

15. Biofísica

Evaluación de pigmentos extraídos de algas rojas de la Antártida para su potencial uso en celdas solares del tipo DSSC.

De Bón, Micaela¹, micadebon@gmail.com; Hurtado, Joaquín¹; Enciso, Paula¹;

Orientadora: Cerdá, M. Fernanda¹, fcierda@fcien.edu.uy

1- Laboratorio de Biomateriales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Resumen

Las energías renovables son energías limpias que han cobrado mayor importancia en estos años. Entre ellas, las celdas DSSC (dye-sensitized solar cell) o celdas de Graetzel, son una alternativa interesante. Estas celdas, sensibilizadas por colorantes, producen electricidad mediante un principio fotoelectroquímico. El objetivo principal de este trabajo es la extracción y caracterización del pigmento responsable del color rojo en algas provenientes de la Antártida. Este pigmento, la ficoeritrina, es un buen candidato para ser usado en celdas DSSC. Tiene una excelente capacidad de absorber la luz en la región visible del espectro, un potencial redox adecuado para ser usado como sensibilizador en celdas DSSC y una estructura química adecuada para permitir su “anclaje” al semiconductor del fotoelectrodo. La extracción se realizó en mortero usando agua como solvente. Se filtró y centrifugó la muestra evaluándose posteriormente por espectrofotometría UV-visible. La purificación se realizó usando columna Sephadex G-25 M. Se realizó un seguimiento del proceso de separación por cromatografía en capa delgada (TLC) utilizando placas de sílica y la mezcla butanol/acético (9/1) como fase móvil. Luego, se evaluó el comportamiento del pigmento frente al incremento de temperatura así como también su estabilidad en el tiempo para distintas temperaturas de trabajo (rango 30-80°C). Como conclusión podemos decir que se obtuvo un extracto puro de ficoeritrina con características adecuadas para ser usado en celdas DSSC.

Palabras clave: Ficoeritrina, DSSC, algas rojas, Antártida.

Introducción

En los últimos tiempos, las energías renovables han cobrado mayor importancia y se han convertido en un foco importante de investigación y desarrollo para intentar disminuir los efectos contaminantes y el agotamiento de los combustibles fósiles. Entre ellas, la energía solar es una fuente de energía muy promisoría que, además, no genera desechos o contaminantes.

Se trabajará con celdas solares que utilizan pigmentos de origen vegetal que son una alternativa interesante. Las celdas solares de Graetzel también conocidas como celdas solares sensibilizada por colorante (en inglés, dye-sensitized solar cell, DSSC) producen electricidad mediante un principio fotoelectroquímico, cambiando la energía lumínica en energía eléctrica. Estas celdas son capaces de atrapar la energía proveniente de la radiación solar en el visible, lo cual abarca un rango de energías muy amplio y permite aprovechar mejor la radiación. Los colorantes

suponen una serie de ventajas como son la sencillez, la rentabilidad y el bajo impacto en el ambiente respecto a las celdas de silicio comúnmente utilizadas las cuales captan solamente la luz ultravioleta del espectro (Bisquert, et al., 2004). Estas celdas han logrado reducir costos de fabricación y obteniendo una eficiencia considerable (Enciso, et al., 2016).

El funcionamiento de la celda se basa en un proceso fotoelectroquímico. La celda, ensamblada en forma tipo sándwich, que consiste en un fotoelectrodo, un electrolito redox y un contraelectrodo. El fotoelectrodo contiene un semiconductor, que en general se usa TiO_2 , sobre el cual se adsorbe el pigmento. Para ello utiliza los grupos $-\text{COOH}$ provenientes de su cromóforo, con los cuales puede generar enlaces estables con la superficie del TiO_2 y así prevenir su desorción.

En primer lugar los fotones provenientes del sol son absorbidos por la sustancia colorante. Luego se da la transferencia del

electrón excitado desde la molécula del colorante hacia el TiO_2 (semiconductor). Cuando ocurre la excitación, un electrón va desde el nivel HOMO al nivel LUMO, favoreciendo el acercamiento de los grupos de coordinación COOH con la superficie del TiO_2 , aumentando la probabilidad de la transferencia del electrón.

El circuito se completa con la migración de electrones a través del contraelectrodo de platino. Una vez que llegan al mismo los electrones son tomados por la cupla yoduro/tri yoduro presente en el electrolito, generándose mayor cantidad de la forma reducida de la misma. Por último, esta forma reducida cede sus electrones al pigmento, regenerando el mismo. El ciclo se cierra y la celda está lista para volver a recibir la luz del sol y comenzar el ciclo una vez más.

Por otro lado, el pigmento a explorar es la Ficoeritrina, que forma parte de la familia de ficobiliproteínas, tiene características particulares que lo hacen un mejor candidato frente a otros como caroteno, clorofila y flavina comúnmente utilizados en las celdas DSSC. De acuerdo a estudios previos realizados en

el Laboratorio de Biomateriales la ficoeritrina tiene una excelente capacidad de absorber la luz en la región visible del espectro sumado a un potencial redox adecuado para ser usada como sensibilizador en celdas DSSC y una estructura química adecuada para permitir su “anclaje” al semiconductor del fotoelectrodo (Enciso, et al., 2016).

Las ficobiliproteínas son las responsables de la recolección de la luz en diferentes tipos de algas rojas y cianobacterias. Son proteínas accesorias que les permiten a los diferentes organismos captar la energía lumínica para luego transferirla a la clorofila en el proceso de fotosíntesis. Se pueden dividir, gracias a sus diferentes propiedades espectroscópicas, en aloficocianinas, ficocianinas y ficoeritrinas (Glazer, et al. 1982). Las ficobiliproteínas son solubles en agua y están compuestas por diferentes subunidades α , β y γ , las cuales consisten en grupos prostéticos tetrapirrólicos de cadena abierta, unidos por enlace fosfodiéster a las cisteínas de una apoproteína (Liu, et al., 2009). De esta forma las ficoeritrinas son ficobiliproteínas con la conformación de hexámero ($\alpha\beta$) γ .

Este es el grupo cromóforo que le da el

color rojo característico (Figura 1).

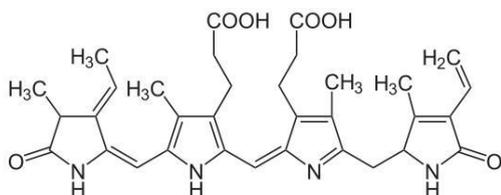


Figura 1. Estructura química del cromóforo de la proteína ficoeritrina.

Objetivos

El objetivo del presente trabajo es la extracción, purificación y caracterización del pigmento rojo (ficoeritrina) responsable del color de algas rojas obtenidas en la Antártida. Los estudios se centraron en aquellas características que lo hacen utilizable como sensibilizador del fotoelectrodo en celdas DSSC.

Materiales y Métodos

Las algas fueron recolectadas en la Isla Rey Jorge durante el mes de enero de 2018. En la Base Científica Antártica Artigas, fueron lavadas con agua Milli Rho y secadas, siendo acondicionadas para su traslado a Montevideo. Aquí se

conservaron en freezer.

Para los trabajos de extracción, 1 g de muestra fue trozado y colocado en un mortero con 25 ml de agua Milli Q (18.2 MΩ). Posteriormente la muestra fue centrifugada.

La purificación de la ficoeritrina se realizó con columna Sephadex G-25, usando agua como solvente de elución.

El proceso de purificación fue controlado por espectrofotometría visible y cromatografía en capa delgada (TLC), usando placas de sílica gel sobre aluminio (SIGMA ALDRICH 70644) y la mezcla butanol/acético (9/1) como fase móvil.

La estabilidad con la temperatura fue evaluada en el rango 30 a 85 °C, siguiendo el comportamiento del espectro visible de la muestra.

Por último, estudiar la cinética de degradación térmica, trabajando a temperatura constante (45°C).

Las medidas en el espectro visible fueron realizadas en un equipo SPECORD 200 Plus de Analytic-Jena, en el rango 400–8000 nm.

Resultados y Discusión

La purificación de las muestras fue seguida por TLC. En los casos analizados, el extracto inicial, obtenido al mezclar en mortero la muestra de alga con agua, mostraba la presencia de un compuesto, con un $R_f = 0,97$ para *Palmaria Decipiens* y $R_f = 0,94$ para *Delesseria lancifolia*. Luego del pasaje por la columna de exclusión, se observaba solamente la presencia de ficoeritrina ($R_f = 0$).

El espectro visible de las muestras analizadas mostró la presencia de ficoeritrina-R, si bien tenían características levemente diferentes dependiendo del alga de partida y el estado de agregación de la misma (Figura 2).

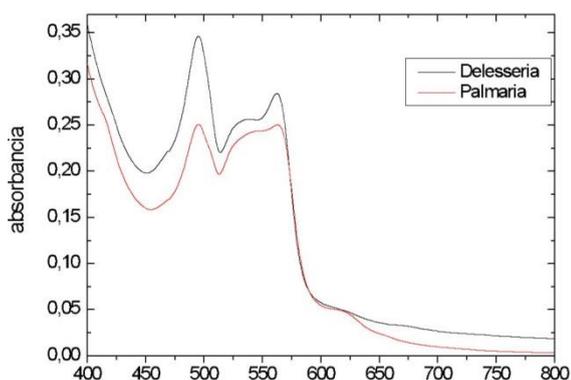


Figura 2. Espectro de absorción obtenido para muestras de *Palmaria Decipiens* y *Delesseria lancifolia*, previos a su purificación.

Para muestras purificadas obtenidas a partir de las algas mencionadas, el perfil de estabilidad térmica mostrado en la Figura 3 muestra dos puntos de inflexión. En el caso de *Delesseria* (a 47 y 60 °C) y uno a 60 °C para el caso de *Palmaria*. Esta inflexión señala el punto en que la concentración de ambas especies presentes es idéntica, asumiendo el modelo termodinámico de la fisicoquímica por el cual sólo dos especies pueden estar en equilibrio al mismo tiempo. La estabilidad térmica se evaluó a 565nm.

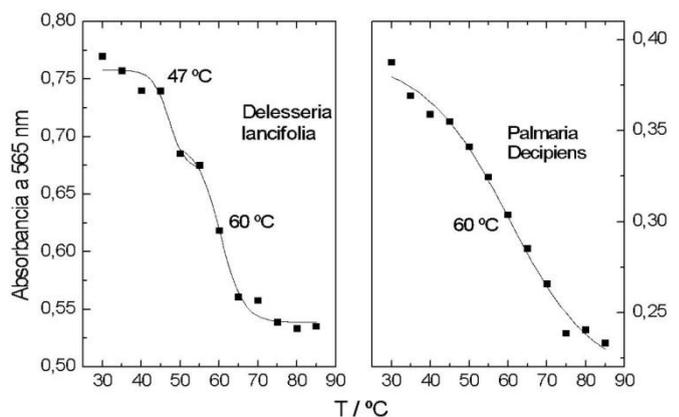


Figura 3. Perfiles de estabilidad térmica medidos a 565 nm para extractos purificados de *Palmaria Decipiens* y *Delesseria lancifolia*.

Si la ficoeritrina es sometida a un agente desnaturante físico, como la temperatura, sufre un proceso de

desnaturalización. Este proceso, de acuerdo al modelo termodinámico, puede esquematizarse como: $N \rightleftharpoons D$

Donde N= proteína al estado nativo, y D es la forma desnaturalizada de la misma. En este caso, la constante correspondiente al equilibrio puede plantearse como:

$$K_{eq} = \frac{[D]}{[N]}$$

Conociendo los confórmeros que forman la ficoeritrina, se puede suponer entonces que en la Figura 3, para *Delesseria*, la primer transición podría corresponder a la conversión del hexámero en subunidades y monómeros ($\alpha\beta$), mientras que la segunda a la desnaturalización del monómero. En *Palmaria*, se ve siempre el proceso asociado al monómero.

El estudio de estabilidad con la temperatura es primordial, ya que una celda fotovoltaica se verá expuesta a los rayos del sol, lo cual puede provocar un aumento de temperatura en la misma. De todas formas, y por tratarse de celdas cuyo objetivo final es usarlas en territorio antártico, en este caso se colocarían dentro de la habitación y no alcanzarían

nunca temperaturas tan altas como las evaluadas.

Otro punto interesante a destacar, cuando se logra una completa desnaturalización de la proteína no implica una pérdida total del color. Aún desnaturalizada la ficoeritrina sigue teniendo una interesante capacidad de captar la luz en el rango visible del espectro, por lo cual sigue siendo una buena candidata a ser usada como sensibilizador del foto ánodo. Respecto a la estabilidad con el tiempo, se usó *Delesseria* para este estudio. En este caso, las muestras guardadas en heladera a 0 °C o a temperatura ambiente no muestran cambios en el correr de un par de meses. En las muestras evaluadas a 40 y 50° C, luego del transcurso de 2 horas, la absorbancia a 565 nm decae tan solo a un 80 % del valor inicial. Esto confirmaría que una vez perdida la conformación inicial de hexámeros, la proteína conserva una gran capacidad de absorber la luz a 565 nm, mostrando un monómero muy estable (Figura 4) (De Bón, M.,Hurtado, J. 2017).

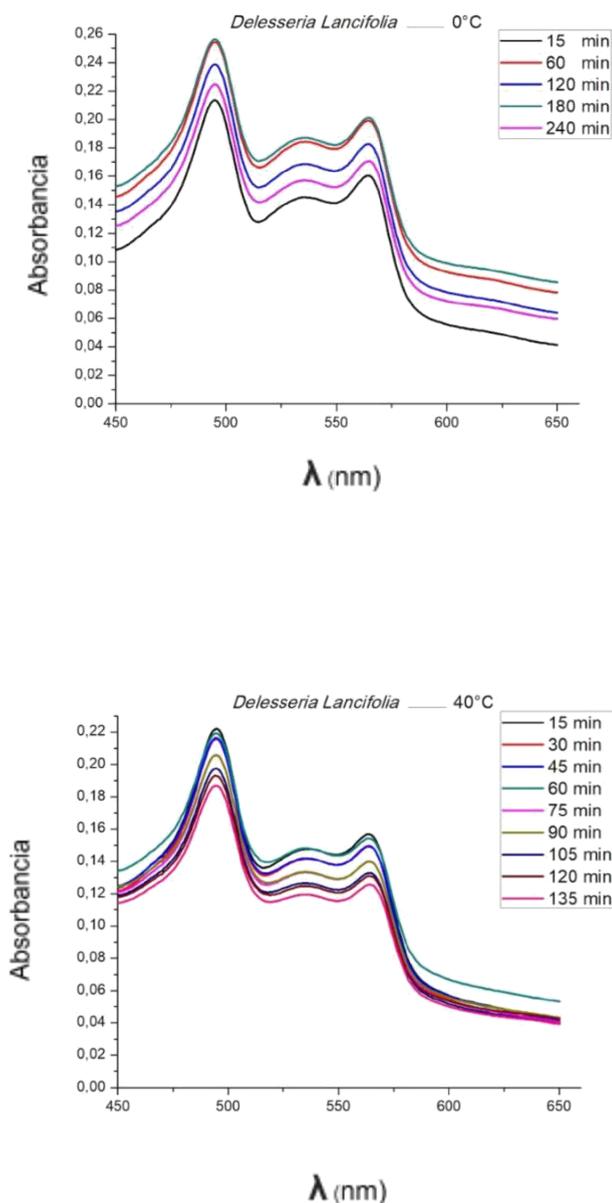


Figura 4.Perfiles de estabilidad térmica con el tiempo a 0 y 40 °C.

Se realizó método integral para hallar el orden de reacción de degradación pero la disminución en la absorbancia como ya fue mencionado anteriormente decae solo un 20% y no fue suficiente para establecerlo. Por lo cual se decide realizar el método diferencial.

Para esta instancia se evalúa el extracto sin purificar de *Delesseriaya* que se observa el pico característico de la ficoeritrina (565nm) y este no varía entre la muestra purificada y cruda. Esto se confirma también por estudios previos realizados en el Instituto Tecnológico de Chascomús (IIB-INTECH), UNSAM - CONICET, Chascomús, Argentina mediante el método de fluorescencia 3D. Donde se observa que las diferencias entre crudo y purificado se encuentran en compuestos como la clorofila y se mantiene invariable el pico característico de ficoeritrina entre las diversas algas (De Bón, M., Hurtado, J. 2018).

Asimismo para el método diferencial se realizan seis diluciones $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{6}$, $\frac{1}{8}$ y $\frac{1}{8}$ en agua milli Q. Se mide la absorbancia a tiempo inicial con temperatura ambiente y luego en baño termostatzado a 45°C cada 15 minutos (Figura 5). Estos resultados son preliminares y se

$$\ln v_0 = a \ln [A]_0 + \ln k$$

continuará el trabajo para ajustar los resultados obtenidos.

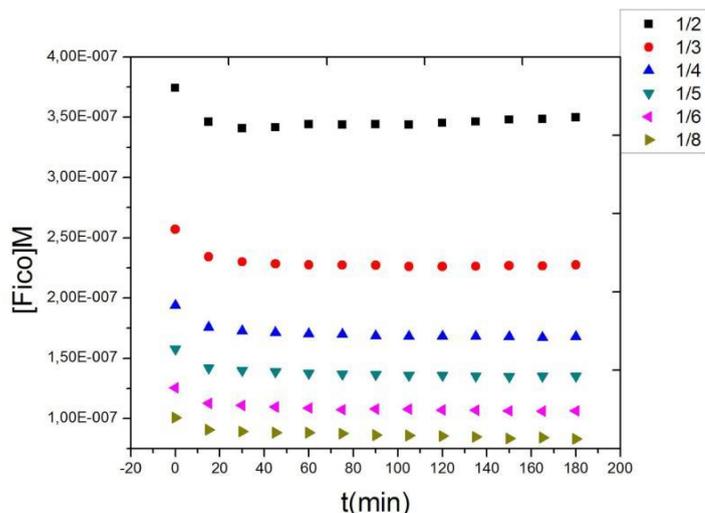


Figura 5.Estabilidad térmica a 45°C de las diferentes diluciones del extracto crudo de *Delesseria* a 565nm.

Se obtiene la pendiente de cada gráfico de donde:

$$\frac{-d[A]}{dt} = v_0 = k [A]^a$$

Siendo [A] la concentración de Ficoeritrina para las distintas diluciones, k la constante cinética de velocidad y a el orden de reacción.

De esta forma, se obtiene el orden de reacción midiendo las velocidades iniciales para varios valores de concentración inicial de Ficoeritrina

Se linealiza tomando en cuenta los datos que cumplen con la linealidad (Figura 6), obteniendo un a de 0,981 ~ 1, una $v = 5.8E-4$ [fico]y con un R de 0,995.

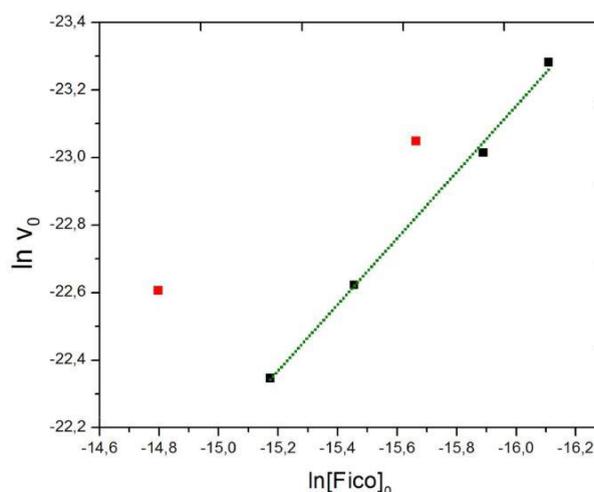


Figura 6.Gráfica del Logaritmo de la velocidad inicial vs el Logaritmo de la concentración inicial de Ficoeritrina.Se obtiene el orden de reacción y la constante cinética..

Conclusiones

Los extractos de ficoeritrina obtenidos a partir de *Palmaria Decipiensy Delesseria Lancifolia*, aún sin purificar, muestran características adecuadas para su aplicación como sensibilizador en el fotoánodo de celdas DSSC. Entre ellas, es importante el poseer una buena capacidad de absorción en el rango visible del espectro, y una interesante estabilidad térmica. El proceso de desnaturalización de la ficoeritrina empieza a ocurrir de forma apreciable a los 60 °C, temperatura que, si se piensa en celdas a ser usadas en la Antártida, no se logra alcanzar en condiciones ambientales. Pero es interesante mencionar que el estado final alcanzado cuando se logra una completa desnaturalización de la proteína no implica una pérdida total del color. Esto muestra que, aun desnaturalizada, la ficoeritrina sigue teniendo una interesante capacidad de captar la luz en el rango visible del espectro. Por otro lado, para el estudio cinético de la degradación térmica del extracto de ficoeritrina crudo acuoso si bien los datos son preliminares y la constante cinética calculada no es conforme a lo esperado, ya que esta

proteína se mantiene sin degradarse por mucho tiempo, se validó como de primer orden según las correlaciones obtenidas en la determinación de la constante cinética de la tasa de degradación para la temperatura estudiada. Esto se condice con datos previamente reportados.

Por último, la exploración de recursos antárticos, unidos al desarrollo de diferentes líneas de investigación con distintos enfoques y problemáticas en ese continente, constituye en sí misma una interesante propuesta. Contribuye a la búsqueda de nuevos caminos para reducir el impacto ambiental derivado de la presencia humana en esa zona del Planeta, ayudando a las nuevas generaciones a concientizarse sobre nuestra responsabilidad en el cuidado y los usos de los recursos disponibles en la Tierra.

Bibliografía

Bisquert J., Cahen D., Hodes G., Rühle S. and Zaban A., 2004. Physical Chemical Principles of Photovoltaic Conversion with Nanoparticulate, Mesoporous Dye-Sensitized Solar Cells. En: Journal of Physical Chemistry B, 108, pp8106–8118.

D’Agnolo E., Rizzo R., Paoletti S., Murano E., 1994. R-phycoerythrin from the red alga *Gracilaria Longa*. En: Phytochemistry, 35, pp. 693–696.

De Bón, M., y Hurtado, J. 2017. ‘Caracterización de pigmentos extraídos de algas rojas de la Antártida para su posible uso en celdas solares del tipo DSSC’. Gloria Serra(Presidencia). 5º Encuentro Nacional de Química, ENAQUI5, organizado por PEDECIBA-Química, Complejo Cultural, Complejo Torre de las Telecomunicaciones de ANTEL.

De Bón, M., y Hurtado, J. 2018. ‘Caracterización de pigmentos extraídos de algas rojas de la Antártida para su posible uso en celdas solares del tipo DSSC’. Dra. Ivana Aguiar. Primer Encuentro de Jóvenes Investigadores en Ciencia de Materiales, organizado por grupo interdisciplinario UdelaR, Hotel Palladium.

Enciso P., Cerdá M.F., 2016. Solar cells based on the use of photosensitizers obtained from Antarctic red algae. En: Cold Regions Science Technology 126, pp. 51–54.

Enciso P., Decoppet J.D., Moehl T., Grätzel M., Wörner M., Cerdá M.F., 2016. Influence of the adsorption of phycocyanin on the performance in DSS cells: and electrochemical and QCM evaluation. International. En: Journal of Electrochemistry. Science, 11, pp.3604–3614.

Glazer A.N., West J.A., and CHAN C., 1982. Phycoerythrins as Chemotaxonomic Markers in Red Algae: A Survey. En: Biochemical Systematics and Ecology, 10, pp. 333–215

Liu, L.N., Su, H.N., Yan, S.G., Shao, S.M., Xie, B.B., Chen, X.L., Zhang, X.Y., Zhou, B.C. y Zhang, Y.Z., 2009. Probing the pH sensitivity of R-phycoerythrin: Investigations of active conformational and functional variation. En: Biochimica et Biophysica Acta 1787, pp. 939–946.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto Antártico Uruguayo, Buzos de la Base Artigas y Grupo de Buceo de la Armada.

Financiamiento

ANII

PEDECIBA-Química.