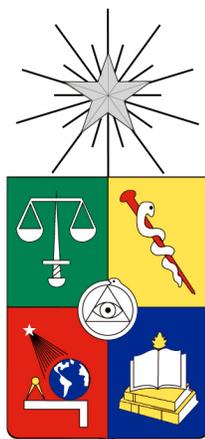


UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas



**Biosíntesis de nanopartículas semiconductoras fluorescentes tipo *Core/Shell*
de CdS/CdSe y su aplicación en *Quantum Dot Sensitized Solar Cells***

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado de Magíster en Bioquímica área de especialización Bioquímica Ambiental y Memoria para optar al Título de Bioquímico por:

Nicolás Alexis Órdenes Aenishanslins

Director de Tesis: Dr. José Manuel Pérez Donoso

Co-Director de Tesis: Dr. Sergio Aníbal Álvarez Armijo

Santiago - Chile

Enero 2018

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Dirección de Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Magíster y Memoria de Título presentada por el candidato

NICOLÁS ALEXIS ÓRDENES AENISHANSLINS

Ha sido aprobada por la Comisión Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Bioquímica área de especialización Bioquímica Ambiental y Título de Bioquímico, en el examen público rendido el día

_____ .

Director de Tesis:

Dr. José M. Pérez Donoso

Co-Director de Tesis:

Dr. Sergio A. Álvarez Armijo

Comisión Evaluadora de Tesis:

Dra. Soledad Bollo Dragnic

Dr. Ricardo Cabrera Paucar

Dr. Davor Cotoras Tadic

AGRADECIMIENTOS

Gracias Jota por tu apoyo y confianza durante todos estos años trabajando en el Laboratorio. Por alentarme y aconsejarme en cada una de mis tareas, siempre sacando lo mejor de mí. Eternas gracias por las oportunidades que me diste y que me han formado como profesional, por hacerme parte de los proyectos del Laboratorio, por delegarme responsabilidades y tareas importantes, por permitirme formar gente. Con todo el esfuerzo y sacrificio, fueron años de mucha productividad científica. Me imagino que el Nicolás que vez ahora no es el mismo que recibiste hace varios años en Vicuña Mackenna 20. Muchas gracias, porque parte de lo que soy como profesional es en gran medida a tu rigurosa escuela.

A mis padres, Marcela y Miguel, gracias por enseñarme a no perder la curiosidad y capacidad de asombro. Gracias por fomentar cada uno de mis intereses, por regalarme mi primer microscopio cuando era niño y por dejarme armar un pequeño mesón de laboratorio en el patio de la casa. Muchas gracias por proveerme de los libros que nunca faltaron durante mi formación. Pero por sobre todo, muchísimas gracias por su amor incondicional y verdadero, y por siempre estar presentes, compartiendo mis alegrías y alentándome en mis frustraciones.

Gracias a mis abuelos, Rosario y René, por acogerme en su casa y rápidamente hacerme parte de sus vidas estos años. Gracias por compartir su sabiduría, experiencias de vida y por enseñarme grandes valores. Desde que entré a la Universidad, ustedes han sido testigos activos de todo este proceso. Gracias por darme todas las comodidades posibles para poder estudiar. Me considero inmensamente afortunado de tenerlos.

Gracias a mis hermanos, Gabriel y Pablo, por siempre apoyarme y sentirse orgullosos de lo que he logrado. Gracias Pablo, por muchas veces permitirme ver el mundo a través de

tus ojos de niño y mostrarme que las cosas o los problemas son muchos más simples de lo que uno piensa.

Gracias Giovanna, por tu paciencia y por todo el amor que me entregas día a día. Por compartir mi pasión y amor por la Ciencia. Por siempre ayudarme de manera desinteresada y sentirte orgullosa de mí. Gracias por alentarme a seguir adelante y aconsejarme en los momentos más difíciles, sobre todo estos últimos años.

Por ser mi compañera. Te amo muchísimo.

A toda mi familia y seres queridos, muchísimas gracias por su paciencia y comprensión, porque muchas veces por estudio o trabajo me ha tocado faltar a fechas importantes. Pero en lugar de recriminarme, siempre han estado para entenderme, apoyarme y hacerme ver que todo esfuerzo tiene su recompensa.

Gracias a la Universidad de Chile, mi querida Universidad. Siempre fue mi objetivo en la enseñanza media entrar a esta casa de estudios y hoy me llena de orgullo poder finiquitar este proceso de buena manera. Eternamente agradecido de cada uno de los profesores que me formaron y del aporte invaluable de sus funcionarios.

A mi co-director, profesor Sergio, y a la comisión de tesis, profesores Soledad, Ricardo y Davor, por su completa disposición para coordinar cada una de las fechas de presentación. Muchas gracias por sus comentarios y sugerencias en cada una de las etapas de este proceso, sin duda ayudaron a mejorar este trabajo de manera significativa.

Gracias a la profesora Daniela, por su tremenda disposición y comprensión cada vez que necesité de su ayuda. Gracias por siempre mostrarse interesada en conversar unos minutos sobre mi trabajo y por sus importantes lecciones profesionales y de vida.

A mis amigos de la carrera, amigos en la definición misma de la palabra, Alfonso, Diego, Eduardo, Fabián, Ignacio, Luis, Mabel y Vicente, por todos estos años compartiendo esta maravillosa etapa juntos. Los quiero y admiro demasiado.

A mis amigos y compañeros del Laboratorio, Bastian, Bernardo, Carla, Catherine, Constance, Felipe, Jessica, Juan, Juan Pablo, Matías, Nicolás, Nicole, Pamela y tantos otros. Gracias por su ayuda y compañía siempre. Un placer haber trabajado y compartido con ustedes en el Laboratorio y en muchas otras instancias.

A mis amigos y compañeros de trabajo en uBiome. Gracias por estar pendientes y alentarme a finalizar este proceso. Son tremendas personas y grandes profesionales. Gracias Eduardo por todo tu apoyo, agradezco enormemente tu comprensión y empatía siempre. Un verdadero privilegio trabajar con todos ustedes.

FINANCIAMIENTO

Esta tesis fue desarrollada en el Laboratorio de Bionanotecnología y Microbiología del Centro de Bioinformática y Biología Integrativa (CBIB) de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Andrés Bello. El trabajo fue financiado por los proyectos INACH T-19_11 y FONDECYT 1151255.

COMUNICACIONES

- Participación en Congresos y Seminarios

Nacional

1) **“Nanopartículas producidas por bacterias y su aplicación en celdas solares: Una alternativa sustentable y de bajo costo para la producción de energía”**. *PRESENTACIÓN ORAL*.

Órdenes-Aenishanslins N y Pérez-Donoso JM.

Seminarios de Física 2014. Departamento de Física, Facultad de Ciencias, Universidad del Bío-Bío. Concepción, Chile. Enero 2015.

2) **“Celdas solares a base de nanopartículas producidas por bacterias: Una alternativa sustentable y de bajo costo para la producción de energía”**. *PRESENTACIÓN ORAL y POSTER (con Reconocimiento)*.

Órdenes-Aenishanslins N y Pérez-Donoso JM.

10° Seminario Internacional de Nanotecnología, Oportunidades para Innovar y Emprender (Fundación COPEC-UC). Casa Piedra, Santiago, Chile. Noviembre 2014.

3) **“Quantum Dot Sensitized Solar Cell based in biosynthesized CdTe and CdS nanoparticles”**. *POSTER*.

Órdenes-Aenishanslins N, Saona LA, Gran-Scheuch A, Monrás JP y Pérez-Donoso JM.

III Congreso Nacional de Nanotecnología (CNN2014). Puerto Varas, Chile. Septiembre 2014.

4) **“Using Nanotechnology and Microbiology to biosynthesize fluorescent semiconductor nanoparticles with biotechnological applications”**. *PRESENTACIÓN ORAL*.

Saona LA, Monrás JP, Órdenes-Aenishanslins N, Durán-Toro V, Gallardo C, Plaza D, Díaz V, Venegas FA, Gran-Scheuch A, Schofield D, Ulloa G, Bravo D, Collao B y Pérez-Donoso JM.

III Congreso Nacional de Nanotecnología (CNN2014). Puerto Varas, Chile. Septiembre 2014.

5) “Fabricación de celdas solares del tipo *Dye Sensitized Solar Cell (DSSC)* mediante la incorporación de pigmentos provenientes de bacterias antárticas”. *PRESENTACIÓN ORAL.*

Órdenes-Aenishanslins N, Gran-Scheuch A, Saona LA, Monrás JP y Pérez-Donoso JM.

VII Congreso Latinoamericano de Ciencia Antártica. La Serena, Chile. Septiembre 2013.

6) “Evaluación de *Quantum Dots* obtenidos por síntesis microbiológica y biomimética para la fabricación de celdas solares del tipo *Quantum Dot Sensitized Solar Cells (QDSSC)*”. *POSTER.*

Órdenes-Aenishanslins N, Saona LA, Durán-Toro V y Pérez-Donoso JM.

I^{er} Congreso Chileno de Óptica y Fotónica. Optical Society of America (OSA) Student Chapter. Universidad de Santiago de Chile. Santiago, Chile. Mayo 2013.

7) “Caracterización química y biológica de suelos contaminados con diesel provenientes de la Isla Rey Jorge, Antártica”. *POSTER.*

Gran-Scheuch A, Órdenes-Aenishanslins N, Monrás JP, Coppotelli B y Pérez-Donoso JM.

VII Congreso Latinoamericano de Ciencia Antártica. La Serena, Chile. Septiembre 2013.

8) “Uso del modelo bacteriano para la enseñanza escolar de Ciencias: enseñando microbiología desde la Antártica”. *PRESENTACIÓN ORAL.*

Soto L, Monrás JP, Saona LA, Gran-Scheuch A, Órdenes-Aenishanslins N, Gallardo C, Plaza D, Straub Y y Pérez-Donoso JM.

XXXV Congreso Chileno de Microbiología. Maitencillo, Chile. Noviembre 2013.

9) “Aislamiento y caracterización de microorganismos poliextremófilos del Salar de Uyuni y Mar Muerto: Crecimiento en saturación salina y pH ácido”. *POSTER.*

Caravantes P, Campo JL, Núñez F, Pérez J, Órdenes-Aenishanslins N, Bruna N, Collao B y Pérez-Donoso JM.

X Congreso de la Asociación de Estudiantes de Biología de Chile (AEBCH). Viña del Mar, Chile. Octubre 2015.

10) “*Galleria mellonella*: Un modelo *in vivo* para el estudio del efecto de nanomateriales sobre microorganismos patógenos”. *POSTER.*

Caravantes P, Campo JL, Tello A, Órdenes-Aenishanslins N y Pérez-Donoso JM.

IV Congreso Nacional de Nanotecnología (CNN2016). Olmué, Chile. Septiembre 2016.

Internacional

1) **“Tuning the properties of fluorescent nanoparticles produced by bacteria: Biosynthesis of ternary Quantum Dots through cation exchange”**. *POSTER*.

Órdenes-Aenishanslins N, Monrás JP, Tello A, Bravo D, Prasad PN and Pérez-Donoso JM.

American Society for Microbiology 2016 (ASM Microbe 2017). New Orleans, Estados Unidos. Junio 2017.

2) **“Synthesis of fluorescent Cu₂S nanoparticles by a highly metal-resistant Antarctic bacterium. Potential application as photosensitizer in solar cells”**. *POSTER*.

Saona LA, Órdenes-Aenishanslins N, Norris C, Bruna N and Pérez-Donoso JM.

American Society for Microbiology 2016 (ASM Microbe 2016). Boston, Estados Unidos. Junio 2016.

3) **“Expedición Antártica: Búsqueda de microorganismos resistentes a cobre y su relación con la resistencia a estrés oxidativo”**. *POSTER*.

Saona LA, Órdenes-Aenishanslins N, Cabrera C, Bruna N, Gran-Scheuch A, Durán-Toro V y Pérez-Donoso JM.

XXII Congreso Latinoamericano de Microbiología (XXII ALAM) y IV Congreso Colombiano de Microbiología (IV CCM). Cartagena de Indias, Colombia. Noviembre 2014.

4) **“Aislamiento y caracterización de bacterias Antárticas capaces de metabolizar fenantreno en presencia de metales pesados”**. *POSTER*.

Gran-Scheuch A, Fuentes E, Monrás JP, Órdenes-Aenishanslins N y Pérez-Donoso JM.

XXII Congreso Latinoamericano de Microbiología (XXII ALAM) y IV Congreso Colombiano de Microbiología (IV CCM). Cartagena de Indias, Colombia. Noviembre 2014.

5) **“Microbiology and Nanotechnology: Working for green synthesis of nanoparticles with biotechnological applications”**. *POSTER*.

Gallardo C, Plaza D, Venegas FA, Saona LA, Durán-Toro V, Órdenes-Aenishanslins N, Straub Y, San Martin C, Monrás JP, Bravo D and Pérez-Donoso JM.

10th International Conference of Nanosciences & Nanotechnologies (NN13). Thessaloniki, Greece. July 2013.

6) “Isolation of oxidative stress resistant Antarctic bacteria able to biosynthesize fluorescent semiconductor nanoparticles (CdS and CdTe) at low temperatures”.
POSTER.

Gallardo C, Plaza D, Monrás JP, Venegas FA, Saona LA, Durán-Toro V, Pizarro J, Gran-Scheuch A, Órdenes-Aenishanslins N, Straub Y, Vega F, Ulloa G, Pradenas G, Bravo D and Pérez-Donoso JM.

5th Congress of European Microbiologists, Federation of European Microbiological Societies (FEMS 2013). Leipzig, Germany. July 2013.

- Publicaciones

1) Co-synthesis of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates and CdS quantum dots nanoparticles in *Pseudomonas putida* KT2440.

Oliva-Arancibia B, Órdenes-Aenishanslins N, Bruna N, Ibarra PS, Zacconi FC, Pérez-Donoso JM and Pobleto-Castro I.

Journal of Biotechnology. 2017, 264: 29-37.

2) Biological phosphorylated molecules participate in the biomimetic and biological synthesis of cadmium sulphide quantum dots by promoting H₂S release from cellular thiols.

Venegas FA, Saona LA, Monrás JP, Órdenes-Aenishanslins N, Giordana MF, Ulloa G, Collao B, Bravo D and Pérez-Donoso JM.

RSC Advances. 2017, 7 (64): 40270-40278.

3) Pigments from UV-resistant Antarctic bacteria as photosensitizers in Dye Sensitized Solar Cells.

Órdenes-Aenishanslins N, Anziani-Ostuni G, Vargas-Reyes M, Alarcón J, Tello A and Pérez-Donoso JM.

Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2016, 162: 707-714.

4) Use of titanium dioxide nanoparticles biosynthesized by *Bacillus mycoides* in Quantum Dot Sensitized Solar Cells.

Órdenes-Aenishanslins N, Saona LA, Durán-Toro V, Monrás JP, Bravo D and Pérez-Donoso JM.

Microbial Cell Factories. 2014, 13 (1): 90.

5) Quantum dot-based assay for Cu²⁺ quantification in bacterial cell culture.

Durán-Toro V, Gran-Scheuch A, Órdenes-Aenishanslins N, Monrás JP, Saona LA, Venegas FA, Chasteen TG, Bravo D and Pérez-Donoso JM.

Analytical Biochemistry: Methods in the Biological Science. 2014, 450: 30-36.

6) Microarray analysis of the *Escherichia coli* response to CdTe-GSH Quantum Dots: Understanding the bacterial toxicity of semiconductor nanoparticles.

Monrás JP, Collao B, Molina-Quiroz RC, Pradenas GA, Saona LA, Durán-Toro V, **Órdenes-Aenishanslins N**, Venegas FA, Loyola DE, Bravo D, Calderón PF, Calderón IL, Vásquez CC, Chasteen TG, Lopez DA and Pérez-Donoso JM.
BMC Genomics. 2014, 15 (1): 1099.

- Patentes Solicitadas

1) Título: Síntesis química de nanopartículas de sulfuro de cobre.

Inventores: José M. Pérez-Donoso, Luis A. Saona Acuña y Nicolás A. Órdenes-Aenishanslins.

Solicitud: PCT/CL2014/000073.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	III
FINANCIAMIENTO	VI
COMUNICACIONES	VII
ÍNDICE DE CONTENIDOS	XII
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	XIV
LISTA DE ABREVIATURAS	XVI
RESUMEN	XVII
SUMMARY	XX
INTRODUCCIÓN	1
El problema energético y el desarrollo de las celdas solares	1
Nanopartículas semiconductoras fluorescentes o <i>Quantum Dots</i>	6
Síntesis química y biológica de <i>Quantum Dots</i>	11
HIPÓTESIS	16
OBJETIVO GENERAL	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
MÉTODOS	18
1. Biosíntesis de los <i>Quantum Dots</i> de CdS y CdS/CdSe	18

2. Purificación y caracterización espectrofotométrica de las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe	19
3. Caracterización fotofísica y estructural de las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe	20
3.1 Determinación de tamaño	20
3.2 Determinación de la composición	20
3.3 Fotoestabilidad de las nanopartículas	21
3.4 Microscopía electrónica de transmisión de barrido (STEM)	21
4. Fabricación y caracterización de las <i>Quantum Dot Sensitized Solar Cells</i>	22
RESULTADOS	25
Desarrollo de un método de biosíntesis de <i>Quantum Dots</i> tipo <i>Core/Shell</i> de CdS/CdSe	25
Caracterización fotofísica y estructural de las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe producidas	38
Fabricación de celdas solares (QDSSCs) con las nanopartículas producidas y caracterización de sus parámetros fotovoltaicos	44
DISCUSIÓN	48
CONCLUSIONES	57
REFERENCIAS	58

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Esquema de una <i>Quantum Dot Sensitized Solar Cell</i>	5
Figura 2. Representación de un QD <i>Core/Shell</i> y esquema de la alineación de los niveles de energía en los diferentes sistemas <i>Core/Shell</i>	9
Figura 3. Representación esquemática del alineamiento de las bandas de conducción en un electrodo con la configuración TiO ₂ -CdS/CdSe para una QDSSC	10
Figura 4. Esquema representativo de curvas I-V y P-V para un dispositivo fotovoltaico	23
Figura 5. Biosíntesis extracelular de <i>Quantum Dots</i> de CdS usando distintas concentraciones de tiosulfato, sulfito y sulfato de sodio como fuente de sulfuro	26
Figura 6. Biosíntesis extracelular de <i>Quantum Dots</i> de CdS usando distintas concentraciones de sulfuro de sodio, L-Metionina y L-Cisteína como fuente de sulfuro	27
Figura 7. Cinética de biosíntesis extracelular de <i>Quantum Dots</i> de CdS	29
Figura 8. Espectros de absorción y emisión de fluorescencia de <i>Quantum Dots</i> de CdS a distintos tiempos de biosíntesis	30
Figura 9. Efecto del tiempo y la concentración de Na ₂ SeO ₃ en la biosíntesis de <i>Quantum Dots Core/Shell</i> de CdS/CdSe	32
Figura 10. Espectros de absorción tras agregar distintas concentraciones de Na ₂ SeO ₃ a nanopartículas de CdS a los 20, 40 y 60 min de síntesis	33

Figura 11. Espectros de absorción y emisión de fluorescencia de nanopartículas semiconductoras fluorescentes de CdS y CdS/CdSe biosintetizadas	34
Figura 12. Importancia de las células en la biosíntesis de <i>Quantum Dots</i> de CdS y CdS/CdSe	35
Figura 13. Esquema general de la biosíntesis extracelular de <i>Quantum Dots Core/Shell</i> de CdS/CdSe	37
Figura 14. Tamaños de las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe determinados mediante DLS	39
Figura 15. Espectros FTIR de las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe biosintetizadas	40
Figura 16. Fotoestabilidad de <i>Quantum Dots</i> biosintetizados de CdS y CdS/CdSe	42
Figura 17. Microscopía de transmisión electrónica de barrido de nanopartículas de CdS/CdSe biosintetizadas	43
Figura 18. Curvas I-V para celdas solares sensibilizadas con <i>Quantum Dots</i> biosintetizados de CdS o CdS/CdSe	45
Tabla I. Parámetros fotovoltaicos obtenidos de las curvas I-V de las celdas solares sensibilizadas con <i>Quantum Dots</i> biosintetizados	46

LISTA DE ABREVIATURAS

DLS: Dispersión dinámica de la luz.

DO₆₀₀: Densidad óptica medida a 600 nm.

DSSCs: *Dye Sensitized Solar Cells*.

ERNC: Energías renovables no convencionales.

FTIR: Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier.

FTO: *Fluorine-doped Tin Oxide*.

HR-SEM: Microscopio electrónico de barrido de alta resolución.

NPs: Nanopartículas.

QDs: *Quantum Dots*.

QDSSCs: *Quantum Dot Sensitized Solar Cells*.

SDS: Dodecilsulfato sódico.

STEM: Microscopía electrónica de transmisión de barrido.

UV: Ultra violeta.

RESUMEN

Biosíntesis de nanopartículas semiconductoras fluorescentes tipo *Core/Shell* de CdS/CdSe y su aplicación en *Quantum Dot Sensitized Solar Cells*

En el último tiempo ha surgido con fuerza la necesidad de reemplazar el uso de combustibles fósiles para la generación de energía. Esto ha impulsado la investigación en las energías renovables no convencionales (ERNCC) que surgen como alternativas para satisfacer la alta demanda energética mundial. En este sentido, esta investigación apuntó a utilizar el recurso energético más abundante en la Tierra, la energía solar, mediante el desarrollo sustentable de celdas fotovoltaicas.

Dentro de las limitaciones de la tecnología fotovoltaica actual se encuentra su elevado costo de producción, gran cantidad de materiales requeridos y la emisión de compuestos tóxicos asociados a su fabricación. Esto ha promovido el desarrollo de celdas solares basadas en nuevos materiales con la premisa de abaratar los costos de producción y disminuir su impacto ambiental. Es así como surgen las denominadas celdas solares de tercera generación, principalmente las *Quantum Dot Sensitized Solar Cells* (QDSSCs). Este tipo de celda utiliza nanopartículas semiconductoras fluorescentes o *Quantum Dots* (QDs) las cuales, debido a sus propiedades optoelectrónicas, son capaces de absorber la luz y producir electrones en su estado excitado. Además, exhiben alta estabilidad estructural y un amplio espectro de absorción de la luz. Los QDs que presentan un mejor desempeño en este tipo de celdas son los denominados *Core/Shell*, formados por un

núcleo (*Core*) y una corteza o cáscara (*Shell*) de distinta composición y propiedades, dentro de los que destaca la configuración CdS/CdSe. En general, la síntesis de *Quantum Dots* implica procedimientos químicos complejos, como altas temperaturas, condiciones anaeróbicas y reactivos y residuos tóxicos. En consecuencia, para desarrollar protocolos cada vez más simples, económicos y de bajo impacto ambiental ha tomado fuerza el uso de microorganismos para biosintetizar estas nanopartículas. Sin embargo, la investigación de los QDs biosintetizados se ha limitado a definir su toxicidad con respecto a los producidos por métodos químicos y nada se ha estudiado sobre la síntesis biológica de QDs más complejos como los tipo *Core/Shell*. En base a esto, el objetivo general de este trabajo fue biosintetizar nanoestructuras semiconductoras fluorescentes tipo *Core/Shell* de CdS/CdSe para ser utilizadas en QDSSCs.

A partir de la síntesis extracelular de CdS por *E. coli*, se desarrolló un método de biosíntesis de *Quantum Dots* tipo *Core/Shell* de CdS/CdSe, utilizando L-Cisteína, CdCl₂ y Na₂SeO₃. Los QDs de CdS y CdS/CdSe producidos fueron caracterizados fotofísica y estructuralmente. Se observó un corrimiento espectral en la espectrofotometría UV-Visible y una mayor fotoestabilidad en las nanopartículas de CdS/CdSe con respecto a las de CdS, corroborando la biosíntesis de nanoestructuras tipo *Core/Shell*. Los QDs de CdS poseen un tamaño aproximado de 12 nm y los de CdS/CdSe de 17 nm, mientras que el análisis de la composición orgánica determinó la presencia de biomoléculas en ambas nanopartículas. Finalmente se fabricaron QDSSCs con estos QDs y se caracterizaron sus parámetros fotovoltaicos. La eficiencia de las celdas sensibilizadas con las

nanopartículas de CdS/CdSe aumentó casi 2,2 veces en relación a las celdas sensibilizadas con nanopartículas de CdS.

Este trabajo constituye el primer reporte de la biosíntesis de QDs *Core/Shell* de CdS/CdSe, contribuyendo al desarrollo de celdas solares verdes o *eco-friendly* y estableciendo una alternativa prometedora y de bajo costo a las actuales tecnologías fotovoltaicas.

SUMMARY

Biosynthesis of Core/Shell fluorescent semiconductor nanoparticles of CdS/CdSe and its application in Quantum Dot Sensitized Solar Cells

In recent times, the necessity to replace the use of fossil fuels in power generation has arisen. This has driven research into non-conventional renewable energies (NCRE), that emerge as alternatives to fulfill the world's high energy demand. In this sense, the objective of the present work was to use the most abundant energy resource on Earth, solar energy, through the sustainable development of photovoltaic cells.

Within the limitations of current photovoltaic technologies are its high cost of production, large quantity of materials required, and the emission of toxic compounds associated with its manufacture. This has promoted the development of solar cells based on new materials with the premise of lowering production costs and reducing their environmental impact. As a response to these requirements, the so-called third-generation solar cells emerged, especially the Quantum Dot Sensitized Solar Cells (QDSSCs). This type of cell uses fluorescent semiconductor nanoparticles or Quantum Dots (QDs) which, due to their optoelectronic properties, are able to absorb light and produce electrons in their excited state. In addition, they exhibit high structural stability and a broad spectrum of light absorption. The QDs that present a better performance in this type of cells are those called Core/Shell, formed by a core and a shell of different composition and properties, including the CdS/CdSe configuration. In general, the

synthesis of Quantum Dots involves complex chemical procedures, such as high temperatures, anaerobic and reactive conditions and also generate toxic residues. Consequently, in order to develop production protocols most simple, economical and with low environmental impact, the use of microorganisms to biosynthesize these nanoparticles has gained strength. However, the investigation of biosynthesized QDs has been limited to defining their toxicity with respect to those produced by chemical methods and no research to date has studied the biological synthesis of more complex QDs, such as the Core/Shell type. Based on this, the overall objective of this work was to biosynthesize CdS/CdSe Core/Shell fluorescent semiconductor nanostructures for its use in QDSSCs.

Based in the extracellular synthesis of CdS by *E. coli*, biosynthesis of CdS/CdSe QDs was developed using L-Cysteine, CdCl₂ and Na₂SeO₃. Obtained CdS and CdS/CdSe QDs were photophysically and structurally characterized. A spectral shift in the UV-Visible spectrophotometry and increased photostability was observed in CdS/CdSe nanoparticles compared to the CdS, corroborating the biosynthesis of Core/Shell type nanostructures. QDs presented a size of approximately 12 nm for CdS and 17 nm for CdS/CdSe, whereas the analysis of the organic composition allowed to attribute the presence of biomolecules in both of these nanoparticles. Finally, these QDs were used for QDSSCs and their photovoltaic parameters were characterized. The efficiency of the CdS/CdSe sensitized cells increased almost 2.2 times when compared to CdS cells.

This work constitutes the first report of the biosynthesis of CdS/CdSe Core/Shell QDs, contributing to the development of green or eco-friendly solar cells and establishing a promising and low cost alternative to current photovoltaic technologies.

INTRODUCCIÓN

El problema energético y el desarrollo de las celdas solares

En el año 2003, el premio Nobel de Química, Richard E. Smalley, ubicó a la Energía como el problema número uno de la humanidad por los próximos 50 años [1]. Este problema mundial tiene su explicación en el aumento de la demanda energética para satisfacer el alto crecimiento económico y demográfico, el agotamiento gradual de los combustibles fósiles (principal fuente de energía en las últimas décadas) y la contaminación ambiental asociada a la emisión de gases de efecto invernadero producto de su combustión [2,3].

Los combustibles fósiles proveen cerca del 80 % de la energía total mundial, principalmente a partir del petróleo (34,3 %), el gas natural (20,9 %) y el carbón (25,1 %). Lamentablemente, estos recursos son limitados y se proyecta que las reservas de combustibles fósiles en todo el mundo tendrán una duración de 40 años para el caso del petróleo, 60 años en el caso del gas natural y 200 años para el carbón [4,5].

En la actualidad, los seres humanos consumen aproximadamente 16 TW de energía en un año típico. Algunas estimaciones indican que el consumo de energía mundial aumentará un 53 % del año 2010 al año 2035, aumento del consumo impulsado no sólo por el crecimiento económico y demográfico, sino también por la necesidad energética de economías emergentes como China e India [6,7].

Frente a esta problemática, se ha impulsado fuertemente la investigación y el desarrollo de las energías renovables no convencionales (ERNC), que surgen como alternativas sustentables para satisfacer la alta demanda energética mundial. Entre estas fuentes de energía destaca la eólica, geotérmica e hidroeléctrica. Sin embargo, la energía renovable más importante y con mayor proyección mundial es la energía solar, principalmente debido a que representa el recurso energético más abundante en nuestro planeta. El Sol irradia a la Tierra cerca de 174.000 TW en un año, es decir, la energía solar que recibe la superficie del planeta en una hora es suficiente para satisfacer el total de energía consumida por todos los humanos en un año entero [8-10]. En este sentido, nuestro país presenta grandes ventajas para el desarrollo y uso de esta ERNC, pues prácticamente toda la zona norte y gran parte del centro de Chile reciben altos índices de radiación. Además, las zonas del desierto de Chile otorgan grandes extensiones de terrenos disponibles.

La forma más importante de aprovechar la energía lumínica proveniente del Sol es transformarla directamente en energía eléctrica mediante sistemas fotovoltaicos. La tecnología fotovoltaica ofrece la ventaja de ser modular y escalable: desde pequeños sistemas para uso domiciliario hasta grandes instalaciones para fines industriales. De acuerdo al tipo de material o tecnología empleada en su fabricación, las celdas fotovoltaicas son comúnmente clasificadas en celdas de primera, segunda y tercera generación.

Las celdas solares de primera generación, construidas en base a silicio en sus distintas estructuras cristalinas, alcanzan eficiencias cercanas al 20 % de conversión de la luz solar en electricidad y dominan el mercado fotovoltaico actual. Sin embargo, si bien han demostrado tener altas tasas de eficiencia, su elevado costo de producción (asociado principalmente a la necesidad de contar con silicio cristalino altamente puro) y difícil manufactura, han repercutido en que su uso no se haya masificado aún. Les siguen las celdas fotovoltaicas de segunda generación, basadas en láminas o películas delgadas de materiales semiconductores, principalmente aleaciones de cobre, indio, galio y arsénico. Si bien presentan una eficiencia menor (cercana al 15 %), sus costos de producción, debido a la gran cantidad de materiales requeridos, son sólo levemente inferiores a los de las celdas de primera generación y el impacto ambiental inherente a su fabricación sigue siendo importante [12-14]. En definitiva, a pesar de toda la sustentabilidad que la energía solar representa (fundamentalmente porque no hay emisión de contaminantes o gases de efecto invernadero en la producción de energía eléctrica), en la actualidad resulta paradójico que para producir la tecnología fotovoltaica se consume mucha energía, se emplean materiales de elevado costo y se emite gran cantidad de compuestos tóxicos, lo que conlleva un impacto ambiental negativo.

La investigación mundial no ha estado ajena a esta problemática, lo que ha impulsado el desarrollo de celdas fotovoltaicas basadas en nuevos materiales y maneras de hacerlos interactuar. Y si bien su eficiencia no supera a las celdas convencionales de silicio, hoy en día se está apuntando a abaratar los costos y reducir el impacto ambiental de la

fabricación de estos dispositivos por sobre aumentar su eficiencia [14]. Es así como en el año 1991 el químico suizo Michael Graetzel desarrolló un nuevo tipo de celda solar de bajo costo y alta eficiencia, conocida como *Dye Sensitized Solar Cell* (DSSC), basada en moléculas sensibilizadoras (capaces de cosechar los fotones provenientes de la luz) unidas a un *film* de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) y un electrolito soporte [14,15]. Este modelo de celda, con una eficiencia cercana al 13 %, abrió un nuevo campo de investigación y aplicación, que ha permitido el desarrollo y mejoramiento de nuevas celdas fotovoltaicas dando paso a lo que hoy conocemos como celdas solares de tercera generación. De hecho, las ventajas comparativas en el procesamiento de esta tecnología con respecto a los dispositivos fotovoltaicos tradicionales, ha dado lugar a una gran cantidad de patentes de invención y que este modelo de celda sea empleado en la construcción de grandes paneles solares [16].

A la fecha, se han reportado varios tipos de fotosensibilizadores para este tipo de celda, como tintes orgánicos [17], compuestos de rutenio [18] y recientemente nanopartículas semiconductoras fluorescentes o *Quantum Dots* (QDs) [19]. Debido a sus propiedades optoelectrónicas, los QDs son capaces de absorber la luz y transferir electrones en su estado excitado al semiconductor de TiO_2 , lo que ha permitido el desarrollo de un nuevo tipo de celda solar conocida como *Quantum Dot Sensitized Solar Cell* (QDSSC) [20]. Una representación esquemática de este modelo de celda solar sensibilizado con QDs se muestra en la Figura 1.

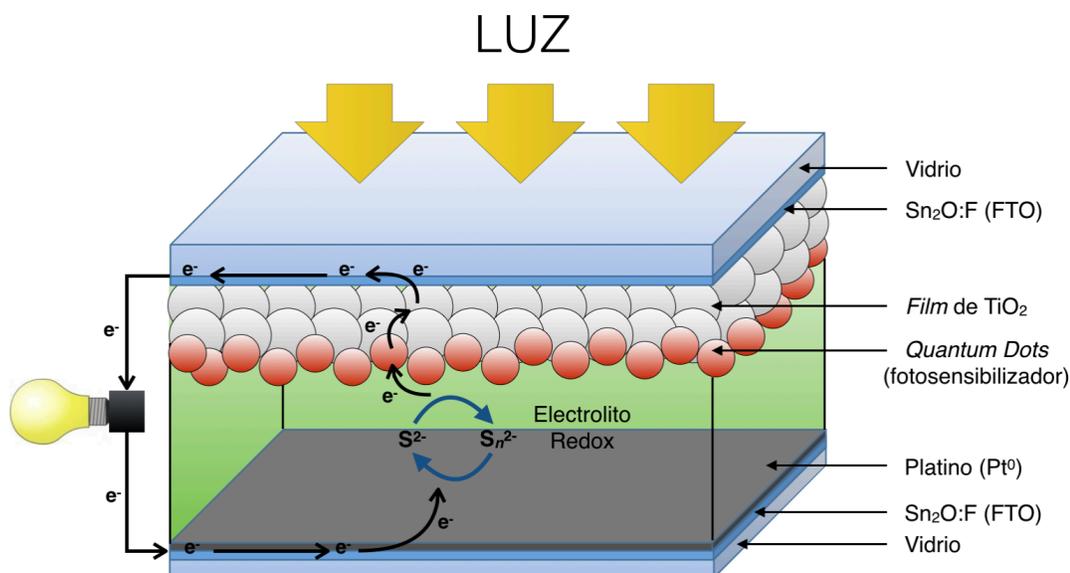


Figura 1. Esquema de una *Quantum Dot Sensitized Solar Cell*. El *film* de TiO₂ sobre el vidrio conductor es sensibilizado con QDs formando el fotoánodo, mientras el cátodo o contra electrodo está formado por platino sobre vidrio. El electrolyte redox ocupa el espacio entre los dos electrodos.

Una vez que los QDs son excitados por la luz, parte de los electrones de su banda de valencia se transfieren a su banda de conducción y desde aquí son traspasados al *film* de nanopartículas de TiO₂, un semiconductor de *band gap* ancho. Estos electrones son transferidos a un vidrio con la capacidad de conducir corriente eléctrica, a la vez que permite el paso de la radiación solar a través del sistema (vidrio FTO, por sus siglas en inglés de *Fluorine-doped Tin Oxide*). La recirculación del electrolyte redox, en este caso sulfuro/polisulfuro (S²⁻ / S_n²⁻), en su estado oxidado-reducido permite restablecer los electrones perdidos por los QDs oxidados mientras sirve como vía de paso para la transferencia de electrones entre los dos electrodos. Finalmente, la existencia de esta

diferencia de potencial permite que, una vez conectados ambos electrodos, haya circulación de electrones y generación de corriente eléctrica [19,21].

De este modo, cuando la luz incide sobre la celda solar, el dispositivo convierte directamente la luz en electricidad y los datos de corriente y voltaje pueden ser registrados en un circuito externo. Las mediciones se realizan mediante condiciones estándar para determinar la corriente de corto circuito (I_{SC}), que corresponde a la corriente máxima (flujo de carga eléctrica) que pasa a través de la celda cuando el voltaje en el dispositivo es cero, y el voltaje de circuito abierto (V_{OC}), que corresponde al voltaje máximo (diferencia de potencial eléctrico) producido por la celda solar cuando el flujo de corriente es cero. Parámetros fotovoltaicos adicionales, como curvas de corriente-voltaje (Curvas I-V) y potencia-voltaje (Curvas P-V), eficiencia (η) y factor de llenado (FF) también pueden ser calculados.

Nanopartículas semiconductoras fluorescentes o *Quantum Dots*

Los *Quantum Dots* son nanoestructuras cristalinas formadas por *clusters* bimetalicos principalmente de elementos de los grupos IIB-VIA, IIIA-VA y IVA-VIA, por ejemplo, ZnS, CdS, CdSe, CdTe, GaAs, InP, PbS, entre otros. Estas nanopartículas semiconductoras fluorescentes pueden ser estabilizadas por una cubierta orgánica y presentan tamaños de entre 1 a 20 nm. En esta pequeña escala de longitud los materiales se comportan de manera diferente, otorgando a los QDs propiedades ópticas y electrónicas atribuidas a un fenómeno conocido como confinamiento cuántico [22].

En los semiconductores, cuando un electrón deja la banda de valencia y entra en la banda de conducción debido a la excitación por un fotón, se crea un par electrón-hueco o excitón. En un QD los electrones y huecos están en un espacio cerrado o confinado en las tres direcciones, lo que se traduce en la cuantización de los niveles energéticos, considerado como el efecto de confinamiento dimensional cero o confinamiento cuántico. Es decir, los QDs son partículas tan pequeñas que la materia se concentra de manera efectiva en un solo punto. Como resultado de esto, las partículas en su interior que transportan electricidad (electrones y huecos) tienen bien definidos los niveles de energía de acuerdo con las leyes de la teoría cuántica, similar a lo que ocurre con los átomos individuales [23,24]. De hecho, esa es la explicación de porqué a los QDs se les denomina también “átomos artificiales” [25]. Sin embargo, el *band gap* (diferencia de energía entre la banda de conducción y la banda de valencia) en los QDs se rige por el tamaño del cristal en lugar del tipo de elemento o átomo en cuestión. Esto explica la variación de sus propiedades espectroscópicas a medida que aumenta el tamaño del cristal: a tamaño más pequeño mayor es el *band gap*, por lo que se necesita más energía para excitar a la partícula. Así, QDs más pequeños emiten a longitudes de onda inferiores, es decir, color azul o verde. Por otro lado, los QDs más grandes tienen un *band gap* menor, por lo que al excitarlos emiten a longitudes de onda altas, es decir, color amarillo o rojo [22]. En este sentido, la separación de los niveles de energía, y con ello el color de la emisión, se puede ajustar controlando el tamaño de estas nanopartículas con el tiempo de síntesis.

Sus características espectroscópicas hacen de los QDs herramientas muy versátiles para aplicaciones relacionadas con fluorescencia, como marcaje de células tumorales [26], inmunodetección en gel (*Western blot*) [27], cuantificación específica de metales [28], entre otras. Por otro lado, sus propiedades semiconductoras han permitido su aplicación en distintas tecnologías, como dispositivos LED [29], transistores [30] y tal como señalamos más arriba, celdas fotovoltaicas sensibilizadas [19,20,31].

Dentro de las ventajas del uso de *Quantum Dots* como fotosensibilizadores en celdas solares se encuentra el hecho que su *band gap* puede ser fácilmente ajustado por variaciones en el tamaño del cristal, presentan un elevado coeficiente de extinción y participan de la generación de excitones múltiples, que implica la generación de varios pares electrón-hueco a partir de la absorción de un solo fotón, lo que aumenta considerablemente la eficiencia de conversión de energía en las celdas. Además, los QDs presentan alta estabilidad estructural y espectroscópica y un amplio espectro de absorción de la luz [32,33].

Sin embargo, se ha demostrado que la eficiencia de conversión de las QDSSCs es menor que en las DSSCs, esto debido a la pérdida de electrones que resulta de la recombinación de cargas en las interfaces de la celda. En este sentido, el estudio actual para este tipo de celda se centra en modificar el sensibilizador para incrementar los valores de eficiencia, a través de la mejora en la capacidad de recolección de la luz y la velocidad y focalización de la transferencia de electrones [21,33,34]. Para esto, una serie de estudios han explorado, por ejemplo, el uso de diferentes métodos de incorporación de los QDs al

film de TiO₂, empleando moléculas sulfuradas como ácido mercaptopropiónico, ácido tioglicólico o cisteína [35] y la incorporación al QD de agentes dopantes (metales de transición) capaces de modificar sus propiedades electrónicas y fotofísicas al crear estados energéticos medios en su *band gap* [36,37]. En esta misma línea, el interés está puesto en investigar la aplicación de QDs tipo *Core/Shell* en celdas solares; celdas que sensibilizadas con estos QDs han demostrado tener las más altas tasas de eficiencia [20]. Los QDs *Core/Shell* están formados por un núcleo (*Core*) y una corteza o cáscara (*Shell*) de distinta composición y propiedades, es decir, son nanopartículas que poseen al menos dos materiales semiconductores en una única nanoestructura, con configuraciones como CdSe/ZnS, CdS/HgS, InAs/CdSe, CdTe/CdSe, entre muchos otros (Figura 2a).

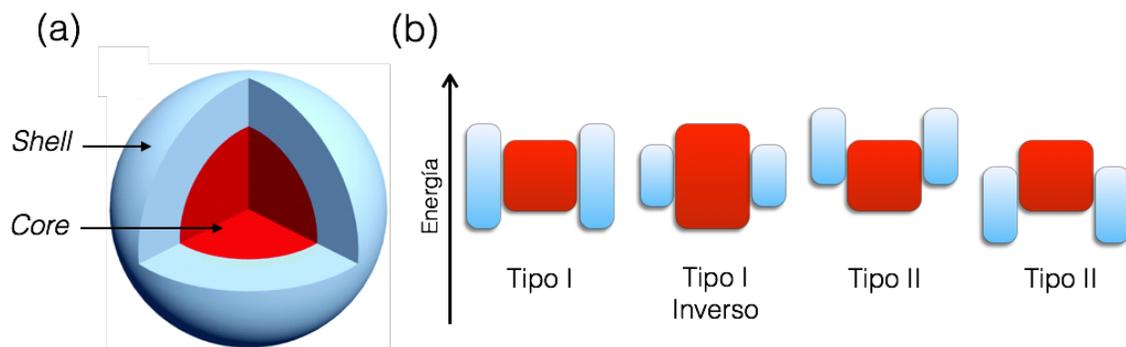


Figura 2. (a) Representación de un QD *Core/Shell* y (b) esquema de la alineación de los niveles de energía en los diferentes sistemas *Core/Shell*. Los bordes superior e inferior de los rectángulos corresponden a las posiciones de la banda de conducción y de valencia del *Core* y el *Shell*, respectivamente.

La presencia de la corteza o cáscara en estos QDs, añadida en una segunda etapa de síntesis, proporciona una barrera física entre el *Core* ópticamente activo y el medio

circundante, con lo que los nanocristales son menos sensibles a las condiciones ambientales, haciéndolos más resistentes a la fotodegradación (*photobleaching*) y aumentando así su vida útil. Además, esta cáscara actúa como una capa de pasivación que tiende a ordenar y retener (o atrapar) a los electrones en estados energéticos superiores, lo que ayuda a focalizar las cargas hacia el electrodo evitando decaimientos alternativos [38,39]. Dependiendo de la posición de la banda de valencia y de conducción y del *band gap* del núcleo y la corteza, este tipo de QDs se pueden agrupar en Tipo I, Tipo I Inverso y Tipo II (Figura 2b). Con las ventajas señaladas anteriormente, los QDs *Core/Shell* que mejor desempeño tienen en celdas solares sensibilizadas son los de CdS/CdSe (Tipo I Inverso) [20], fundamentalmente porque combinan las ventajas del CdS y del CdSe para absorber la luz e inyectar electrones, respectivamente. Además, la energía de sus bandas de conducción permite un alineamiento que favorece la transferencia de los electrones en el electrodo (Figura 3).

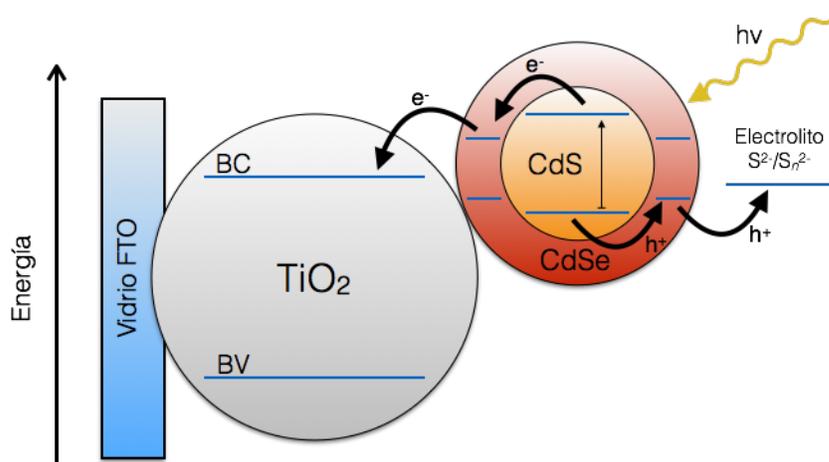


Figura 3. Representación esquemática del alineamiento de las bandas de conducción en un electrodo con la configuración $\text{TiO}_2\text{-CdS/CdSe}$ para una QDSSC.

En esta configuración *Core/Shell* los electrones se distribuyen principalmente en la región de la corteza o cáscara, favoreciendo la extracción de electrones desde el núcleo del QD y de este modo mejorando la tasa de inyección de electrones hacia el TiO₂ [40-44].

Síntesis química y biológica de *Quantum Dots*

Por años, las nanopartículas semiconductoras fluorescentes o *Quantum Dots* se han sintetizado mediante métodos químicos que involucran altas temperaturas (superiores a 200 °C), presencia de agentes reductores fuertes (como borohidruro de sodio) y agentes estabilizantes como el óxido de trioctilfosfina (TOPO), que recubre a estas nanoestructuras determinando parte de sus características. Debido a la solubilidad y estabilidad de estos compuestos, la condición idónea para la síntesis es en solventes orgánicos apolares (tolueno, hexano, entre otros) y en atmósferas inertes o anóxicas, que impiden la oxidación de éstas moléculas y del contraión (como Se²⁻, Te²⁻, As³⁻, etcétera) que forma parte del cluster bimetalico [22,24,38,39,45]. A pesar que los QDs producidos por estos métodos poseen buenas propiedades fotofísicas, son poco solubles en medio acuoso, presentan alta toxicidad y su producción resulta altamente costosa y compleja. Para afrontar estos inconvenientes los esfuerzos se han dirigido a desarrollar protocolos cada vez más sencillos que utilizan otros agentes reductores y estabilizantes (como cisteína o glutatión) en condiciones mucho más suaves. Es así como surgen los denominados métodos químicos biomiméticos (dentro de los cuales nuestro grupo ha

desarrollado y patentado al menos tres), que buscan imitar las condiciones celulares para producir *Quantum Dots* a temperaturas relativamente bajas, en presencia de oxígeno y utilizando sustratos económicos y seguros [46-48].

En esta misma línea, para desarrollar protocolos cada vez más simples, económicos, de bajo impacto ambiental (*ecofriendly*) y que permitan generar productos nanotecnológicos de menor toxicidad, ha tomado fuerza el uso de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) para biosintetizar éstas y otras nanopartículas bajo condiciones biológicas (por ejemplo, a temperaturas entre 15 y 40 °C) [49,50].

La capacidad de un microorganismo para sintetizar *Quantum Dots* ha sido relacionada principalmente con su respuesta antioxidante a través de la producción de tioles celulares, los cuales son capaces de quelar el metal (cadmio principalmente) y formar las moléculas o estructuras molde para la síntesis de estas nanopartículas. En este sentido, debido a que pueden producir naturalmente altas cantidades de tioles (como glutatión) y fitoquelatinas celulares, las levaduras *Candida glabrata* y *Schizosaccharomyces pombe* han sido utilizadas para sintetizar QDs de CdS [51,52]. Otros estudios le han otorgado importancia a determinados péptidos celulares y a la generación de H₂S (como mecanismo de resistencia a metales pesados) en la biosíntesis de nanopartículas de CdS, fundamentalmente a través de las bacterias *Klebsiella pneumoniae* y *Rhodopseudomonas palustris* [53,54]. Por otro lado, también se ha descrito la biosíntesis extracelular de QDs de CdTe a partir del hongo *Fusarium oxysporum*, capaz de sintetizar estas nanopartículas por acción de péptidos y biomoléculas que estabilizan y participan de la

secreción de estas nanopartículas [55]. Hasta ahora, el microorganismo más estudiado para la biosíntesis de QDs sigue siendo *Escherichia coli*, capaz de sintetizar intracelularmente QDs de CdS, CdSe y CdTe [56-59]. *E. coli* es capaz de sintetizar QDs de CdS y CdSe de manera intrínseca, característica atribuida principalmente a la presencia de tioles, péptidos y reductasas celulares. Monrás JP *et al.* (2012) [57], demostraron que la síntesis de QDs de CdTe en *E. coli* sólo es posible en una cepa que produce elevadas cantidades de glutatión, tiol con el suficiente poder reductor para reducir el Te^{4+} a Te^{2-} y estabilizar a la nanoestructura. Además, en este trabajo se evaluó cómo la adición de determinados *buffers* en la biosíntesis puede modificar las propiedades fluorescentes de los QDs, favoreciendo la fotoestabilidad de estas nanopartículas, propiedad muy importante para cualquier aplicación posterior. Los QDs de CdS y CdTe biosintetizados por este método han sido evaluados en QDSSCs por nuestro laboratorio. Sin embargo, la abundante materia orgánica que recubre a estas nanopartículas, atribuida al proceso de biosíntesis intracelular y que permanece incluso después de un proceso de purificación, repercute en que los parámetros fotovoltaicos sean relativamente bajos. Esta materia orgánica actuaría como una barrera física para la eficiente transferencia de electrones entre los QDs y el TiO_2 en el electrodo [60]. A la fecha, el efecto de algunos dopantes u otras modificaciones en la biosíntesis de QDs que podrían revertir este fenómeno no han sido estudiados.

En definitiva, estos métodos de síntesis microbiológicos de QDs se basan en exponer a las bacterias, hongos o levaduras a una sal de Cd^{2+} (CdCl_2 o CdSO_4), Te^{4+} (TeCl_4 ,

K_2TeO_3 o Na_2TeO_3) o Se^{4+} (Na_2SeO_3), donde mediante la acción de reductasas, tioles, péptidos y otras biomoléculas son capaces de sintetizar estas nanopartículas.

En la actualidad, nuestro grupo trabaja en un nuevo método de biosíntesis extracelular de QDs de CdS a partir de *E. coli*. Este método se basa en favorecer la producción de un tiol volátil celular (principalmente H_2S) a partir de una fuente de sulfuro y la adición de una sal de Cd^{2+} , mientras la unión de determinados péptidos o biomoléculas de este microorganismo actuarían estabilizando a la nanoestructura. Este protocolo además de mantener todas las ventajas de los métodos biosintéticos antes señaladas, permite estudiar fácilmente nuevas condiciones de síntesis (temperatura, pH o la adición de determinadas moléculas o elementos) y producir nanopartículas mucho más limpias en un periodo acotado, sin requerir complejas etapas de purificación como para los QDs producidos intracelularmente.

Sin embargo, pese al avance alcanzado en la producción de nanopartículas con microorganismos, hasta ahora no se ha descrito la biosíntesis de nanopartículas semiconductoras fluorescentes tipo *Core/Shell* y los estudios de *Quantum Dots* biosintetizados se han limitado a definir su toxicidad o biocompatibilidad con respecto a los producidos por métodos químicos. Por lo mismo, dirigir el proceso de biosíntesis para producir nanopartículas con determinadas propiedades y de este modo darles un objetivo o aplicación en particular es el eje central de esta investigación.

Nuestro grupo recientemente publicó un trabajo donde evaluamos el uso de nanopartículas de TiO_2 biosintetizadas en una celda solar tipo QDSSC, lo que constituye la primera investigación en dar una aplicación propiamente tal a nanopartículas obtenidas mediante un método biosintético [60]. Según algunos autores, celdas solares que involucren materias primas (biomoléculas, nanopartículas u otros materiales) en cuyo proceso de síntesis participen microorganismos u otros seres vivos, bien podrían constituir la próxima generación de celdas fotovoltaicas (cuarta generación), caracterizadas por su fabricación sustentable y bajo impacto ambiental [60-65].

HIPÓTESIS

E. coli biosintetiza nanoestructuras semiconductoras fluorescentes tipo *Core/Shell* de CdS/CdSe utilizables como fotosensibilizadores en *Quantum Dot Sensitized Solar Cells*.

OBJETIVO GENERAL

Biosintetizar nanoestructuras semiconductoras fluorescentes tipo *Core/Shell* de CdS/CdSe para ser utilizadas como fotosensibilizadores en *Quantum Dot Sensitized Solar Cells*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Desarrollar un método de biosíntesis de *Quantum Dots* tipo *Core/Shell* de CdS/CdSe.

1.1 Evaluar el uso de diferentes *buffers* y fuentes de sulfuro en la biosíntesis de las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe.

2. Caracterizar fotofísica y estructuralmente las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe producidas.

2.1 Determinar composición, tamaño y forma de las nanopartículas (FTIR, DLS y STEM).

2.2 Evaluar la fotoestabilidad de las nanopartículas.

3. Fabricar celdas solares (QDSSCs) con las nanopartículas producidas y caracterizar sus parámetros fotovoltaicos.

MÉTODOS

1. Biosíntesis de los *Quantum Dots* de CdS y CdS/CdSe.

Para determinar las condiciones de biosíntesis de los QDs de CdS, *E. coli* (BW25113) se cultivó en medio LB líquido con agitación a 37 °C hasta fase estacionaria ($DO_{600} \approx 1,0$) y las células se lavaron y resuspendieron en un volumen de agua o *buffer* 15 mM (Borax-Citrato pH 9,35, Tris-HCl pH 8,0 o Tris-Citrato pH 8,0). Posteriormente, las células se trataron con distintas fuentes de sulfuro ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$, Na_2SO_3 , Na_2SO_4 , Na_2S , L-Metionina o L-Cisteína) a concentraciones finales 1, 3 o 6 mM y $CdCl_2$ a una concentración de 100 μ M. Se dejó incubar por 3, 6 y 24 h a 37 °C con agitación, incluyendo un control negativo sin células. Finalmente, las células se centrifugaron a 27670 x g por 5 min y los sobrenadantes se expusieron en un transiluminador UV (MaestroGen UltraBright UV MLB-21, $\lambda_{exc} = 365$ nm) para el registro fotográfico.

Para definir la biosíntesis de la nanoestructura *Core/Shell* de CdS/CdSe, se añadió a distintos tiempos de síntesis del *Core* de CdS (20, 40 y 60 min) selenito de sodio (Na_2SeO_3) 1, 10 y 100 μ M y se incubó hasta un tiempo final de 120 min. Al igual que para la biosíntesis de CdS, las células se centrifugaron a 27670 x g por 5 min y los sobrenadantes se expusieron en un transiluminador UV (MaestroGen UltraBright UV MLB-21, $\lambda_{exc} = 365$ nm) para el registro fotográfico.

Para los experimentos de biosíntesis de nanopartículas con células muertas, una vez alcanzada la fase estacionaria de crecimiento, el cultivo se incubó a 70 °C durante una hora. Posteriormente se siguieron las mismas condiciones indicadas más arriba.

2. Purificación y caracterización espectrofotométrica de las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe.

Para la purificación de los QDs biosintetizados, transcurrido el tiempo de incubación en presencia de los metales y la fuente de sulfuro, las células se centrifugaron a 27670 x g por 5 min y las nanopartículas producidas en el sobrenadante fueron purificadas mediante filtros de membrana de ésteres mixtos de celulosa de 0,22 µm (Jet Bio-Filtration Co., Ltd.) y posteriormente concentradas 20 veces por centrifugación a 4000 x g por 40 min mediante filtros Amicon® con tamaño de corte de 10 kDa.

Las muestras se caracterizaron mediante espectrofotometría UV-Visible usando el lector de microplacas Synergy™ H1 (BioTek Instrument Inc.) con una resolución de 2 nm. Los espectros de absorción se registraron entre 300 y 700 nm y los de emisión de fluorescencia entre 440 y 700 nm excitando a 400 nm.

3. Caracterización fotofísica y estructural de las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe.

3.1 Determinación de tamaño.

El tamaño de los *Quantum Dots* se determinó mediante Dispersión Dinámica de la Luz (DLS). Las nanopartículas se produjeron y purificaron según lo señalado anteriormente. Luego, a partir de la solución concentrada de QDs, se hizo una dilución 1:10 en agua Milli-Q[®] ultrapura y la solución se sonicó por 2 min para dispersar homogéneamente las nanopartículas en una suspensión. Finalmente, la determinación de tamaño se realizó en triplicado utilizando 1,0 mL de esta solución en el equipo Zetasizer Nano (ZS) (Malvern Instrument Ltd.). Cabe señalar que mediante esta caracterización se determinó el diámetro de partícula considerando un radio hidrodinámico o esfera de solvatación. Es decir, dentro de los tamaños determinados está considerado un espesor adicional debido a la presencia del solvente (agua) y las biomoléculas asociadas a estas nanoestructuras biosintetizadas.

3.2 Determinación de la composición.

Para determinar la composición orgánica asociada al recubrimiento de los *Quantum Dots*, las muestras se liofilizaron por 48 h y el polvo obtenido se mezcló con KBr para formar un pellet delgado. Posteriormente se realizó espectroscopia infrarroja con

transformada de Fourier (FTIR) usando el espectrómetro Nicolet™ iS™10 FTIR (Thermo Scientific Inc.) en el rango entre 600-4000 cm^{-1} con una resolución de 0,5 cm^{-1} .

3.3 Fotoestabilidad de las nanopartículas.

Para la determinación de la fotoestabilidad de las nanopartículas biosintetizadas de CdS y CdS/CdSe, las muestras se normalizaron por dilución en agua Milli-Q® ultrapura a 0,06 unidades arbitrarias (U.A.) de acuerdo a sus *peaks* máximos de absorbancia (410 y 425 nm para los *Quantum Dots* de CdS y CdS/CdSe, respectivamente). Luego, las nanopartículas se expusieron a luz constante ($\sim 70 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$) y el decaimiento de los *peaks* máximos de absorbancia para cada muestra se midió cada 15 min durante 1 h. El experimento se realizó en triplicado y como control se usó una condición de oscuridad. Para estos experimentos, el análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el software GraphPad Prism 6.0. La prueba *t* de Student se usó para establecer diferencias significativas entre dos grupos con un valor de $p < 0,01$.

3.4 Microscopía electrónica de transmisión de barrido (STEM).

La forma y tamaño de las nanopartículas de CdS/CdSe se determinaron mediante el microscopio electrónico de barrido de alta resolución (HR-SEM) Inspect F50 (FEI Company) con detector STEM (Voltaje de aceleración: 10 kV). 3 μL de la solución purificada de nanopartículas se depositó sobre una grilla de cobre LC300-Cu (Electron

Microscopy Sciences) dejándola secar a temperatura ambiente hasta la caracterización. El histograma de distribución de tamaño se realizó usando el software de procesamiento de imágenes ImageJ.

4. Fabricación y caracterización de las *Quantum Dot Sensitized Solar Cells*.

Las QDSSCs se construyeron siguiendo los protocolos descritos por Bang *et al.* (2009) [31] y Órdenes-Aenishanslins *et al.* (2014) [60,65]. Para fabricar los electrodos se utilizaron vidrios conductores FTO de 20 x 20 x 2 mm, de resistividad superficial 13 [Ω /sq] y 85% de transmitancia. Después de limpiar cuidadosamente los vidrios mediante sonicación y lavados sucesivos con etanol y agua desionizada, se preparó el ánodo utilizando una suspensión de nanopartículas de TiO₂ (Sigma-Aldrich Inc. Tamaño de partícula de ~21 nm) que es depositada sobre el vidrio mediante *spin-coating* para permitir la formación de un *film* uniforme. Luego, el electrodo se sometió a un proceso de *sintering* a 450 °C por 30 min.

La sensibilización del *film* de TiO₂ (incorporación de los *Quantum Dots* de CdS o CdS/CdSe al electrodo) se realizó mediante *direct adsorption*. 10 μ L de cada solución de nanopartículas a una concentración de 100 mg/mL se incorporaron a cada electrodo. El área activa de las celdas fue de 1 cm². Por otro lado, el cátodo o contra electrodo se preparó usando una solución 50 mM de ácido hexacloroplatínico hexahidratado (H₂PtCl₆·6H₂O) en isopropanol dispersada sobre el vidrio FTO mediante *spin-coating*, el cual fue posteriormente calentado a 400 °C por 20 min. Finalmente, ambos electrodos

(el fotoánodo y el contra electrodo) se ensamblaron utilizando un espaciador inerte. Antes de sellar la celda, se adicionó la solución de electrolito sulfuro/polisulfuro (S^{2-} / S_n^{2-}) preparada a partir de Na_2S 1,0 M, azufre elemental (S) 0,1 M e hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 M en agua Milli-Q[®] ultrapura.

La caracterización de las celdas solares construidas se realizó bajo condiciones estándar de temperatura e irradiancia utilizando un simulador solar (SunLite[™] Model 11002. Abet Technologies, Inc.) como fuente de luz ($100 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ y AM1.5) y una interfase potencióstato-galvanostato (Interface 1000. Gamry Instruments) para registrar las curvas de corriente-voltaje (Curvas I-V) y potencia-voltaje (Curvas P-V) y obtener los parámetros fotovoltaicos de eficiencia (η), factor de llenado (FF), corriente de corto circuito (I_{SC}) y voltaje de circuito abierto (V_{OC}), de acuerdo a la siguiente figura y ecuaciones:

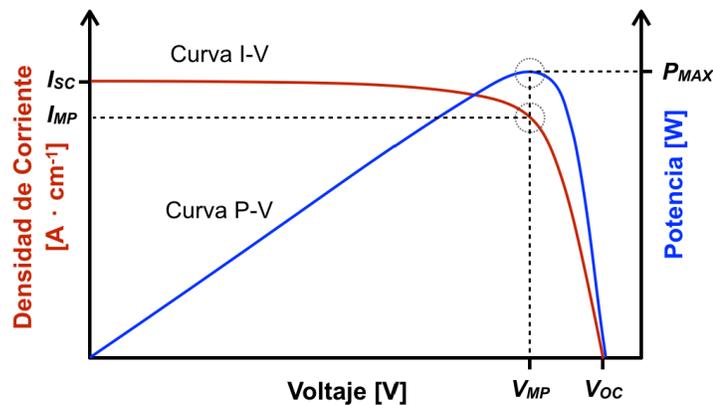


Figura 4. Esquema representativo de curvas I-V y P-V para un dispositivo fotovoltaico. La curva P-V se obtiene a partir de los datos de la curva I-V que entrega el equipo de caracterización solar.

$$\eta = \frac{P_{MAX}}{E \times A_C} \times 100 \% \quad (1)$$

Donde:

η : Eficiencia de la celda solar [%].

P_{MAX} : Potencia eléctrica máxima que entrega el dispositivo [W].

E : Irradiancia incidente sobre la celda [$W \cdot cm^{-2}$].

A_C : Área activa de la celda [cm^2].

$$FF = \frac{I_{MP} \times V_{MP}}{I_{SC} \times V_{OC}} \times 100\% \quad (2)$$

Donde:

FF : Factor de llenado [%].

I_{MP} : Corriente en el punto de máxima potencia [$A \cdot cm^{-2}$].

V_{MP} : Voltaje en el punto de máxima potencia [V].

I_{SC} : Corriente de corto circuito [$A \cdot cm^{-2}$].

V_{OC} : Voltaje de circuito abierto [V].

RESULTADOS

Objetivo 1. Desarrollar un método de biosíntesis de *Quantum Dots* tipo *Core/Shell* de CdS/CdSe.

Con el objetivo de definir las condiciones idóneas para la biosíntesis de los *Quantum Dots* de CdS (*Core*), se evaluó en primer lugar el uso de diferentes *buffers* y fuentes de sulfuro en la biosíntesis extracelular de estas nanopartículas. Para esto, células de *E. coli* crecidas hasta fase estacionaria fueron lavadas y resuspendidas en un volumen de agua o *buffer*. Posteriormente, las células se trataron con distintas concentraciones de fuentes de sulfuro y una concentración constante de CdCl₂ 100 µM y se dejó incubar por 3, 6 y 24 h a 37 °C. Finalmente, las células se centrifugaron y los sobrenadantes fueron expuestos en un transiluminador UV para el registro fotográfico.

Los resultados obtenidos usando tiosulfato (Na₂S₂O₃·5H₂O), sulfito (Na₂SO₃) y sulfato de sodio (Na₂SO₄) se muestran en la Figura 5 y usando sulfuro de sodio (Na₂S), L-Metionina y L-Cisteína en la Figura 6.

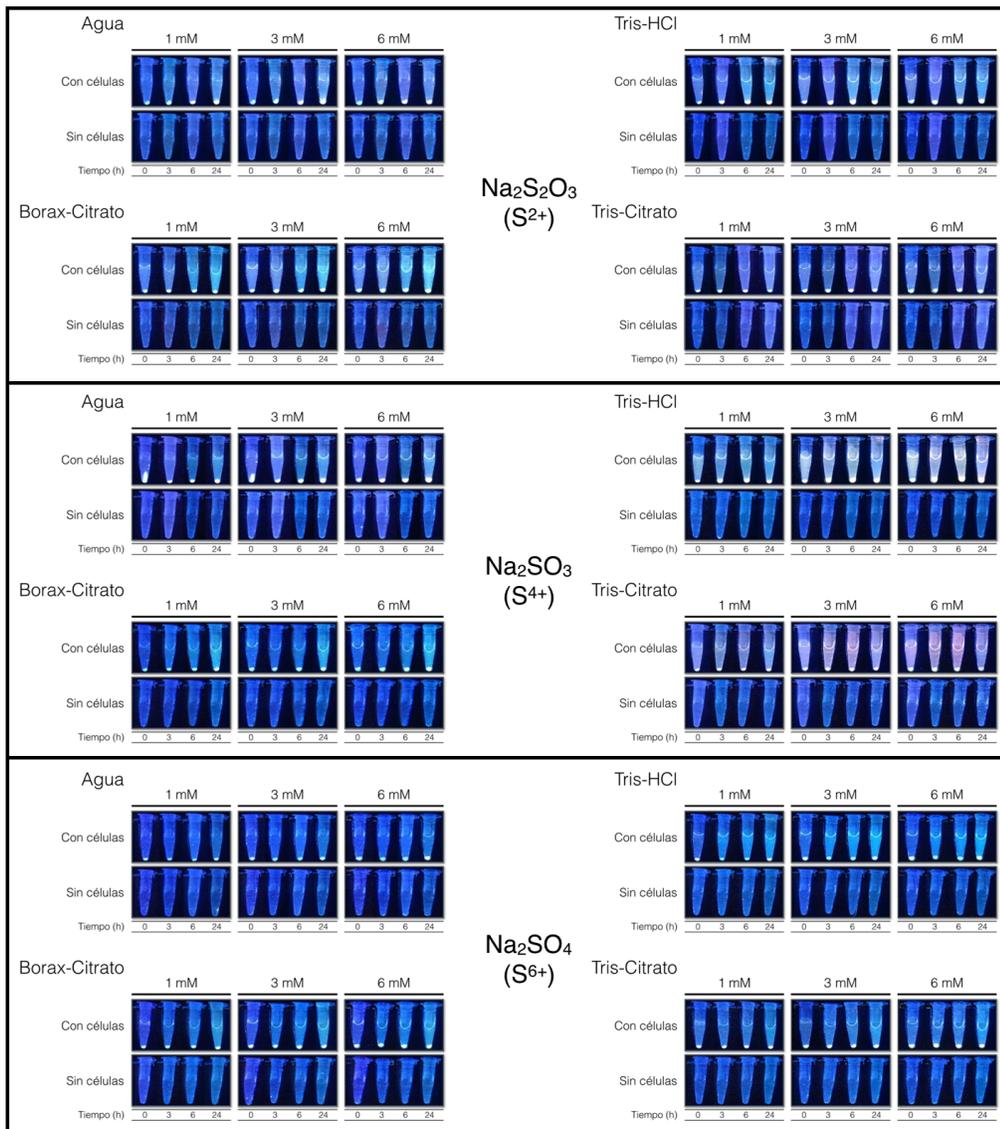


Figura 5. Biosíntesis extracelular de *Quantum Dots* de CdS usando distintas concentraciones de tiosulfato, sulfito y sulfato de sodio como fuente de sulfuro (se indica entre paréntesis el estado de oxidación del azufre en cada compuesto). Se muestra el efecto del agua y diferentes *buffers* en la biosíntesis de estas nanopartículas a distintos tiempos. Como control negativo se evaluó la síntesis en ausencia de células.

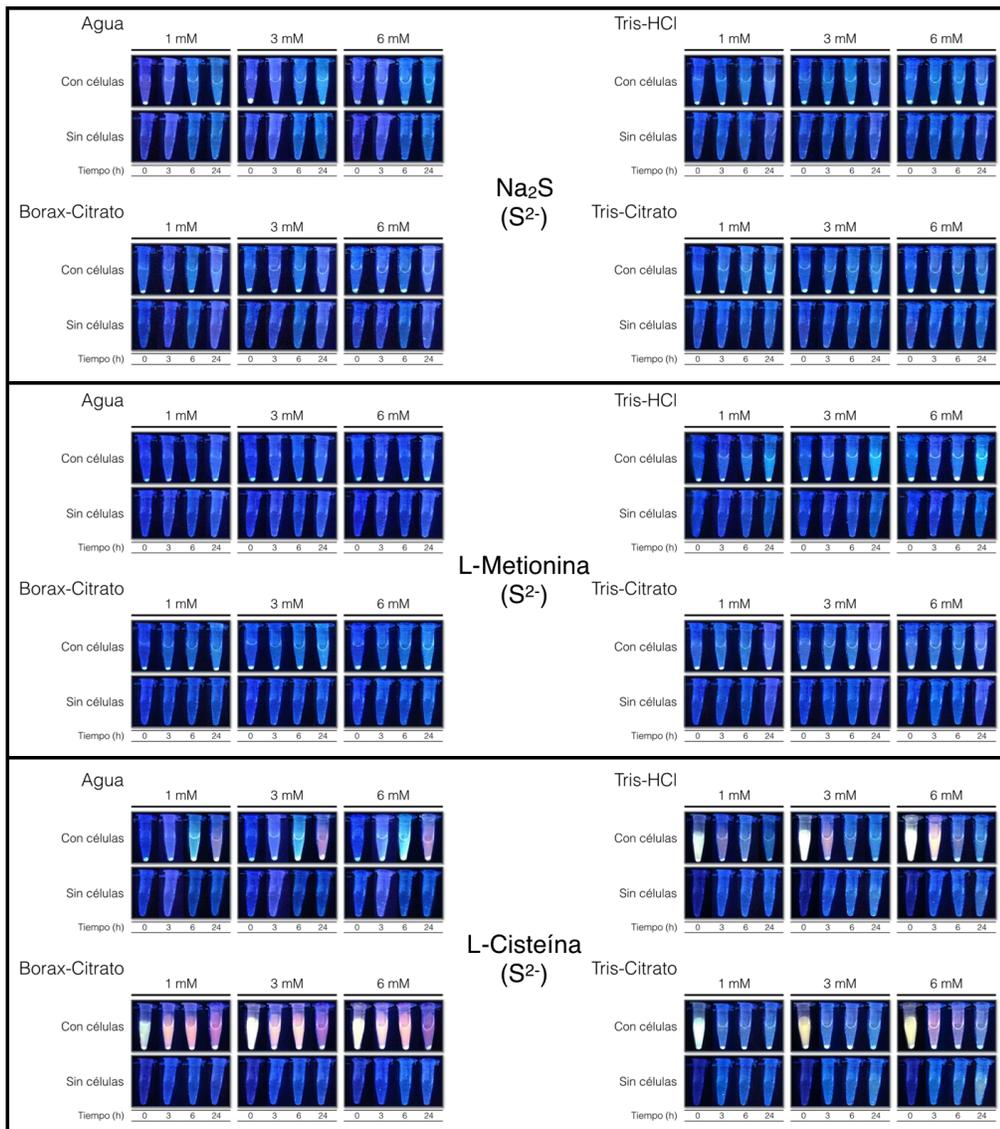


Figura 6. Biosíntesis extracelular de *Quantum Dots* de CdS usando distintas concentraciones de sulfuro de sodio, L-Metionina y L-Cisteína como fuente de sulfuro (se indica entre paréntesis el estado de oxidación del azufre en cada compuesto). Se muestra el efecto del agua y diferentes *buffers* en la biosíntesis de estas nanopartículas a distintos tiempos. Como control negativo se evaluó la síntesis en ausencia de células.

Tal como se muestra en la Figura 5, no se observó fluorescencia atribuible a la síntesis extracelular de *Quantum Dots* de CdS en las condiciones evaluadas. Sólo en presencia de 3 y 6 mM de Na₂SO₃ en *buffer* Tris-HCl y Tris-Citrato las células fueron capaces de sintetizar estructuras fluorescentes, aunque con baja intensidad de fluorescencia. No obstante, según lo observado en la Figura 6, en presencia L-Cisteína las células sí logran sintetizar *Quantum Dots* de CdS. En agua, estas nanopartículas se forman entre las 6 y las 24 h de incubación, mientras que en *buffer* Tris-HCl y Tris-Citrato antes de las 3 h las células son capaces de biosintetizar nanoestructuras fluorescentes, sin embargo, su fluorescencia desaparece a mayores tiempos de incubación.

En *buffer* Borax-Citrato *E. coli* sintetiza *Quantum Dots* de manera bastante rápida, estables en el tiempo y con intensidades y colores de fluorescencia característicos para este tipo de nanopartículas. Debido a las propiedades reductoras y estabilizantes de este *buffer*, se ha descrito su uso en la síntesis química y biológica de otras nanopartículas metálicas [46, 47, 57]. Por otra parte, actualmente sabemos que la formación de sulfuro de hidrógeno (H₂S) favorece la síntesis extracelular de estos *Quantum Dots*, compuesto volátil producido justamente a partir de la L-Cisteína por enzimas como la cisteína desulfhidrasa y cistationina γ -liasa [66,67]. En definitiva, estos resultados nos permitieron definir que *buffer* Borax-Citrato, L-Cisteína 1 mM y CdCl₂ 100 μ M es la condición más apropiada para la biosíntesis extracelular de *Quantum Dots* de CdS.

Posteriormente, una vez definidas estas condiciones, se realizó una cinética de biosíntesis para confirmar la producción de *Quantum Dots* de CdS. Como se ha descrito en la literatura, estas nanopartículas se caracterizan por cambiar sus propiedades espectroscópicas a medida que aumentan su tamaño, lo que a su vez depende del tiempo de síntesis. Al excitarlos con radiación UV, *Quantum Dots* más pequeños emiten luz de color azul o verde, y los de tamaño superior emiten luz de color naranja o rojo [22]. Además, posteriormente este experimento nos permitiría definir un tamaño adecuado (según el color del *Core* de CdS) para la formación de la corteza o capa de CdSe (*Shell*). La biosíntesis se llevó a cabo según las condiciones definidas anteriormente y cada cierto tiempo se detuvo la formación de los *Quantum Dots* removiendo las células por centrifugación. Los sobrenadantes se expusieron en un transiluminador UV para el registro fotográfico. Los resultados se muestran en la Figura 7.

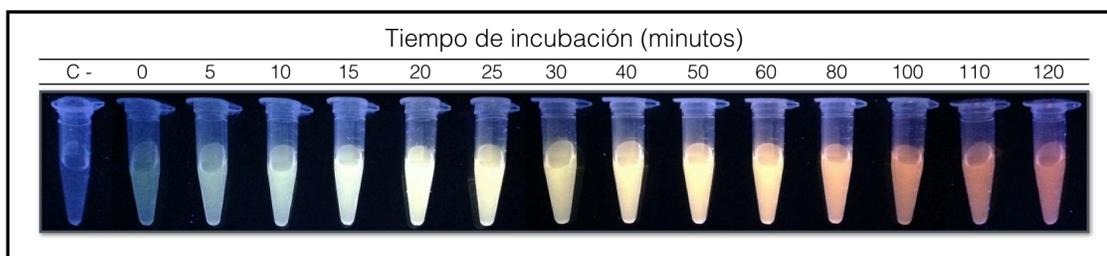


Figura 7. Cinética de biosíntesis extracelular de *Quantum Dots* de CdS. La biosíntesis se realizó en *buffer* Borax-Citrato 15 mM (pH 9,35) en presencia de 1 mM de L-Cisteína y 100 μ M de CdCl₂. El control negativo (C -), que no varió en los 120 min de incubación, corresponde a las condiciones de biosíntesis en ausencia de células.

A medida que aumenta el tiempo de incubación, los *Quantum Dots* cambian sus propiedades espectroscópicas, emitiendo desde color verde a tiempos iniciales (0-10 min) hasta rojo a los 120 min de síntesis (fenómeno atribuido al crecimiento del cristal, en este caso de CdS). Además, puesto que se observa este cambio espectroscópico a medida que aumenta el tiempo de incubación (Figura 7), este experimento evidencia que la presencia de biomoléculas en el medio (que eventualmente podrían ser liberadas por las bacterias durante el proceso de biosíntesis) no estarían afectando o limitando el crecimiento de la nanoestructura.

Para caracterizar las nanopartículas de CdS producidas mediante este método, se seleccionó tres tiempos representativos de esta cinética (10, 40 y 120 min) y se escaló la biosíntesis a 40 mL. Las nanopartículas producidas fueron purificadas para remover las células del sobrenadante y posteriormente concentradas 20 veces. Las muestras se caracterizaron mediante espectrofotometría UV-Visible. Los gráficos de absorción y emisión de fluorescencia se muestran en la Figura 8.

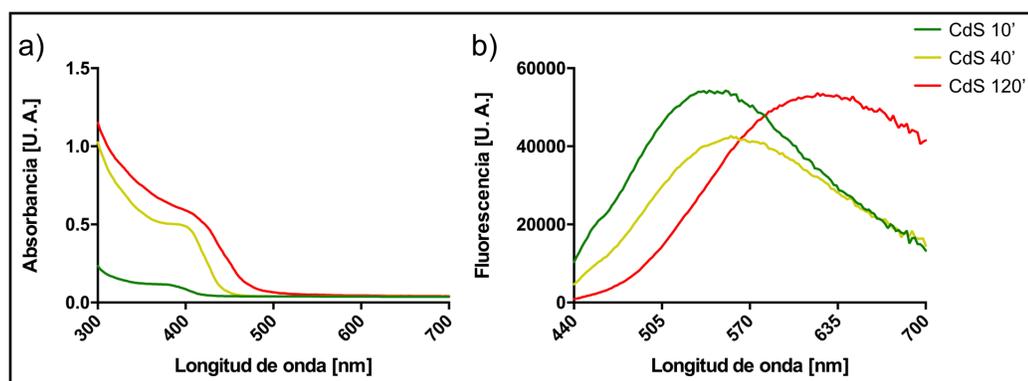


Figura 8. Espectros de a) absorción y b) emisión de fluorescencia de *Quantum Dots* de CdS a distintos tiempos de biosíntesis.

Los espectros de absorción muestran las señales características para este tipo de nanopartículas, evidenciando una alta absorción en el rango UV (entre 300 y 400 nm). Para los espectros de emisión, los *Quantum Dots* biosintetizados a los tiempos 10, 40 y 120 min tienen máximos de emisión a los 540, 560 y 630 nm aproximadamente, desplazamiento en la longitud de onda que coincide con el cambio espectral observado en la Figura 7.

Una vez definido el método para biosintetizar los *Quantum Dots* de CdS (*Core*), los esfuerzos se centraron en incorporar la cubierta de CdSe alrededor de este núcleo. Los métodos químicos reportados a la fecha para producir de manera coloidal este y otros tipos de nanopartículas *Core/Shell* se basan en pre sintetizar el *Core* a un tamaño definido y posteriormente añadir los reactivos necesarios para formar el *Shell*. En este sentido, lo primero fue definir un tiempo de acuerdo a la cinética de biosíntesis de CdS observada en la Figura 7 (que tal como se señaló anteriormente, correlaciona con el tamaño del *Quantum Dot*).

Se escogió la biosíntesis de CdS a los tiempos 20, 40 y 60 min (representativos de la cinética de biosíntesis observada en la Figura 7) y a estos tiempos de síntesis se añadió selenito de sodio (Na_2SeO_3) 1, 10 y 100 μM y se dejó incubando hasta un tiempo final de 120 min (Figura 9).

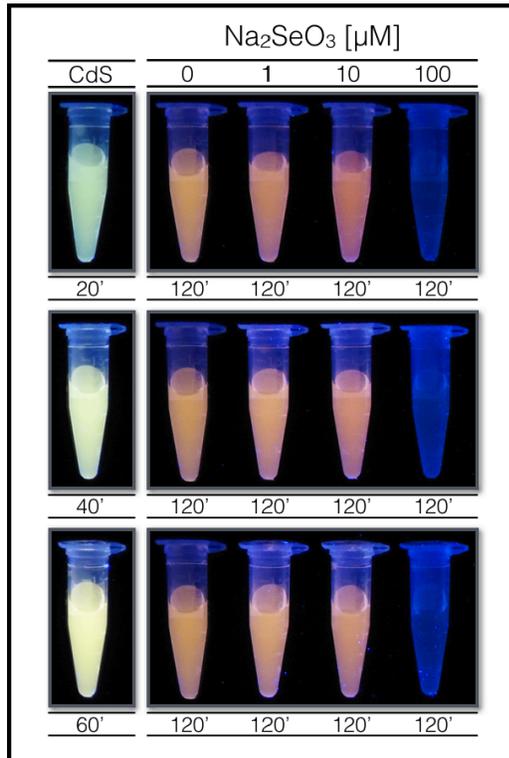


Figura 9. Efecto del tiempo y la concentración de Na₂SeO₃ en la biosíntesis de *Quantum Dots Core/Shell* de CdS/CdSe. A la izquierda se muestra el *Core* de CdS a distintos tiempos de incubación y a la derecha tras añadirle distintas concentraciones de selenito al *Core* de CdS respectivo, hasta un tiempo final de incubación de 120 min.

Según lo reportado en la literatura, en los *Quantum Dots* la formación de una corteza o capa de otro material semiconductor es evidenciable por un cambio espectroscópico que dependerá del tipo de material [68-70]. Según la Figura 9, esto es observable al añadir Na₂SeO₃ a una concentración de 10 μM a un *Core* de CdS producido luego de 20 min de biosíntesis.

La característica que evidencia la formación *Quantum Dots Core/Shell* de CdS/CdSe, es un corrimiento espectral hacia longitudes de onda superiores, tanto en el espectro de absorción como en el de emisión de fluorescencia [68-70]. En este sentido, a las muestras de la Figura 9 se les realizó un espectro de absorción y se pesquisó este corrimiento espectral (Figura 10).

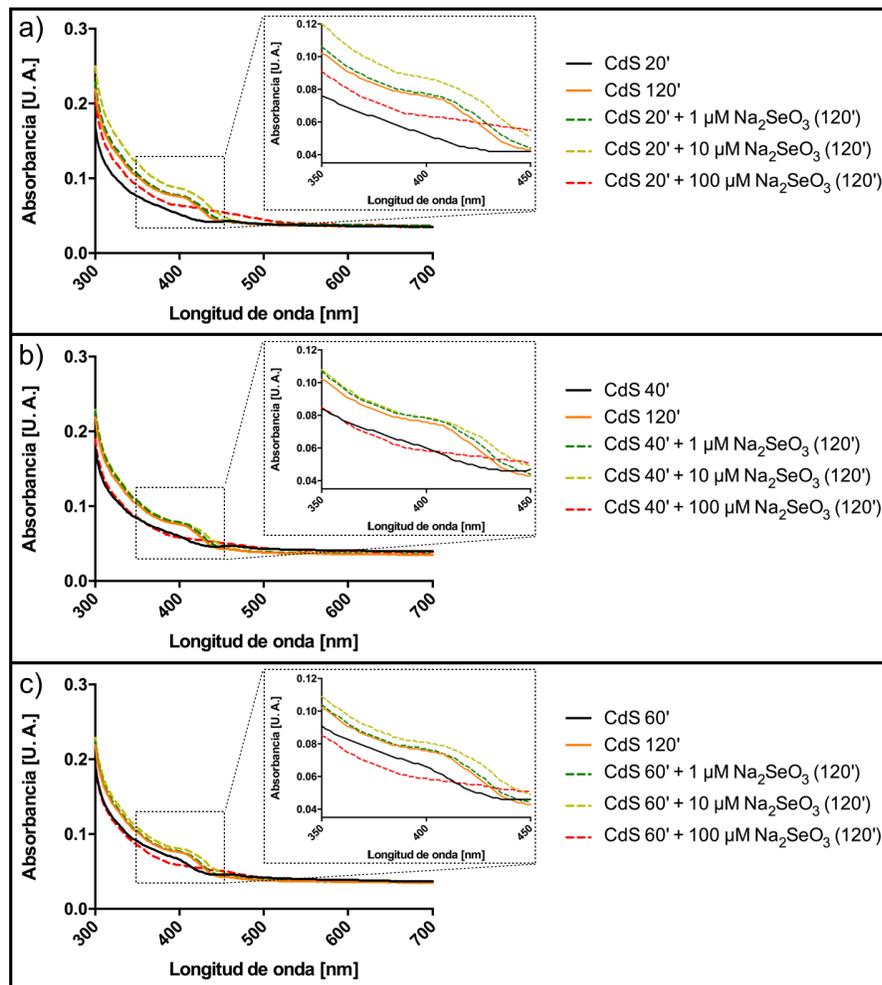


Figura 10. Espectros de absorción tras agregar distintas concentraciones de Na₂SeO₃ (1, 10 y 100 μM) a nanopartículas de CdS a los a) 20, b) 40 y c) 60 min de síntesis. Se muestra un *inset* para clarificar el corrimiento espectral.

Según esto, sólo al añadir 10 μM de Na_2SeO_3 a *Quantum Dots* de CdS biosintetizados por 20 min (Figura 10a, línea discontinua amarilla) se observa un desplazamiento con respecto a la condición en que no se incorpora selenito a las nanopartículas (CdS 120', línea continua naranja).

Para confirmar esta observación, se escaló la síntesis a 40 mL y las nanopartículas se purificaron y concentraron para realizar un nuevo espectro de absorción y, esta vez, uno de emisión (Figura 11). En ambos casos se evidenció el desplazamiento espectral atribuible a la formación de un *Shell* de CdSe alrededor de un *Core* de CdS.

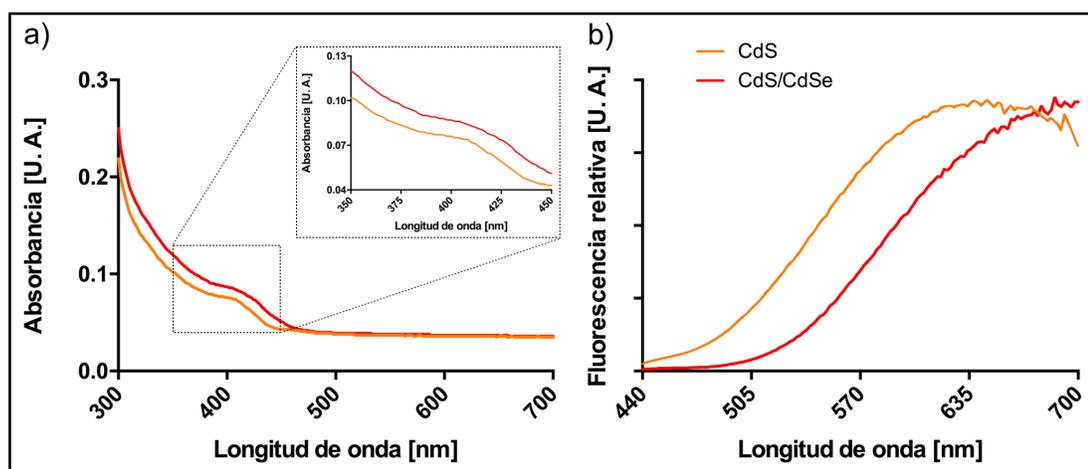


Figura 11. Espectros de a) absorción y b) emisión de fluorescencia de nanopartículas semiconductoras fluorescentes de CdS y CdS/CdSe biosintetizadas (ambas a un tiempo final de 120 min). En a) se muestra un *inset* para clarificar el corrimiento espectral atribuible a la formación de una corteza o *Shell* de CdSe.

Con el fin de entender la relevancia de las células y evaluar su rol activo o pasivo en la síntesis de estas nanopartículas, en el siguiente experimento se realizó una síntesis en presencia de células vivas y otra en presencia de células muertas (Figura 12).

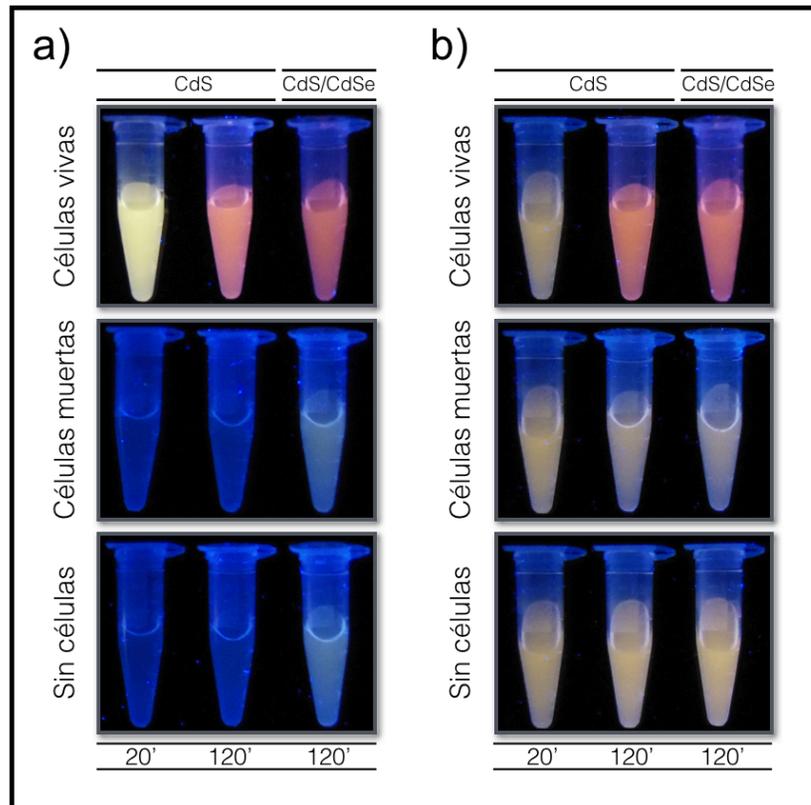


Figura 12. Importancia de las células en la biosíntesis de *Quantum Dots* de CdS y CdS/CdSe. En a) para la síntesis en un paso y en b) para la síntesis a partir de semillas de CdS previamente producidas. Se indican los tiempos de incubación en minutos.

Según lo observado en la Figura 12a, la síntesis de *Quantum Dots* de CdS y CdS/CdSe ocurre según lo esperado en presencia de células vivas. Sin embargo, no se observa

fluorescencia atribuible a *Quantum Dots* cuando las células están muertas o en ausencia de ellas.

Adicionalmente, decidimos evaluar el efecto de células vivas y muertas sobre un *Core* de CdS previamente biosintetizado y purificado. Como se muestra en la Figura 12b, este núcleo es incapaz de seguir creciendo en ausencia de células y al añadir selenio no se afectan sus propiedades espectroscópicas. Del mismo modo, cuando este *Core* de CdS es añadido a una suspensión con células muertas, no hay síntesis de CdS ni de CdS/CdSe. Sin embargo, cuando lo añadimos a células vivas, continúa el crecimiento del cristal cambiando su color de emisión. Además, tras añadir selenio se estaría formando una estructura *Core/Shell* (cambia la emisión de fluorescencia, tal como se observa en la Figura 12a).

En definitiva, tanto la síntesis del *Core* de CdS como del *Shell* de CdSe son mediados por procesos que dependen de la presencia de células vivas.

Resumiendo, los resultados del Objetivo 1 nos han permitido desarrollar un protocolo de biosíntesis de *Quantum Dots* que corresponderían a nanopartículas *Core/Shell* de CdS/CdSe. Un resumen que esquematiza la biosíntesis de estas nanoestructuras se muestra en la Figura 13.

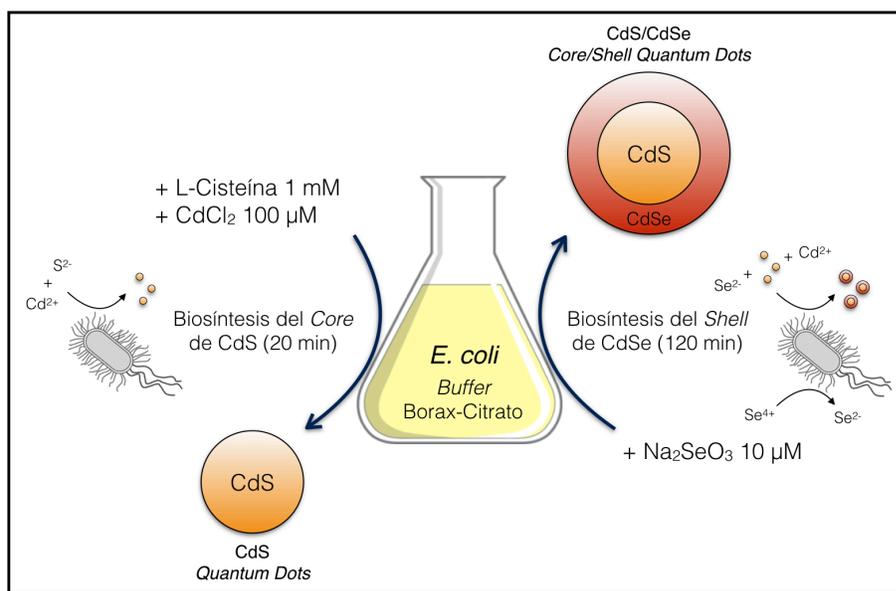


Figura 13. Esquema general de la biosíntesis extracelular de *Quantum Dots Core/Shell* de CdS/CdSe.

Un cultivo de *E. coli* (BW25113) es crecido en medio LB hasta alcanzar fase estacionaria ($DO_{600} \approx 1.0$) y las células son lavadas y resuspendidas en un volumen de *buffer* Borax-Citrato 15 mM pH 9,35. Posteriormente, las células se tratan con L-Cisteína 1 mM y CdCl₂ 100 µM. Se deja incubar 20 min a 37 °C con agitación para obtener *Quantum Dots* de CdS (*Core*). En este punto se añade Na₂SeO₃ 10 µM y se deja incubar en las mismas condiciones hasta un tiempo final de 120 min para formar la cubierta de CdSe (*Shell*).

Objetivo 2. Caracterizar fotofísica y estructuralmente las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe producidas.

Además de la espectrofotometría UV-Visible realizada anteriormente, una vez definidas las condiciones óptimas para producir las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe se procedió a su caracterización fotofísica y estructural.

En primer lugar, se determinó el tamaño de los *Quantum Dots* mediante Dispersión Dinámica de la Luz (DLS) usando un Zetasizer Nano (ZS) (Malvern Instrument Ltd.). Las nanopartículas se produjeron y purificaron según lo determinado anteriormente y fueron sonicadas por 2 min para dispersarlas homogéneamente en una suspensión. La Figura 14 muestra un gráfico representativo con la distribución de tamaño por número para ambos tipos de nanopartículas y el promedio de los *peaks* de tamaño de las tres determinaciones (con sus respectivas desviaciones estándar).

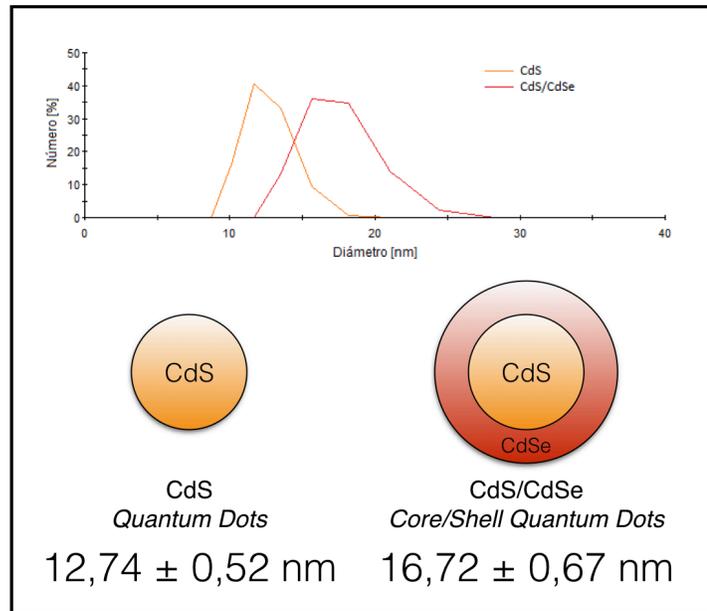


Figura 14. Tamaños de las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe determinados mediante DLS. La medición se realizó en triplicado (se muestra un gráfico representativo de la frecuencia de distribución de tamaño).

Tal como se indica en esta figura, los *Quantum Dots* producidos presentan tamaño nanométrico (en promedio 12,74 y 16,72 nm para nanopartículas de CdS y CdS/CdSe, respectivamente). El gráfico de frecuencia de distribución de tamaño da cuenta de una alta polidispersidad en ambas muestras. Sin embargo, cabe destacar la diferencia de tamaño observada entre ambos tipos de nanopartículas; es decir, tal como se esperaba, la adición de selenio en la síntesis del *Core* de CdS aumenta el diámetro de la partícula, lo que sugiere la formación de una nanopartícula *Core/Shell* de CdS/CdSe.

Posteriormente, se decidió caracterizar la composición orgánica asociada al recubrimiento de estos *Quantum Dots*. Para esto, las muestras se liofilizaron y con el polvo obtenido se realizó espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

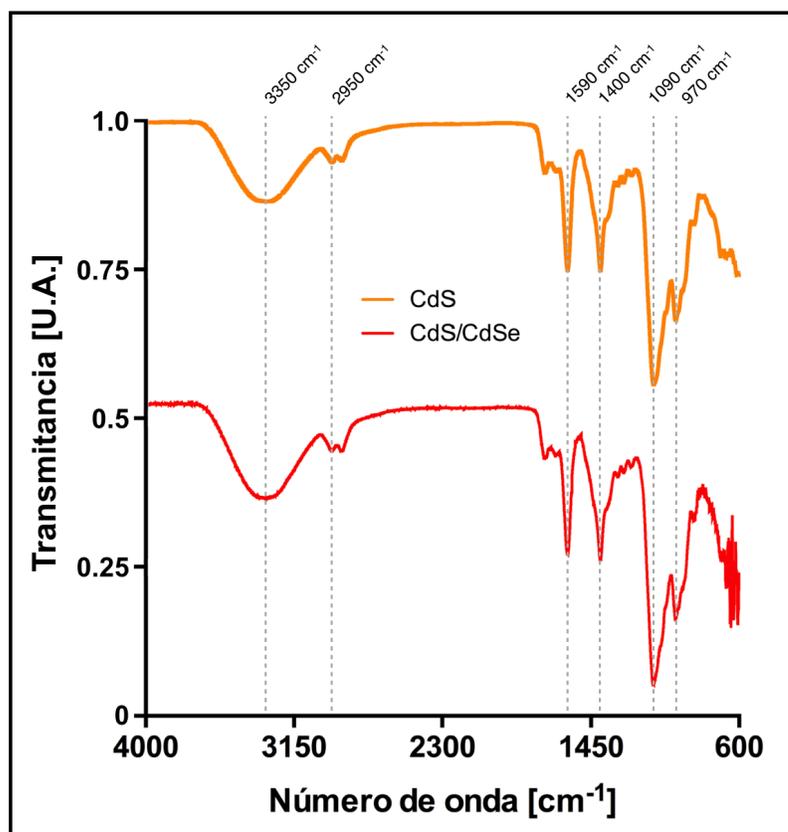


Figura 15. Espectros FTIR de las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe biosintetizadas.

Según lo observado en la Figura 15, ambos tipos de nanopartículas presentan una composición orgánica similar, pues comparten prácticamente todas las señales del espectro FTIR.

La señal ancha en 3350 cm^{-1} da cuenta de la presencia de grupos hidroxilos (-OH) en la estructura. Los picos alrededor de 2950 cm^{-1} corresponden a interacciones C-H, correspondientes a grupos CH_2 y CH_3 de cadenas alifáticas. En 1590 y 1400 cm^{-1} se observan las señales características de vibraciones C=O y N-H, debido a la presencia de grupos amida y amina. La banda en 1090 cm^{-1} corresponde a vibraciones C-N posiblemente de aminas alifáticas. Los picos a 1590 , 1400 y 970 cm^{-1} también podrían indicar la presencia de dobles enlaces C=C, ya sea de algún anillo o cadena alifática.

Todas señales que pueden ser atribuidas a la presencia de biomoléculas unidas a las nanopartículas de CdS y CdS/CdSe. Estas biomoléculas, probablemente péptidos o proteínas, podrían estar proporcionando un soporte para la nucleación y/o actuando como agentes estabilizantes de la nanoestructura [57,60].

La presencia de la corteza o cáscara de otro material semiconductor en los *Quantum Dots Core/Shell* les proporciona una barrera física entre el *Core* ópticamente activo y el medio circundante, por lo que este tipo de nanopartículas son más resistentes a la fotodegradación (*photobleaching*) y poseen mayor vida útil [38,39]. En este sentido, finalmente se evaluó la fotoestabilidad de las nanopartículas biosintetizadas de CdS y CdS/CdSe. Para ello, las muestras se normalizaron por dilución a 0,06 unidades arbitrarias (U.A.) de acuerdo a sus *peaks* máximos de absorbancia. Luego, las nanopartículas se expusieron a luz constante y el decaimiento de los *peaks* máximos de absorbancia para cada muestra se midió cada 15 min durante 1 h. Los resultados se muestran en la Figura 16.

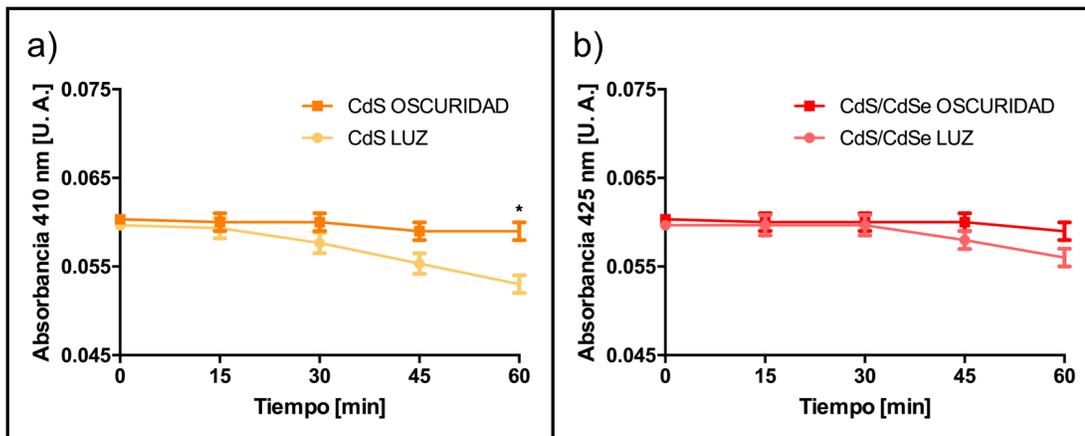


Figura 16. Fotoestabilidad de *Quantum Dots* biosintetizados de CdS y CdS/CdSe. La fotodegradación de las nanopartículas de a) CdS y b) CdS/CdSe se determinó en condiciones de luz y oscuridad (control). Cada condición se realizó en triplicado y * representa significancia con un valor de $p < 0,0001$.

Pese a que las diferencias de absorbancia son muy sutiles, la tendencia indica que ambos tipos de nanopartículas sufren un proceso de fotodegradación evidenciado por una caída en sus *peaks* de absorbancia (Figura 16 a y b). Sin embargo, este fenómeno es más pronunciado en las nanopartículas de CdS en comparación a las de CdS/CdSe. Las nanopartículas de CdS mantienen su máximo de absorbancia hasta los 15 min de irradiación, en cambio el *peak* de absorbancia de los *Quantum Dots* de CdS/CdSe es máximo hasta los 30 min. Más aún, el análisis estadístico indica que sólo hay diferencia significativa en el tiempo 60 min de exposición en las nanopartículas de CdS con respecto al control no expuesto, lo que da cuenta de la mayor fotoestabilidad de los *Quantum Dots* de CdS/CdSe.

Según los antecedentes mencionados anteriormente, la presencia de una corteza o capa de otro material semiconductor les otorga a los *Quantum Dots Core/Shell* una mayor

resistencia a la fotodegradación. Por lo que este experimento indica que mediante el método de biosíntesis desarrollado se estarían formando este tipo de nanopartículas.

Finalmente, con el objetivo de determinar la forma de las nanopartículas de CdS/CdSe y confirmar la distribución de tamaño nanométrico entregados por la caracterización mediante DLS, se realizó una microscopía de transmisión electrónica de barrido (STEM). Los resultados se muestran en la Figura 17.

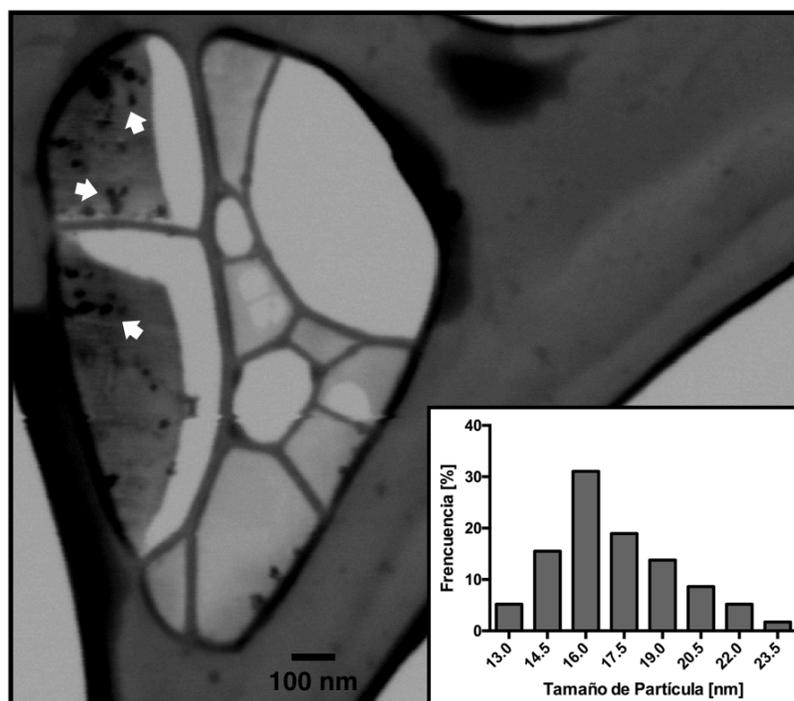


Figura 17. Microscopía de transmisión electrónica de barrido de nanopartículas de CdS/CdSe biosintetizadas. El *inset* muestra el histograma de distribución de tamaño para estos *Quantum Dots* (magnificación: 100.000x).

Los resultados muestran que las nanopartículas producidas se encuentran principalmente agrupadas en cúmulos (señalados mediante flechas blancas en la imagen), tienen una morfología esférica y al menos un 65 % de ellas presentan una distribución de tamaño entre los 14,5 y 17,5 nm, que coincide con la información entregada por el DLS.

Objetivo 3. Fabricar celdas solares (QDSSCs) con las nanopartículas producidas y caracterizar sus parámetros fotovoltaicos.

Debido a sus propiedades optoelectrónicas, los *Quantum Dots* son capaces de absorber la luz y transferir electrones en su estado excitado a un semiconductor como el TiO₂ nanoestructurado, lo que ha permitido el desarrollo de un tipo de celda solar conocida como *Quantum Dot Sensitized Solar Cell* (QDSSC) [20].

Una vez que los *Quantum Dots* son excitados por la luz, parte de los electrones de su banda de valencia se transfieren a su banda de conducción y desde aquí son traspasados al *film* de nanopartículas de TiO₂ en la celda. Estos electrones son transferidos a un vidrio con la capacidad de conducir corriente eléctrica, a la vez que permite el paso de la radiación solar a través del sistema. La recirculación de un electrolito redox en su estado oxidado-reducido permite restablecer los electrones perdidos por los *Quantum Dots* oxidados mientras sirve como vía de paso para la transferencia de electrones entre los dos electrodos (el *film* de TiO₂ sobre el vidrio conductor es sensibilizado con *Quantum Dots* formando el fotoánodo, mientras el cátodo o contra electrodo está formado por platino sobre vidrio). Finalmente, la existencia de esta diferencia de potencial permite

que una vez conectados ambos electrodos haya circulación de electrones y generación de corriente eléctrica [19,21].

En este sentido, el último objetivo de esta investigación involucró fabricar y caracterizar celdas solares con los *Quantum Dots* de CdS y CdS/CdSe biosintetizados.

Las QDSSCs se construyeron siguiendo los protocolos descritos por Bang *et al.* (2009) [31] y Órdenes-Aenishanslins *et al.* (2014) [60,65] y la caracterización de las celdas solares se realizó bajo condiciones estándar de temperatura e irradiancia utilizando un simulador solar como fuente de luz y una interfase potencióstato-galvanostato para registrar las curvas de corriente-voltaje (Curvas I-V) y obtener los parámetros fotovoltaicos.

Los resultados de esta caracterización se muestran en la Figura 18.

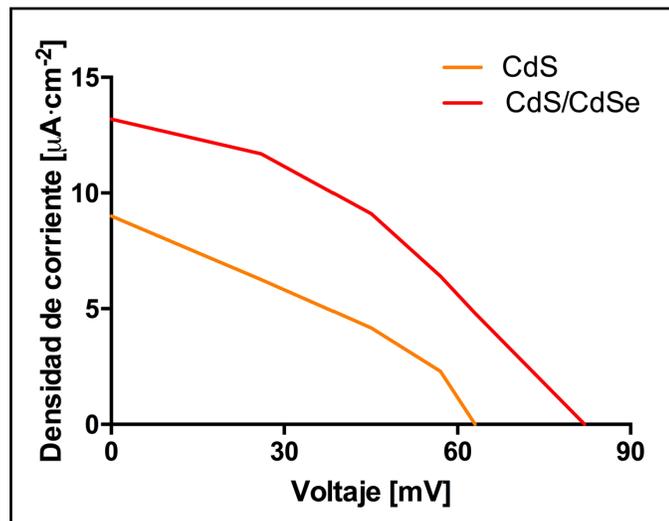


Figura 18. Curvas I-V para celdas solares sensibilizadas con *Quantum Dots* biosintetizados de CdS o CdS/CdSe.

Como se observa en esta figura, los dispositivos fotovoltaicos construidos con las nanopartículas biosintetizadas presentan el comportamiento esperado para celdas solares, evidenciado por la forma característica de las curvas de corriente-voltaje [71]. Los parámetros fotovoltaicos derivados de estas curvas se resumen en la Tabla I.

Celda Solar	Estructura del Fotoánodo (Sensibilizador)	Corriente de Corto Circuito I_{SC} [$\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$]	Voltaje de Circuito Abierto V_{OC} [mV]	Factor de Llenado FF (%)	Eficiencia η (%)
	 CdS	9	63	33,1	$1,45 \cdot 10^{-5}$
	 CdS/CdSe	13,2	82	37,8	$3,16 \cdot 10^{-5}$

Tabla I. Parámetros fotovoltaicos obtenidos de las curvas I-V de las celdas solares sensibilizadas con *Quantum Dots* biosintetizados.

Cuando la luz incide sobre la celda solar, el dispositivo convierte directamente la luz en electricidad y los datos de corriente y voltaje son registrados en un circuito externo. Las mediciones se realizaron mediante condiciones estándar para determinar la corriente de corto circuito (I_{SC}), que corresponde a la corriente máxima (flujo de carga eléctrica) que pasa a través de la celda cuando el voltaje en el dispositivo es cero, y el voltaje de circuito abierto (V_{OC}), que corresponde al voltaje máximo (diferencia de potencial eléctrico) producido por la celda solar cuando el flujo de corriente es cero. La celda solar sensibilizada con las nanopartículas de CdS presentan un V_{OC} de 63 [mV], una I_{SC} de 9 [$\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$] y una eficiencia de $1,45 \cdot 10^{-5}$ %. Por otro lado, la celda solar sensibilizada con

las nanopartículas *Core/Shell* de CdS/CdSe muestra un V_{OC} de 82 [mV], una I_{SC} de 13.2 [$\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$] y una eficiencia de $3,16\cdot 10^{-5}$ %.

DISCUSIÓN

El objetivo general de este trabajo fue biosintetizar nanopartículas semiconductoras fluorescentes tipo *Core/Shell* de CdS/CdSe para su aplicación en *Quantum Dot Sensitized Solar Cells*.

La síntesis coloidal de los *Quantum Dots Core/Shell* se ha estudiado fundamentalmente a través de dos pasos. En primer lugar se sintetiza el *Core* de la nanoestructura y posteriormente a la misma solución de síntesis se incorporan los reactivos necesarios para formar la corteza o capa (*Shell*) alrededor de este núcleo preformado. Adicionalmente, es posible sumar una etapa de purificación intermedia entre ambos procesos o variar las condiciones, por ejemplo, de temperatura entre una y otra etapa [38,39].

En esta tesis primero se estudió el uso de diferentes *buffers* y fuentes de sulfuro sobre la biosíntesis extracelular de los QDs de CdS, *Core* o núcleo de nuestras nanopartículas de CdS/CdSe. Los resultados mostraron que, entre otras condiciones, es posible obtener fluorescencia atribuible a la síntesis extracelular de *Quantum Dots* de CdS en *buffer* Borax-Citrato y usando L-Cisteína como fuente de sulfuro (Figura 6). Bajo esta condición *E. coli* sintetizó *Quantum Dots* de manera rápida, estables en el tiempo y con intensidades y colores de fluorescencia característicos para este tipo de nanopartículas.

Recientemente nuestro grupo ha descrito la relevancia del sulfuro de hidrógeno (H₂S) en la biosíntesis de *Quantum Dots* de CdS usando bacterias antárticas [72] y cómo este

derivado volátil también favorece la síntesis extracelular de estas nanopartículas en bacterias del género *Acidithiobacillus* [73]. El H₂S, fácilmente detectable en el *headspace* de un cultivo bacteriano por la formación de un precipitado negro de PbS sobre papeles previamente embebidos en acetato de plomo (Pb(CH₃COO)₂), es producido junto con NH₃ y piruvato a partir de la L-Cisteína en un paso por enzimas como la cisteína desulfhidrasa y cistationina γ -liasa [66,67]. En definitiva, *E. coli* en presencia de L-Cisteína produce el H₂S (S²⁻), el cual reacciona en el medio extracelular con el CdCl₂ (Cd²⁺) formando las nanoestructuras de CdS. De hecho, recientemente se ha reportado la síntesis *in vitro* de *Quantum Dots* de CdS usando la enzima cistationina γ -liasa proveniente de *Stenotrophomonas maltophilia* en un proceso que involucra la producción de H₂S en presencia de L-Cisteína y glutatión [74]. Interesantemente, la aparición de estructuras fluorescentes no fue transversal en todos los *buffers* evaluados en esta tesis. A diferencia de los otros *buffers* estudiados, que no tamponan a pH más altos que 8,0, el mejor resultado obtenido fue usando Borax-Citrato a pH 9,35. Esto se puede explicar debido a que a un pH más alto es más probable encontrar el H₂S deprotonado como ion sulfuro (S²⁻) para que pueda reaccionar con el ion Cd²⁺. A la vez que, debido a las propiedades reductoras de este *buffer*, constituido por tetraborato disódico (Na₂B₄O₇) y citrato trisódico dihidratado (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O), se estaría impidiendo su rápida oxidación. De hecho, por esta misma razón se ha descrito el uso de este *buffer* en la síntesis química y biológica de nanopartículas de cadmio, cobre y oro [46,47, 57,75].

La cinética de biosíntesis realizada nos permitió confirmar que bajo las condiciones definidas anteriormente se producen *Quantum Dots* de CdS (Figura 7). Como ha sido reportado en la literatura, estas nanopartículas se caracterizan por cambiar sus propiedades espectroscópicas a medida que aumentan su tamaño en función del tiempo de síntesis. Al excitarlos con radiación UV, *Quantum Dots* más pequeños (menor tiempo de síntesis) emiten luz de color azul o verde, y a tamaños superiores (mayor tiempo de síntesis) emiten luz de color naranja o rojo [22]. Esta propiedad pudo ser corroborada mediante el registro fotográfico de los sobrenadantes a distintos tiempos de incubación (Figura 7), junto a la respectiva caracterización espectrofotométrica de las partículas obtenidas (Figura 8). Adicionalmente, este resultado descarta la posibilidad que la presencia de biomoléculas en el medio (liberadas por las bacterias durante el proceso de biosíntesis) podrían afectar o limitar el crecimiento de la nanoestructura, pensando posteriormente en incorporar satisfactoriamente una capa o corteza (*Shell*) a este *Core* de CdS.

Con los resultados de esta cinética de biosíntesis, se trabajó en definir un tamaño adecuado (según el color del *Core* de CdS) para la formación de la corteza o capa de CdSe (*Shell*). Tal como se ha descrito en otros trabajos, definir el punto de inicio para el crecimiento de la corteza de CdSe es básicamente determinar un tiempo en el cual el tamaño del *Core* de CdS no sea ni tan pequeño ni tan grande. Si el *Core* es muy pequeño, el añadir selenio a la solución más la presencia de ion cadmio favorecería la formación de nanopartículas de CdSe (en lugar de la nanoestructura CdS/CdSe). Por otro

lado, si el *Core* es demasiado grande, la presencia de selenio en la solución haría que el cristal de CdS/CdSe crezca hasta desestabilizar su nanoestructura [38,39].

Tras añadir distintas concentraciones de Na_2SeO_3 a núcleos de CdS de distintos tamaños previamente biosintetizados, se logró determinar la condición idónea para producir *Quantum Dots Core/Shell* de CdS/CdSe (Figura 9). Tal como señala la literatura, esto se evidenció por un corrimiento espectral hacia longitudes de onda superiores en las nanopartículas de CdS/CdSe con respecto a las de CdS, tanto en el espectro de absorción como en el de emisión de fluorescencia (Figura 11) [68-70].

Al realizar los experimentos para entender la relevancia de las células y evaluar su rol activo o pasivo en la síntesis de estas nanopartículas, se logró determinar que tanto la síntesis del *Core* de CdS como del *Shell* de CdSe son mediados por procesos que dependen de la presencia de células vivas (Figura 12). Este resultado se explica, tal como se señaló anteriormente, debido a que la presencia de células vivas en la biosíntesis de estos QDs permite generar el H_2S (a partir de L-Cisteína por enzimas como la cisteína desulfhidrasa) necesario para formar el *Core* de CdS y la generación de biomoléculas (péptidos fundamentalmente) que actuarían estabilizando la nanoestructura [57,60,76]. Adicionalmente, la presencia de células vivas permitiría la reducción del Na_2SeO_3 desde selenito (Se^{4+}) a seleniuro (Se^{2-}) para formar CdSe. Se ha descrito que esta reducción de selenito a seleniuro es mediado por la presencia de reductasas celulares en *E. coli* [77].

Además de que la visualización de fluorescencia asociada a la formación de *Quantum Dots* es más evidente en el sobrenadante que en un pellet celular, la principal ventaja de la biosíntesis extracelular de estas nanopartículas es que no requiere de etapas de purificación adicional como las requeridas para los QDs producidos intracelularmente, por ejemplo, procesos de sonicación o ultracentrifugación, tratamientos enzimáticos (con lisozima o proteinasa K), uso de detergentes (como SDS) o NaOH [57,72]. Muchas veces esta purificación termina por ensuciar a las partículas producidas, lo que dificulta su correcta caracterización fotofísica y estructural y dificulta ver o estudiar la síntesis de QDs más complejos. En este sentido, la versatilidad que ofrece el método extracelular nos permite modificar el proceso de biosíntesis para producir nanopartículas con nuevas propiedades, como las tipo *Core/Shell* biosintetizadas en esta tesis.

La caracterización de tamaño mediante DLS nos permitió establecer que bajo las condiciones desarrolladas estábamos produciendo estructuras nanométricas: 12,7 nm para CdS y 16,7 nm para CdS/CdSe, en promedio (Figura 14). Es importante hacer notar la diferencia de tamaño entre ambos tipos de nanopartículas: tal como se esperaba, la adición de selenio en la síntesis del *Core* de CdS aumenta el diámetro de la partícula, lo que contribuye a confirmar la formación de una nanopartícula *Core/Shell*. Este resultado fue respaldado mediante STEM, confirmando la presencia de nanoestructuras electrondensas agrupadas en cúmulos (Figura 17), los que posiblemente se deben a la presencia de materia orgánica o biomoléculas que estaría recubriendo a las nanopartículas. Esto último pudo ser corroborado mediante el análisis del recubrimiento

orgánico de las nanopartículas mediante FTIR (Figura 15). Todas las señales obtenidas se pueden atribuir a la presencia de biomoléculas, probablemente péptidos o proteínas, que pueden estar proporcionando un soporte para la nucleación y/o actuando como agentes estabilizantes de la nanoestructura [57,60,76]. Si bien no se encontraron diferencias en ambas nanopartículas, cabe recordar que este análisis es solo a nivel de grupos funcionales, por lo que estudios posteriores podrían dirigirse a encontrar diferencias desde punto de vista proteico u otras biomoléculas.

Tras trabajar la microscopía STEM con el software ImageJ, se realizó un histograma de distribución de tamaño de las partículas más electrondensas y coincidió con la determinación realizada mediante DLS. Sin embargo, se puede observar una alta polidispersidad de las muestras evidenciada en la amplia distribución de tamaño en ambas determinaciones. Esto es una característica común de las nanopartículas producidas mediante métodos biosintéticos, sugiriendo que las nanopartículas son producidas por las células a diferentes tiempos tras la adición de los metales [56-59].

Diversos estudios han señalado que dentro de las ventajas de los *Quantum Dots Core/Shell* está su mayor resistencia a la fotodegradación debido a la presencia de otro material semiconductor en su estructura [78-81]. Nuestros experimentos evidencian una mayor fotoestabilidad justamente en las nanopartículas de CdS/CdSe comparando con las de CdS (Figura 16). Incluso algunos trabajos han reportado cómo la sola incorporación de algunos recubrimientos orgánicos o proteínas en los *Quantum Dots* impiden o retardan su fotodegradación. Así, la fotoestabilidad de las nanopartículas biosintetizadas en esta tesis (característica muy importante en el contexto de su

aplicación en celdas solares) resultaría del efecto sumativo del recubrimiento orgánico y de la presencia de la corteza de otro material semiconductor [82,83].

Finalmente, al incorporar las nanopartículas en *Quantum Dots Sensitized Solar Cells* se pudo validar su uso como fotosensibilizadores en este tipo de celdas. Los resultados obtenidos a través de las curvas de corriente-voltaje (Figura 18) confirman que los dispositivos construidos, una vez irradiados por la luz, tienen comportamiento esperado para una celda solar [71]. Según lo explicado en la sección Métodos, a partir de estas curvas fue posible obtener los parámetros fotovoltaicos, demostrando que las celdas solares construidas con las nanopartículas *Core/Shell* de CdS/CdSe tenían mejores valores en términos de corriente, voltaje y eficiencia en comparación a las celdas con QDs de CdS. El factor de llenado también resultó ser mayor. Tal como se indica en la ecuación (2), este parámetro se define como el cociente entre la corriente por el voltaje en el punto de máxima potencia (I_{MP} , V_{MP}) y la corriente de corto circuito por el voltaje de circuito abierto (I_{SC} , V_{OC}) y da cuenta de la calidad de la celda de acuerdo a la cuadratura de la curva de corriente-voltaje (Figura 4). Si bien tiene un valor teórico máximo de 100 %, para QDSSCs se ha reportado un valor aceptable entre 30-50 % [20]. Este aumento en los parámetros, tal como se ha señalado previamente, se explica fundamentalmente porque en los *Quantum Dots Core/Shell* la corteza o cáscara actúa como capa de pasivación que tiende a ordenar y retener (o atrapar) a los electrones en estados energéticos superiores, lo que ayuda a focalizar las cargas hacia el electrodo evitando decaimientos alternativos [38,39]. Además, en la configuración CdS/CdSe, la

energía de las bandas de conducción en ambos semiconductores permite un alineamiento que favorece la transferencia de los electrones en el electrodo (Figura 13b). Es decir, los electrones se distribuyen principalmente en la región de la corteza o cáscara, favoreciendo la extracción de electrones desde el núcleo del *Quantum Dot* y de este modo mejorando la tasa de inyección de electrones hacia el TiO_2 [40-44].

En términos de eficiencia, los valores determinados para ambas celdas construidas con nanopartículas biosintetizadas son bajos en comparación a las celdas solares de primera y segunda generación descritas en los antecedentes, con eficiencias entre un 15 y 20 % [12-14] y a las celdas tipo QDSSCs (tercera generación) cuyas eficiencias rondan el 6 % [19,20]. Este fenómeno, tal como hemos reportado para otro trabajo similar, podría deberse a la cobertura orgánica propia de las nanopartículas biosintetizadas y que estaría impidiendo un eficiente flujo de electrones en el electrodo [60]. Si bien el método de incorporación de los QDs al *film* de TiO_2 usado en esta tesis (*direct adsorption*) permite un control adecuado del tamaño y las propiedades de la nanopartícula junto con una unión simple y rápida del fotosensibilizador en el electrodo, lamentablemente no asegura un buen porcentaje de cobertura superficial (entre otras cosas, por la posible agregación de los QDs) por sobre otros métodos de crecimiento directo de los QDs en el TiO_2 . Esta menor cobertura superficial repercute en una disminución de los parámetros fotovoltaicos en las celdas [19-21]. Recientemente se ha reportado la influencia de algunos factores específicos en este método de incorporación de los QDs en el TiO_2 , como por ejemplo, purificación de las nanopartículas, su concentración, el solvente utilizado y el tiempo de sensibilización. Adicionalmente, en este trabajo se estudió un

tratamiento con Mg^{+2} al electrodo, previo a incorporarle los QDs, lo que genera según los autores una atracción electrostática extra, mejorando la interacción TiO_2 -QDs y por lo tanto la eficiencia de las celdas [84]. Todas modificaciones que pueden contribuir a mejorar los parámetros fotovoltaicos obtenidos en estas tesis. Pese a esto, nuestros resultados evidencian que al utilizar las nanopartículas de CdS/CdSe se observa un aumento en la eficiencia de casi 2,2 veces respecto a lo observado utilizando sólo CdS, lo que se condice con los antecedentes presentados sobre las nanopartículas *Core/Shell*. Esto justamente viene a confirmar que *E. coli* mediante las condiciones estudiadas en esta tesis es capaz de sintetizar nanoestructuras *Core/Shell* de CdS/CdSe capaces de ser utilizadas como fotosensibilizadores en QDSSCs.

CONCLUSIONES

En *buffer* Borax-Citrato, L-Cisteína 1 mM y CdCl₂ 100 μM *E. coli* sintetiza extracelularmente *Quantum Dots* de CdS (*Core*). Transcurridos 20 min a 37 °C y tras añadir Na₂SeO₃ 10 μM se sintetiza la cubierta de CdSe (*Shell*) a un tiempo final de 120 min, formando la estructura *Core/Shell* de CdS/CdSe.

Tanto la biosíntesis del *Core* de CdS como del *Shell* de CdSe (para formar CdS/CdSe) son procesos dependientes de la presencia de células vivas.

Los *Quantum Dots* biosintetizados tienen tamaño nanométrico y una cubierta orgánica atribuible a la presencia de biomoléculas en su estructura.

Los dispositivos fotovoltaicos contruidos (QDSSCs) con estas nanopartículas tienen comportamiento esperado para celdas solares.

El corrimiento espectral observado en la espectrofotometría UV-Visible, los resultados de fotoestabilidad y la aplicación en las celdas solares corroboran la biosíntesis de estructuras tipo *Core/Shell* de CdS/CdSe.

REFERENCIAS

[1] Smalley RE. **Our energy challenge**. Public lecture presented at The 226th ACS National Meeting, Green Chemistry: Multidisciplinary Science and Engineering Applied to Global Environmental Issues. *American Chemical Society*. New York, NY, Sept 7-11, 2003.

[2] Hoekstra AY, Wiedmann TO. **Humanity's unsustainable environmental footprint**. *Science*. 2014; 344 (6188): 1114-1117.

[3] Dresselhaus MS, Thomas IL. **Alternative energy technologies**. *Nature*. 2001; 414 (6861): 332-337.

[4] Shafiee S, Topal E. **An econometrics view of worldwide fossil fuel consumption and the role of US**. *Energy Policy*. 2008; 36 (2): 775-786.

[5] Shafiee S, Topal E. **When will fossil fuel reserves be diminished?** *Energy Policy*. 2009; 37 (1): 181-189.

[6] Khan MA, Khan MZ, Zaman K, Naz L. **Global estimates of energy consumption and greenhouse gas emissions**. *Renew. Sustainable Energy Rev*. 2014; 29: 336-344.

[7] **Key World Energy Statistics.** International Energy Agency (IEA). 2014 Edition, Paris, France.

[8] Lewis NS, Nocera DG. **Powering the planet: Chemical challenges in solar energy utilization.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006; 103 (43): 15729-15735.

[9] Schiermeier Q, Tollefson J, Scully T, Witze A, Morton O. **Energy alternatives: Electricity without carbon.** *Nature News.* 2008; 454 (7206): 816-823.

[10] Lior N. **Energy resources and use: The present situation and possible paths to the future.** *Energy.* 2008; 33 (6): 842-857.

[11] Kazmerski LL. **Photovoltaics: A review of cell and module technologies.** *Renew. Sustainable Energy Rev.* 1997; 1 (1): 71-170.

[12] Parida B, Iniyar S, Goic R. **A review of solar photovoltaic technologies.** *Renew. Sustainable Energy Rev.* 2011; 15 (3): 1625-1636.

[13] Green MA, Emery K, Hishikawa Y, Warta W, Dunlop ED. **Solar cell efficiency tables (Version 45).** *Prog. Photovoltaics Res. Appl.* 2015; 23 (1): 1-9.

- [14] O' Regan B, Graetzel M. **A low-cost, high-efficiency solar cell based on dye-sensitized colloidal TiO₂ films.** *Nature*. 1991; 353 (6346): 737-740.
- [15] Graetzel M. **Dye-sensitized solar cells.** *J. Photochem. Photobiol. C*. 2003; 4 (2): 145-153.
- [16] Fakharuddin A, Jose R, Brown TM, Fabregat-Santiago F, Bisquert J. **A perspective on the production of dye-sensitized solar modules.** *Energy Environ. Sci*. 2014; 7 (12): 3952-3981.
- [17] Ito S, Miura H, Uchida S, Takata M, Sumioka K, Liska P, *et al.* **High-conversion-efficiency organic dye-sensitized solar cells with a novel indoline dye.** *Chem. Commun*. 2008; 44 (41): 5194-5196.
- [18] Chen CY, Wang M, Li J-Ying, Potrakulchote N, Alibabaei L, Ngoc-le C, *et al.* **Highly efficient light-harvesting ruthenium sensitizer for thin-film dye-sensitized solar cells.** *ACS Nano*. 2009; 3 (10): 3103-3109.
- [19] Rühle S, Shalom M, Zaban A. **Quantum dot-sensitized solar cells.** *ChemPhysChem*. 2010; 11 (11): 2290-2304.

- [20] Jun HK, Careem MA, Arof AK. **Quantum dot-sensitized solar cells, perspective and recent developments: A review of Cd chalcogenide quantum dots as sensitizers.** *Renew. Sustainable Energy Rev.* 2013; 22: 148-167.
- [21] Mora-Seró I, Giménez S, Fabregat-Santiago F, Gómez R, Shen Q, Toyoda T, Bisquert J. **Recombination in quantum dot sensitized solar cells.** *Acc. Chem. Res.* 2009; 42 (11): 1848-1857.
- [22] Alivisatos AP. **Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots.** *Science.* 1996; 271 (5251): 933-937.
- [23] Yoffe AD. **Semiconductor quantum dots and related systems: Electronic, optical, luminescence and related properties of low dimensional systems.** *Adv. Phys.* 2001; 50 (1): 1-208.
- [24] Grieve K, Mulvaney P, Grieser F. **Synthesis and electronic properties of semiconductor nanoparticles/quantum dots.** *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2000; 5 (1): 168-172.
- [25] Jefferson JH, Häusler W. **Quantum dots and artificial atoms.** *Condens. Matter, Mesoscale and Nanoscale Physics.* 1997; ArXiv Cond-Mat/9705012.

- [26] Zhang YP, Sun P, Zhang XR, Yang WL, Si CS. **Synthesis of CdTe quantum dot-conjugated CC49 and their application for in vitro imaging of gastric adenocarcinoma cells.** *Nanoscale. Res. Lett.* 2013; 8 (1): 1-9.
- [27] Kurien BT, Scofield RH. **A brief review of other notable protein detection methods on blots.** *Methods Mol. Biol.* 2009; 536: 557-571.
- [28] Durán-Toro V, Gran-Scheuch A, Órdenes-Aenishanslins N, Monrás JP, Saona LA, Venegas FA, *et al.* **Quantum dot-based assay for Cu²⁺ quantification in bacterial cell culture.** *Analytical Biochem.* 2014; 450: 30-36.
- [29] Sun Q, Wang YA, Li LS, Wang D, Zhu T, Xu J, *et al.* **Bright, multicoloured light-emitting diodes based on quantum dots.** *Nat. Photonics.* 2007; 1(12): 717-722.
- [30] Li JJ, Zhu KD. **A quantum optical transistor with a single quantum dot in a photonic crystal nanocavity.** *Nanotechnology.* 2011; 22(5): 055202.
- [31] Bang JH, Kamat PV. **Quantum dot sensitized solar cells. A tale of two semiconductor nanocrystals: CdSe and CdTe.** *ACS Nano.* 2009; 3(6): 1467-1476.
- [32] Kamat PV. **Quantum dot solar cells. Semiconductor nanocrystals as light harvesters.** *J. Phys. Chem. C.* 2008; 112 (48): 18737-18753.

- [33] Hodes G. **Comparison of dye-and semiconductor-sensitized porous nanocrystalline liquid junction solar cells.** *J. Phys. Chem. C.* 2008; 112 (46): 17778-17787.
- [34] Kongkanand A, Tvrdy K, Takechi K, Kuno M, Kamat PV. **Quantum dot solar cells. Tuning photoresponse through size and shape control of CdSe-TiO₂ architecture.** *J. Am. Chem. Soc.* 2008; 130 (12): 4007-4015.
- [35] Mora-Seró I, Giménez S, Moehl T, Fabregat-Santiago F, Lana-Villareal T, Gómez R, *et al.* **Factors determining the photovoltaic performance of a CdSe quantum dot sensitized solar cell: The role of the linker molecule and of the counter electrode.** *Nanotechnology.* 2008; 19 (42): 424007.
- [36] Jana S, Srivastava BB, Pradhan N. **Correlation of dopant states and host bandgap in dual-doped semiconductor nanocrystals.** *J. Phys. Chem. Lett.* 2011; 2 (14): 1747-1752.
- [37] Santra PK, Kamat PV. **Mn-doped quantum dot sensitized solar cells: a strategy to boost efficiency over 5%.** *J. Am. Chem. Soc.* 2012; 134 (5): 2508-2511.
- [38] Reiss P, Protiere M, Li L. **Core/Shell semiconductor nanocrystals.** *Small.* 2009; 5 (2): 154-168.

- [39] Vasudevan D, Gaddam RR, Trinchì A, Cole I. **Core-Shell quantum dots: Properties and applications.** *J. Alloys Compd.* 2015; 636: 395-404.
- [40] Lee YL, Lo YS. **Highly efficient quantum-dot-sensitized solar cell based on co-sensitization of CdS/CdSe.** *Adv. Funct. Mater.* 2009; 19 (4): 604-609.
- [41] Zhang Q, Guo X, Huang X, Huang S, Li D, Luo Y, *et al.* **Highly efficient CdS/CdSe-sensitized solar cells controlled by the structural properties of compact porous TiO₂ photoelectrodes.** *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2011; 13 (10): 4659-4667.
- [42] Yu XY, Liao JY, Qiu KQ, Kuang DB, Su CY. **Dynamic study of highly efficient CdS/CdSe quantum dot-sensitized solar cells fabricated by electrodeposition.** *ACS Nano.* 2011; 5 (12): 9494-9500.
- [43] Lee HJ, Bang J, Park J, Kim S, Park SM. **Multilayered semiconductor (CdS/CdSe/ZnS)-sensitized TiO₂ mesoporous solar cells: All prepared by successive ionic layer adsorption and reaction processes.** *Chem. Mater.* 2010; 22 (19): 5636-5643.
- [44] Hossain MA, Jennings JR, Koh ZY, Wang Q. **Carrier generation and collection in CdS/CdSe-sensitized SnO₂ solar cells exhibiting unprecedented photocurrent densities.** *ACS Nano.* 2011; 5 (4): 3172-3181.

- [45] Valizadeh A, Mikaeili H, Samiei M, Farkhani SM, Zarghami N, Akbarzadeh A, *et al.* **Quantum dots: Synthesis, bioapplications, and toxicity.** *Nanoscale Res. Lett.* 2012; 7 (1): 1-14.
- [46] Pérez-Donoso JM, Monrás JP, Osorio-Román IO, Vásquez CC. **Synthesis of highly fluorescent GSH-CdTe nanoparticles (Quantum Dots).** *US Patent.* 2013: US20130284979 A1.
- [47] Pérez-Donoso JM, Saona LA, Órdenes-Aenishanslins N. **Síntesis química de nanopartículas de sulfuro de cobre.** *Chile Patent Application.* 2014: 912541PCT/CL2014/000073.
- [48] Pérez-Donoso JM, Venegas FA, Monrás JP. **Síntesis acuosa de nanopartículas de sulfuro de cadmio.** *Chile Patent Application.* 2014: 912543PCT/CL2014/000075.
- [49] Li X, Xu H, Chen ZS, Chen G. **Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications.** *J. Nanomater.* 2011; 270974: 1-16.
- [50] Hulkoti NI, Taranath TC. **Biosynthesis of nanoparticles using microbes.** *Colloids Surf. B.* 2014; 121: 474-483.

- [51] Mehra RK, Mulchandani P, Hunter TC. **Role of CdS quantum crystallites in cadmium resistance in *Candida glabrata*.** *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994; 200 (3): 1193-1200.
- [52] Dameron CT, Smith BR, Winge DR. **Glutathione-coated cadmium-sulfide crystallites in *Candida glabrata*.** *J. Biol. Chem.* 1989; 264 (29): 17355-17360.
- [53] Holmes JD, Richardson DJ, Saed S, Evans-Gowing R, Russell DA, Sodeau JR. **Cadmium-specific formation of metal sulfide 'Q-particles' by *Klebsiella pneumoniae*.** *Microbiology.* 1997; 143 (8): 2521-2530.
- [54] Bai HJ, Zhang ZM, Guo Y, Yang GE. **Biosynthesis of cadmium sulfide nanoparticles by photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas palustris*.** *Colloids Surf. B.* 2009; 70 (1): 142-146.
- [55] Syed A, Ahmad A. **Extracellular biosynthesis of CdTe quantum dots by the fungus *Fusarium oxysporum* and their anti-bacterial activity.** *Spectrochim. Acta Mol. Biomol. Spectros.* 2013; 106: 41-47.
- [56] Park TJ, Lee SY, Heo NS, Seo TS. **In vivo synthesis of diverse metal nanoparticles by recombinant *Escherichia coli*.** *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010; 122 (39): 7173-7178.

[57] Monrás JP, Díaz V, Bravo D, Montes RA, Chasteen TG, Osorio-Román IO, *et al.* **Enhanced glutathione content allows the in vivo synthesis of fluorescent CdTe nanoparticles by *Escherichia coli*.** *PLoS One.* 2012; 7 (11): e48657.

[58] Sweeney RY, Mao C, Gao X, Burt JL, Belcher AM, Georgiou G, Iverson BL. **Bacterial biosynthesis of cadmium sulfide nanocrystals.** *Chem. Biol.* 2004; 11 (11): 1553-1559.

[59] Yan Z, Qian J, Gu Y, Su Y, Ai X, Wu S. **Green biosynthesis of biocompatible CdSe quantum dots in living *Escherichia coli* cells.** *Mater. Res. Express.* 2014; 1 (1): 015401.

[60] Órdenes-Aenishanslins N, Saona LA, Durán-Toro V, Monrás JP, Bravo DM, Pérez-Donoso JM. **Use of titanium dioxide nanoparticles biosynthesized by *Bacillus mycoides* in quantum dot sensitized solar cells.** *Microb. Cell Fact.* 2014; 13 (1): 90.

[61] Perera AS, Subbaiyan NK, Kalita M, Wendel SO, Samarakoon TN, D'Souza F, *et al.* **A hybrid soft solar cell based on the mycobacterial porin MspA linked to a sensitizer-viologen diad.** *J. Am. Chem. Soc.* 2013; 135 (18): 6842-6845.

- [62] Renugopalakrishnan V, Barbiellini B, King C, Molinari M, Mochalov K, Sukhanova A, *et al.* **Engineering a robust photovoltaic device with quantum dots and bacteriorhodopsin.** *J. Phys. Chem. C.* 2014; 118 (30): 16710-16717.
- [63] Mohammadpour R, Janfaza S, Abbaspour-Aghdam F. **Light harvesting and photocurrent generation by nanostructured photoelectrodes sensitized with a photosynthetic pigment: A new application for microalgae.** *Bioresour. Technol.* 2014; 163: 1-5.
- [64] Mohammadpour R, Janfaza S. **Efficient nanostructured biophotovoltaic cell based on bacteriorhodopsin as biophotosensitizer.** *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2015; 3 (5): 809-813.
- [65] 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.* 2016; 162: 707-714.
- [66] Metaxas MA, Delwiche EA. **The L-cysteine desulfhydrase of *Escherichia coli*.** *J. Bacteriol.* 1955; 70 (6): 735-737.

- [67] Shatalin K, Shatalina E, Mironov A, Nudler E. **H₂S: A universal defense against antibiotics in bacteria.** *Science*. 2011; 334 (6058): 986-990.
- [68] Du F, Zhang H, Du X, Zhu J, Zhong X. **Controllable synthesis and optical properties of CdS/CdSe hetero-nanostructures with various dimensionalities.** *Mater. Chem. Phys.* 2010; 121 (1): 118-124.
- [69] Xu J, Battaglia D, Peng X, Xiao M. **Photoluminescence from colloidal CdS-CdSe-CdS quantum wells.** *J. Opt. Soc. Am. B.* 2005; 22 (5): 1112-1116.
- [70] Battaglia D, Li JJ, Wang Y, Peng X. **Colloidal two-dimensional systems: CdSe quantum shells and wells.** *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003; 42 (41): 5035-5039.
- [71] Sarker S, Seo HW, Lee KS, Jin YK, Ju H, Kim DM. **Exact analytical analysis of current density-voltage curves of dye-sensitized solar cells.** *Sol. Energy.* 2015; 115: 390-395.
- [72] Gallardo C, Monrás JP, Plaza DO, Collao B, Saona LA, Durán-Toro V, *et al.* **Low-temperature biosynthesis of fluorescent semiconductor nanoparticles (CdS) by oxidative stress resistant Antarctic bacteria.** *J. Biotechnol.* 2014; 187: 108-115.

[73] Ulloa G, Collao B, Araneda M, Escobar B, Álvarez S, Bravo D, *et al.* **Use of acidophilic bacteria of the genus *Acidithiobacillus* to biosynthesize CdS fluorescent nanoparticles (quantum dots) with high tolerance to acidic pH.** *Enzyme Microb. Technol.* 2016; 95: 217-224.

[74] Dunleavy R, Lu L, Kiely CJ, McIntosh S, Berger BW. **Single-enzyme biomineralization of cadmium sulfide nanocrystals with controlled optical properties.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2016; 113 (19): 5275-5280.

[75] Lawrence M, Testen A, Koklic T, Smithies O. **A simple method for the size controlled synthesis of stable oligomeric clusters of gold nanoparticles under ambient conditions.** *J. Vis. Exp.* 2016; 108: e53388.

[76] Durán N, Marcato PD, Durán M, Yadav A, Gade A, Rai M. **Mechanistic aspects in the biogenic synthesis of extracellular metal nanoparticles by peptides, bacteria, fungi, and plants.** *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011; 90 (5): 1609-1624.

[77] Turner RJ, Weiner JH, Taylor DE. **Selenium metabolism in *Escherichia coli*.** *Biometals.* 1998; 11 (3): 223-227.

[78] Peng X, Schlamp MC, Kadavanich AV, Alivisatos AP. **Epitaxial growth of highly luminescent CdSe/CdS core/shell nanocrystals with photostability and electronic accessibility.** *J. Am. Chem. Soc.* 1997; 119 (30): 7019-7029.

[79] Peng H, Zhang L, Soeller C, Travas-Sejdic J. **Preparation of water-soluble CdTe/CdS core/shell quantum dots with enhanced photostability.** *J. Lumin.* 2007; 127 (2): 721-726.

[80] Aldeek F, Mustin C, Balan L, Medjahdi G, Roques-Carmes T, Arnoux P, *et al.* **Enhanced photostability from CdSe(S)/ZnO core/shell quantum dots and their use in biolabeling.** *Eur. J. Inorg. Chem.* 2011; 2011 (6): 794-801.

[81] Doskaliuk N, Khalavka Y, Fochuk P. **Influence of the shell thickness and ratio between core elements on photostability of the CdTe/CdS core/shell quantum dots embedded in a polymer matrix.** *Nanoscale Res. Lett.* 2016; 11 (1): 216.

[82] Tan Y, Jin S, Hamers RJ. **Photostability of CdSe quantum dots functionalized with aromatic dithiocarbamate ligands.** *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2013; 5 (24): 12975-12983.

[83] Hanaki KI, Momo A, Oku T, Komoto A, Maenosono S, Yamaguchi Y, *et al.* **Semiconductor quantum dot/albumin complex is a long-life and highly photostable endosome marker.** *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003; 302 (3): 496-501.

[84] Wang W, Jiang G, Yu J, Wang W, Pan Z, Nakazawa N, *et al.* **High Efficiency Quantum Dot Sensitized Solar Cells based on Direct Adsorption of Quantum Dots on Photoanodes.** *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2017; 9 (27): 22549-22559.