos quinolilo y C=C del anillo aromático, tomando en cuenta que la molécula que se está analizando es 2, 3-diciano-5,6-dicloro-1, 4-benzoquinona (DDQ) por lo cual también presenta las bandas representantes de los enlaces C≡N y C–Cl (69,70). Esto puede sugerir que el pigmento naranja es una benzoquinona.

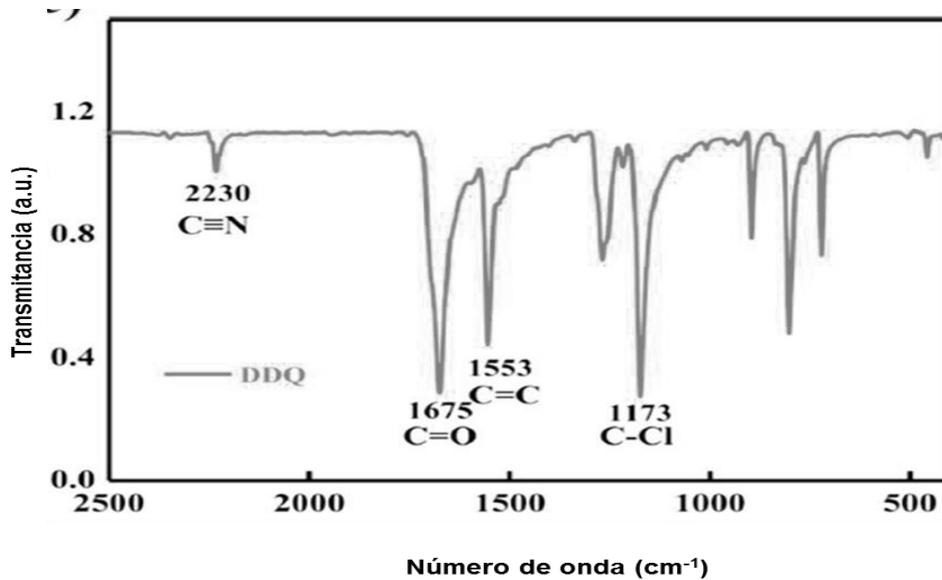


Figura 7. Espectro FTIR de DDQ, obtenido por Chen *et al.* (69)

A continuación, se le realizó por triplicado la prueba de fotoestabilidad al pigmento rojo purificado a fin de evaluar su estabilidad al recibir radiaciones UV emitidas por la luz solar. Como se puede observar en la Figura 8, el pigmento rojo producido por la cepa 03NA muestra una clara degradación a la hora de exposición. Este resultado contrasta fuertemente con lo reportado anteriormente por Hernández-Velasco, donde la prodigiosina producida por la cepa 11E presentaba una alta estabilidad hasta 120 h de experimentación (39) y también difiere a lo mencionado en otros estudios donde se afirma que la prodigiosina es un pigmento estable a la radiación UV (71–73). Por consiguiente, se puede deducir que el pigmento rojo producido por la cepa 03NA posee poca fotoestabilidad y difícilmente podría ser empleada como sensibilizador en celdas solares.

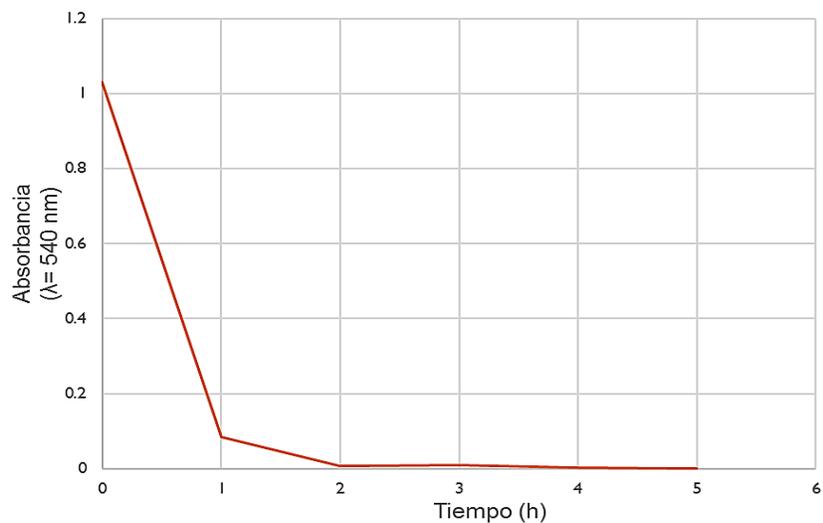


Figura 8. Prueba de fotoestabilidad del pigmento rojo

5.2 Caracterización de la sensibilización de los electrodos de trabajo

5.2.1 Prueba de inmovilización

A pesar de la poca fotoestabilidad mostrada por el pigmento rojo producido por la cepa 03NA, se decidió proceder con la prueba de inmovilización del pigmento para determinar la cantidad de pigmento que puede ser absorbida por el electrodo de trabajo. La Figura 9 muestra el comportamiento de la solución stock de pigmento rojo cuando se sumerge el electrodo de trabajo, mostrando una máxima absorción del pigmento a las 3 horas de estar en contacto con el electrodo. La prueba se realizó por triplicado.

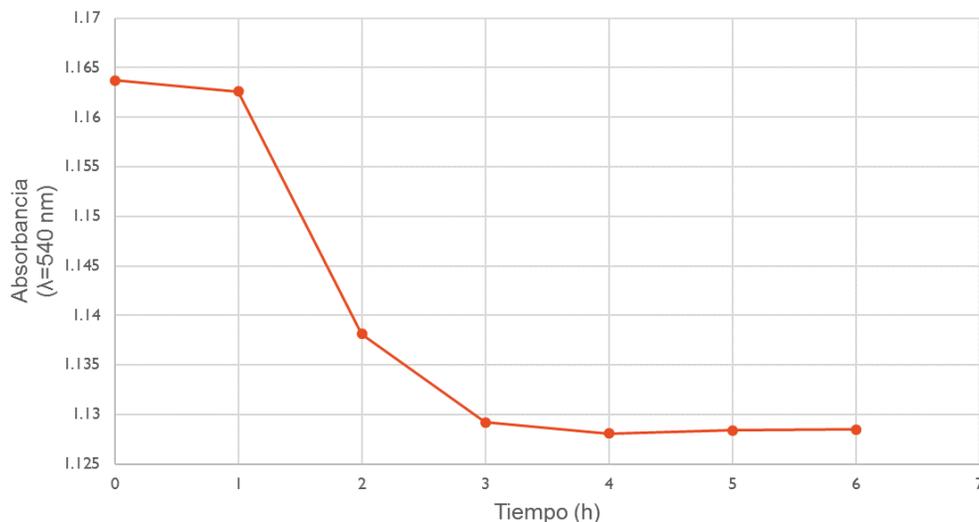


Figura 9. Prueba de inmovilización del pigmento rojo.

Los electrodos de trabajo presentan una irregularidad en la distribución de las capas de TiO_2 , debido a que no se utilizó un método automatizado para aplicar uniformemente dichas capas (74). Este tipo de métodos permiten asegurar con exactitud la cantidad de TiO_2 presente en el electrodo, así como espesor y porosidad del film, los cuáles son parámetros necesarios para realizar estudios de isothermas de adsorción (75).

Las isothermas de adsorción son empleadas con regularidad para describir la distribución que presentan las moléculas que son adsorbidas sobre una superficie sólida (76). Éstas, suelen presentar diferentes modelos matemáticos que describen el mecanismo por el cual se da la interacción entre ambas fases y su correspondiente distribución (77).

De esta manera, la interacción de la prodigiosina con diversas superficies ha sido descrita por distintos autores, como, por ejemplo, el estudio realizado por Zakeri *et*

al., quienes obtuvieron una prodigiosina a partir de la cepa de *Serratia* sp. ZF03 y la emplearon como bioabsorbente para ^{226}Ra . Las isotermas de adsorción demostraron que el modelo más adecuado para describir el proceso correspondía al modelo de Freundlich (60). Este modelo propone una adsorción multicapa del material en una superficie heterogénea, donde existen diferentes sitios de adsorción y los sitios de unión más fuertes son ocupados primero, hasta que la energía de adsorción disminuye cuando se completa el proceso (78). De manera similar, un estudio donde se utilizó una resina macroporosa para la adsorción de prodigiosina producida por *Serratia marcescens* SMDR, los isotermas de adsorción dieron como resultado una clara tendencia hacia el modelo de Freundlich, el cual, se ajustó mejor al proceso de adsorción (79). Previamente, el equipo de investigación demostró que la prodigiosina producida por la cepa de *Serratia marcescens* 11E inmovilizada en TiO_2 , seguía un modelo de Freundlich para la isoterma de adsorción. De esta manera se propone que el pigmento producido por la cepa de *Serratia marcescens* 03NA podría seguir el modelo de adsorción de Freundlich.

5.2.2 Mapeo elemental de los electrodos de trabajo

Una vez inmovilizados los dos pigmentos en los electrodos de trabajo, se realizó un corte transversal a cada electrodo para poder tomar una micrografía por SEM y realizar un mapeo elemental a través de la espectrometría de energía dispersiva (EDS), estos estudios se realizaron por triplicado.

Las micrografías obtenidas pueden ser observadas en las Figuras 10 y 11, las cuales muestran la imagen del corte transversal y el mapeo elemental obtenido para los electrodos sensibilizados con pigmento rojo y naranja, respectivamente. Para

ambos electrodos se puede observar una irregularidad en la distribución de las capas de TiO_2 , esto debido probablemente a que no se utilizó un método automatizado para aplicar uniformemente dichas capas (74). Por otra parte, el mapeo destaca la posición del silicio (Si) en la celda, la cual proviene del vidrio, y la posición del estaño (Sn) que representa el recubrimiento de ITO. Así mismo, se puede observar la distribución del carbono en el electrodo, el cual, representa a los pigmentos depositados en la celda (80,81). Los análisis del EDS en las Figuras 12 y 13 respaldan lo antes mencionado, mostrando la presencia de carbono en mayor porcentaje, seguido de oxígeno y titanio, mientras que el sodio (Na), estaño (Sn) y silicio (Si) forman parte del ITO (82). En ambos casos se puede apreciar que los pigmentos se distribuyeron de manera uniforme a través del TiO_2 , confirmando así que los pigmentos se adsorbieron durante la inmovilización.

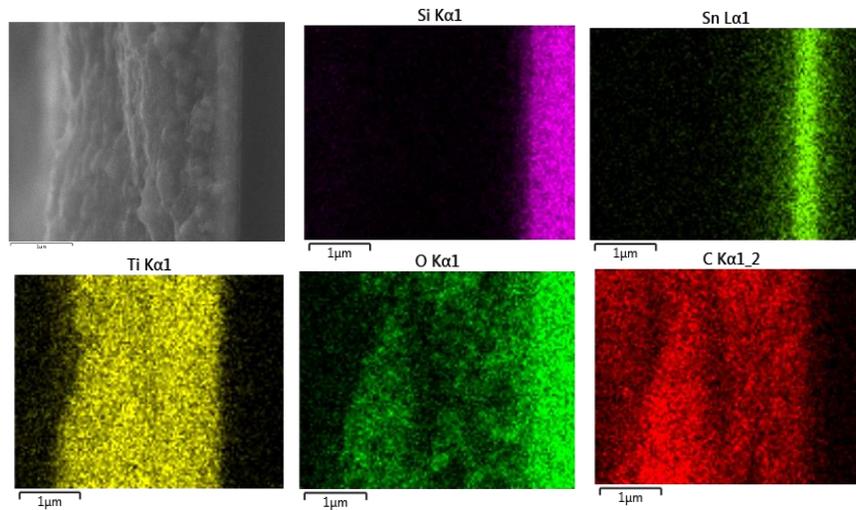


Figura 10. Imagen SEM con mapeo elemental del electrodo sensibilizado con el pigmento rojo.

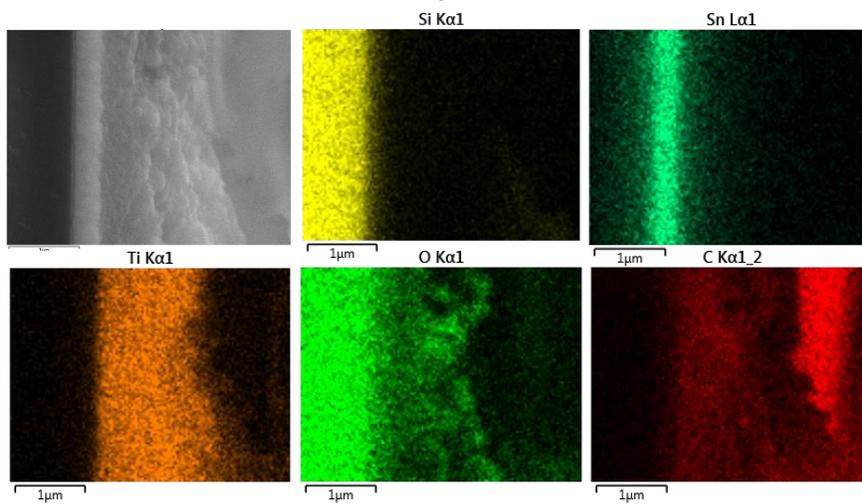


Figura 11. Imagen SEM con mapeo elemental del electrodo sensibilizado con el pigmento naranja.

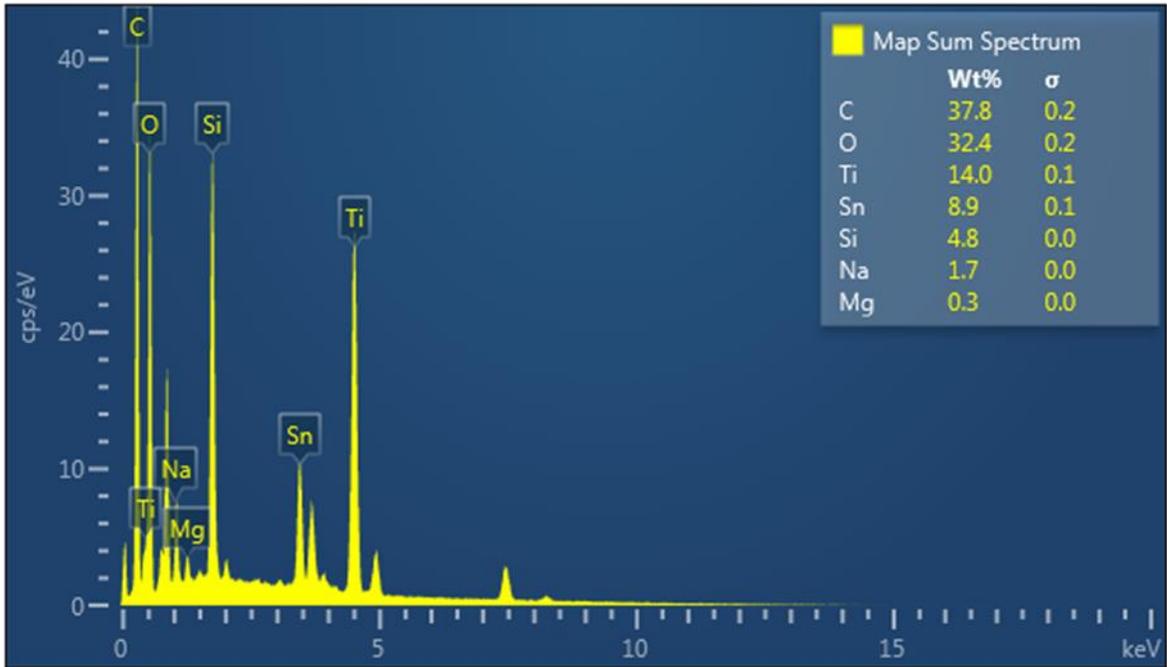


Figura 12. Análisis EDS del pigmento rojo.

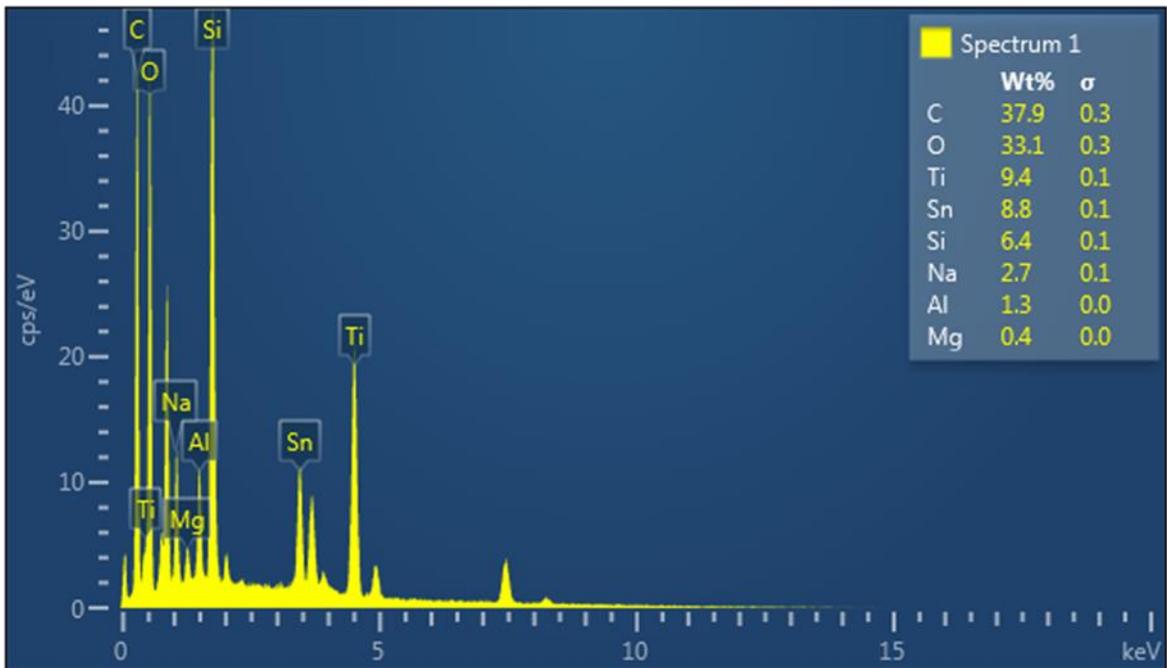


Figura 13. Análisis EDS del pigmento naranja.

5.3 Evaluación de los parámetros electroquímicos

Para el armado de las celdas DSSC que fueron evaluadas en este estudio se utilizó un esquema tipo sándwich, empleándose 3 tipos de electrodos de referencia distintos para cada uno de los pigmentos inmovilizados en el electrodo de trabajo. De esta manera, se construyeron 6 celdas DSSC con electrodos de trabajo, 3 que contenían al pigmento rojo y 3 que contenían pigmento naranja. Éstos fueron acoplados a: 1) un electrodo de Pt, el cuál es empleado comúnmente debido a su alta actividad electrocatalítica (83). Cabe destacar que el empleo de este electrodo sirvió para poder comparar contra otras celdas con sensibilizadores de origen bacteriano (13,17,37); 2) un electrodo de carbono, debido a que el uso de materiales carbonosos ha ido en aumento en los últimos años por su bajo costo, mejor resistencia a la corrosión, alta conductividad eléctrica y alta actividad electrocatalítica (39,84,85); y 3) un electrodo de oro dado que las nanopartículas de oro tienen propiedades ópticas y catalíticas favorables, las cuáles pueden servir para aumentar la reactividad del contra electrodo (86–88). Cada celda se evaluó por triplicado.

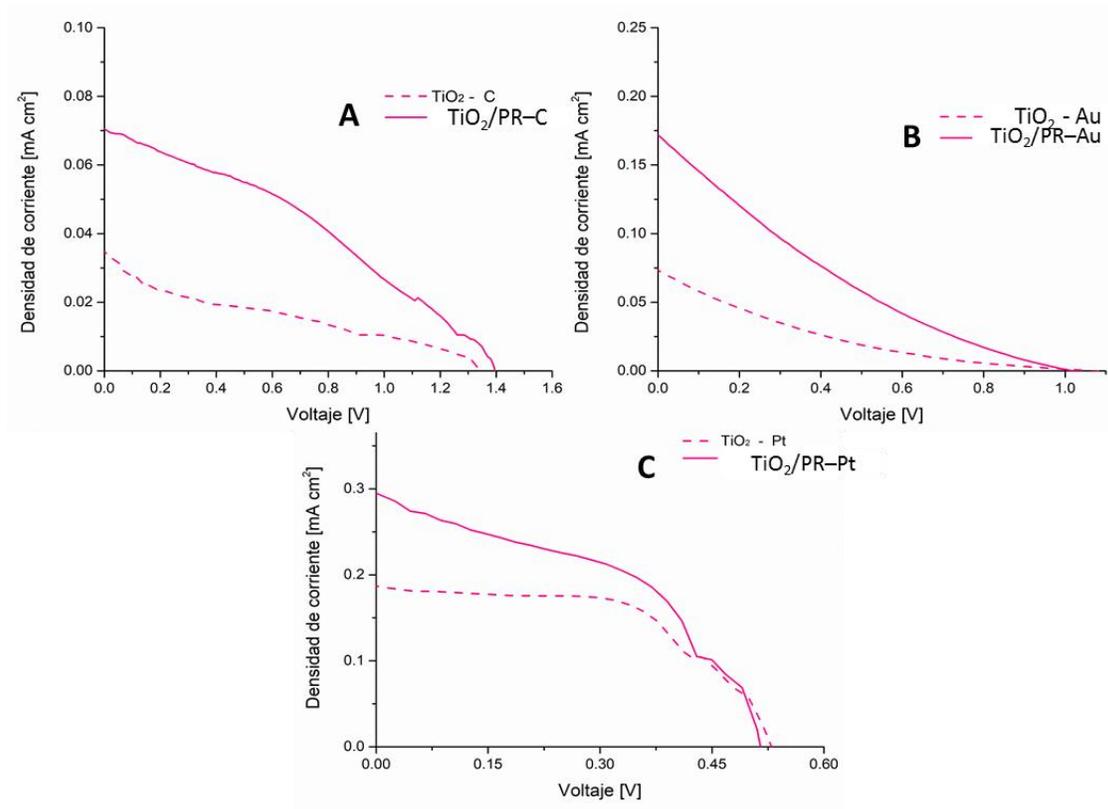


Figura 14. Curvas de corriente–voltaje de celda solar sensibilizada con el pigmento rojo, con los diferentes electrodos de referencia (A) carbono, (B) oro y (C) platino.

La Figura 14 muestra las curvas de corriente contra voltaje que se obtuvieron de las mediciones de las celdas sensibilizadas con el pigmento rojo, bajo las condiciones del simulador solar, mientras que la Figura 15 muestra las curvas de las celdas sensibilizadas con el pigmento naranja. A partir de estas mediciones se obtuvieron los parámetros electroquímicos necesarios para calcular el factor de llenado FF, los cuáles son la corriente en corto circuito J_{sc} (mA·cm²) y el voltaje en circuito abierto V_{oc} (mV).

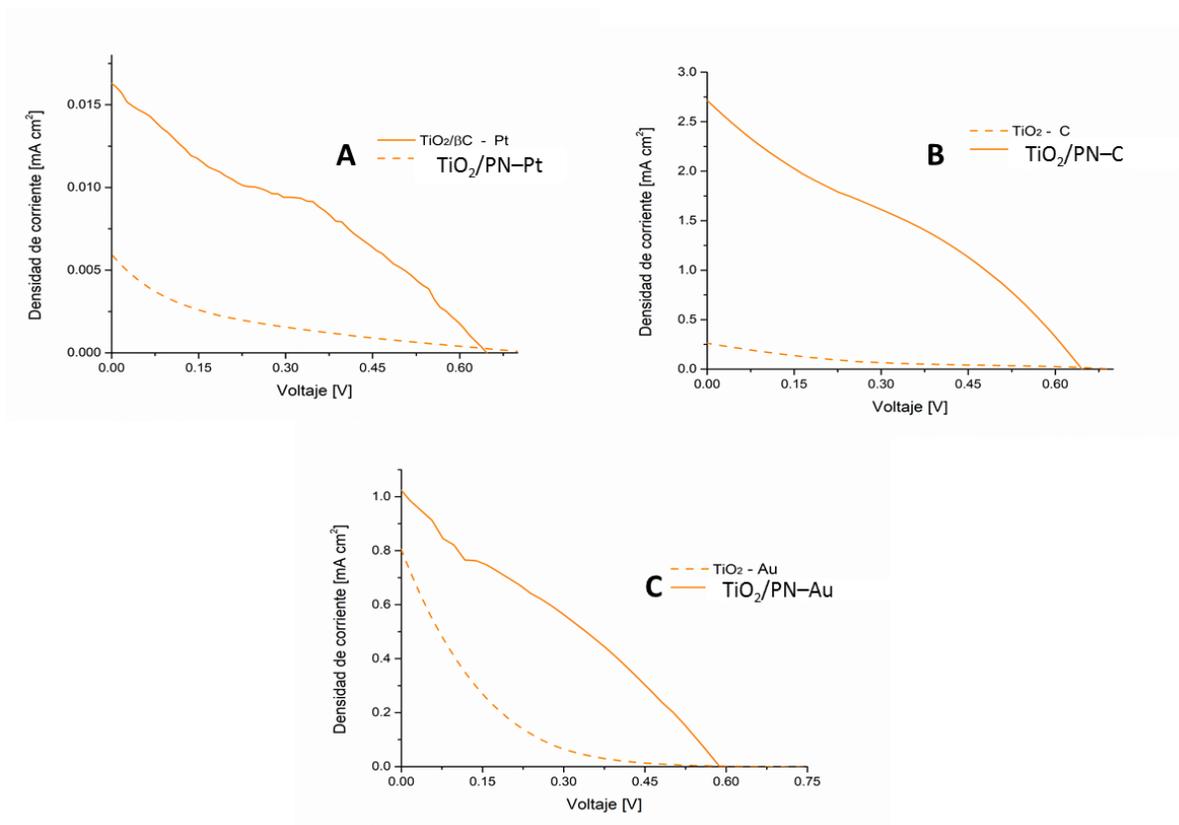


Figura 15. Curvas de corriente–voltaje de celda solar sensibilizada con el pigmento naranja, con los diferentes electrodos de referencia (A) platino, (B) carbono y (C) oro.

Los valores obtenidos para los parámetros electroquímicos de las celdas solares sensibilizadas con el pigmento rojo se muestran en la Tabla 3. También se midieron los parámetros de las celdas sin sensibilizar, para comprobar que el pigmento aumentó la eficiencia de conversión. En este caso, podemos observar como el pigmento rojo aumentó la eficiencia un 0.02% de manera uniforme en las celdas solares con los diferentes electrodos de referencia. La celda que presentó mayor eficiencia sin sensibilizar fue la celda con el contraelectrodo de platino ($\eta=0.05\%$), mientras que las celdas con los contraelectrodos de carbono y oro presentaron ambas una eficiencia del 0.01%. Dentro de los resultados obtenidos, cabe destacar que la celda sensibilizada con el pigmento rojo acoplada al electrodo de Pt fue la

que mostró mayor J_{sc} , el cual es dependiente de las propiedades electroquímicas del pigmento y su relación con el TiO_2 . Además, esta celda también presentó la potencia y la eficiencia de conversión de energía más altas. Estos resultados mejoraron aquellos obtenidos por el grupo de trabajo anteriormente, ya que durante ese estudio, la celda sensibilizada con el pigmento rojo usando un electrodo de carbono como electrodo de referencia había obtenido una eficiencia del 0.032 % (39). Puede decirse que la diferencia entre ambas eficiencias radica en que el FF de aquella celda era menor a lo reportado en este estudio, ocasionando que la potencia máxima generada por la celda fuera menor. Por otra parte, se puede resaltar que la corriente en corto circuito obtenido en este estudio fue mayor al de otros estudios con pigmentos bacteriano. Como el de Silva *et al*, donde se utilizó la eumelanina obteniendo un J_{sc} de $0.135 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ (17), Órdenes *et al*, sensibilizó las celdas con un carotenoide amarillo con un J_{sc} de $0.13 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ y una cantaxantina con J_{sc} de $0.2 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ (13) y Montagni *et al*, obtuvo un J_{sc} de $0.127 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ usando un carotenoide naranja (37). Sugiriendo que existe una mayor capacidad de absorción de luz e inyección de electrones a la banda de conducción del TiO_2 por parte del pigmento rojo producido por *S. marcescens* 03NA.

Tabla 3. Parámetros fotoelectroquímicos de celdas solares sensibilizadas con el pigmento rojo.

Electrodo de referencia	Fotoelectrdo	Corriente de corto circuito, J_{sc} [$\text{mA}\cdot\text{cm}^{-2}$]	Voltaje de circuito abierto, V_{oc} [mV]	Potencia [$\text{mA}\cdot\text{cm}^{-2}$]	Factor de llenado, FF (%)	Eficiencia, η (%)
Platino	TiO ₂ /Pigmento rojo	0.3 ± 0.065	516 ± 4.7	0.068 ± 0.008	0.043	0.07
	TiO ₂	0.18 ± 0.006	529 ± 1.6	0.056 ± 0.003	0.058	0.05
Carbono	TiO ₂ /Pigmento rojo	0.07 ± 0.018	1400 ± 8.6	0.03 ± 0.009	0.030	0.03
	TiO ₂	0.035 ± 0.009	1332 ± 2.1	0.011 ± 0.002	0.023	0.01
Oro	TiO ₂ /Pigmento rojo	0.17 ± 0.071	1000 ± 7.1	0.03 ± 0.004	0.020	0.03
	TiO ₂	0.073 ± 0.002	1060 ± 3.4	0.010 ± 0.002	0.013	0.01

Por otro lado, los resultados obtenidos para las celdas sensibilizadas con el pigmento naranja (Tabla 4) varían entre sí dependiendo del contraelectrodo empleado. La celda con el electrodo de platino mostró la eficiencia de conversión más baja de todas a pesar de que se esperaba un comportamiento similar al del pigmento rojo, obteniendo una eficiencia sin sensibilizar de $4.3 \times 10^{-4}\%$ y aumentando solamente 0.00257% al sensibilizarse. Los electrodos de referencia con oro y carbono mostraron las eficiencias sin sensibilizar de 0.04% y 0.02% respectivamente. La celda con el contraelectrodo de oro aumento un 0.13% alcanzando una eficiencia del 0.17% al sensibilizarse, mientras que la celda con el contraelectrodo de carbono alcanzó la eficiencia más alta de 0.53% incrementando un 0.51% al sensibilizar con el pigmento naranja.

Tabla 4. Parámetros fotoelectroquímicos de celdas solares sensibilizadas con el pigmento naranja.

Electrodo de referencia	Fotoelectrdo	Corriente de corto circuito, J_{sc} [$\text{mA}\cdot\text{cm}^{-2}$]	Voltaje de circuito abierto, V_{oc} [mV]	Potencia [$\text{mA}\cdot\text{cm}^{-2}$]	Factor de llenado, FF (%)	Eficiencia, η (%)
Platino	TiO ₂ /Pigmento naranja	0.016 ± 0.003	640 ± 2.9	0.003 ± 0.001	0.030	0.003
	TiO ₂	0.006 ± 0.001	725 ± 5.2	0.00047 ± 0.0003	0.010	4.3x10 ⁻⁴
Carbono	TiO ₂ /Pigmento naranja	2.7 ± 0.35	640 ± 1.6	0.53 ± 0.006	0.031	0.53
	TiO ₂	0.26 ± 0.002	687 ± 0.8	0.021 ± 0.008	0.012	0.02
Oro	TiO ₂ /Pigmento naranja	1.02 ± .022	587 ± 9.2	0.17 ± 0.001	0.030	0.17
	TiO ₂	0.8 ± 0.001	577 ± 2.7	0.042 ± 0.008	0.010	0.04

Al comparar los resultados con reportes donde se utilizaron carotenoides extraídos de bacterias antárticas, se puede observar que el FF obtenido para todas nuestras celdas sensibilizadas (0.03%) fue menor al obtenido por otros carotenoides extraídos de bacterias, donde el FF tiene valores de 37.1% (13), 48.4% (13) y hasta 51% (37). La deficiencia en el FF puede deberse a la resistencia en el transporte de iones y transferencia de carga del contra electrodo, a la resistencia laminar de los electrodos de trabajo y referencia, o bien a la resistencia del transporte de electrones a través del TiO₂ (5,11). A pesar de lo anterior, las celdas con pigmento naranja en este trabajo muestran valores de J_{sc} y eficiencia de conversión muy por encima de lo reportado en las bacterias de la antártica, lo cual se compara en la Tabla 5. Y no solamente los resultados obtenidos superaron a los de otras bacterias

antárticas, también los valores de J_{sc} y η de las celdas sensibilizadas con pigmento naranja en combinación con los contraelectrodos de carbono y oro superaron al de celdas donde los carotenoides utilizados fueron extraídos de flor de cempasúchil ($J_{sc} = 0.51 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$, $\eta = 0.23\%$) (31), bayas de Goji ($J_{sc} = 0.53 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$, $\eta = 0.17\%$) (31), Calabaza hiedra ($J_{sc} = 0.24 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$, $\eta = 0.076\%$) (89) y cáscara de papaya ($J_{sc} = 0.232 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$, $\eta = 0.093\%$) (80).

Esto nos indica que a pesar de que la potencia máxima de la celda no sea la más alta, la capacidad de adsorción de luz e inyección de electrones a la celda es lo suficientemente buena para elevar la eficiencia de conversión de energía.

Tabla 5. Parámetros fotoelectroquímicos de DSSC sensibilizadas con pigmentos bacterianos.

Bacteria	Sensibilizador	Electrodo de referencia	Corriente en corto circuito, J_{sc} [$\text{mA}\cdot\text{cm}^{-2}$]	Voltaje en circuito abierto, V_{oc} [mV]	Factor de llenado, FF (%)	Eficiencia, η (%)
<i>Hymenobacter sp.</i> (13)	Carotenoide (rojo)	Pt	0.200	435	37.1	0.032
<i>Chryseobacterium sp.</i> (13)	Carotenoide (Amarillo)	Pt	0.130	548	48.4	0.032
<i>Hymenobacter sp.</i> (37)	Carotenoide (naranja)	Pt	0.127	460	51.0	0.03
<i>Streptomyces fildesensis</i> (17)	Eumelanina	Pt	0.051	419	57.0	0.014
<i>Serratia marcescens</i> 11E (39)	Prodigiosina	Carbono	0.096	560	59.7	0.032
<i>Serratia marcescens</i> 03NA	Pigmento rojo	Pt	0.3	516	0.04	0.07
	Pigmento naranja	Carbono	2.7	640	0.03	0.53

Capítulo 6

Conclusiones

La cepa nativa designada como 03NA presentó una pigmentación rojiza al ser cultivada en medio nutritivo. Su caracterización bioquímica la identificó como *Serratia marcescens*.

Durante la producción y purificación del pigmento, se observaron dos pigmentos producidos por la cepa 03NA, un pigmento rojo y uno naranja. El pigmento rojo presentó un espectro de absorción en la región del UV-Vis similar al de la prodigiosina, y un espectro de FTIR el cual mostró señales relacionadas a grupos pertenecientes a la prodigiosina. Esto nos sugiere que el pigmento rojo podría tratarse de prodigiosina, debido también a que se conoce que *Serratia marcescens* produce principalmente este pigmento. Por otro lado, con el pigmento naranja no se pudo llevar a cabo el barrido de absorción UV-Vis debido a la contingencia del COVID-19. Pero el espectro de FTIR muestra bandas en las regiones características de las benzoquinonas o naftoquinonas. Sin embargo, es importante destacar que a la fecha no se ha reportado una cepa que produzca prodigiosina y benzoquinona simultáneamente.

La prueba de inmovilización determinó que el pigmento rojo producido por la cepa 03NA es absorbida en 3 horas y, según las imágenes SEM de cortes transversales de los electrodos sensibilizados, se demostró que ambos pigmentos se distribuyeron de manera uniforme a través de las capas de TiO₂, tomando como guía la presencia de carbono en el mapeo elemental de las imágenes.

Finalmente se evaluaron los parámetros electroquímicos de las celdas solares. Para esto se utilizaron tres electrodos de referencia distintos (Pt, C, Au) para cubrir diferentes áreas de interés. Las celdas que presentaron mayor eficiencia de conversión de energía solar a energía eléctrica fueron la sensibilizadas por el pigmento naranja con contraelectrodos de carbono ($\eta=0.53\%$) y oro ($\eta=0.17\%$), además de que fueron las que mostraron una variación en el incremento de la eficiencia respecto a las celdas no sensibilizadas aumentando un 0.51% y 0.13% respectivamente. Mientras tanto, las celdas sensibilizadas con el pigmento rojo, mostraron eficiencias dentro de previamente reportado, que van de 0.03% (contra electrodos de carbono y oro) y de 0.07% (contraelectrodo de Pt), con un aumento uniforme del 0.02% respecto a las celdas no sensibilizadas con los tres contraelectrodos. Lo que nos indica que la presencia de grupos aromáticos no fue el factor que determinó la eficiencia de las celdas, si no la combinación del sensibilizador con el contraelectrodo. Sin embargo, la celda sensibilizada con el pigmento rojo usando un contraelectrodo de platino ($\eta=0.07\%$) y la celda sensibilizada con el pigmento naranja en conjunto con el contraelectrodo de carbono ($\eta=0.53\%$) superaron la eficiencia de conversión de 0.033% generada por *Hymenobacter sp* (13) la cual es la mayor eficiencia reportada en DSSC con pigmentos bacterianos, y también superaron la obtenida anteriormente en el grupo de trabajo del 0.01% con una celda sensibilizada con prodigiosina usando un contraelectrodo de Pt. Esto demuestra que los pigmentos obtenidos presentan un incremento en la eficiencia de las DSSC, una vez que se encuentre la selección adecuada de materiales para garantizar una eficiencia y potencia máxima ideales.

Bibliografía

1. Sharma S, Bulkesh Siwach, Ghoshal SK, Mohan D. Dye sensitized solar cells: From genesis to recent drifts. *Renew Sustain Energy Rev* [Internet]. 2017;70(July 2015):529–37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.136>
2. Acosta M. AD. Se hunde el precio del petróleo [Internet]. *La República*. 2020 [cited 2020 Apr 25]. Available from: <https://www.larepublica.co/analisis/amytkar-d-acosta-m-557896/se-hunde-el-precio-del-petroleo-2997492>
3. López-Montiel G. El petróleo y su futuro [Internet]. *Forbes México*. 2020 [cited 2020 Apr 25]. Available from: <https://www.forbes.com.mx/petroleo-y-futuro/>
4. Richhariya G, Kumar A, Tekasakul P, Gupta B. Natural dyes for dye sensitized solar cell: A review. Vol. 69, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2017.
5. Kumavat PP, Sonar P, Dalal DS. An overview on basics of organic and dye sensitized solar cells, their mechanism and recent improvements. *Renew Sustain Energy Rev* [Internet]. 2017;78(May):1262–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.011>
6. O'Regan B, Gratzel M. A Low-Cost, High-Efficiency Solar-Cell Based on Dye-Sensitized Colloidal TiO₂ Films. *Nature*. 1991;353(6346):737–40.
7. Shalini S, Balasundara Prabhu R, Prasanna S, Mallick TK, Senthilarasu S.

- Review on natural dye sensitized solar cells: Operation, materials and methods. *Renew Sustain Energy Rev.* 2015;51:1306–25.
8. Hug H, Bader M, Mair P, Glatzel T. Biophotovoltaics: Natural pigments in dye-sensitized solar cells. *Appl Energy* [Internet]. 2014;115:216–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.10.055>
 9. Ananth S, Vivek P, Arumanayagam T, Murugakoothan P. Natural dye extract of lawsonia inermis seed as photo sensitizer for titanium dioxide based dye sensitized solar cells. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* [Internet]. 2014;128:420–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2014.02.169>
 10. Ortega P. México, un mercado estratégico para El Green Power [Internet]. *El Economista*. 2019. Available from: <https://www.eleconomista.com.mx/empresas/Mexico-un-mercado-estrategico-para-Enel-Green-Power-20190928-0004.html>
 11. Kumara NTRN, Lim A, Lim CM, Petra MI, Ekanayake P. Recent progress and utilization of natural pigments in dye sensitized solar cells: A review. *Renew Sustain Energy Rev* [Internet]. 2017;78(July 2016):301–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.04.075>
 12. Carella A, Borbone F, Centore R. Research progress on photosensitizers for DSSC. *Front Chem.* 2018;6(SEP):1–24.
 13. Órdenes-Aenishanslins N, Anziani-Ostuni G, Vargas-Reyes M, Alarcón J, Tello A, Pérez-Donoso JM. Pigments from UV-resistant Antarctic bacteria as

photosensitizers in Dye Sensitized Solar Cells. *J Photochem Photobiol B Biol* [Internet]. 2016;162:707–14. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.08.004>

14. Shalini S, Prabavathy N, Balasundaraprabhu R, Kumar TS, Velauthapillai D, Balraju P, et al. Studies on DSSC encompassing flower shaped assembly of Na-doped TiO₂nanorods sensitized with extract from petals of *Kigelia Africana*. *Optik (Stuttg)* [Internet]. 2018;155:334–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijleo.2017.10.173>
15. Matsuura T, Nagai S, Ogasawara K, Minato KI, Sakai M, Ueno T. Improvement in performance of dye-sensitized solar cells with porous TiO₂ electrodes using squid ink particles. *Jpn J Appl Phys*. 2016;55(6).
16. Sánchez-García MA, Bokhimi X, Velázquez Martínez S, Jiménez-González AE. Dye-Sensitized Solar Cells Prepared with Mexican Pre-Hispanic Dyes. *J Nanotechnol*. 2018;2018.
17. Silva C, Santos A, Salazar R, Lamilla C, Pavez B, Meza P, et al. Evaluation of dye sensitized solar cells based on a pigment obtained from Antarctic *Streptomyces fildesensis*. *Sol Energy* [Internet]. 2019;181(July 2018):379–85. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.solener.2019.01.035>
18. Obotowo IN, Obot IB, Ekpe UJ. Organic sensitizers for dye-sensitized solar cell (DSSC): Properties from computation, progress and future perspectives. *J Mol Struct* [Internet]. 2016;1122:80–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.05.080>

19. Sugathan V, John E, Sudhakar K. Recent improvements in dye sensitized solar cells: A review. *Renew Sustain Energy Rev.* 2015;52:54–64.
20. Basheer B, Mathew D, George BK, Reghunadhan Nair CP. An overview on the spectrum of sensitizers: The heart of Dye Sensitized Solar Cells. *Sol Energy.* 2014;108:479–507.
21. Adedokun O, Titilope K, Awodugba AO. Review on Natural Dye-Sensitized Solar Cells (DSSCs). *Int J Eng Technol IJET [Internet].* 2016;2(2):34. Available from: <http://dergipark.gov.tr/doi/10.19072/ijet.96456>
22. Zhang S, Yang X, Numata Y, Han L. Highly efficient dye-sensitized solar cells: Progress and future challenges. *Energy Environ Sci.* 2013;6(6):1443–64.
23. Hafez HS, Shenouda SS, Fadel M. Photovoltaic characteristics of natural light harvesting dye sensitized solar cells. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc [Internet].* 2018;192:23–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.10.066>
24. Shalini S, Balasundaraprabhu R, Kumar TS, Prabavathy N, Senthilarasu S, Prasanna S. Status and outlook of sensitizers/dyes used in dye sensitized solar cells (DSSC): a review. *Int J Energy Res.* 2016;40(10):1303–20.
25. Al-Alwani MAM, Mohamad AB, Kadhum AAH, Ludin NA. Effect of solvents on the extraction of natural pigments and adsorption onto TiO₂ for dye-sensitized solar cell applications. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc [Internet].* 2015;138:130–7. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2014.11.018>

26. Calvin M. Solar Energy by Photosynthesis Calvin.pdf. *Science* (80-). 1974;184(4134):375–81.
27. Ludin NA, Kadhum AAH, Sopian K, Abdul Karim NS, Bakar Mohamad A, Al-Alwani Mahmoud AM. Review on the development of natural dye photosensitizer for dye-sensitized solar cells. *Renew Sustain Energy Rev.* 2014;31:386–96.
28. Maddah HA, Berry V, Behura SK. Biomolecular photosensitizers for dye-sensitized solar cells: Recent developments and critical insights. *Renew Sustain Energy Rev* [Internet]. 2020;121(November 2019):109678. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109678>
29. Lee TD, Ebong AU. A review of thin film solar cell technologies and challenges. *Renew Sustain Energy Rev* [Internet]. 2017;70(December):1286–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.028>
30. Zhao Y, Chang L, Dong XF, Zhang HX, Li Y, Chen JB. Effect of Ag doping on the performance of Cu₂SnS₃ thin-film solar cells. *Sol Energy.* 2020;201(March):190–4.
31. Zhou H, Wu L, Gao Y, Ma T. Dye-sensitized solar cells using 20 natural dyes as sensitizers. *J Photochem Photobiol A Chem* [Internet]. 2011;219(2–3):188–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotochem.2011.02.008>

32. Calogero G, Yum JH, Sinopoli A, Di Marco G, Grätzel M, Nazeeruddin MK. Anthocyanins and betalains as light-harvesting pigments for dye-sensitized solar cells. *Sol Energy*. 2012;86(5):1563–75.
33. Towannang M, Jarernboon W, Lowpa S, Maiaugree W, Maiaugree P, Ratchapolthavisin N, et al. A dye sensitized solar cell using natural counter electrode and natural dye derived from mangosteen peel waste. *Sci Rep* [Internet]. 2015;5(1):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep15230>
34. Sahare S, Veldurthi N, Singh R, Swarnkar AK, Salunkhe M, Bhave T. Enhancing the efficiency of flexible dye-sensitized solar cells utilizing natural dye extracted from *Azadirachta indica*. *Mater Res Express*. 2015;2(10).
35. Chen WC, Kong FT, Li ZQ, Pan JH, Liu XP, Guo FL, et al. Superior Light-Harvesting Heteroleptic Ruthenium(II) Complexes with Electron-Donating Antennas for High Performance Dye-Sensitized Solar Cells. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016;8(30):19410–7.
36. Bartolotta A, Calogero G. Dye-sensitized solar cells: from synthetic dyes to natural pigments [Internet]. *Solar Cells and Light Management*. Elsevier Ltd; 2020. 107–161 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-102762-2.00004-5>
37. Montagni T, Enciso P, José J, Susana M, Sowinski C, Fontana C, et al. Dye sensitized solar cells based on Antarctic *Hymenobacter* sp. UV11 dyes. *Environ Sustain* [Internet]. 2018;(0123456789). Available from:

<https://doi.org/10.1007/s42398-018-0007-1>

38. Fu Q, Zhao C, Yang S, Wu J. The photoelectric performance of dye-sensitized solar cells fabricated by assembling pigment-protein complexes of purple bacteria on nanocrystalline photoelectrode. *Mater Lett* [Internet]. 2014;129:195–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2014.05.054>
39. Hernández-Velasco P, Morales-Atilano I, Rodríguez-Delgado M, Rodríguez-Delgado JM, Luna-Moreno D, Ávalos-Alanís FG, et al. Photoelectric evaluation of dye-sensitized solar cells based on prodigiosin pigment derived from *Serratia marcescens* 11E. *Dye Pigment*. 2020;177.
40. Laxmi M, Bhat SG. Characterization of pyocyanin with radical scavenging and antibiofilm properties isolated from *Pseudomonas aeruginosa* strain BTRY1. *3 Biotech*. 2016;6(1):1–5.
41. Jayaseelan S, Ramaswamy D, Dharmaraj S. Pyocyanin: Production, applications, challenges and new insights. *World J Microbiol Biotechnol*. 2014;30(4):1159–68.
42. Saranya R, Engineering C, Tech AC. Dyeing of silk fabric with phenazine from *Pseudomonas* species *Coloration Technology*. 2012;440–5.
43. Voulhoux R, Filloux A, Schalk IJ. Pyoverdine-mediated iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*: The Tat system is required for PvdN but not for FpvA transport. *J Bacteriol*. 2006;188(9):3317–23.
44. Surekha PY, Dhanya P, Mk SJ, Pradeep S, Benjamin S. *Micrococcus luteus*

- Strain BAA2 , A Novel Isolate Produces Carotenoid Pigment. 2016;12(1):83–9.
45. Mohana DC, Thippeswamy S, Umesh R. ultraviolet - protective properties of carotenoids isolated from *Micrococcus* spp . 2013;36(4).
 46. Umadevi K, Krishnaveni M. Antibacterial activity of pigment produced from *Micrococcus luteus* KF532949. *Int J Chem Anal Sci* [Internet]. 2013;4(3):149–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcas.2013.08.008>
 47. Samrot A V., Rio AJ, Kumar SS, Samanvitha SK. Bioprospecting studies of pigmenting *Pseudomonas aeruginosa* SU-1, *Microvirga aerilata* SU14 and *Bacillus megaterium* SU15 isolated from garden soil. *Biocatal Agric Biotechnol* [Internet]. 2017;11(July):330–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2017.08.003>
 48. Chen XY, Zhao R, Tian Y, Kong BH, Li XD. *Mucilaginibacter polytrichastri* sp . nov ., isolated from a moss (*Polytrichastrum formosum*), and emended description of the genus *Mucilaginibacter*. 2019;(2014):1395–400.
 49. Sun K, Fan B, Ouyang J. Nanostructured platinum films deposited by polyol reduction of a platinum precursor and their application as counter electrode of dye-sensitized solar cells. *J Phys Chem C*. 2010;114(9):4237–44.
 50. Mumtaz R, Bashir S, Numan M, Shinwari ZK, Ali M. Pigments from Soil Bacteria and Their Therapeutic Properties: A Mini Review. *Curr Microbiol* [Internet]. 2018;0(0):0. Available from:

<http://link.springer.com/10.1007/s00284-018-1557-2>

51. Aruldass CA, Dufossé L, Ahmad WA. Current perspective of yellowish-orange pigments from microorganisms- a review. *J Clean Prod.* 2018;180:168–82.
52. Mathlom GS, Hayder NH, Mahmood MS. Synergistic effect of biosurfactant and prodigiosin produced by *Serratia marcescens* as antimicrobial agent. *Curr Res Microbiology Biotechnol.* 2018;6(2):1601–15.
53. Elkenawy NM, Yassin AS, Elhifnawy HN, Amin MA. Optimization of prodigiosin production by *Serratia marcescens* using crude glycerol and enhancing production using gamma radiation. *Biotechnol Reports [Internet].* 2017;14(October 2016):47–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2017.04.001>
54. Wang B, Lin L, Lu L, Chen W. Optimization of β -carotene production by a newly isolated *Serratia marcescens* strain. *Electron J Biotechnol.* 2012;15(6).
55. Sun M, Yao R, You Y, Deng S, Gao W. Degradation of 4-aminophenol by hydrogen peroxide oxidation using enzyme from *Serratia marcescens* as catalyst. *Front Environ Sci Eng China.* 2007;1(1):95–8.
56. Yao RS, Sun M, Wang CL, Deng SS. Degradation of phenolic compounds with hydrogen peroxide catalyzed by enzyme from *Serratia marcescens* AB 90027. *Water Res.* 2006;40(16):3091–8.
57. Guryanov ID, Karamova NS, Yusupova D V., Gnezdilov OI, Koshkarova LA. Bacterial pigment prodigiosin and its genotoxic effect. *Russ J Bioorganic*

Chem [Internet]. 2013;39(1):106–11. Available from:

<http://link.springer.com/10.1134/S1068162012060040>

58. Gondil VS, Asif M, Bhalla TC. Optimization of physicochemical parameters influencing the production of prodigiosin from *Serratia nematodiphila* RL2 and exploring its antibacterial activity. *3 Biotech*. 2017;7(5).
59. Omnia M. Mohamd RAAH, , Dina S. S. Ibrahim MHB and, Makboul HE. Effects of *Serratia marcescens* and Prodigiosin Pigment on the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. *Middle East J Agric Res*. 2020;09(02):243–52.
60. Zakeri F, Noghabi KA, Sadeghizadeh M, Kardan MR, Masoomi F, Farshidpour MR, et al. *Serratia* sp. ZF03: An efficient radium biosorbent isolated from hot-spring waters in high background radiation areas. *Bioresour Technol* [Internet]. 2010;101(23):9163–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.032>
61. Sumathi C, Mohanapriya D, Swarnalatha S, Dinesh MG, Sekaran G. Production of prodigiosin using tannery fleshing and evaluating its pharmacological effects. *Sci World J*. 2014;2014.
62. Suryawanshi RK, Patil CD, Borase HP, Salunke BK, Patil S V. Studies on production and biological potential of prodigiosin by *Serratia marcescens*. *Appl Biochem Biotechnol*. 2014;173(5):1209–21.
63. El-Batal AI, El-Hendawy HH, Faraag AHI. In silico and in vitro cytotoxic effect of prodigiosin-conjugated silver nanoparticles on liver cancer cells (HepG2).

- Biotechnologia. 2017;98(3):225–43.
64. Faraag Ahmed H, El-Batal Ahmed I E-HHH. Characterization of prodigiosin produced by *Serratia marcescens* strain isolated from irrigation water in Egypt. *Nat Sci*. 2017;15(5):55–68.
 65. Singh P, Singh NP, Yadav RA. Vibrational study on the molecular structure of 1,4-naphthoquinone and 2-methyl-1,4-naphthoquinone and their radical anions by using density functional theory. *J Chem Pharm Res*. 2010;2(6):199–224.
 66. Makuraza J. Vibrational and Electronic Spectra of Natural Dyes Constituents for Solar Cell Application: DFT and TDDFT Study. *Int J Mater Sci Appl*. 2015;4(5):314.
 67. Stammreich H, Teixeira Sans T. Molecular vibrations of quinones. IV. Raman spectra of p-benzoquinone and its centrosymmetrically substituted isotopic derivatives and assignment of observed frequencies. *J Chem Phys*. 1965;42(3):920–31.
 68. Yusuf M, Khan M, AlGhamdi SA, Maghrabi IA. Modified Methods of Extraction of Polyene Antioxidants. *Indian Res J Pharm Sci*. 2016;8(August):471–85.
 69. Chen L, Liu S, Wang Y, Zhao L, Zhao Y. 2, 3-Dicyano-5, 6-dichloro-1, 4-benzoquinone as a novel organic anode for sodium-ion batteries. *J Electroanal Chem [Internet]*. 2019;837(December 2018):226–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.02.029>

70. Chen L, Liu S, Zhao L, Zhao Y. OH-substituted 2, 3-dichloro-5, 6-dicyano-1, 4-benzoquinone as highly stable organic electrode for lithium ion battery. *Electrochim Acta* [Internet]. 2017;258:677–83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.11.113>
71. Ren Y, Gong J, Fu R, Li Z, Yu Z, Lou J, et al. Dyeing and functional properties of polyester fabric dyed with prodigiosins nanomicelles produced by microbial fermentation. *J Clean Prod* [Internet]. 2017;148:375–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.01.168>
72. Wang F, Luo H, Song G, Liu C, Wang J, Xu J, et al. Prodigiosin found in *Serratia marcescens* γ 2 initiates phototoxicity in the cytomembrane. *Electron J Biotechnol*. 2013;16(4).
73. Andreyeva IN, Ogorodnikova TI. Pigmentation of *Serratia marcescens* and spectral properties of prodigiosin. *Microbiology* [Internet]. 2015;84(1):28–33. Available from: <http://link.springer.com/10.1134/S0026261715010026>
74. Rosiles-Perez C, Cerdán-Pasarán A, Sidhik S, Esparza D, López-Luke T, de la Rosa E. Improved performance of CdS quantum dot sensitized solar cell by solvent modified SILAR approach. *Sol Energy*. 2018;174(November):240–7.
75. Ameri M, Samavat F, Mohajerani E. A semi-empirical analysis of dye adsorption and electron transport in dye sensitized solar cells (DSSCs). *RSC Adv*. 2015;5(112):92690–706.
76. Cheng D, Li Z, Yan J, Jin J. Adsorption behavior of p-chlorophenol on the

reed wetland soils. 2nd Int Conf Bioinforma Biomed Eng iCBBE 2008.

2008;(May):4210–3.

77. Langmuir I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. Part II.-Liquids. J Franklin Inst. 1917;184(5):721.
78. Amin NK. Removal of reactive dye from aqueous solutions by adsorption onto activated carbons prepared from sugarcane bagasse pith. Desalination. 2008;223(1–3):152–61.
79. Juang RS, Yeh CL. Adsorptive recovery and purification of prodigiosin from methanol/water solutions of *Serratia marcescens* fermentation broth. Biotechnol Bioprocess Eng. 2014;19(1):159–68.
80. Orona-Navar A, Aguilar-Hernández I, López-Luke T, Zarazúa I, Romero-Arellano V, Guerrero JP, et al. Photoconversion efficiency of Titania solar cells co-sensitized with natural pigments from cochineal, papaya peel and microalga *Scenedesmus obliquus*. J Photochem Photobiol A Chem [Internet]. 2020;388(June 2019):112216. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2019.112216>
81. Orona-Navar A, Aguilar-Hernández I, Cerdán-Pasarán A, López-Luke T, Rodríguez-Delgado M, Cárdenas-Chávez DL, et al. Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* as a natural photosensitizer for dye-sensitized solar cell. Algal Res [Internet]. 2017;26(September):15–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2017.06.027>
82. Trihutomo P, Soeparman S, Widhiyanuriyawan D, Yulianti L. Performance

Improvement of Dye-Sensitized Solar Cell- (DSSC-) Based Natural Dyes by Clathrin Protein. *Int J Photoenergy*. 2019;2019(June 2019):1–9.

83. Lee CP, Li CT, Ho KC. Use of organic materials in dye-sensitized solar cells. *Mater Today [Internet]*. 2017;20(5):267–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mattod.2017.01.012>
84. Wang M, Ye M, Lin Z, Wen X, Iocozzia J, Lin C, et al. Recent advances in dye-sensitized solar cells: from photoanodes, sensitizers and electrolytes to counter electrodes. *Mater Today [Internet]*. 2014;18(3):155–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mattod.2014.09.001>
85. Yun S, Hagfeldt A, Ma T. Pt-free counter electrode for dye-sensitized solar cells with high efficiency. *Adv Mater*. 2014;26(36):6210–37.
86. Noh Y, Song O. Properties of an Au/Pt bilayered counter electrode in dye sensitized solar cells. *Electron Mater Lett*. 2014;10(5):981–4.
87. Ghani S, Sharif R, Bashir S, Ashraf A, Shahzadi S, Zaidi AA, et al. Dye-sensitized solar cells with high-performance electrodeposited gold/polyaniline composite counter electrodes. *Mater Sci Semicond Process [Internet]*. 2015;31:588–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mssp.2014.12.060>
88. Susmitha K, Naresh Kumar M, Giribabu L, Narendra Babu S, Raghavender M. Noble metals (Ag, Au, Pt) functionalized carbon nanohorns as alternate counter electrodes for dye sensitized solar cells. *J Mater Sci Mater Electron*. 2016;27(6):5802–9.

89. Shanmugam V, Manoharan S, Anandan S, Murugan R. Performance of dye-sensitized solar cells fabricated with extracts from fruits of ivy gourd and flowers of red frangipani as sensitizers. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* [Internet]. 2013;104:35–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2012.11.098>

Anexos

Materiales y reactivos

Se trabajó con material básico de laboratorio como: tubos hosch, tubos Falcon, micropipetas, cajas Petri, soporte universal, matraces, vasos de precipitado, probetas, etc.

Los reactivos utilizados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Tabla de reactivos utilizados.

Reactivo	Marca
Cloroformo	J. T. Baker
Metanol	J. T. Baker
Pellets de oro	Kurt J. Lesker
Pasta de carbono	Gwent Group
Etanol	Desarrollo de Especialidades Químicas
Isopropóxido de titanio (IV)	Aldrich
Silica gel	MERK
Pasta de Titania transparente	Aldrich
Pasta de Titania reflectora	Aldrich
Ácido cloroplatínico hexahidratado	Aldrich
Yoduro de potasio	PQM
Yodo	MERK
Caldo nutritivo	BIOXON
Agar nutritivo	BIOXON
Triptocaseína de soya	BIOXON
Etilenglicol	MERK
Alcohol isopropílico	J. T. Baker
Acetona	J. T. Baker

Formulación de los medios de cultivo.

Los medios de caldo nutritivo y triptocaseína de soya, se prepararon según lo indicado por el fabricante. Los otros medios de cultivo se prepararon según el Manual de medios microbiológicos, para 100 ml de medio.

Medio R2A

Extracto de levadura	0.05g
Proteasa peptona	0.05g
Peptona de caseína	0.05g
Glucosa	0.05g
Almidón soluble	0.05g
Piruvato de sodio	0.03g
Fosfato dipotásico	0.03g
Sulfato de magnesio	0.005g

Medio marino

Peptona	0.5g
Extracto de levadura	0.1g
Citrato férrico	0.01g
Sales de mar	3.41g

Medio Pseudomonas

Bacto peptona	2g
Cloruro de magnesio	0.14g
Sulfato de potasio	1g
Glicerol	10 ml/g

Medio King A modificado

Peptona	2g
Cloruro de magnesio	0.14g
Sulfato de potasio	1g
Glucosa	1.33g

Medio succinato

Fosfato dipotásico	0.6g
Fosfato monopotásico	0.3g
Sulfato de amonio	0.1g
Sulfato de magnesio	0.02g
Ácido succínico	0.4g