



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

PEDOT-polymeerin käyttö bioaurinkokennossa

Kemian laitos, Materiaalikemian tutkimusryhmä

Pro Gradu -tutkielma

Laatija:

Kalle Katavisto

5.6.2024

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu

Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Pro Gradu -tutkielma

Pääaine: Kemia/Materiaalikemia

Tekijä: Kalle Katavisto

Otsikko: PEDOT-polymeerin käyttö bioaurinkokennossa

Ohjaaja: Pia Damlin

Sivumäärä: 51 sivua

Päivämäärä: 5.6.2024

Jotta aurinkoenergiaa voisi todella kutsua ympäristöystävälliseksi energian tuotantomenetelmäksi, niin raskasmetalleista pitää päästä eroon. Yksi lupaava kehityssuunta on kehittää bioaurinkokennoja, jotka käyttävät fotosynteesiin kykeneviä syanobakteereita hyödyksi sähkövirran tuottamiseksi. Tällä hetkellä valtaosa bioaurinkokennoista käyttää kuitenkin indiumtinaoksidi (ITO) -pohjaisia elektrodeja, ja indium on raskasmetalli josta pyritään pääsemään eroon. Parempi lähestymistapa onkin valmistaa työelektrodit johdepolymeereistä. Yksi parhaiten tähän käyttötarkoitukseen soveltuvista johdepolymeereistä on poly(3,4-etyleenidioksidiofeeni) eli PEDOT. Erinomainen sähkönjohtavuus, bioyhteensopivuus ja yksinkertainen valmistusmetodi tekevät PEDOT:ista hyvän elektrodimateriaalin niin tähän, kuin moneen muuhunkin käyttötarkoitukseen. PEDOT:ia voidaan käyttää esimerkiksi superkondensaattoreissa elektrodimateriaalina.

Bioaurinkokennoja hyödyntämällä pystytään tuottamaan energiaa tavoilla, jotka eivät onnistu perinteisillä pii-pohjaisilla aurinkokennoilla. Koska elektronit syntyvät syanobakteerien fotosynteesissä, joka samaan aikaan kuluttaa hiilidioksidia, niin bioaurinkokennojen tuottama energia on hiilinegatiivista. Sähköä syntyy myös silloin kuin Aurinko ei paista, sillä syanobakteerien soluhengityksessä syntyy pieniä määriä elektroneja. Vaikka soluhengityksessä syntyykin hiilidioksidia, niin nettovaikutus koko kennossa on silti hiilidioksidin osalta negatiivinen. Lisäksi bioaurinkokennon ollessa elävä aurinkokenno, niin syanobakteerit korjaavat itse itseään jolloin ikääntyminen ei aiheuta suuria ongelmia.

Tässä työssä höyryfaasipolymerisaatiolla valmistettuja PEDOT-kalvoja käytetään yhdessä syanobakteerien ja ravinneliuoksen kanssa tuottamaan sähköä. Sähkökemiallisissa mittauksissa käytetään jännitedynaamista sähkökemiallista menetelmää, syklistä voltammetriaa (CV), sähkökemiallista impedanssispektroskopiaa (EIS) ja kronoamperometriä jossa eri värisiä LED-valoja pidetään sykleittäin päällä. EIS-tekniikalla saadaan tärkeää tietoa johdepolymeerin ja syanobakteerien kontaktirajapinnan tapahtumista. Työssä käytetään myös erilaisia lisäaineita, joilla syanobakteerien fotosynteesiä saadaan tehostettua tai elektronien siirtymistä bakteerisolulta elektrodille saadaan nopeutettua. Työssä esitettyjen tulosten on tarkoitus auttaa ymmärtämään PEDOT-johdepolymeerin käyttöpotentiaalia bioaurinkokennon kaltaisissa sovelluksissa.

Avainsanat: bioaurinkokenno, elektrodimateriaalit, höyryfaasipolymerisaatio, johdepolymeerit, PEDOT, syanobakteerit, sähkökemiallinen impedanssispektroskopia

Sisällysluettelo

Lyhenteet	3
1. Johdanto	4
1.1. Teoria	5
1.1.1. Bioaurinkokenno	5
1.1.2. Elektrodimateriaalit	8
1.1.3. Elektrolyyttimateriaalit	9
1.1.4. Fotosynteesiä tehostavat välittäjäaineet	10
1.1.5. Johdepolymeerien valmistusmenetelmät	11
1.1.6. Bioaurinkokennon toimintaan liittyvät tutkimusmenetelmät ja -välineet	12
1.2. Käytetyt laitteet	13
1.3. Käytetyt kemikaalit	14
1.4. Käytetyt substraatit	15
1.5. Käytetyt kaavat ja suureet	16
2. Kokeellinen osa	16
2.1. Höyryfaasipolymerisaatio (VPP)	16
2.2. Sähkökemialliset mittaukset ilman syanobakteereita	17
2.3. Sähkökemialliset mittaukset syanobakteerien kanssa	19
3. Havainnot ja tulokset	22
3.1. Mittaukset ilman syanobakteereita	22
3.1.1. Yksi- ja kaksikerroksisten PEDOT-kalvojen UV-VIS- ja impedanssimittaukset	22
3.1.2. Yksi- ja kaksikerroksisten PEDOT-kalvojen CV-mittaukset	26
3.1.3. Eri elektrolyyttien vertailu	27
3.1.4. FTO-levyn mittaukset	31
3.2. Syanobakteeri-mittaukset	33
3.2.1. Yksikerroksisen PEDOT-kalvon mittaukset syanobakteerien kanssa ilman välittäjäaineita	33
3.2.2. Yksikerroksisen PEDOT-kalvon mittaukset syanobakteerien kanssa käyttäen välittäjäaineita	37
3.2.3. Virtavasteen parantaminen muilla tavoin	40
3.2.4. Yhteenveto tuloksista	44
4. Lopputulokset ja päätelmät	47
Viitteet	49
Liitteet	52

Käytetyt lyhenteet selityksineen

1L ja 2L	1- ja 2-kerroksinen (PEDOT)-kalvo
AP-VPP	Normaalipaine-höyryfaasipolymerisaatio
ATP	Adenosiinitrifosfaatti
BG11	Blue-Green Medium, ravinneliuos
CV	Syklinen voltammetria
EDOT	3,4-etyleenidioksitefeeni
EIS	Sähkökemiallinen impedanssispektroskopia
FADH ₂	Flaviiniadeniinidinukleotidi
NADH	Nikotiiniamidiadeniinidinukleotidi
OCP	Open Circuit Potential
PEDOT	Poly(3,4-etyleenidioksitefeeni)
TAP	Tris(hydroksimetyyli)aminometaani-asettaatti-fosfaatti liuos

1. Johdanto

Uusiutuvan energian tuotantoa pitää kasvattaa huomattavasti jo lähitulevaisuudessa. Aurinkoenergia on nykyään yksi edullisimmista ja laajimmalle levinneistä energiantuotantomuodoista. Auringosta tulee enemmän energiaa maanpinnalle tunnissa, kuin koko ihmiskunta käyttää vuoden aikana. Aurinkoenergiassa on siis paljon käyttämätöntä potentiaalia joka menee nyt hukkaan. Tällä hetkellä käytössä olevia pii-pohjaisia aurinkokennoja on jo lähes kaikkialla ja määrä kasvaa kokoajan. Pii-pohjaisten kennojen ongelmana on kuitenkin niiden valmistuksen korkea energiankulutus ja siihen tarvittavat myrkylliset aineet. Lisäksi kennot sisältävät haitallisia raskasmetalleja, kuten lyijyä ja kadmiumia. Pii-pohjaisten kennojen kierrätys ei myöskään ole yleistynyt tarpeeksi johtuen kierrätyksen vaikeudesta ja korkeasta hinnasta.

Muitakin vaihtoehtoja ja teknologioita on kehitetty aurinkoenergian hyödyntämiseksi. Näihin lukeutuvat esimerkiksi orgaaniset, väriaineherkistetyt kennot (Dye-sensitized solar cell, DSSC)- ja -perovskiiitikennot. Näissäkin on omia haasteitansa kuten raskasmetallien käyttäminen, kallis kierrättäminen sekä huono hyötysuhde. Tässä työssä keskitytään kuitenkin bioaurinkokennoihin. Niissä hyödynnetään fotosynteettisiä eliöitä jotka siis tuottavat elektroneja fotosynteesin aikana. Elektronit vapautuvat eksoelektrogeenesissä solun ulkopuolelle elektrolyyttiin, josta ne kulkeutuvat elektrodille ja hyötykäyttöön. Eliöt voivat olla aiotumaisia leviä tai esimerkiksi syanobakteereita kuten tässä työssä.

Bioaurinkokennojen etuina on ympäristöystävällisyys, edullisuus, biomassan uusiutuminen ja toimiminen pimeässä. Eräs erinomainen ominaisuus on hiilidioksidin käyttäminen fotosynteesissä, jolloin bioaurinkokennon hiilijalanjälki on negatiivinen. Biomassan uusiutuminen liittyy siihen että koska kenno on elävä, niin kennossa syntyy uusia syanobakteerisoluja vanhojen tilalle. Näin kennon elinikä voi olla hyvin pitkä kunhan solut saavat tarvitsemiansa ravinteita ja valoa. Bioaurinkokennoille ominainen piirre on myös se että niillä on mahdollista tuottaa pieniä määriä sähköä pimeällä. Kun aurinko ei paista, niin soluissa käynnistyy soluhengitys-reaktio, josta saadaan lisää elektroneja hyötykäyttöön. Bioaurinkokennojen huonoja puolia on huono hyötysuhde ja virtavasteen suhteen haitallinen hapen syntyminen fotosynteesin yhteydessä.

Tällä hetkellä bioaurinkokennojen haasteena ja suurimpana esteinä kaupallistamiselle ovat heikko virrantuotanto ja huono hyötysuhde. Suurimmat saavutetut tehotehiheydet ovat vain noin 500 mW/m^2 . Tämä tarkoittaa sitä että yhden neliömetrin kokoinen bioaurinkokenno tuottaisi energiaa kahdelle laseriodille tai 10 m^2 kenno tuottaisi energiaa yhdelle 5 W LED-lampulle.¹

Työn tarkoituksena on tutkia aiemmin tutkimusryhmässä valmistettujen PEDOT-kalvojen toimivuutta bioaurinkokennossa. Ohut johdepolymeeri PEDOT (poly(3,4-etyleenidioksitiofeeni) -kerros lasisubstraatin pinnalla toimii siis bioaurinkokennon

toisena elektrodina yleisesti käytettyjen ITO ja FTO-materiaalien tilalla. Kun kerros syanobakteereita ja ravinneliuos on lisätty mittauskennoon, niin potentiostaatilla voidaan tutkia näiden eri materiaalien yhteensopivuutta. Tässä työssä käytetään mittausmenetelminä esimerkiksi syklistä voltammetriaa (CV), impedanssimittauksia (EIS) ja valomittauksia. Valomittauksissa eri LED-valoja valaistaan PEDOT-kerroksen läpi bakteereille. Yleisesti bioaurinkokennoissa ja muissakin biofotosähkösovelluksissa käytetty indium tinaoksidi (ITO) -elektrodi tuottaa erinomaisen johtavuuden, mutta raskasmetalleja sisältävistä elektrodimateriaaleista olisi hyvä päästä eroon. PEDOT onkin materiaalina ympäristöystävällisempi ja myrkyttömämpi. PEDOT on muihin johdepolymeereihin verrattuna hyvin sähkönjohtavaa, läpinäkyvää sekä joustavaa. Nämä ovat välttämättömiä ominaisuuksia bioaurinkokennon elektrodimateriaaleille. Työn tavoitteena on tuottaa mahdollisimman korkeita virtavasteita erilaisia kokeellisia parametrejä ja materiaaleja yhdistelemällä käyttämällä PEDOT:ia bioaurinkokennon anodina. Vertailtavia asioita olivat PEDOT-kerrosten määrä, PEDOT:in ominaisuudet FTO-kalvoon verrattuna, elektrolyytin koostumus ja lisäaineiden käyttö.

1.1. Teoria

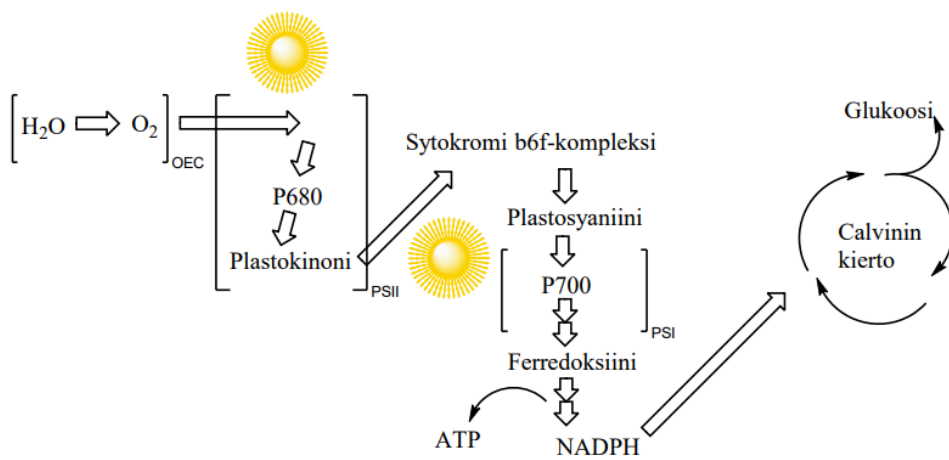
1.1.1. Bioaurinkokenno

Bioaurinkokennossa hyödynnetään syanobakteerien fotosynteesiä ja soluhengitystä sähköenergian tuotannossa. Päivisin, kun on aurinko paistaa, niin bioaurinkokenno tuottaa sähköä syanobakteerien fotosynteesin tuottaessa elektroneja, jotka saadaan siirrettyä elektrodeille. Pimeässä sähköä saadaan syanobakteerien soluhengityksestä, tällöin sähköntuotanto on tosin pienempää kuin päivisin. Näiden reaktioiden aikana syntyy elektroneja, joista osa saadaan siirtymään elektrodeille ja hyötykäyttöön. Elektronien siirtymistä solun ulkopuolelle kutsutaan eksoelektrogenesiksi. Elektronien tarkka reitti viherhiukkasilta ja mitokondrioilta solukalvon läpi on tuntematon, mutta kuvissa 1 ja 2 on esitetty kaaviokuvat reaktioista ja mahdollisista eksoelektroni-reiteistä.²

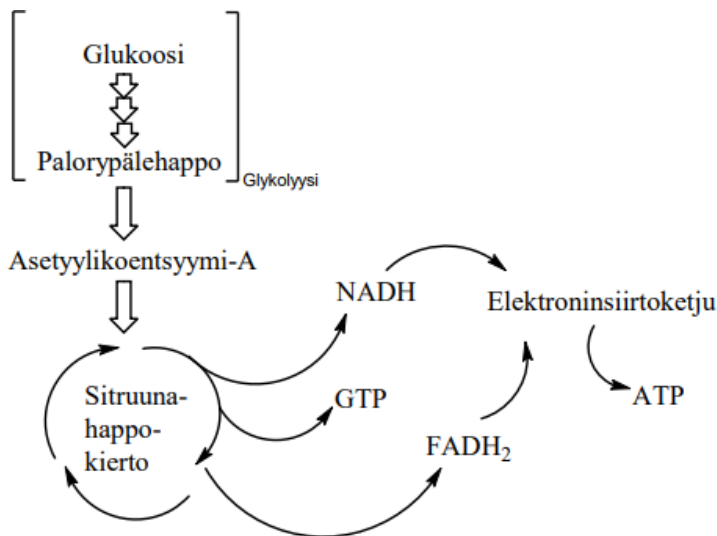
Fotosynteesin aikana syntyvien eksoelektronien uskotaan syntyvän entsyymi-systeemeissä I ja II, mutta prosessin tarkka mekanismi on tuntematon. Nämä valoreaktioiden aikana syntyneet elektronit ovat pääosassa elektronien tuotannossa, mutta myös pimeäreaktioiden kuten Calvinin kierron aikana syntyy eksoelektroneita. Valoreaktiossa viherhiukkasten tylakoidien sisällä vesi hajotetaan PSI ja PSII -entsyymien ja valon avulla vedyksi ja hapeksi. Samalla syntyy syanobakteereille tai muillekin eliöille tärkeää adenosiniinrifosfaattia (ATP). Fotosynteesin toinen vaihe, eli Calvinin reaktio tapahtuu pimeässä viherhiukkasten välitilassa eli stroomassa. Siinä hiilidioksidi pelkistetään sokereiksi ja samalla syntyy elektroneja. Kun bioaurinkokennoa käytetään sekä valossa että pimeässä, on mahdollista saada kaikki nämä syntyvät elektronit hyötykäyttöön. Yksi ongelma on valoreaktiossa syntyvät happikuplat, jotka saattavat ohjata elektroneja väärään suuntaan.^{2,3,4} Kun fotosynteettiset eliöt on yhdistetty bioaurinkokennoon, niin vesi toimii elektronilähteenä ja veden hajoamisreaktio tapahtuu

työelektrodilla. Päinvastainen reaktio jossa siis vetyionit ja happimolekyylit yhdistyvät vesimolekyyliksi tapahtuu vastaelektrodilla.⁵

Soluhengitys alkaa solulimassa tapahtuvasta glykolyysistä, jossa glukoosi hajotetaan lukuisten välivaiheiden jälkeen palorypälehapoksi eli pyruvaatiksi. Lisäksi syntyy ATP:ta. Tämän jälkeen mitokondrion sisällä tapahtuvassa sitruunahappokierrossa eli Krebsin kierrossa syntyy lisää ATP:ta ja hiilidioksidia. Samalla saadaan vedynsiirtäjä-koentsyymejä, kuten nikotiiniamiadeniinidinukleotidi (NADH) ja flaviiniadeniinidinukleotidi (FADH₂). Seuraavaksi nämä vedynsiirtäjät ja happi tuottavat vettä elektroniinsiirtoketjussa. Soluhengityksen ekoelektronit syntyvätkin tässä ATP:n tuotannossa elektroniinsiirtoketjun oksidatiivisessa fosforylaatioissa. Lähes kaikki soluhengityksen aikana syntyvä ATP tulee tästä viimeisestä vaiheesta.⁶



Kuva 1. Kaaviokuva fotosynteesistä. Sekä valoreaktioissa että Calvinin kierrossa syntyy elektroneja. Mukailtu lähteestä 7.



Kuva 2. Kaaviokuva soluhengityksestä. Eksoelektronien uskotaan syntyvän elektroninsiirtoketjussa, josta tuntematon elektroninsiirtäjä siirtää ne ulos solusta. Mukailtu lähteestä 7.

Bioaurinkokennojen teoreettinen hyötysuhde jää erittäin matalaksi, ollen vain noin 2,9%. Hyötysuhdetta saadaan nostettua käyttämällä erilaisia lisäaineita, löytämällä paras fotosynteesiin pystyvä eliö tai optimoimalla elektrodimateriaalin ominaisuuksia. Elektrodien täytyy olla erittäin hyvin sähköä johtavia sekä niiden aktiivisen pinta-alan on oltava mahdollisimman suuri. Elektronien hyödyntämisen tehostaminen voidaan jakaa neljään eri mekanismiluokkaan. Ensimmäisessä mekanismissa kloroplastin sisällä syntyvät elektronit pyritään ohjaamaan suoraan valoreaktion jälkeen ulos solusta. Lisäaineita, jotka saavat tämän aikaan on esimerkiksi bd-kinolioksidaasi (Cyd), sytokromi c oksidaasi (COX) ja flavodiiron proteiinit (FDP).^{2,8}

Toinen luokka on fotosynteettisen mikrobin optimointi. Syanobakteereita on monia eri lajeja, joilla kaikilla on omat ominaisuutensa. Synechocystis, Synechococcus ja Nostoc ovat syanobakteerien lajeja joita voidaan käyttää bioaurinkokennoissa. Lisäksi myös eräitä fotosynteettisiä leviä voidaan käyttää, esimerkkinä näistä ovat Chlamydomonas, Chlorella ja Dunaliella. Nämä levälajit kuuluvat kuitenkin aiotumaisiin, joten eksoelektrogeneesi vaatii elektronin kulkemisen soluseinän ja solukalvon läpi, mikä vaikeuttaa elektronien hyödyntämistä parhaalla mahdollisella tavalla.² Geeniteknologioilla voidaan parantaa esimerkiksi mikrobin välittäjäaineiden tuotantoa, mikä parantaa hyötysuhdetta ja sähköntuotantoa. Sekä kemiallisilla että optogeneettisillä menetelmillä on mahdollista mutatoita promootoreita. Mutantti-promootorit mahdollistavat erilaisen RNA-molekyylin valmistuksen transkriptiossa ja uudenlaisten proteiinien valmistuksen proteiinisynteesissä.⁹

Kolmannessa luokassa bakteerisolun ja elektrodin kontaktia voidaan parantaa. Tämä voi tapahtua esimerkiksi elektrodin pinnan geometrian muokkaamisella tai sen pinnalle valmistetusta nanopinnoitteesta. Neljäs luokka sisältää kokonaisuuden eli koko sähköpiirin optimoinnin. Tähän kuuluu resistanssin minimointi ja tehokkuuden lisääminen esimerkiksi laitteen kokoa pienentämällä.²

Elektronit voivat siirtyä soluilta anodille monin eri tavoin. Suorassa elektroninsiirrossa (Direct extracellular electron transfer, DEET) elektronit kulkevat suoraan solulta elektrodille ilman mitään välittäjäaineita. Epäsuorassa elektroninsiirrossa (Indirect extracellular electron transfer, IEET) elektronit tarvitsevat elektroninsiirtäjiä avukseen.¹⁰ Eksoelektronien siirtäjämolekyylit hapettuvat elektrodilla.¹¹ Epäsuoraa elektroninsiirtoa pidetään todennäköisempänä ja merkittävämpänä mekanismina, vaikka tätä endogeenistä välittäjäainetta ei olekaan vielä tunnistettu. Yleisesti syanobakteerien ulkopinnoilla olevien flagellojen eli siimojen on uskottu olevan keskeisessä roolissa elektronien siirrossa solun ulkopuolelle, mutta soluseinien välitilan rakenteen merkitys virrantuotannossa on huomattavasti suurempi.¹²

Koska tällä hetkellä bioaurinkokennoista ei ole kaupallisia versioita, niin niiden mahdollisesta rakenteesta ei ole tietoa. Pii-pohjaisten aurinkokennojen rakennetta soveltamalla kennossa olisi läpinäkyvä PEDOT-kalvo anodina ja läpinäkymätön metalli katodina. Näiden välissä olisi syanobakteerit elektrolyyttiliuoksessa. Käytännön ongelmana ainakin Suomessa olisi liian vähäinen valon määrä ja kylmyys, mikä rajoittaisi bioaurinkokennojen käytön sisätiloihin. Syanobakteerit tarvitsevat säännöllisesti valoa ja tarpeeksi lämpöä elääkseen. Haasteita asettaa myös heikko hyötysuhde, mikä vaatii suuren pinta-alan bioaurinkokennoja pienen virran tuottamiseen.

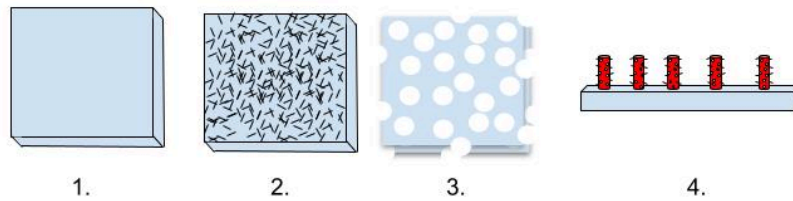
1.1.2. Elektrodimateriaalit

Bioaurinkokennon anodi vastaanottaa elektronit joko fotosynteesistä tai soluhengityksestä. Anodin on tärkeää olla erittäin hyvin sähköä johtava, bioyhteensopiva ja kemiallisesti kestävä. Hyviä ominaisuuksia ovat myös läpinäkyvyys, joustavuus ja edullinen hinta. Elektrodimateriaalit voidaan jakaa neljään eri sukupolveen. Ensimmäisen sukupolven elektrodeja yritettiin valmistaa 1980-luvulla hyvin sähköä johtavista metalleista tai tinaoksidista, mutta ne eivät olleet tarpeeksi bioyhteensopivia käytettäväksi bakteerien kanssa. Hyötysuhde jäi erittäin alhaiseksi, joten elektrodimateriaalin vaihtaminen oli välttämätöntä. Toisessa sukupolvessa 2000-luvun alussa bioyhteensopivuus otettiin huomioon ja elektrodit valmistettiin hiilipohjaisista materiaaleista kuten pelkistetystä grafeenioksidista, grafeenista tai muista ohuista hiilikalvoista. Näillä oli lisäksi epätasainen pinta, joten mikrobit pystyvät tarttumaan niiden pintaan paremmin. Sähköjohtavuus ei kuitenkaan ollut riittävän hyvällä tasolla.¹³

Kolmannessa sukupolvessa 2010-luvulla hyväksi havaittuja ominaisuuksia eli huokoisuutta ja läpinäkyvyyttä hyödynnettiin valmistamalla elektrodeja joko indium tinaoksidista tai fluorilla seostetusta tinaoksidista (FTO) ja titaanioksidista (TiO₂). Pieni pinta-resistanssi ja kestävyys niin kemiallisesti kuin mekaanisestikin tekevät ITO:sta monin tavoin ihanteellisen elektrodimateriaalin. Vaikka nämä materiaalit olivatkin ympäristölle haitallisia ja suhteellisen kalliita, niin ne ovat olleet pitkään parhaita mahdollisia elektrodimateriaaleja bioaurinkokennoihin. Materiaalin huokoisuutta säätämällä, eli reikien kokoa muuttamalla elektrodimateriaali voitiin optimoida eri mikrobeja varten. Mikrometrien kokoiset reiät sopivat parhaiten pienemmille syanobakteereille ja millimetrien kokoluokassa olevat reiät olivat levien kannalta parhaita.^{2,13}

Kolmannen sukupolven materiaaleilla saatiin jopa 16-kertaisia virrantiheyksiä toisen sukupolven hiilimateriaaleihin verrattuna.¹⁴ Ero tasaisten ja huokoisten materiaalien (Kuva 3.) välillä on valtava, sillä 10-100 µm kokoisia reikiä sisältävät materiaalit tuottavat 300 kertaa suurempia virtoja. Viime vuosina on myös kehitetty aerosoliteknikalla 3D-tulostettuja ITO-elektrodeja. Näitä voisi kutsua neljännen sukupolven materiaaleiksi, koska ero edelliseen sukupolveen virrantiheydessä on hyvin merkittävä.² Kuvassa 3. näkyy 3D-pilareita, jotka tulevat tason pinnasta ulospäin. Näissä on enemmän aktiivista pinta-alaa verrattuna nano- tai mikrohuoisiin pintarakenteisiin. Neljännen sukupolven materiaalit ovat ainoita jotka ovat saavuttaneet saman suuruusluokan virrantiheyksiä kuin bioaurinkokennojen

teoreettinen maksimiarvo, joka on noin $340 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.¹⁵ *Synechocystis* sp. PCC 6803-syanobakteerisolut ovat halkaisijaltaan noin $1,5 - 2,5 \mu\text{m}$, eli mikrohuokoisen pinnan huokokset ovat lähimpänä solun kokoa.^{16,17}



Kuva 3. Erilaisia anodin pintarakenteita. 1. on tasainen pinta, 2. on nanohuokoinen pinta, 3. mikrohuokoinen pinta ja 4. sisältää haarautuvia pilareita tasosta ulospäin. Mukailtu lähteestä 15.

Sekä FTO että ITO ovat myrkyllisiä ja ympäristölle haitallisia aineita.¹⁸ Indium on lisäksi harvinainen metalli joka bioakkumuloituu luonnossa. Kun käytetään johdepolymeerejä, kuten PEDOT:ia, niin saadaan valmistettua bioyhteensopivia ja ympäristölle ystävällisempiä materiaaleja. Lisäksi PEDOT on materiaalina erittäin sähköä johtavaa, kevyttä, läpinäkyvää ja joustavaa. Nämä ominaisuudet tekevät siitä monikäyttöisen elektrodimateriaalin, koska esimerkiksi joustavien bioaurinkokennojen valmistus on mahdollista. Elektrodin läpinäkyvyys mahdollistaa sen, että valo pääsee syanobakteereille myös elektrodimateriaalin lävitse.¹¹ PEDOT:ia voidaan käyttää esimerkiksi lasi- tai grafiittisubstraatin pinnalle kiinnitettynä. PEDOT:in ja hiilikankaan muodostama komposiittimateriaali on yksi tutkituimmista anodimateriaaleista.¹³

Elektrodien pintarakennetta muokkaamalla voidaan kasvattaa aktiivista pinta-alaa, jolloin bioaurinkokennon hyötysuhde paranee. Pienet reiät parantavat esimerkiksi hapen ja ravinteiden liikkumista elektrodin sisällä. Tärkeimpiä tekniikoita elektrodien rakenteen muokkaamiseen ovat litografia ja kemiallinen höyrypinnoitus. Myös elektrodin pinnalla olevat funktionaaliset ryhmät ja elektrodin kerroksellinen rakenne vaikuttavat elektronien siirtymistehokkuuteen elektrolyytistä elektrodille. Esimerkiksi kerros positiivisesti varautuneita polymeerejä vetää negatiivisesti varautuneita elektroneita ja jopa syanobakteerisoluja puoleensa.¹³

1.1.3. Elektrolyyttimateriaalit

Elektrolyyttimateriaalin täytyy olla tarpeeksi sähköä johtava jotta elektronit liikkuvat tehokkaasti yhteyttäviltä eliöiltä elektrodeille, mutta samaan aikaan suolapitoisuus ei saa olla liian korkea jotta eliöt eivät kuole. Myös läpinäkyvyys ja kemiallinen stabiilius ovat tärkeitä ominaisuuksia, jotta kennon sähköntuotanto olisi mahdollisimman tehokasta. Yleisimmät sähköä johtavat ravinneliuokset joita käytetään bioaurinkokennoissa ovat BG11, Zarrouk-liuos, ferrisyanidi, Kosaric-liuos, Boldin liuos ja Tris(hydroksimetyyli)-aminometaani-asettaatti-fosfaatti liuos (TAP).¹³ Eri ravinneliuksilla on erilainen koostumus, eri pH ja erilaiset puskuriominaisuudet. Näiden ravinneliuosten pääkomponentit on lueteltu taulukossa 1. Eri liuokset sopivat eri eliöiden kanssa yhteen. Näitä ravinneliuksia voidaan

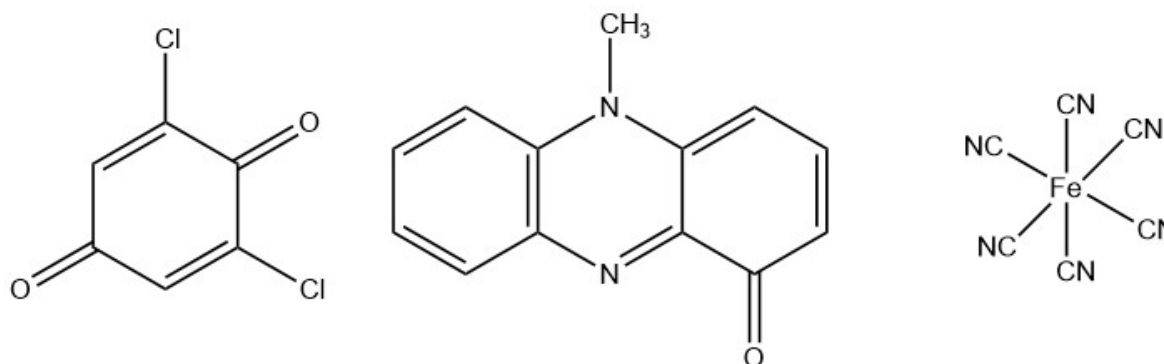
muokata esimerkiksi pH:ta muokkaamalla tai sähkönjohtavuutta parantamalla. Suolapitoisuuden lisääminen parantaa liuoksen elektrolyyttiominaisuuksia, mutta bioyhteesopivuus usein kärsii. On kuitenkin kehitetty syanobakteerikantoja, jotka kestävät korkeampia suolapitoisuuksia.¹³

Taulukko 1. Tärkeimpien ravinneliuosten pääkomponentit.

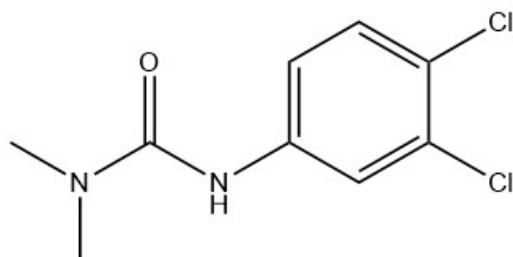
BG11	Zarrouk-liuos	Ferrisyanidi	Kosaric-liuos	Boldin liuos	TAP
NaNO ₃	NaHCO ₃	[Fe(CN) ₆] ³⁻	NaHCO ₃	NaNO ₃	NH ₄ Cl

1.1.4. Fotosynteesiä tehostavat välittäjäaineet

Fotosynteesiä voidaan ohjata haluttuun suuntaan. Usein haluttu suunta on fotosynteesin ja sähkötuotannon maksimointi, jolloin voidaan käyttää lisäaineita (Kuva 4.) Yleisesti käytettyjä lisäaineita ovat esimerkiksi 2,6-dikloori-1,4-bentsokinoni (DCBQ), pyosyaniini (PYO) ja ferrisyanidi ([Fe(CN)₆]³⁻). Näillä lisäaineilla elektronien siirtymistä syanobakteerisoluilta elektrodeille saadaan tehostettua. DCBQ tehostaa elektronien eksoelektrogeneesiä erityisesti 0,3 V (vs. Ag/AgCl) jännitteellä, PYO toimii jopa 0,1 V jännitteellä ja ferrisyanidi puolestaan korkeammilla 0,5 V jännitteillä. Tarvittaessa fotosynteesi voidaan lähes pysäyttää käyttämällä 3-(3,4-dikloorifenyyli)-1,1-dimetyyliurea (DCMU)-inhibiittoria (Kuva 5.) Olisi ihanteellista jos bioaurinkokenno tuottaisi tarpeeksi hyviä tuloksia ilman lisäaineita, sillä näillä lisäaineilla on haitallisia vaikutuksia. Esimerkiksi DCBQ on myrkyllistä ja karsinogeenistä. Kaikkien välittäjäaineiden käyttö vaatii tarkkaa tutkimusta aineiden vaikutuksista ja mahdollisista haittavaikutuksista.¹⁹



Kuva 4. Yleisesti käytössä olevia lisä-aineita. Vasemmalla DCBQ, keskellä PYO ja oikealla [Fe(CN)₆]³⁻.



Kuva 5. Fotosynteesiä inhiboiva DCMU.

Rasvaliukoisia lisäaineita kuten kinonien ja fenatsiinien johdannaisia löytyy muun muassa *Escherichia coli* -bakteereista luontaisesti. DCBQ:n lisäksi luonnollisia kinoni-välittäjäaineita on esimerkiksi hydroksi-1,4-naftakinoni (HNQ). Näiden aineiden toimintamekanismi perustuu aineen kykyyn läpäistä syanobakteerin solukalvo ja soluseinä. Näin välittäjäaine pääsee solun sisälle tehostamaan elektronien siirtymistä elektroninsiirtoketjusta soluliman kautta ulos solusta.¹⁹

Kaliumferrisyaniidi ilmeisesti tehostaa NADPH:n siirtymistä solukalvolle siinä olevan pintaproteiinin kautta. Tarkka mekanismi ja elektroninsiirtäjä viherhiukkaselta solukalvolle on tuntematon. $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ei läpäise solukalvoa kokonaan, ainoastaan sen ulomman osan, joten se vaikuttaa solukalvon sisällä. Muut vesiliukoiset lisäaineet, kuten flaviinit vaikuttavat samankaltaisella mekanismilla. Flaviini ei kuitenkaan läpäise edes solukalvon ulointa osaa, jolloin solukalvon ulko-osassa oleva dekaheemi c-tyypin sytokromi -pintaproteiini tuo elektronit solukalvon ulkopuolelle.¹⁹

DCMU inhiboi PSII:n toiminnan, jolloin elektronit eivät etene PSII:sta eteenpäin plastokinoniin. DCMU estää koko fotosynteesin etenemisen, eli eliö johon inhibiittoria laitetaan ei pysty myöskään tuottamaan ATP:ta. Tämä ei kuitenkaan estä elektronien syntymistä soluhengityksen aikana. DCMU:n kaltaisten inhibiittorien käyttäminen bioaurinkokennojen toiminnan tutkimiseen on tärkeää. Ei ole tarkkaa tietoa missä fotosynteesin vaiheessa suurin osa elektroneista irtoaa käytettäväksi, joten inhibiittoreita on käytetty jotta nähdään sen vaikutus virtavasteeseen ja syanobakteerien toimintaan. DCMU:n tarkka mekanismi on tiedossa, joten sitä käyttämällä ja virtavastetta vertailemalla voidaan päätellä eksoelektrogeenin toimintaa.²⁰

1.1.5. Johdepolymeerien valmistusmenetelmät

Johdepolymeerejä voidaan valmistaa monella eri tavalla, joista yleisimmät ovat kemiallinen, sähkökemiallinen ja siirtymämetalli-avusteinen polymerisaatiomenetelmä. Kemiallisiin menetelmiin lasketaan tässäkin työssä PEDOT:in valmistukseen käytetty höyryfaasipolymerisaatio (Vapour phase polymerisation, VPP), mutta muita menetelmiä ovat spin coating sekä hapettava kemiallinen kaasufaasipinnoitus (Oxidative chemical vapour deposition, oCVD). Sähkökemiallisiin tapoihin lasketaan galvanostaattinen, potentiostaattinen ja potentiodynaaminen valmistusmenetelmä. Myös templaatteja voidaan hyödyntää johdepolymeerien synteesissä.²¹

VPP on menetelmä jolla on mahdollista valmistaa erittäin ohuita ja hyvin sähköä johtavia kalvoja substraatin pinnalle. Substraatin ei tarvitse olla sähköä johtava, toisin kuin sähkökemiallisessa menetelmässä mikä mahdollistaa laajat käyttömahdollisuudet. Menetelmässä monomeeri höyrytetään ja polymerisoidaan hapettimen ja lämmön vaikutuksesta halutuksi polymeerikalvoksi. Usein menetelmässä käytetään alipainetta, mutta polymerisaatio on mahdollista suorittaa myös normaalissa ilmanpaineessa. Tässä työssä käytettiin juurikin tätä AP-VPP-menetelmää, koska se ei kuluta niin paljon energiaa ja on edullisempi. AP-VPP on myös erittäin nopea menetelmä. Hapettimena VPP:ssä voidaan

käyttää esimerkiksi rautatosisyalaattia, rautakloridia tai halogeenejä. Johdepolymeerikalvo on mahdollista valmistaa sekä lasi- että PET-muovisubstraatin pinnalle.²²

Muut kemialliset polymerisaatiometodit, kuten spin coating ja oCVD ovat erittäin käytettyjä valmistustapoja erityisesti PEDOT:in valmistukseen. Spin coating on suhteellisen helppo ja edullinen tapa, mutta valmistetun kalvon laatu ei usein ole yhtä hyvä kuin muilla menetelmillä. Elektrolyytin pitää myös olla liukoinen ja PEDOT:in kohdalla se tarkoittaisi polystyreeni sulfonaatin (PSS) lisäämistä PEDOT:iin. OCVD käyttää hapetinta kuten VPP-menetelmänkin, mutta lähtöaineet ovat yleensä nestemäisiä. Yleisesti käytettyjä hapettimia ovat esimerkiksi höyrystetyt rauta(III)kloridi, mangaani-ionit ja CuCl_2 . Yli 600 °C lämpötilassa suoritettava CVD on vaikeasti hallittavissa oleva menetelmä, joten tasalaatuisten kalvojen valmistus saattaa olla vaikeaa.²¹

Sähkökemialliset menetit eivät käytä hapettimia, joten monomeerit hapetetaan käytetyllä potentiaalilla. Galvanostaattinen menetelmä käyttää tähän tasavirtaa, potentiostaattinen menetelmä käyttää tasajännitettä. Näillä molemmilla tavoilla valmistuva polymeeri on valmiiksi johtavassa muodossa. Potentiodynaamiset menetelmät, kuten syklinen voltammetria on menetelmä jossa jännitettä vaihdetaan syklisesti. Tässä polymeeri on vuorotellen sekä johtavassa että neutraalissa muodossa. Sähkökemiallisilla tavoilla valmistetut johdepolymeerikalvot, kuten PEDOT tai PAz ovat usein epätasaisia pinnoiltaan.^{22,23} Siirtymämetalli-avusteinen polymerisaatio voidaan suorittaa esimerkiksi nikkeliä sisältäviä katalyyttejä käyttäen. Tällaisia katalyyttejä ovat esimerkiksi bis(1,5-syklo-oktadieeni)Ni(0).²⁴

1.1.6. Bioaurinkokennon toimintaan liittyvät tutkimusmenetelmät ja -välineet

Työssä käytettiin monia eri mittausten menetelmiä, kuten pinta-resistanssin mittaaminen, UV-VIS, CV, EIS ja valomittaus. Näistä jokaisella oli oma tarkoituksensa joko elektrodin ominaisuuksien tai bioaurinkokennon toiminnan tutkimiseksi. Pinta-resistanssin mittaamisella saadaan tietoa valmistetun polymeerikalvon tasalaatuisuudesta. Pinta-resistanssi ja kääntäen sähkönjohtavuus mitataan yleensä viidestä eri kohdasta kalvon pinnalta. Näin nähdään onko sähkönjohtavuus sama sekä kalvon keskellä että reunoilla. Kalvon valmistustavasta riippuen polymeeri saattaa jäädä paksummaksi kerrokseksi substraatin keskelle tai sitten materiaalia kertyy reunoille. Syitä epätasaiselle kalvolle on monia, kuten substraatin pinnassa olevat epäpuhtaudet, huonosti levittynyt hapetin, epäpuhtaudet reagensseissa tai polymerisaation aikana tapahtuneet virheet.

UV-spektroskopiolla pystytään tarkistamaan valmistetun kalvon paksuus. Mitä paksumpi kerros polymeeriä on substraatin pinnalla, niin sitä vähemmän siitä menee valo läpi. Absorbanssia tai transmittanssia mitattaessa nähdään usein sama tulos kuin paljaalla silmälläkin, eli kalvon paksuus kasvaa ja johtavuus paranee sen läpinäkyvyyden vähetessä. Tämä pätee tietenkin vain silloin kun kyseessä on läpinäkymätön polymeerikalvo. Jos kalvo on valmistettu täysin läpinäkyvästä materiaalista, niin kalvon paksuuden mittaamiseen täytyy käyttää eri menetelmiä kuten sähkökemiallisia mittaustapoja tai atomivoimamikroskopiaa (AFM).²⁵

Sykliisellä voltammetrialla pystytään selvittämään elektrodimateriaalin sähkökemiallisia ominaisuuksia elektrodina ja elektrolyytin mahdollisia epäpuhtauksia erittäin helposti ja nopeasti. Kun polymeerikalvo on valmistettu, niin sen toimivuutta työelektrodina kolmielektrodi-kennossa voidaan mitata käyttäen CV:tä eli syöttämällä kennoon eri jännitteitä ja katsomalla minkälainen virtavaste saadaan. Tässä vaiheessa nähdään minkälainen kapasiteetti elektrodilla on. Samaan aikaan elektrolyytissä olevia epäpuhtaudet kuten happi voidaan havaita normaalista poikkeavina hapetus-pelkistysreaktioina. Nämä näkyvät muuten tasaisessa CV:ssä piikkeinä.²⁶

Sähkökemiallinen impedanssispektroskopia on hyvä menetelmä virtapiirin toimivuuden ja ominaisuuksien tutkimiseen. Menetelmällä saadaan selville esimerkiksi elektrodien välinen resistanssi eli käytetyn elektrolyytin resistanssi. Tämä resistanssi kuvaa elektronien liikkuvuutta elektrolyytistä elektrodien pinnalle. Menetelmässä kennoon syötetään vakiojännite tietyllä taajuudella ja tuloksena saadaan impedanssin (Z) kaksi osaa. Nämä osat ovat reaali- ja imaginaariosa, jotka ilmaisevat resistanssin (R) ja reaktanssin (X). Nyquist-tyyppisestä impedanssikuvaajasta saadaan selville myös varauksensiirron resistanssi mikä näkyy mahdollisen puolikaaren muotoisen kuvaajan kaaren leveytenä. Kaaren ensimmäinen mittauspiste pienimmällä taajuudella kertoo elektrolyytin resistanssin. Virtapiiristä voidaan muodostaa kuvitteellinen ekvivalenttipiiri, millä kuvataan yksinkertaisella tavalla resistanssia ja kapasitanssia.²⁷ Impedanssidata muodostuu saatavan signaalin magnitudista ja sinimuotoisten signaalien vaihe-erosta.²⁸

Valomittauksella tarkoitetaan kronoamperometriä johon on yhdistetty ulkoinen LED-valolähde. Siinä saadaan siis tietoa itse bioaurinkokennon tuottaman virran määrästä. Menetelmässä sähkökemialliseen kennoon syötetään vakiojännitettä kun samaan aikaan kennoa valaistaan tietyn värisellä valolla. Tuloksena saadaan jokin virtavaste mikä syntyy fotosynteesin eliöiden reagoitessa valoon. Jos kennossa olevat syanobakteerit ovat eläviä, eli eliöt ovat fotosynteesiin kykeneviä ja niihin yhteydessä olevat elektrodit pystyvät kuljettamaan elektronit ulkoiseen virtapiiriin, niin kenno tuottaa sähkövirtaa ja se voidaan havaita tällä menetelmällä. Mittauksessa voidaan käyttää erivärisiä valoja erilaisilla valotehoilla jotta nähdään minkälaiseen valoon kenno reagoi parhaiten. Kun elektrodimateriaalina käytetään sähkökemiallisesti aktiivisia johdepolymeerejä, niin myös kennon jännitteellä on vaikutusta.²⁹

1.2. Käytetyt laitteet

Sähkökemiallisissa mittauksissa käytettiin potentiostaattia (IviumStat) (Kuva 6.) ja siihen yhdistettyä IviumSoft-tietokoneohjelmaa. Valomittauksissa käytössä oli Modulight-valomoduuli (Ivium Technologies), joka oli yhdistettynä potentiostaattiin. UV-VIS-mittaukset tehtiin Agilent Technologies Cary 60 -UV-VIS-spektrofotometrillä ja siihen yhdistetyllä Cary-tietokoneohjelmalla. Ensimmäisen syanobakteerierän käsittelyssä käytössä oli sentrifugi Biofuge Stratos (Heraeus Instruments). Kalvojen pesussa sekä hapettimen valmistuksessa puolestaan käytettiin ultraäänipesuriä (VWR USC-THD Ultrasonic cleaner). Kalvojen valmistuksessa käytettiin myös vesihauteita Heidolph VV2000

sekä Thermonix 1440. Kalvojen karakterisointiin käytettiin lisäksi pinta-resistanssi-mittaria (Jandel RM3000+). Elektrolyyttien johtavuutta mitattiin puolestaan LabQuest Mini-laitteella.



Kuva 6. Käytössä ollut Ivium Technologiesin IviumStat-potentiostaatti.

1.3. Käytetyt kemikaalit

Taulukko 2. Työssä käytetyt kemikaalit ja niiden molekyylimassat ja CAS-numerot sekä riskiluokitukset asteikolla 1-5.

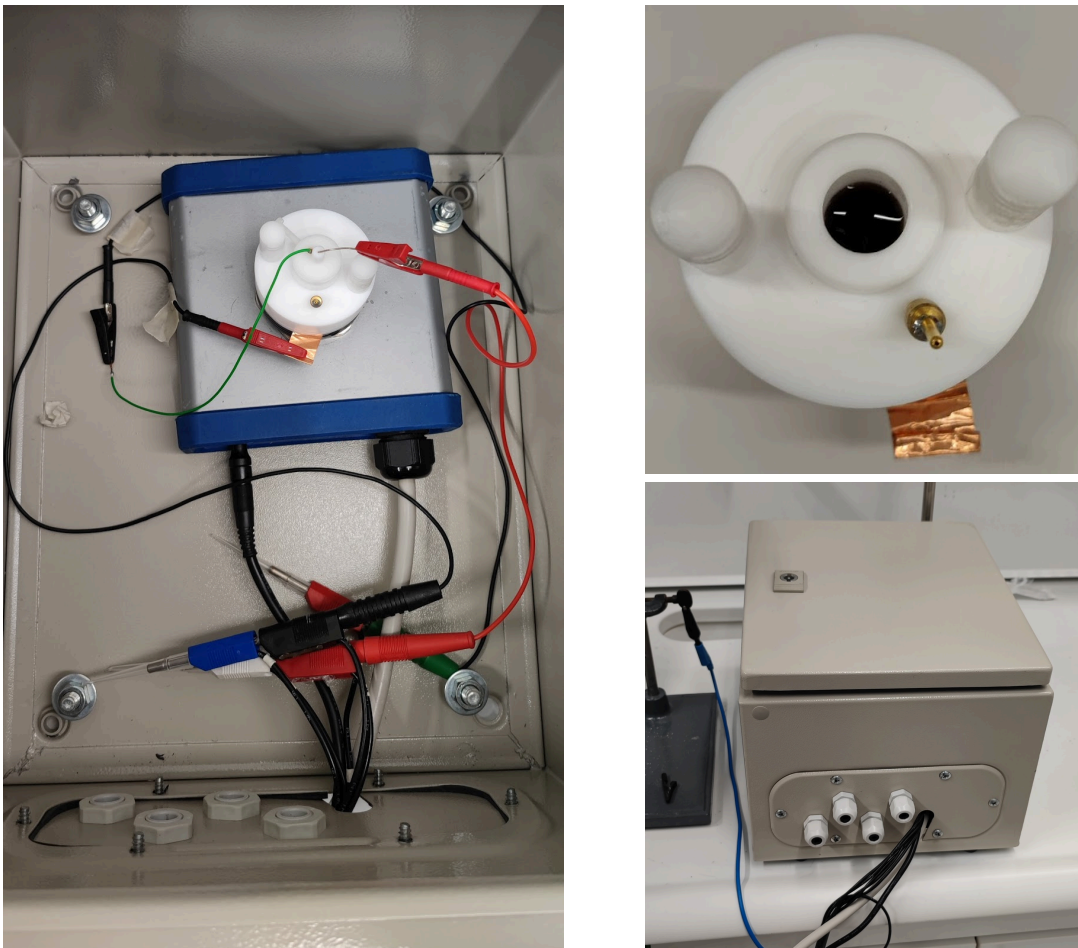
Kemiallinen kaava	Nimi	Molekyylimassa (g/mol)	Riski (1-5)	CAS numero
$(\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3)_3\text{Fe} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Rautatosylaatti	677,52	3	312619-41-3
$\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$	asetonitrili	41,05	1	75-05-8
$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	asetoni	58,08	1	67-64-1
$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	etanoli	46,07	1	64-17-5
$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{C}_4\text{H}_2\text{S}$	EDOT	142,17	2	126213-50-1
$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$	Pyridiini	79,10	1	110-86-1
$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$	1-Butanoli	74,12	1	71-36-3
NH_4OH	ammoniumhydroksidi	35,05	2	1336-21-6
H_2O_2	Vetyperoksidi	34,25	2	7722-84-1
NaNO_3	Natriumnitraatti	85,00	2	7631-99-4
$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$	DCMU	233,09	2	330-54-1
$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	Ferrisyanidi	211,97	2	13408-62-3
$\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2\text{O}_2$	DCBQ	176,98	1	697-91-6

Taulukon 2. kaikki muut kemikaalit olivat kaupallisia reagensseja, paitsi käytetyt lisäaineet. Inhibiittori DCMU ja elektronien siirtymistä tehostavat lisäaineet ferrisyanidi ja DCBQ saatiin Turun yliopiston molekulaarisen kasvibiologian laitokselta. Myös käytössä olleet syanobakteerit ja ravinneliuokset saatiin sieltä. Nämä lisäaineet ja ravinneliuokset olivat valmiina käytettäväksi, mutta ensimmäinen syanobakteerierä laimennettiin itse tiivistepelletistä.

1.4. Käytetyt substraatit

PEDOT-kalvot oli valmistettu 37,5 X 25 mm lasilevyjen (VWR Microscope slides (631-1552) pinnalle. Sähkökemiallisissa mittauksissa käytössä oli teflonmuovinen kenno, jossa oli referenssielektrodina Ag/AgCl-lanka ja vastaelektrodina polttamalla puhdistettu platinalanka. Kenno oli avattavalla kannella varustettu kenno, jossa ylä- ja alaosat olivat kahdella ruuvilla kiinni toisissaan. Ylhäältäpäin otettu kuva kennosta löytyy kuvasta 7.

Kennoissa oli myös työelektroodin, eli PEDOT-lasilevyn ja liitännän välillä pala kupariteippiä (Ted Pella inc., 16074, 3M™ Copper Conductive Tape Double Coated, 12,7 mm x 16,4 mm) johtavuuden parantamiseksi. Kupariteippi oli kuitenkin leikattu niin että se ei ollut ravinneliuksen tai syanobakteerien kohdalla estämässä suoran yhteyden elektroodin ja elektrolyytin välillä. Vertailun vuoksi käytössä olleet FTO- ja ITO-pinnoitteiset lasisubstraatit olivat myös kaupallisia tuotteita. Sähkökemiallisissa kennoissa käytettiin tiivisterenkaana Kalrez® -kumista valmistettua rengasta.



Kuva 7. Vasemmalla kuva käytössä olleesta sähkökemiallisesta kennosta Faradayn häkissä. Kenno on Modulight-valomoduulin päällä ja johdot ovat kytkettyä elektrodeihin. Ylhäällä oikealla kuva pelkästä kennosta, jossa syanobakteerit ja ravinneliuos on sisällä PEDOT-kerroksen päällä. Kuvassa näkyy myös kupariteippi, johon työelektroodin johto yhdistettiin. Alhaalla oikealla kuva Faradayn häkistä kansi suljettuna.

1.5. Käytetyt kaavat ja suureet

$$(1) m = n \cdot M$$

m= massa (g)

n=ainemäärä (mol)

M=moolimassa (g/mol)

$$(2) n = c \cdot V$$

c= konsentraatio (mol/l)

V= tilavuus (l)

$$(3) m = V \cdot \rho$$

ρ = tiheys (g/ml)

$$(4) \text{nmol/ml} = 10,854 \cdot (\text{Abs}_{680 \text{ nm}} - \text{Abs}_{750 \text{ nm}})$$

2. Kokeellinen osa

2.1. Höyryfaasipolymerisaatio

Ensin valmistettiin PEDOT (poly(3,4-etyleenidioksidiofeeni)) -kalvoja lasilevyn pinnalle. Valmistus tapahtui normaalipaine-höyryfaasipolymerisaatiolla eli atmospheric pressure-vapor phase polymerisation (AP-VPP). Valmistus käsitti lasilevyjen huolellisen pesun ja levyjen pinnoittamisen. Valmistus alkoi 25 mm x 24 mm kokoisten lasilevyjen leikkaamisella (VWR Microscope slides (631-1552) mikroskooppilasilevyistä. Lasilevyt asetettiin teflon-telineeseen, jossa ne pestiin ultraäänipesurilla (VWR USC-THD Ultrasonic cleaner) käänteisosmoosilla puhdistetussa vedessä, asetonissa ja etanolissa. Pesu kesti viisi minuuttia jokaisessa liuoksessa ja levyt huuhdeltiin ainoastaan viimeisen etanolipesun jälkeen puhtaalla vedellä.

Seuraavaksi ne pestiin RSC-pesuliuoksella, joka sisälsi 5:1:1 puhdasta vettä, vetyperoksidia ja ammoniumhydroksidia. 70 millilitraa tätä RSC-liuosta kuumennettiin lämpölevyllä 80 °C, minkä jälkeen lämmitys sammutettiin. Levyjä pidettiin liuoksessa viisi minuuttia, minkä jälkeen ne huuhdeltiin puhtaalla vedellä ja etanolilla. Levyt asetettiin teflon-telineessä kuivumaan yön yli. Teline jätettiin noin 20° kulmaan jotta ylimääräinen neste valuisi levyistä ja telineestä pois. Seuraavana päivänä levyt vielä plasmapuhdistettiin (Harrick plasma, johon yhdistettynä vakuumpumppu Agilent technologies IDP-3 Dry Scroll Vacuum Pump). Plasmapuhdistuksessa käytettiin happea korkealla teholla 15 l min⁻¹ virtausnopeudella ja plasmaa pidettiin päällä viiden minuutin ajan. Puhdistetut lasilevyt käytettiin välittömästi polymerisaatioissa. Valmiita kalvoja säilytettiin eksikkaattorissa jotta ilman epäpuhtaudet eivät kontaminoisi levyjä.

PEDOT-kerros valmistettiin puhdistettujen levyjen pinnalle levittämällä rautatosylaatti-hapetin levyn pinnalle ohueksi kerrokseksi spinnerin (Eppendorf centrifuge 5415D) avulla. Hapetin valmistettiin mittaamalla ensin 160 mg rautatosylaattia, 0,5 ml butanolia ja 11,4 µl pyridiiniä eppendorf-putkeen. Tähän lisättiin vielä butanolia sen verran

että yhden millilitran kokonaistilavuus saavutettiin. Hapetinta sonikoitiin viisi minuuttia jotta kaikki rautatosylaatti liukenisi butanoliin. Hapetin siirrettiin ruskeaan lasipulloon, joka käärittiin alumiinifolioon jotta se olisi valolta suojassa. Hapetinta käytettiin enintään viisi päivää sen valmistamisen jälkeen. Puhdistettu lasilevy asetettiin spinneriin pyörimään 2400 kierrosta minuutissa ja valmista hapetinta tiputettiin pisaroittain 80 µl lasilevyn keskelle. Pisaroiden tiputukseen käytettiin 20 sekuntia aikaa ja viimeisen pisaran jälkeen spinnerin annettiin vielä pyöriä 40 sekuntia minkä jälkeen spinneri pysäytettiin.

Tämän jälkeen levy siirrettiin pinseteillä kuivumaan 90 asteisen lämpölevyn päälle 90 sekunnin ajaksi hapetinpuoli ylöspäin. Sitten se asetettiin ylösalaisin lämmitetyn höyrykammion päälle 90 sekunnin ajaksi jossa höyrystyneet EDOT-monomeerit tiivistyivät lasilevyn pintaan. EDOT-monomeerien (50 µl) oli siis annettu höyrystyä höyrykammiossa noin 15 minuutin ajan ennen kalvon valmistusta. Petriمالجاء pidettiin ylösalaisin höyrykammion päällä, jotta höyrystynyt EDOT-kaasu ei karkaisi kammioista. Höyrykammio oli lämmitetty Heidolph VV2000-vesihauteella 75 °C lämpötilaan. Toinen vesihaude (Thermonix 1440) lämmitti erillisen kuparipalikan 65 asteiseksi. Tämä kuparipalikka asetettiin lasilevyn päälle yhden minuutin ajaksi. Palikka otettiin pois ja petriمالجاء asetettiin takaisin höyrykammion päälle, jossa levyä pidettiin jälleen 90 sekunnin ajan.

Levy siirrettiin uudestaan lämpölevyn päälle kalvopuoli ylöspäin 90 sekunnin ajaksi ja lopulta sen annettiin jäähtyä vähintään kahden minuutin ajan. Viimeiseksi levyt pestiin upottamalla ne ensin viisi kertaa etanoliin ja sitten kolme kertaa asetonitriiliin. Levyt kuivattiin typpikaasulla jotta PEDOT-kerrokseen ei tulisi liuottimen kuivumisjälkiä reunoille. Typpikaasun annettiin virrata noin 45° kulmassa lasilevyn pintaan nähden. Yhden yksikerroksisen PEDOT-kalvon valmistus lasisubstraatille kesti siis hapettimen tiputuksesta kuivumiseen tasan kymmenen minuuttia. Kun valmistettiin kaksikerroksisia PEDOT-kalvoja, niin valmistus tehtiin uudestaan samalle kalvolle yllä mainitulla tavalla.

2.2. Sähkökemialliset mittaukset ilman syanobakteereita

Ennen kuin valmiita PEDOT-kalvoja käytettiin syanobakteerien kanssa, niin niitä karakterisoiitiin syklisen voltammometrian ja sähkökemiallisen impedanssispektroskopian (EIS) avulla. Näitä varten optimoitiin monia eri parametreja ja tutkimusolosuhteita kuten jänniteväliä, jännitteen porrastusta, virta-aluetta ja pyyhkäisynopeutta. Impedanssia varten kokeiltiin eri taajuusvälejä, frekvenssien määrää ja amplitudeja. Näillä mittauksilla pyrittiin saamaan ennen kaikkea tietoa käytetyistä elektrolyyteistä. Aluksi elektrolyytinä käytettiin natriumnitraattia (NaNO₃) eri konsentraatioilla (0,01, 0,05 ja 0,1 M), mutta lopuksi vaihdettiin ravinneliuokseen (BG11). Tämän syanobakteereille tarkoitetun ravinneliuoksen komponentit löytyvät taulukosta 6. Sähkökemiallisessa kennossa käytettiin valmistettuja yksi- ja kaksikerroksisia PEDOT-kalvoja työelektrodeina, poltettua platinalankaa vastaelektrodina ja Ag/AgCl-lankaa referenssielektrodina. PEDOT-työelektrodi kalibroitiin kaliumferrosyanidi-referenssillä. Hapettumis- ja pelkistymispotentiaalien keskiarvo oli joka mittauksessa 0,15 V ja 0,2 V välillä.

Kun asetukset vakiintuivat impedanssimittauksia varten (taulukko 3.), niin ne mitattiin kolmelle eri NaNO₃ konsentraatiolle (0,01 M, 0,05 M ja 0,1 M) sekä yksinkertaiselle että kaksinkertaiselle PEDOT-kalvolle. Piirrettäessä impedansseista Nyquist-kuvaajia Origin-ohjelmalla, reaktanssin imaginaariosan etumerkki piti vaihtaa jotta suureeksi saatiin Z'' eikä -Z'', joka muuten tulee automaattisesti mittauksen yhteydessä. Tämä tapahtui yksinkertaisesti kertomalla y-akselin lukuarvot -1:llä. Mittausten alussa oli myös 20 sekunnin tasaantumisaika, jolloin jännitettä ei syötetty kennoon. Tällöin kennon jännite palautui lähemmäs kennon luontaista avoimen piirin potentiaalia (Open circuit potential, OCP). OCP-arvo oli kalvon paksuudesta ja elektrolyytin konsentraatiosta riippuen kaikissa mittauksissa arvojen -0,05 V ja 0,15 V välillä.

Myös sykliset voltammogrammit (CV):t mitattiin ennen ja jälkeen impedanssimittausten, jotta nähtiin pieneniö CV:n pinta-ala tai muuttuiko sen muoto. CV-mittauksissa käytetyt parametrit löytyvät taulukosta 4. Vertailun vuoksi myös FTO-levystä (fluoritinaoksidi) mitattiin CV:t ja impedanssit samoilla parametreilla. Näissä FTO-levyn tuloksissa näkyy kuitenkin liian epätarkat parametrit kun data on siirretty potentiostaatin ohjelmistosta Origin-ohjelmaan. Tämän voi havaita kuvasta 19, jossa FTO-levyn CV-kuvaaja on epätasainen, koska datapisteiden arvot eivät ole tarpeeksi tarkkoja.

Bioaurinkokennoissa perinteisesti käytettyä indium tinaoksidi (ITO) -elektrodia kokeiltiin, mutta liian suuren jännitteen takia elektrodin pinta tuhoutui ja siitä ei ole tuloksia. Pinta ikään kuin paloi ja muutti väriään ruskeaksi. Sitä elektrodia ei voitu käyttää enää uudestaan. ITO-elektrodilla olisi pitänyt tulla PEDOT-kalvoon verrattavissa olevia virrantiheys-arvoja jos sitä oltaisiin käytetty syanobakteerien kanssa.

Taulukko 3. Impedanssimittauksissa käytetyt parametrit, myöhemmin virta-alue nostettiin 10 ampeeriin.

Jänniteväli	-0,8 V — 0,8 V (vs. Ag/AgCl)
Jännitteen porrastus	100 mV
Virta-alue	1 mA
Taajuusväli	100 000 Hz — 0,1 Hz
Frekvenssien määrä	55 kappaletta
Amplitudi	0,05 V

Taulukko 4. CV-mittauksissa käytetyt parametrit, myöhemmin virta-alue nostettiin 10 ampeeriin.

Jänniteväli	-0,25 V — 0,75 V (vs. Ag/AgCl)
Jännitteen porrastus	1 mV
Virta-alue	10 mA
Pyyhkäisy nopeus	100 mV/s
Sykljen määrä	3

2.3. Sähkökemialliset mittaukset syanobakteerien kanssa

Ensimmäisellä kerralla syanobakteerit (*Synechocystis* sp. PCC 6803) saatiin ilman esikäsitteilyä tummissa Falcon-putkissa. Ne sentrifugoitiin 21 °C lämpötilassa 20 minuutin ajan käyttäen 5000 g nopeutta. Putken pohjalle tiivistynyt pelletti eroteltiin ravinneliuoksesta ja sen UV-spektrit mitattiin aallonpituuksilla 750 nm ja 680 nm. UV-mittausta varten pellettiä laimennettiin 80-kertaa laimeammaksi ja laskin klorofyllipitoisuuden kaavalla $c=10,854 \cdot (A_1-A_2)$ eli laimennetun pelletin klorofyllikonsentraatio saatiin selville laskemalla kahden absorbanssilukeman erotus kerrottuna 10,854:llä. Kaava $\text{nmol/ml} = 10,854 \cdot (\text{Abs}_{680 \text{ nm}} - \text{Abs}_{750 \text{ nm}})$ on toimiva ja riittävän tarkka yksinkertaistus monimutkaisemmasta klorofyllin laskentamenetelmästä.³⁰ Pelletti laimennettiin konsentraatioon 150 nmol klorofylliä millilitraa kohden. Tätä käytettiin 150 µl yhdessä kennossa kerrallaan yhdistettynä 1,35 ml ravinneliuosta (BG11). Muilla kerroilla syanobakteerit olivat valmiina käytettäväksi sellaisenaan sähkökemiallisissa mittauksissa. Yhtä syanobakteerierää käytettiin maksimissaan kahteen eri mittaukseen kahtena eri päivänä.

Syanobakteereja sovellettiin valomittauksissa joissa käytettiin Iviumstatin potentiostaattia ja siihen kytkettyä IviumSoft-ohjelmaa. Mittauksissa mitattiin ensin CV-mittaus, sitten varsinaiset valomittaukset, sähkökemiallinen impedanssi ja lopuksi taas CV-mittaus. Nämä mittaukset tehtiin samoilla parametreillä kuin taulukoissa 3 ja 4. Impedanssimittaukset olivat mukana jotta elektrodien ja elektrolyytin muodostamaa virtapiiriä voidaan tulkita ja havainnollistaa. Näistä impedanssimittauksista tehtiin Nyquist-kuvaajat, joista nähdään esimerkiksi elektrolyytin ominaisuuksia kuten resistanssi ja kapasitanssi. CV:t piti mitata ennen ja jälkeen valomittauksia jotta nähdään vaikuttaako syanobakteerit ja mittaukset PEDOT-elektrodin suorituskykyyn.

Sähkökemiallisia kennoja käytettiin koko mittauksen ajan Faradayn häkin sisällä vetokaapissa jotta ulkopuoliset sähkökentät ja sähkömagneettinen säteily aiheuttaisi mahdollisimman vähän häiriötä mittauksiin. Häkinä toimi kannellinen metallista valmistettu kannellinen laatikko, jossa oli reikä Modulightin ja elektrodien johdoille. Valitettavasti laatikko esti kaiken luonnollisen valon pääsyn kennoille, joten syanobakteereita ei voitu käyttää kuin enimmillään kahteen mittaukseen. Syanobakteerit tarvitsevat valoa fotosynteesiin ja elääkseen. Joten kun Modulightin LED-valo ei ollut päällä, syanobakteerit olivat täydellisessä pimeydessä laatikon sisällä. Toki jos sähkökemiallinen mittaus ei ollut käynnissä, niin laatikon kantta voitiin pitää auki jolloin vetokaapin valo pääsi yläkautta sisään. Tällöin ilmasta tulevat epäpuhtaudet ovat kuitenkin ongelma kun mittaukset aloitetaan.

Ennen mittauksia teflonmuoviset sähkökemialliset kennot puhdistettiin huolellisesti käänteisosmoosi-vedellä. Kennoa koottaessa Kalrez[®] -kumista valmistettu kumirengas asetettiin sille kuuluvaan syvennykseen kennon yläosaan. Tämä tiivisterengas on erityisesti orgaanisille liuoksille suunniteltua materiaalia, mutta toimii myös vesiliukoisilla liuoksilla ja se ei jättänyt niin suurta jälkeä PEDOT-kalvoon kuin tavallisesta kumista valmistettu rengas

jättäisi. Kupariteippi liimattiin kennon yläosaan kiinni niin että se ei ollut yläosan aukon päällä ja mahdollisimman vähän kosketuksissa syanobakteerien kanssa. Seuraavaksi PEDOT-levy asetettiin kennon ala- ja yläosien väliin kupariteipin päälle ja osat yhdistettiin kahdella ruuvilla toisiinsa kiinni. Kennon yläosassa oli reikä, johon sopii vasta- ja referenssielektrodit sisältävä tulppa. Työelektrodiin kiinnitetty kupariteippi oli kennon ylä- ja alaosan välissä niin että sen pää oli taitettu paksummaksi ja siihen pystyi yhdistämään työelektrodin johdon hauenleualla.

Tämä kennojen valmistelu tehtiin kolmeen eri kennoon jotta yhdestä syanobakteerierästä saataisiin kolme rinnakkaismittausta vertailtavaksi. Kaikissa kolmessa kennossa oli sama aktiivinen pinta-ala ja samanlainen tiivisterengas. Seuraavaksi kennoihin pistettiin pipetillä 150 µl syanobakteereita ja niiden päälle varovasti kennon sisäreunaa pitkin valuttamalla 1,35 ml ravinneliuosta (BG11, pH=8,2) joka toimi myös elektrolyytinä. Ensimmäinen kenno asetettiin valmiiksi Modulightin päälle ja kaksi muuta sen viereen Faradayn häkin sisälle. Kaikkien elektrodien johdot yhdistettiin valmiiksi ensimmäiseen kennoon. Sitten häkin luukku jätettiin auki ja vetokaapin valo pidettiin päällä. Kennojen annettiin olla yön yli ilman että niihin koskettiin. Tämä aika vaadittiin jotta syanobakteerit laskeutuisivat elektrolyytistä alas työelektrodin pinnalle. Seuraavana päivänä häkin luukku suljettiin, potentiostaatti käynnistettiin ja mittaukset aloitettiin ensimmäisen kennon kanssa ilman että kennoihin koskettiin. Pienikin heilahdus saisi syanobakteerit liikkumaan kennon sisällä ja pois PEDOT-kalvon pinnalta tuottaen huonoja tuloksia.

Ivium-ohjelmaan oli tehty valmiiksi erätiedostoja (Ivium batch), joihin oli asennettu koko mittaussarjan käsittävä automaatio. Eli mittaukset aloittamalla potentiostaatti mittasi kaiken automaattisesti ilman ulkopuolista apua. Muokkasin CV:n ja impedanssin parametrejä samanlaisiksi kuin mittauksissa ilman syanobakteereita. Valomittausten parametrit löytyvät taulukosta 5. Käytössä ollut erätiedosto syanobakteerien kanssa mittaussarja käsitti ensin syklisen voltametrian, sitten kuusi valomittausta vuorottelevin valonvärein ja jännitteillä 0,1 V, 0,3 V ja 0,5 V. Tämän jälkeen mitattiin impedanssit ja CV.

Taulukko 5. Valomittauksissa käytetyt parametrit.

Valon väri	460/660 nm
Valon jännite (teho)	0,24 V
Aika mittausten välissä	0,2 s
Amplitudi	10 mV
Taajuus	1000 Hz
Virta-alue	10 A
Jänniteväli	4 V
AutoCR	Päällä, 100 nA - 100 A

Valomittauksissa sähkökemialliseen kennoon syötettiin tasajännitettä ja sitä valaistiin LED-valolla alapuolelta vuorotellen sinistä (460 nm) ja punaista (660 nm) valoa. Saaduilla

virtavasteilla ja kennon pinta-alaa hyödyntäen pystyin laskemaan Origin-ohjelmalla jokaiselle mittaukselle virrantiheyden. Tämä tapahtui jakamalla kronoamperometrisen datan virta-arvot (y-akseli) sähkökemiallisen kennon aktiivisella pinta-alalla, joka oli $0,95 \text{ cm}^2$. Kun kennoon lisätään tiettyjä lisäaineita, niin syanobakteerien eksoelektroogeneesi tehostuu tai elektronit saadaan paremmin kuljetettua elektrodille parantaen virtavastetta. Syanobakteerieriä oli seitsemän, mutta vain eristä 1-5 ja 7 on tuloksia tässä työssä. Jostain syystä kuudes erä epäonnistui, mutta tämänkin erän virrantiheyskuvaajat, CV:t ja impedanssidata löytyvät liitteistä.

Elektrodin eli PEDOT-kalvon kannalta paras elektrolyytti olisi mahdollisimman sähköä johtava, mutta liian suolapitoinen liuos ei ole syanobakteerien kannalta paras. Käytössä olikin hyvänä kompromissina pidetty ravinneliuos BG11, joka on tarpeeksi johtava toimiakseen myös PEDOT:in kanssa. Tästä oli kaksi eri versiota; pH=7,5 ja pH=8,2. Syanobakteerien kanssa valomittauksissa käytettiin emäksisempää pH=8,2 -versiota, mutta myös johtavuudeltaan vahvistettua versiota (spiked electrolyte) näistä käytettiin. Se sisälsi 1:1 suhteella jompaa kumpaa BG11-ravinneliuosta ja 0,1 M natriumnitraattia. Molemmilla pH-arvoilla olevaa ravinneliuosta sisältävää väkevöityä elektrolyyttiä käytettiin CV- ja impedanssimittauksissa, mutta vain pH=8,2 väkevöityä elektrolyyttiä käytettiin valomittauksissa. Syanobakteerien kasvatus tapahtui pH=8,2 version BG11-ravinneliuoksessa.

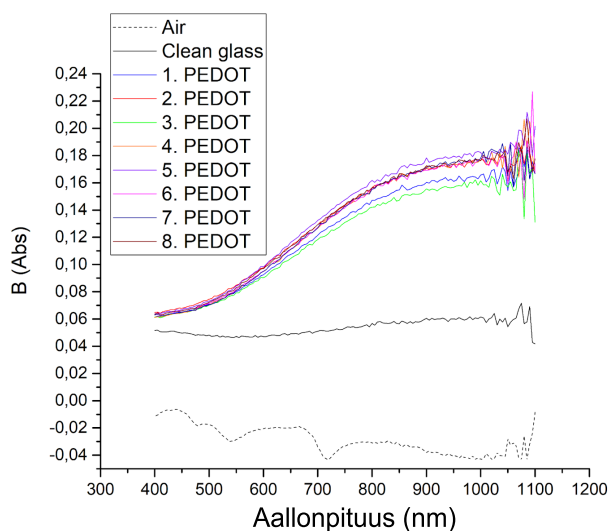
Taulukko 6. BG11-ravinneliuoksen (pH=8,2) sisältämät komponentit ja niiden määrät.

Komponentti	Eri komponenttien konsentraatio BG11:ssa
NaNO ₃	17,6 mM
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,3 mM
CaCl ₂ ·2H ₂ O	245 μM
Sitruunahappo (monohydraatti)	31 μM
EDTA-Na ₂	2,7 μM
Boorihappo	46,2559 μM
MnCl ₂ · 4H ₂ O	9,1451 μM
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	771,9054 nM
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	1,8988 μM
CuSO ₄ · 5H ₂ O	316,405 nM
Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	171,2329 nM
Rauta ammoniumsitraatti	12,2911 μM
K ₂ HPO ₄	172,2158 μM
Na ₂ CO ₃	188,6992 μM
HEPES	20 mM

3. Havainnot ja tulokset

3.1. Mittaukset ilman syanobakteereita

3.1.1. Yksi- ja kaksikerroksisten PEDOT-kalvojen UV-VIS- ja impedanssimittaukset



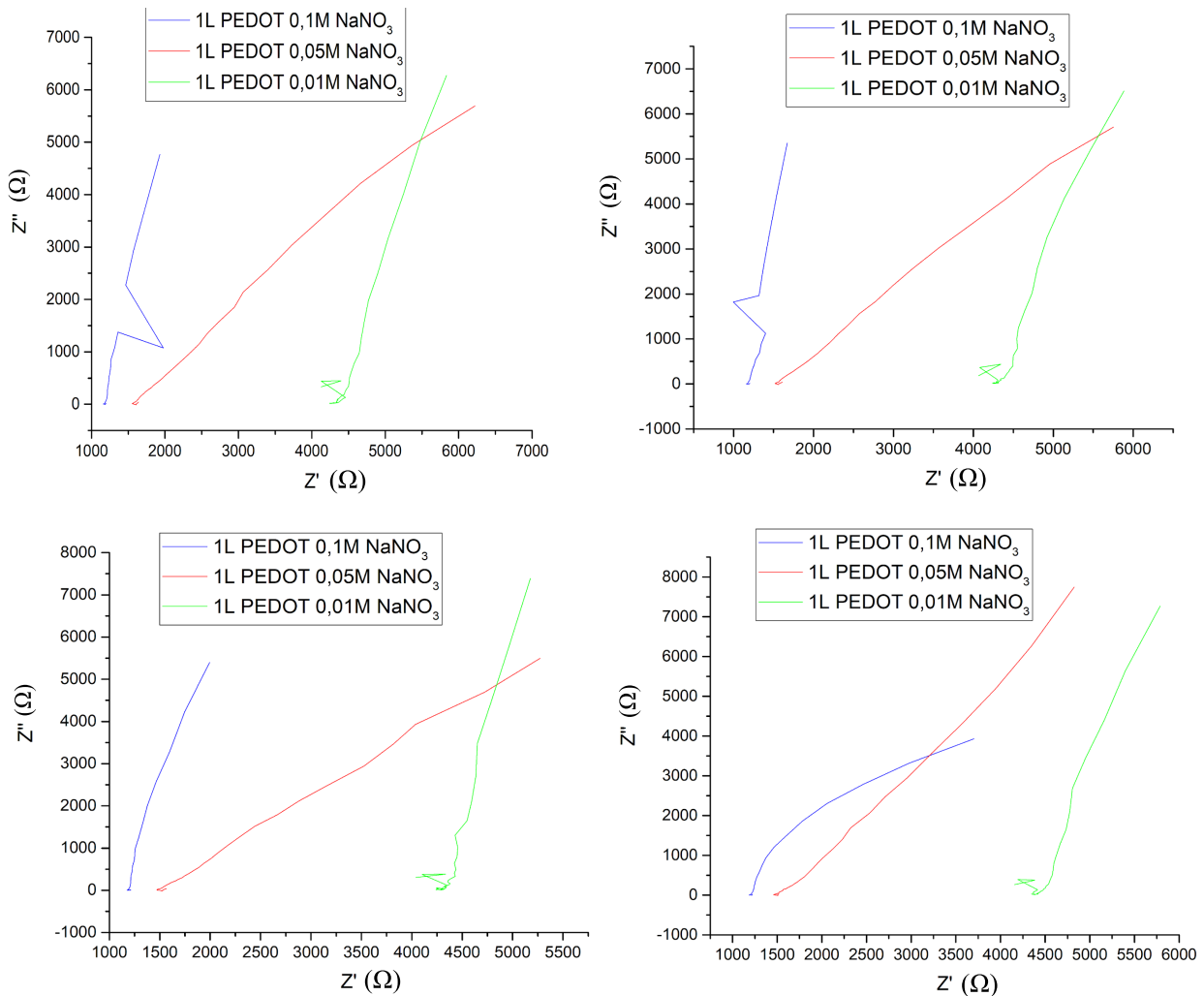
Pinta-resistiivisyys	Forward
-----	(Ω/\square)
Kalvo	
1.	278-399
2.	278-349
3.	348-487
4.	269-303
5.	276-320
6.	263-286
7.	264-311
8.	277-322

Kuva 8. UV-VIS-kuvaajat yksikerroksisista kalvoista, joita käytettiin osassa mittauksissa. Ensimmäistä kalvoa (sinisellä kuvaajassa) käytettiin mittauksissa ilman syanobakteereita ja kalvoja 2-7 syanobakteerien kanssa kun elektrolyytinä oli väkevöity ravinneliuos (Spiked BG11, pH=8,2). Oikealla mitatut pinta-resistiivisyysarvot (forward-arvot) näistä jokaisesta kalvosta (mitattu jännitteellä 0,1 μ A).

Kuvassa 8 näkyy että eri PEDOT-kalvojen UV-VIS-kuvaajat ja pinta-resistiivisyysarvot ovat hyvin samankaltaisia, mikä on hyvin tärkeää vertailukelpoisten tulosten kannalta. Näin poikkeamat tulokset CV-, impedanssi- tai valomittauksissa voitiin sanoa johtuvan elektrolyytistä tai syanobakteereista. Kuvan taulukossa olevat resistiivisyysarvot on siis forward-arvoja ja ne on erittäin lähellä todellista havaittavaa resistiivisyyttä. Reverse-arvot, eli pinta-resitiivisyysmittarin napaisuutta vaihtamalla saadut arvot olivat myös hyvin lähellä näitä forward-arvoja.

Pinta-resistiivisyysarvot on annettu yksikössä Ω/\square , eli ohmia neliötä kohti. Tällä neliön koolla ei ole väliä, kunhan mitattavan kalvon paksuus pysyy vakiona. Yksikkö on käytännössä sama kuin resistanssillakin. Arvot mitattiin pinta-resistiivisyysmittarilla levyn pinnasta viidestä eri kohdasta. Arvot saatiin siis levyn jokaisesta kulmasta ja keskeltä. Vaikka silmämääräisesti levyt näyttivät tasaisilta, niin jostain syystä kalvon keskikohdassa resistiivisyys oli lähes aina kulmia suurempi. Tämä saattaa johtua siitä että hapetinta oli levyn keskikohdassa liikaa suhteessa polymerisoituvan monomeeriin. Hapetin pudotettiin aina levyn keskelle, mistä se levisi reunoille. Ilmeisesti keskelle jäi kuitenkin hieman ylimäärä

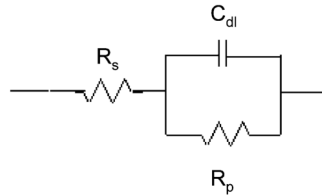
reagoimatonta hapetinta, joka ei ollut poistunut pesuvaiheessa pois levyn pinnalta. Pesuvaiheen onnistumista yritettiin parantaa työn edetessä, mutta silti resistiivisyys oli yli $300 \Omega/\square$ levyn keskellä, sen ollessa lähes säännönmukaisesti noin $260\text{--}270 \Omega/\square$ levyn reunoilla.



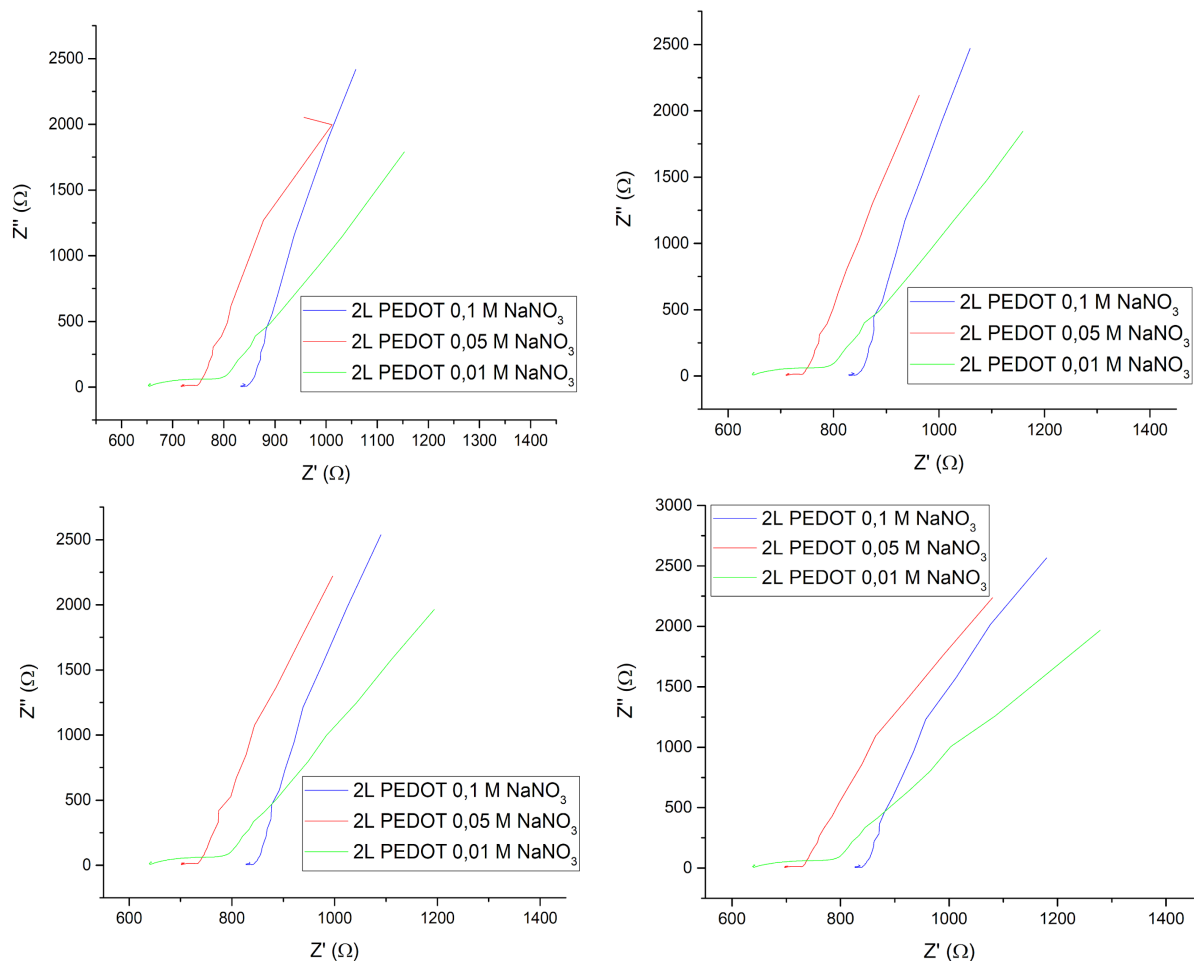
Kuva 9. Yksikerroksisen PEDOT:in impedanssimittaukset kolmella eri NaNO_3 konsentraatiolla. Ylhäällä vasemmalla olevassa kuvaajassa potentiaali on $0,0 \text{ V}$ ja ylhäällä oikealla $0,1 \text{ V}$. Alhaalla vasemmalla käytössä oli $0,3 \text{ V}$ ja alhaalla oikealla puolestaan $0,5 \text{ V}$.

Kuvassa 9 olevista Nyquist-kuvaajista näkyy ennen kaikkea se, että kasvava natriumnitraattipitoisuus elektrolyytissä vähentää resistanssia. Tämä näkyy impedanssin reaaliosan (Z') saadessa pienempiä arvoja elektrolyytin suolapitoisuuden kasvaessa. Kuvaajien muodosta voidaan johtaa ekvivalentteja piirejä ja näissä mittauksissa sähköpiiriä voidaan kuvata hyvin matalana puoliympyränä. Tällöin systeemiä voidaan havainnollistaa alla olevalla ekvivalentilla piirillä (Kuva 10.) Siinä R_s on työ- ja referenssielektrodin välinen resistanssi, C_{dl} on sähköisen kaksoiskerroksen kapasitanssi ja R_p on paralleeli resistanssi (määrittää puoliympyrän halkaisijan). Eri jännitteet näyttävät muuttavan hieman impedanssikuvaajien muotoa, mutta resistanssien lukuarvot pysyvät hyvin samankaltaisina.

Kaikista väkevimmällä eli 0,1 molaarisella liuoksella paralleeli resistanssi muuttuu eniten. Siinä potentiaalin kasvaessa puoliympyrän halkaisija kasvaa aika paljon. Tämä johtuu kyseisen elektrolyytin parhaimmasta sähkönjohtokyvystä yhdistettynä suurimpaan käytettyyn potentiaaliin.



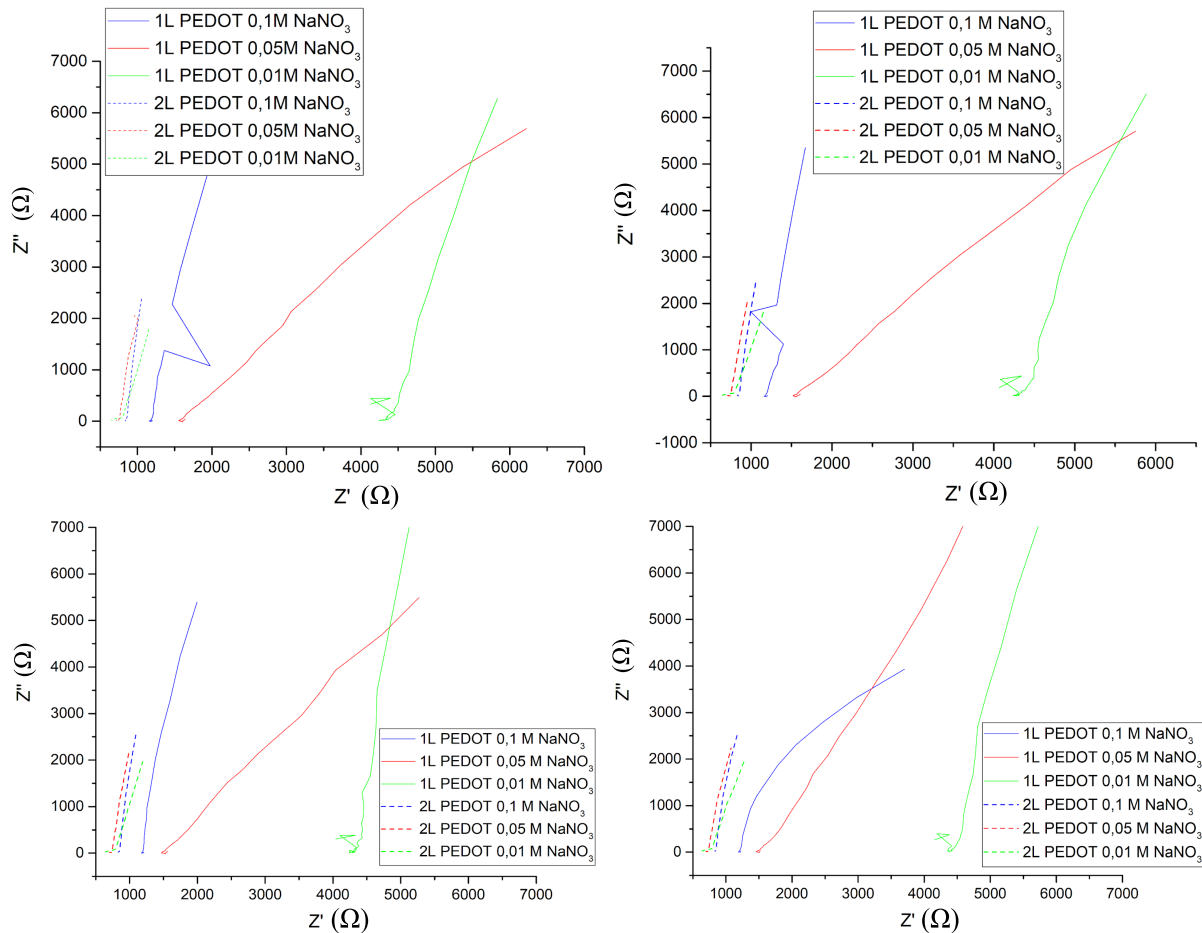
Kuva 10. PEDOT-työelektroodin, platinavastaelektroodin ja elektrolyytin muodostama virtapiiri kuvattuna ekvivalentilla piirillä.



Kuva 11. Kaksikerroksisen PEDOT:in impedanssimittaukset kolmella eri NaNO₃ konsentraatiolla. Näissä kuvissa neljä eri potentiaalia on erotettu tarkempaan tarkasteluun. Ylhäällä vasemmalla potentiaali on 0,0 V ja ylhäällä oikealla 0,1 V. Alhaalla vasemmalla potentiaali on 0,3 V ja alhaalla oikealla 0,5 V.

Kuvassa 11. pitäisi näkyä eri suolakonsentraatioiden impedanssit samassa järjestyksessä kuin yksinkertaisillakin PEDOT-kalvoilla. Tässä 0,05 molaarinen NaNO₃ näyttää tuottavan pienemmän resistanssin kuin 0,1 molaarinen elektrolyytti. Tämä on todennäköisesti

systemaattinen mittausvirhe. Muuten impedanssit ovat samaa suuruusluokkaa kaikilla jännitteillä. Näiden 2L-kalvojen pinta-resistiivisyydet olivat 148-248 Ω/\square .



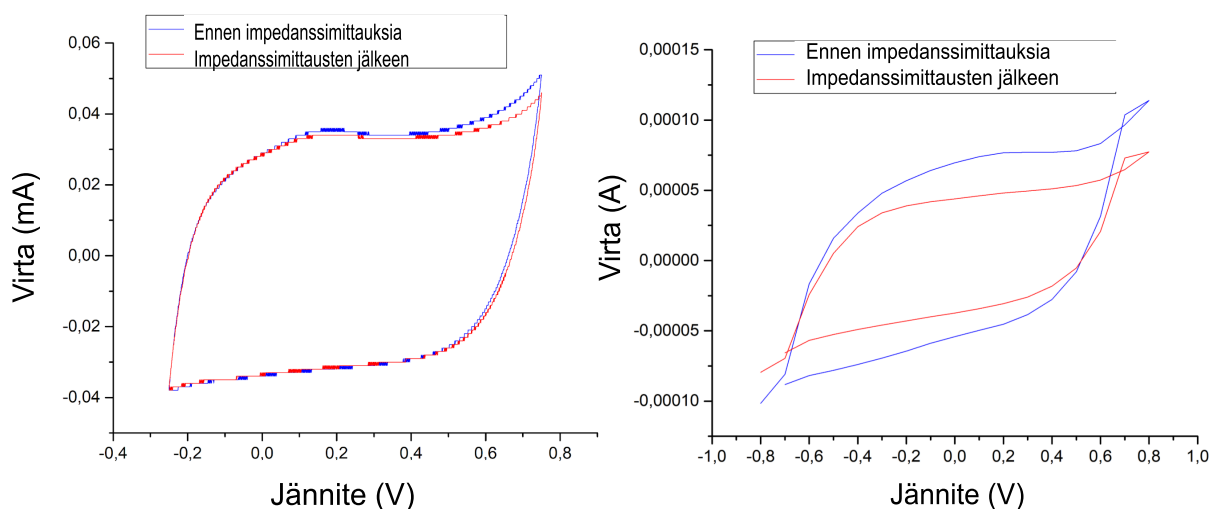
Kuva 12. Yksikerroksiset ja kaksikerroksiset yhdistettynä samaan kuvaajaan. Potentiaalina ylhäällä vasemmalla on 0,0 V, ylhäällä oikealla 0,1 V ja alhaalla 0,3 V sekä 0,5 V.

Kun eri paksuisten PEDOT-kalvojen impedanssikuvaajat yhdistetään samaan kuvaajaan, niin nähdään selvästi että paksumpi kalvo (2L) tuottaa selvästi pienemmän resistanssin samalla elektrolyytillä (Kuva 12.) Eli bioaurinkokennon elektrodit toimivat tehokkaimillaan ja elektrodit saadaan hyödynnettyä parhaiten kun niiden resistanssi on mahdollisimman pieni. Tämä tarkoittaa mahdollisimman paksua PEDOT-kalvoa, mikä taas vähentää valon läpäisykykyä elektrodin läpi syanobakteereille.

Tämän työn aikana vain yhdessä rinnakkaismittauksessa käytettiin kaksikerroksista PEDOT-kalvoa, muissa oli käytössä yksikerroksinen polymeerikalvo. Koska myöhemmin esitettävissä virrantiheys-kuvaajista näkyy että kaksikerroksinen PEDOT-kalvo tuottaa suurempia virtavasteita, niin optimaalinen PEDOT-kerroksen paksuus voi olla vielä kahtakin kerrosta paksumpi. Jos PEDOT-kerrosten määrä asetetaan esimerkiksi kolmesta kuuteen, niin elektrodi on erittäin johtava, mutta vielä läpikuultava.

3.1.2. Yksi- ja kaksikerroksisten PEDOT-kalvojen CV-mittaukset

CV:t mitattiin aina ennen ja jälkeen impedanssi- ja kronoamperometriamittauksia, jotta nähtiin mittausten vaikutus kalvojen toimivuuteen. Tarkoituksena oli säilyttää CV:n muoto mahdollisimman laatikkomaisena myös pitkien valomittausten jälkeen. Syanobakteerien läsnäolosta tai fotosynteesistä olisi saattanut tulla kontaminaatioita PEDOT:in pinnalle, jolloin kalvon varaus ja kapasiteetti olisivat saattaneet heiketä. Esimerkiksi fotosynteesissä syntyvät happikuplat voivat olla haitaksi, mutta yleisesti se ei ollut suuri ongelma.

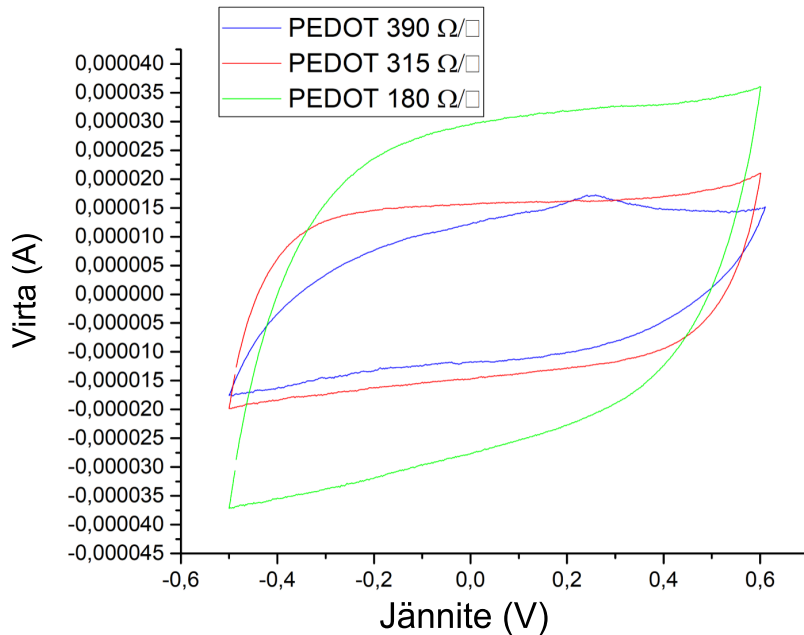


Kuva 13. Yksi- ja kaksikerroksisten PEDOT:ien CV:t ennen ja jälkeen impedanssimittausten. Tässä 0,01M NaNO₃ elektrolyytinä.

Kuvassa 13. näkyy pelkän impedanssimittauksen vaikutus 1L ja 2L PEDOT-kerroksen CV-kuvaajaan. Kaksikerroksisessa kalvossa CV:n muoto ja varaus näyttäisi kärsivän yksikerroksista enemmän. Kuvia vertailtaessa täytyy kuitenkin ottaa huomioon se, että kaksikerroksisen kalvon mittausten aikaan kalvon valmistus ja mittauskäytännöt eivät olleet vielä niin hyviä joten tulokset voisivat parantua sen osalta jos se mitattaisiin uudestaan. Yksikerroksisia kalvoja tehtiin useampia ja mittauksia kertyi enemmän, joten tulokset siistiyivät kuvaa 13. varten.

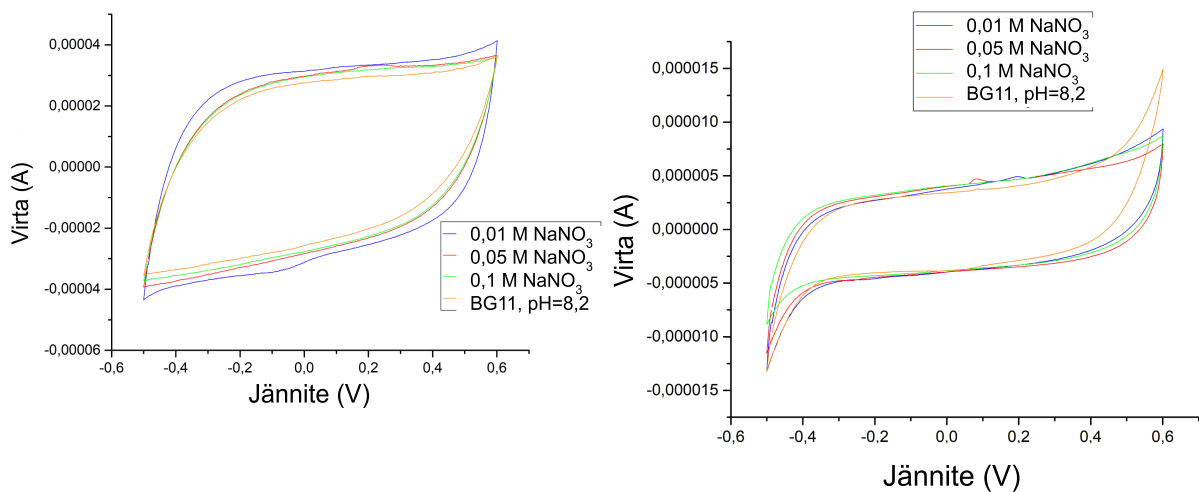
Kuvassa 14 on vertailtu kolmen eri PEDOT-kalvon CV-kuvaajia keskenään. Sinisellä ja punaisella piirrettyjen CV-kuvaajien kalvot tehtiin tavallisesti ottamalla hapetin suoraan purkista ja käyttämällä välittömästi VPP-menetelmässä. Kalvojen valmistuksessa oli ongelmia eikä haluttuja pinta-resistanssi-arvoja saavutettu. Siksi yhden kalvon valmistuksessa käytettiin kuivattua hapetinta. Hapettimen kuivaus tapahtui 80 asteisessa uunissa puolen tunnin ajan. Kosteutta lähti hapettimen massasta noin 15% (283,4 mg → 240,6 mg). Näin pinta-resistanssiarvo asettui jopa alle puoleen siitä mitä se oli kostealla hapettimella, eli yli 300 Ω/□ pinta-resistanssit saatiin alle 200 Ω/□. Tätä hyvää kalvoa (kuvassa 14 vihreällä) käytettiin kuvan 14 mittauksissa. Lopulta mitään muita hapetin-eriä ei enää kuivattu, vaan koko hapetinpullo vaihdettiin uudempaan ja kuivempaan. Mittaus

kuitenkin osoittaa että uunissa kuivattamalla hapetin on mahdollista kuivata melko nopeasti ja helposti.



Kuva 14. Kolmen eri PEDOT-kalvon CV-vertailu. Vihreällä piirretyn CV-kuvaajan kalvon valmistukseen oli käytetty kuivattua hapetinta, muissa hapetin on suoraan purkista. Kuvassa näkyy myös kyseisistä kalvoista mitatut pinta-resistanssiarvot.

3.1.3. Eri elektrolyyttien vertailu



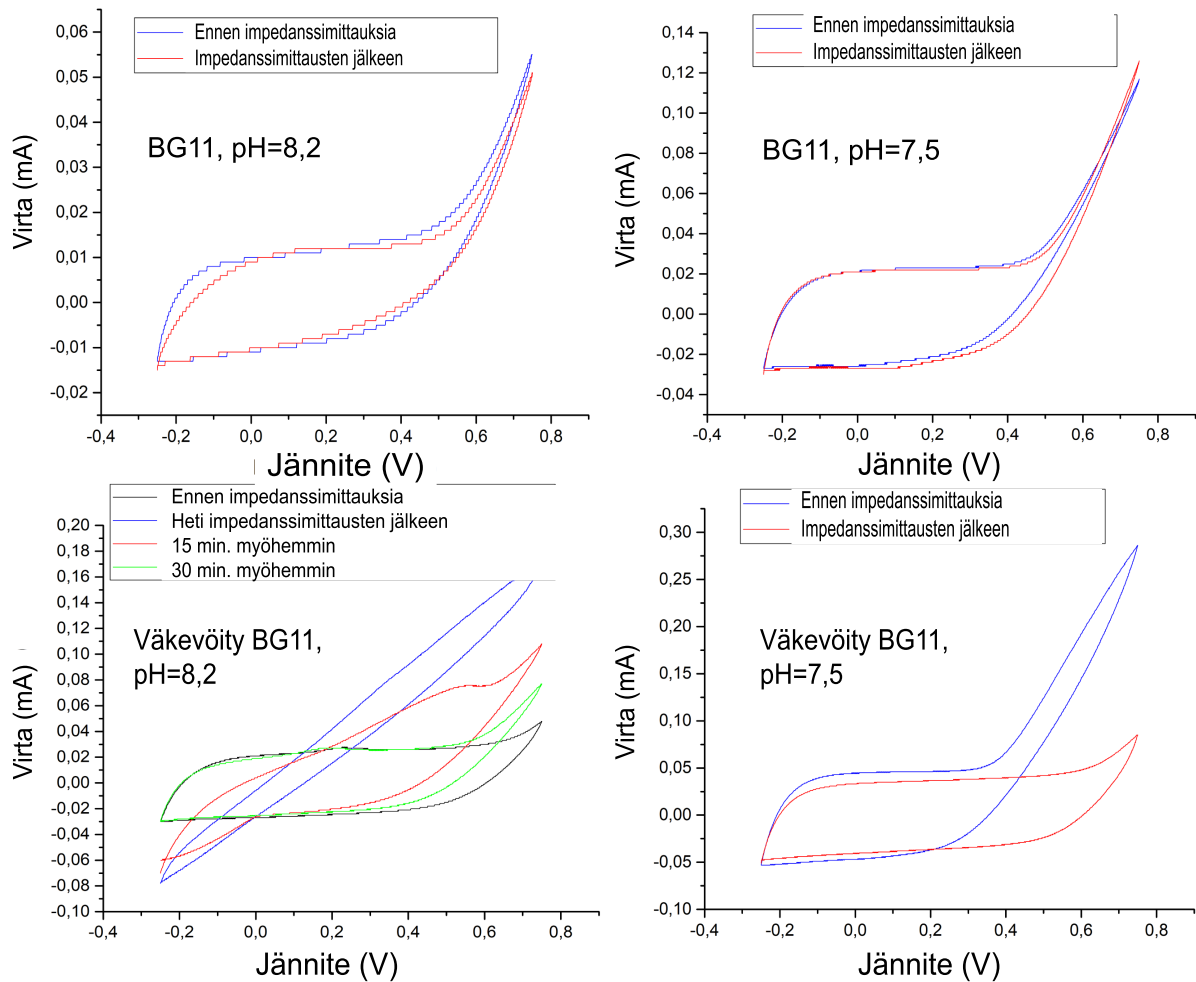
Kuva 15. Yksikerroksisen PEDOT-kalvon CV:t eri elektrolyyteillä. Vertailussa NaNO_3 samoilla kolmella konsentraatioilla kuin aikaisemminkin, mutta lisäksi mukana ravinneliuos BG11:n emäksisempi versio eli $\text{pH}=8,2$. Kyseistä ravinneliuosta käytettiin myöhemmin syanobakteerien kanssa elektrolyytinä. Vasemmalla käytössä 50 mV/s pyyhkäisy nopeus ja oikealla 5 mV/s .

Kuvassa 15. näkyy sekä suolakonsentraation että pyyhkäisy nopeuden vaikutus CV:n muotoon. 50 mV/s pyyhkäisy nopeudella sähkövaraus ja kapasitanssi ovat 5 mV/s nopeudella mitattuihin verrattuna suurempia, mutta pienemmällä pyyhkäisy nopeudella kuvaajasta näkee pienimmätkin muutokset virrassa. Varsinkin ravinneliuos BG11:n tapauksessa tämä on tärkeä ominaisuus, sillä se sisältää suurikokoisia ja hidasliikkeisiä molekyyliä sekä ioniyhdisteitä. Nämä hitaat partikkelit tarvitsevat hieman enemmän aikaa liikkuaan elektrolyytissä, joten pienemmällä pyyhkäisy nopeudella saadaan niiden tapauksessa tarkempaa tietoa elektrolyytin tapahtumista ja pienistäkin hapetus-pelkistysreaktioista. Kuvasta nähdään että 5 mV/s pyyhkäisy nopeudella mitattuna kennossa tapahtuu pieniä reaktioita, joita ei näe suuremmalla nopeudella mitatuista kuvaajista. Tällaisia ovat esimerkiksi 0,01 M NaNO₃ -elektrolyytin pieni hapetuspotentiaali 0,2 V kohdalla.

Kuvasta näkee myös sen, että vaikka BG11 onkin vähemmän sähköjohtava ja sen resistanssi on pelkkiä natriumnitraatti-elektrolyyttejä suurempi, niin se ei juurikaan erotu huonompana näissä CV-kuvaajissa. Ravinneliuoksien tapauksessa kapasitanssi on vain hieman pelkkää natriumnitraatti-elektrolyyttiä huonompi, tämä näkyy CV:n muodon ollessa enemmän sitruunan muotoinen kuin laatikon muotoinen. Kokonaisvaraus on molemmissa tapauksissa lähes yhtä suuri. Kun pyyhkäisy nopeutena oli 5 mV/s, niin potentiaali-ikkuna on ravinneliuoksella vain hieman eli noin 0,1 V kapeampi, muuten CV:n muoto on hyvin samankaltainen.

Kun CV:t mitataan pelkällä natriumnitraatilla tai ravinneliuoksella, niin muutokset kalvossa impedanssimittausten aikana ovat mitättömiä. CV:n muoto mahdollisimman laatikkomaisena säilyttäen hyvän varauksen ja kapasitanssin ei muodostu ongelmaksi näillä elektrolyyteillä. Mutta jos käytössä oli johtavuudeltaan paranneltu eli terästetty ravinneliuos, niin usein CV:n muoto kärsi impedanssimittausten aikana. Kuvasta 16. näkee miten pelkän BG11-ravinneliuoksen kohdalla CV on hyvin samankokoinen ja -muotoinen sekä ennen että jälkeen impedanssimittausten. Tähän ei näyttäisi vaikuttavan edes käytetyn ravinneliuoksen pH-arvo. Kun BG11-liuoksen pH on 7,5, niin virta-arvot ovat pH=8,2 liuosta suurempia, mutta molemmissa tapauksissa CV:n muoto on hyvin pysyvä. Ainoastaan pH=8,2 versiossa CV:n muoto muuttuu hieman laatikosta sitruunanmuotoiseksi impedanssimittauksen aikana, mutta muutos ei ole suuri.

Samasta kuvasta 16. nähdään myös miten varsinkin CV:n muoto muuttuu impedanssimittausten jälkeen, kun elektrolyytinä on terästetty ravinneliuos. Kun pH on 8,2, niin CV:n muoto on hyvin pitkä ja kapea sijoittuen alhaalta vasemmalta ylhäälle oikealle. Tämä indikoi heikkoa kontaktia ja johtavuutta elektrodien välillä. Tämä on hieman ristiriitaista, sillä kyseisen ravinneliuoksen pitäisi olla paras mahdollinen sähkönjohtavuuden kannalta. Sama ravinneliuos toimii kuitenkin erinomaisesti syanobakteerien kanssa ja tuottaa hyviä virrantiheysarvoja. Toisella versiolla, jossa pH oli 7,5, tilanne oli hyvin toisenlainen. Siinä CV:n potentiaali-ikkuna kasvoi impedanssimittausten jälkeen. Ennen se oli 0,55 V (-0,25 — 0,35) V ja jälkeen 0,85 V (-0,25 — 0,6) V. Tätä melko huomattavaa kasvua ja eroa toisen pH-arvon liuokseen on vaikea selittää muulla kuin vaihtelevilla mittaolosuhteilla ja virheillä.

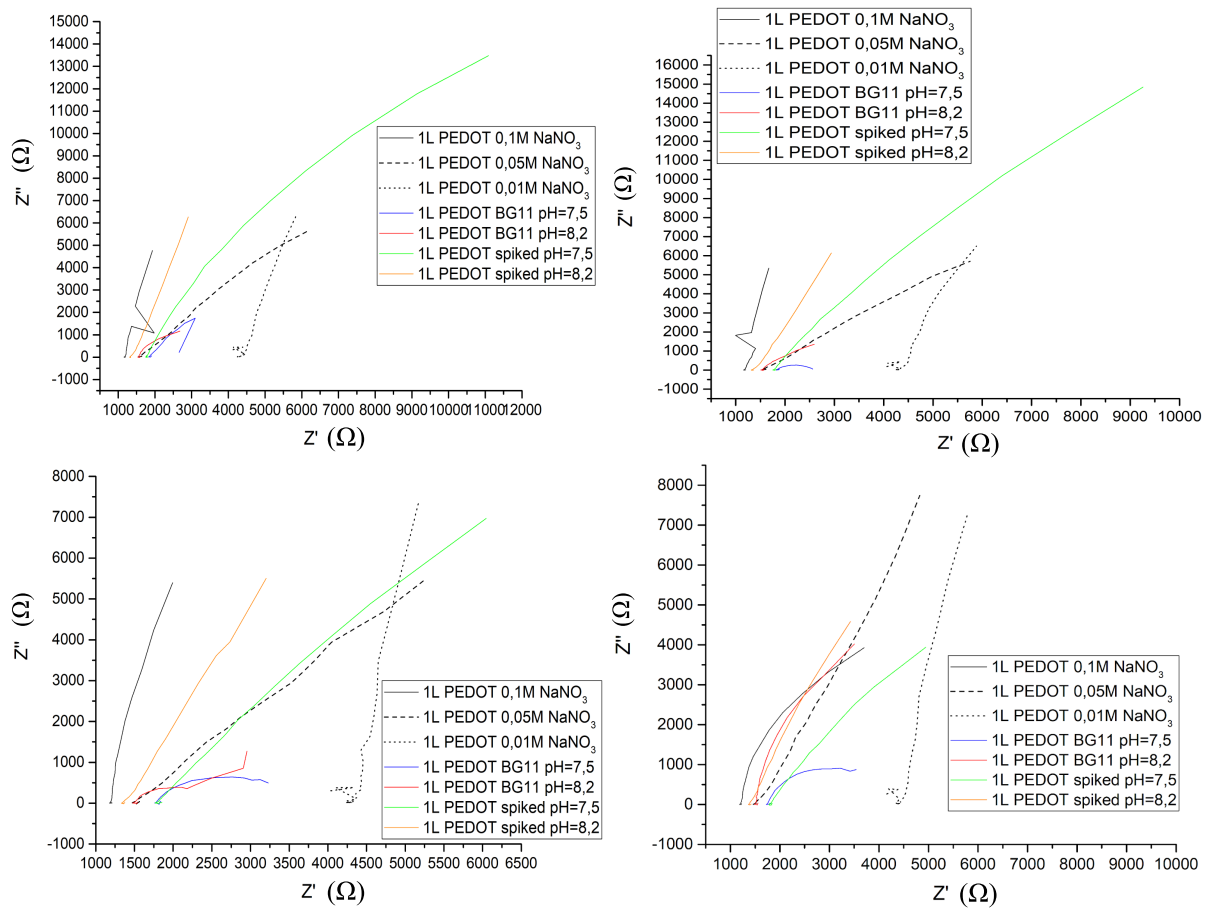


Kuva 16. BG11-ravinneliuosten ja väkevöityjen (spiked) ravinneliuosten CV:t ennen ja jälkeen impedanssimittauksen. Ylhäällä vasemmalla BG11 (pH=8,2) ja oikealla BG11 (pH=7,5). Alhaalla vasemmalla väkevöity (pH=8,2) ja oikealla (pH=7,5). Näissä kaikissa käytetty pyyhkäisy nopeutena 100 mV/s.

Kuvassa 16. on esitetty samankaltaista dataa kuin kuvassa 13, mutta tässä elektrolyytteinä on käytetty erilaisia ravinneliuoksia. CV:t eivät ole niin laatikkomaisia kuin natriumnitraatin tapauksessa, eli kapasitanssi ei ole niin korkea ravinneliuosten tapauksessa. Näillä elektrolyyteillä CV:ssä näkyy melko pitkä piikki alkaen 0,5 voltin kohdasta. Täten potentiaali-ikkuna olisi oikeasti kapeampi, mutta nämä on mitattu tällä laajemmalla potentiaalivälillä jotta vertailu natriumnitraattiin olisi helpompaa. Pelkillä BG11-ravinneliuksilla CV:iden muodot eivät siis näytä kärsivän hirveästi impedanssimittauksen aikana.

Kuvassa alhaalla vasemmalla on myös vertailtu CV:n muodon kehittymistä kun impedanssimittauksen ja sen jälkeisen CV:n välissä kennon annetaan olla 0-30 minuuttia ennen CV:n mittaamista. CV palautuu hyvin lähelle alkuperäistä muotoa jo puolen tunnin aikana ja syyksi tähän epäiltiin sitä että kenno vaatii aikaa jotta se saavuttaa taas sen luontaisen OCP-arvoon verrannollisen potentiaalin. OCP oli noin 0,1 V ja

impedanssimittauksen jälkeen kennon jännite oli noin 0,6 V. Jostain syystä väkevöity ravinneliuos vaatii enemmän aikaa kuin pelkkä BG11 impedanssimittausten jälkeen ennen kuin CV:n muoto palautuu normaaliksi. Liiteaineiston kuvassa 10 on vertailtu eri elektrolyyttien palautumisaikoja 0,6 V jännitteestä 15 minuutin aikana. Siinä eri elektrolyyttien (NaNO₃, BG11 ja väkevötety BG11) välillä ei ole kovin suurta eroa, ja kaikki saavuttavat noin 0,25 V jännitteen. Eli CV:n muodon muutos väkevöidyn ravinneliuoksen tapauksessa saattaa johtua myös jostain muusta syystä.



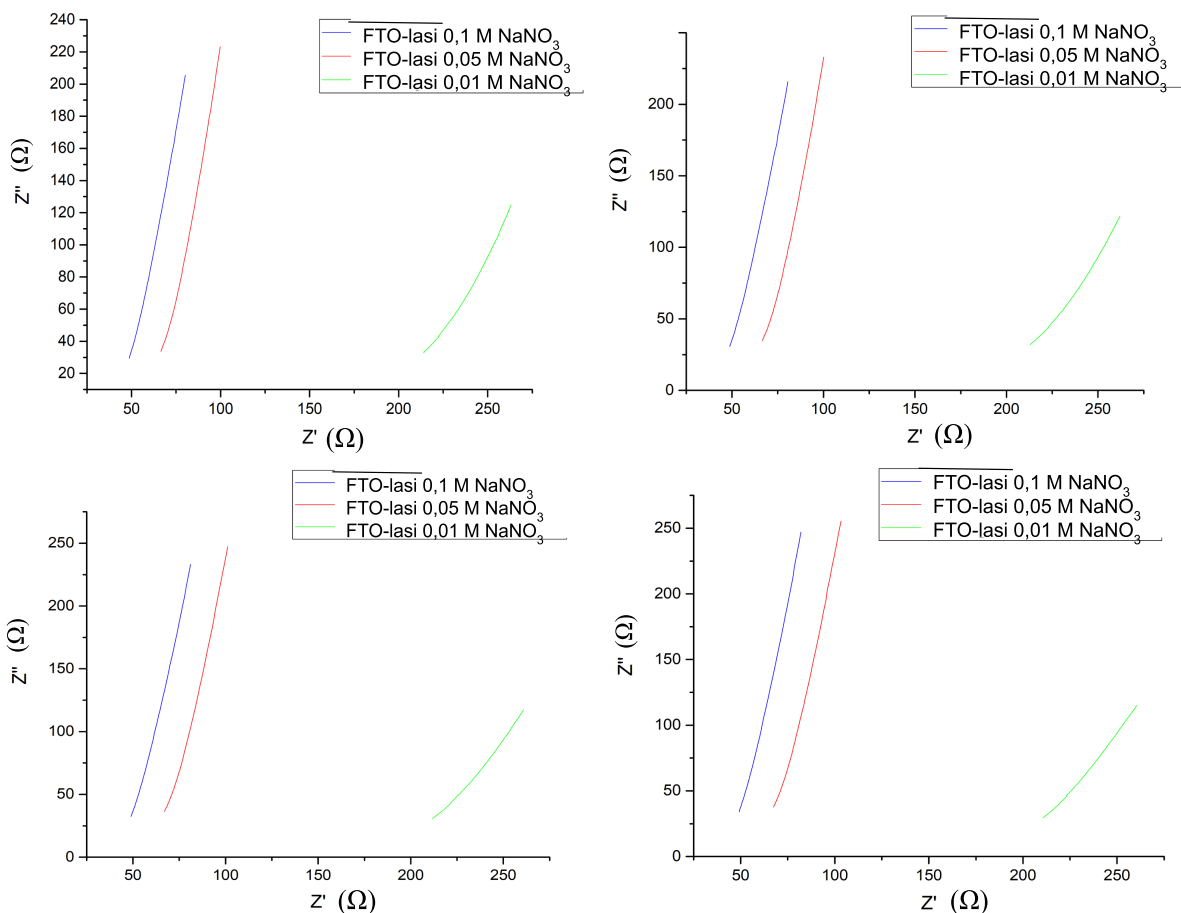
Kuva 17. Yksikerroksisen PEDOT-kalvon impedanssit eri jännitteillä ja eri elektrolyyteillä. Ylhäällä vasemmalla 0,0 V, ylhäällä oikealla 0,1 V, alhaalla vasemmalla 0,3 V ja alhaalla oikealla on 0,5 V.

Kuvassa 17. on yhdistetty eri elektrolyyttien impedanssikuvaajia samoihin kuvaajiin. Eri jännitteissä mitattujen impedanssien arvoissa on hieman vaihtelua keskenään, mutta suurimmaksi osaksi ne on hyvin johdonmukaisessa ja loogisessa järjestyksessä. Taulukosta 7 puolestaan löytyvät elektrolyytin työ- ja referenssielektrodin välisen resistanssin R_s mukaan järjestettynä. Tämän näkee myös kuvan impedansseista, eli resistanssi R_s on jokaisen käyrän lähtöpisteen (suurin taajuus, eli 100 000 Hz, kuvaajissa alhaalla vasemmalla) arvo Z' -akselilla.

Taulukko 7. Elektrolyytit resistanssin R_s :n mukaan järjestettynä. Arvot riippuvat käytetyn elektrolyytin lisäksi myös käytetystä jännitteestä. Eri jännitteiden tuottamat arvot annettu taulukossa haarukkana.

Elektrolyytit	Resistanssi $R_s(\Omega)$
0,1 M NaNO ₃	~900-1100
Spiked BG11 (pH=8,2)	~1300-1400
BG11 (pH=8,2)	~1500
0,05 M NaNO ₃	~1500
Spiked BG11 (pH=7,5)	~1700-1800
BG11 (pH=7,5)	~1800-1900
0,01 M NaNO ₃	~4000-4500

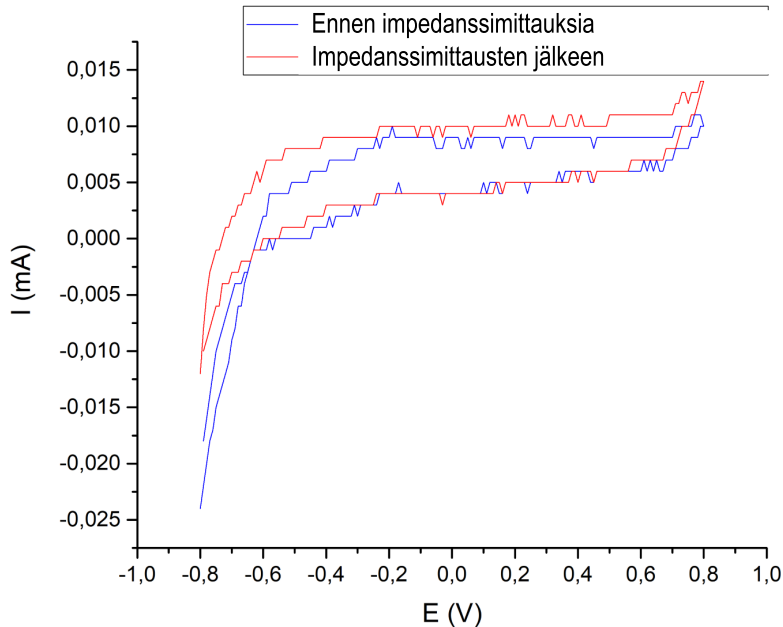
3.1.4. FTO-levyn mittaukset



Kuva 18. FTO-levyn impedanssimittaukset uudestaan mitattuna kupariteipin kanssa. Mittaukset tehty jälleen samoilla eri NaNO₃ konsentraatiolla, kuin PEDOT-kalvojenkin kanssa. Potentiaali on ylhäällä vasemmalla 0,0 V ja ylhäällä oikealla 0,1 V. Alarivissä vasemmalla potentiaali on puolestaan 0,3 V ja oikealla 0,5 V.

Fluori tinaoksidi-lasilevyjä (FTO), joissa oli johtava pinnoite valmiiksi käytettiin vertailun vuoksi CV- ja impedanssimittauksissa. Mittaukset tehtiin samaan tapaan kuin PEDOT-levyilläkin. Kuvasta 18. näkee että resistanssi R_s on erittäin pieni verrattuna PEDOT-kalvoihin. Suurimmallakin NaNO_3 -konsentraatiolla (0,1 M) mitatuissa impedansseissa yksikerroksisen PEDOT-kalvon kanssa resistanssi oli parhaimmillaan 900 Ω , mutta jo pienimmällä suolakonsentraatiolla (0,01 M) FTO-levyn kanssa resistanssi on noin 200 Ω . Varsinkin konsentraatioilla 0,1 M ja 0,05 M, kuvaaja näyttää melkein pystysuoralta, eli se kuvaa lähes pelkästään resistiivistä luonnetta. Sähkönjohtavuus FTO-levyn pinnoitteessa onkin selvästi 1L-PEDOT-levyä parempi. Fluoripartikkelit ovat kuitenkin erittäin myrkyllisiä erityisesti silmille, hengityselimille, munuaisille ja maksalle. Kalliin ja paksun FTO-lasin kierrättäminen on myös hankalaa.³¹ PEDOT on sekä ympäristöystävällisempi että turvallisempi materiaalivaihtoehto. PEDOT:ia käytettäessä riittää myös huomattavasti ohuempi kerros, jolloin materiaalia tarvitaan vähemmän.

Yleisimmin käytetty elektrodimateriaali bioaurinkokennoissa on kuitenkin indium tinaoksidi (ITO), josta kokeiltiin myös mitata CV ja impedanssi. Tämä mittaus kuitenkin epäonnistui täysin ilmeisesti liian suuren potentiaalin takia jolloin elektrodin pinta hapettui irti lasisubstraatista. Kuten fluorikin, niin myös indium on myrkyllistä ja ITO-partikkelien hengittäminen aiheuttaa keuhko- ja sidekudossairauksia, kroonisia tulehduksia ja jopa syöpää.²⁴

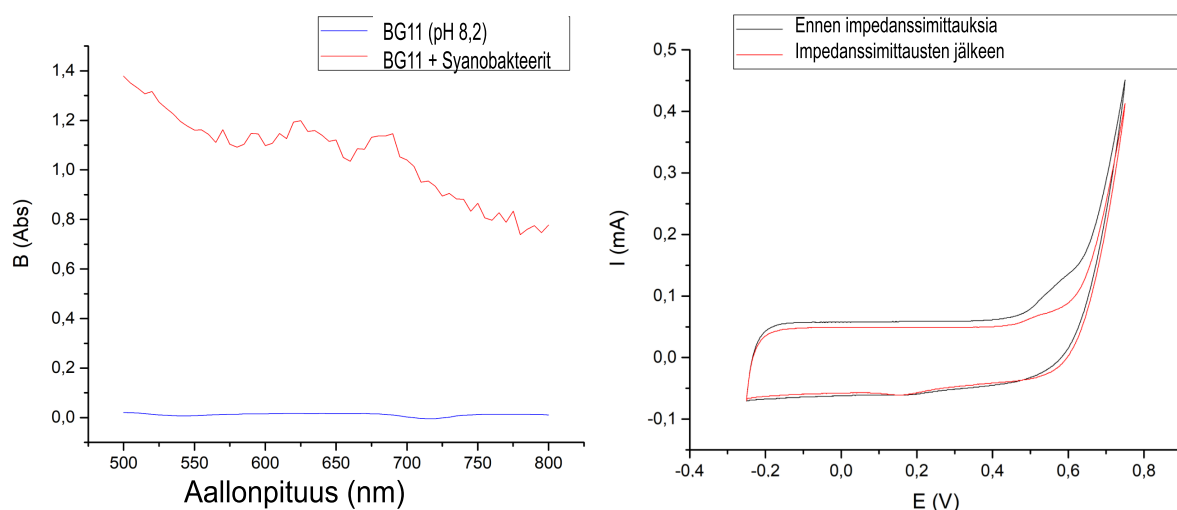


Kuva 19. FTO-levyn CV ennen ja jälkeen impedanssimittausten referenssinä

Kuvasta 19. näkee että FTO-levyllä mitattaessa CV pysyy hyvin samankaltaisena ja samanmuotoisena myös impedanssimittausten jälkeen. Kuvasta näkee myös saman asian kuin impedansseistakin, eli kapasitanssi jää FTO-levyllä hyvin pieneksi. Kuvan CV näyttää hyvin epätasaiselta koska datan piirtämiseen ei ole käytetty tarpeeksi tarkkoja lukuarvoja.

3.2. Syanobakteeri-mittaukset

3.2.1. Yksikerroksisen PEDOT–kalvon mittaukset syanobakteerien kanssa ilman välittäjäaineita

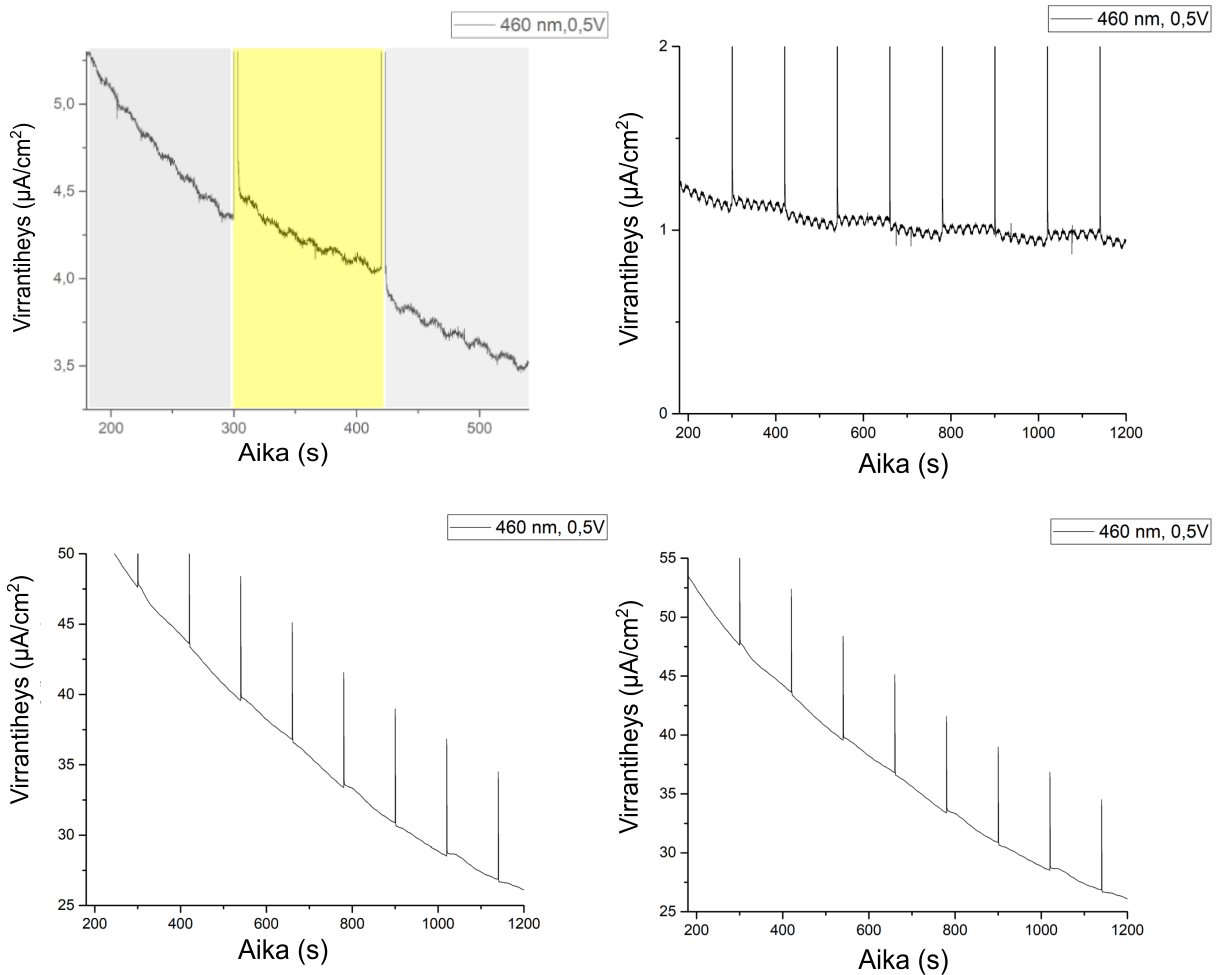


Kuva 20. Vasemmalla UV-VIS spektri 80-kertaa laimennetusta syanobakteeripelletistä. Pelletin lopulliseksi klorofyllikonsentraatioksi laskettiin 235,8 nmol/ml. Oikealla CV ennen ja jälkeen valo- ja impedanssimittauksen. Kennossa toinen erä elossa olevia syanobakteereita, tämä erä saatiin valmiiksi laimennettuna.

Koska sain ensimmäisen syanobakteerierän pellettinä, enkä valmiina liuoksena, niin tarvittiin ylimääräisiä työvaiheita ennen kuin sitä voitiin käyttää mittauksissa. Sentrifugoinnin jälkeen pellettin konsentraatiota piti laimentaa jopa 1/80-osaan alkuperäisestä. Mittauksia varten valmistettiin 235,8 nmol/ml syanobakteerierä, mutta konsentraation olisi kuulunutkin olla 150 nmol/ml. Tämä haluttu konsentraatio oli kuitenkin laimennusta tehdessä epäselvää, joten liuos jäi hieman liian väkeväksi. Kuvassa 20. näkyvät laimennetun syanobakteerinäytteen ja pelkän ravinneliuoksen (BG11, pH=8,2) UV-spektrit. Tavoite laimennosta tehdessä ollut mikään tietty konsentraatioarvo, vaan saada absorbanssiarvo alle 1,0. Tekemämme käsittely kuitenkin tappoi syanobakteerit, joten ensimmäisestä erästä ei saatu mitään järkeviä tuloksia. Siitä ei ollut tarkoituskaan mitata impedanssia, vaan lähinnä nähdä miten valomittaus toimii esiasennetuilla Iviumin erätiedostoilla. Syanobakteerien kasvatuksesta ja niiden käytön välillä ehti myös kulua liian kauan aikaa, bakteerit eivät saaneet tarpeeksi tarvitsemaansa valoa eivätkä ne olleet tarpeeksi lämpimässä. Nämä asiat vaikuttivat myös ensimmäisen syanobakteerierän kuolemiseen ja mittausten epäonnistumiseen.

Toisesta syanobakteerierästä eteenpäin UV-VIS-spektriä ei enää mitattu saadusta näytteestä, vaan tarvittava 150 nmol klorofylliä millilitraa kohden oletettiin olevan kunnossa. Kuvassa näkyy myös toisen syanobakteerierän CV-kuvaajat, josta siis näkyy impedanssimittauksen vaikutus CV:seen kun mukana on myös syanobakteerikerros PEDOT-kalvon päällä kennossa.

Syanobakteerikerros ei näytä vaikuttavan juuri mitenkään, sillä nämä CV:t on hyvin samankaltaisia ja samanmuotoisia kuin kuvassa 16, jossa siis käytössä sama elektrolyytti (BG11, pH=8,2) mutta mitaus tehty ilman syanobakteereita. Impedanssimittauksilla on yhtä mitätön merkitys PEDOT:in suorituskykyyn on kennossa sitten syanobakteereita tai ei (Kuvat 17 ja 22). Myös CV:n potentiaali-ikkuna on sama molemmissa tapauksissa ja se ei myöskään muutu impedanssimittauksen aikana.



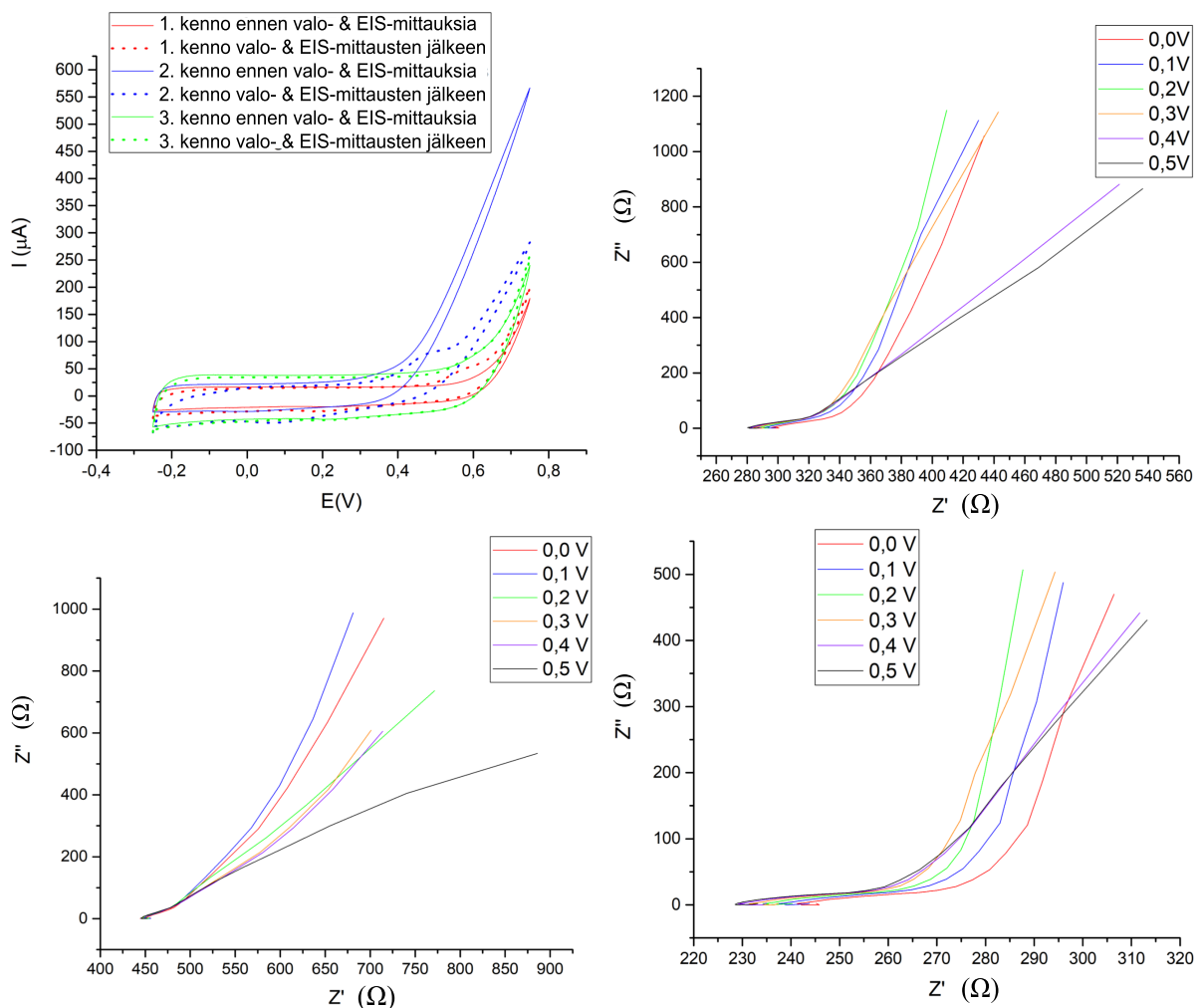
Kuva 21. Virrantiheydet ajan funktiona. Ylhäällä vasemmalla kennossa oli toinen erä elossa olevia syanobakteereita. Käytössä oli sininen 460 nm valo ja 0,5 V jännite. Värikuvaajassa näkyy ensin valo pois –300 s ja sitten 120 s valo päällä ja lopuksi 420 s- valo pois päältä. Muissa kuvissa näkyy kolmannen syanobakteerierän virrantiheyksiä, ylhäällä oikealla rinnakkaismittauksen ensimmäinen kenno, alhaalla vasemmalla toinen kenno ja alhaalla oikealla kolmas kenno. Näissä käytössä sama sininen valo kuin toisenkin bakteerierän kanssa.

Stabilointiajan tärkeys näkyy hyvin kuvassa 21. Kaikissa muissa paitsi kolmannen erän ensimmäisessä kennossa virrantiheysarvot laskevat mittauksen edetessä.

Rinnakkaismittauksissa ensimmäinen kenno (kuvassa ylhäällä oikealla) on valmiiksi ModuLight-valomoduulin päällä yön yli, joten siinä syanobakteerit ovat hyvin asettuneet PEDOT-kerroksen päälle ja virrantiheys-kuvaaja on lähes vaakasuora viiva. Muissa kuvissa

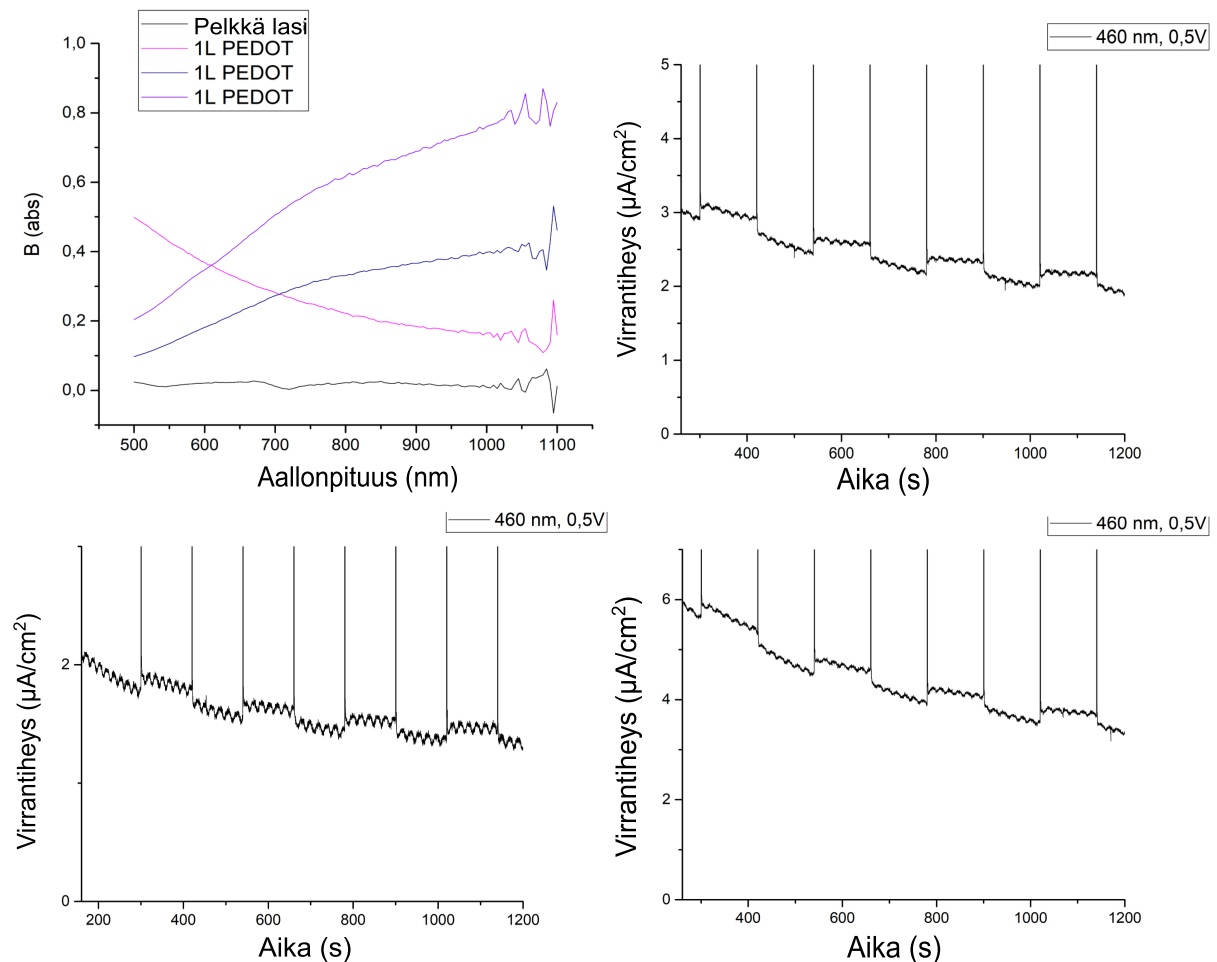
trendi on selvästi laskeva ja virrantiheyden voi olettaa laskevan samaan noin $1 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ suuruusluokkaan.

Valitettavasti tätä syanobakteerierää varten valmistetuista PEDOT-kalvoista ei otettu UV-Vis spektriä, joten näiden kalvojen vertailu jää ainoastaan pinta-resistanssien, CV- ja impedanssimittausten varaan. Virtavaste on kuitenkin niin huono näissä ensimmäisissä mittauksissa, että voidaan olettaa että PEDOT-kalvo ei ollut tarpeeksi laadukas paksuuden ja yhtenäisyyden osalta. Jo seuraavan erän kanssa käytössä olleet PEDOT-kalvot olivat parempia. Näissä erissä käytettyjen PEDOT-kalvojen resistiivisuudet olivat hyvin suurella skaalalla eli $272\text{-}647 \Omega/\square$.



Kuva 22. Ylhäällä vasemmalla kolmannen syanobakteerierän jokaisen kennon CV:t ennen ja jälkeen valo- ja impedanssimittausten. (-0,25 - 0,75 V ja 100 mV/s) Ylhäällä oikealla kolmannen syanobakteerierän ensimmäisen kennon impedanssikuvaaja. Alhalla vasemmalla on saman erän toisen kennon impedanssikuvaaja. Alhaalla oikealla puolestaan on kolmannen kennon impedanssikuvaaja. Jännitevälinä oli kaikissa 0,0-0,5 V ja taajuutena 100000-1 Hz. Punainen valo (660 nm) oli impedanssimittauksen aikana päällä ja käytössä on yksikerroksinen PEDOT-kalvo.

Kuvassa 22. näkyy ensimmäiseen kunnolliseen syanobakteerimittaukseen liitettyjen impedanssien kuvaajat. Käytin punaista valoa impedanssimittauksen aikana päällä, koska se oli viimeinen valo mikä jäi päälle valomittauksen jälkeen. Impedanssikuvaajat näyttävät keskenään hieman erilaisilta ja syy eroavaisuuksiin näkyy myös CV-kuvassa, eli PEDOT-kalvot eivät olleet identtisiä eikä siis täysin vertailukelpoisia. Toisen kennon kalvon potentiaali-ikkuna näyttäisi olevan muita pienempi, eli noin $-0,25\text{ V} - 0,4\text{ V}$, kun kahdella muulla se on noin $-0,25\text{ V} - 0,6\text{ V}$. Toisaalta saman kalvon impedanssi suurilla taajuuksilla, eli noin 100 kHz näyttäisi olevan muita siistimpi. Tämä näkyy kuvaajan vasemman alakulmassa kuvaajan melko suoralla nousulla yläviistoon. Ensimmäisen ja kolmannen kennon impedanssikuvaajat lähtevät ensin vaakatasoon kohti suurempaa resistanssia taajuuden pienentyessä.



Kuva 23. Ylhäällä vasemmalla PEDOT-levyjen UV-VIS spektrit neljännen syanobakteerierän mittauksia varten. Muissa kuvissa saman syanobakteerierän virrantiheyskuvaajat (rinnakkaismittaus). Kaikissa kuvattuna käyttäen sinistä 460 nm valoa ja $0,5\text{ V}$ jännitettä. Ensimmäinen kenno oikealla ylhäällä, toinen alhaalla vasemmalla ja viimeinen alhaalla oikealla.

Neljännen syanobakteerierän mittauksia varten tehdyistä PEDOT-kalvoista yksi näytti hyvin erilaiselta (kuvassa 23. violetilla), mutta kalvoa käytettiin silti jatkomittauksissa. Neljättä

syanobakteerierää käytettiin samaan tapaan kuin kolmattakin erää samoilla parametreilla, mutta mittauskäsittelyä pyrittiin parantamaan jotta ylimääräinen tärinä kennoja käsiteltäessä vähenisi ja syanobakteerit liikkuisivat mahdollisimman vähän pois PEDOT-kalvon päältä. Tavoite onnistuikin, sillä jokainen mittaus kaikilla kolmella kennolla näyttivät saman suuruusluokan tuloksia.

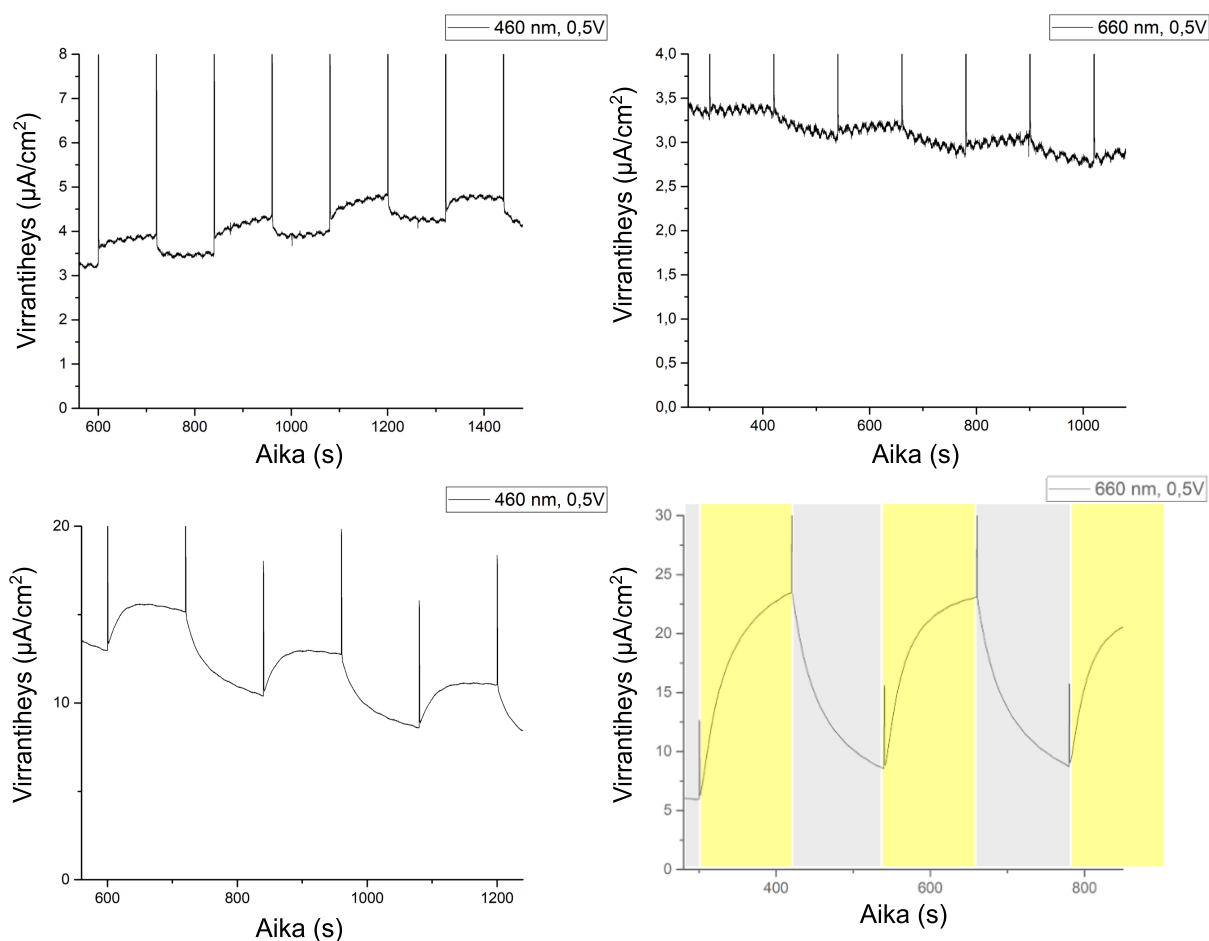
Myös PEDOT-kalvot olivat tässä selvästi käyttökelpoisempia kuin kolmatta syanobakteerierää varten tehdyt kalvot. Ainoastaan ensimmäisessä kennossa käytetty PEDOT näytti sekä paljaalla silmällä että UV-spektrissä eriväriseltä kuin muut. Tämän poikkeavuuden näkee kuvasta ja se johtuu oletettavasti kalvon pinnalle jääneestä hapettimesta. Tästä poikkeavuudesta huolimatta kyseinen kalvo tuotti aivan yhtä hyviä virrantiheyksiä kuin kaksi muutakin kennoa. Näissä erissä käytettyjen PEDOT-kalvojen resistiivisyydet olivat 281-420 Ω/\square .

Yhteenvetona valomittauksista ilman välittäjäaineita käyttäen tavallista ravinneliuosta ja sinistä 460 nm valoa voidaan sanoa että virrantiheysarvot jäivät melko mataliksi. Sininen valo toimi joka mittauksessa paremmin eli tuotti paremman virtavasteen kuin 660 nm punainen valo. Yksikerroksisilla PEDOT-kalvoilla virrantiheydet ovat välillä 1,0 — 3,0 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ja kaksikerroksisilla noin 6,0 — 8,0 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Virrantiheysarvojen erotus valon ollessa pois päältä ja sen ollessa päällä oli noin 2,0 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ molemmilla PEDOT-kalvojen paksuuksilla. Yksikerroksisella erotus oli 2,2 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ja kaksikerroksisella 1,7 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Arvot ovat heikkoja verrattuna niihin jotka saatiin käyttäen välittäjäaineita eli lisä-aineita. Näilläkin arvoilla on tärkeä merkitys, sillä olisi ihanteellista että bioaurinkokenno toimisi riittävän hyvällä hyötysuhteella ilman myrkyllisiä lisäaineita.

3.2.2. Yksikerroksisen PEDOT–kalvon mittaukset syanobakteerien kanssa käyttäen välittäjäaineita

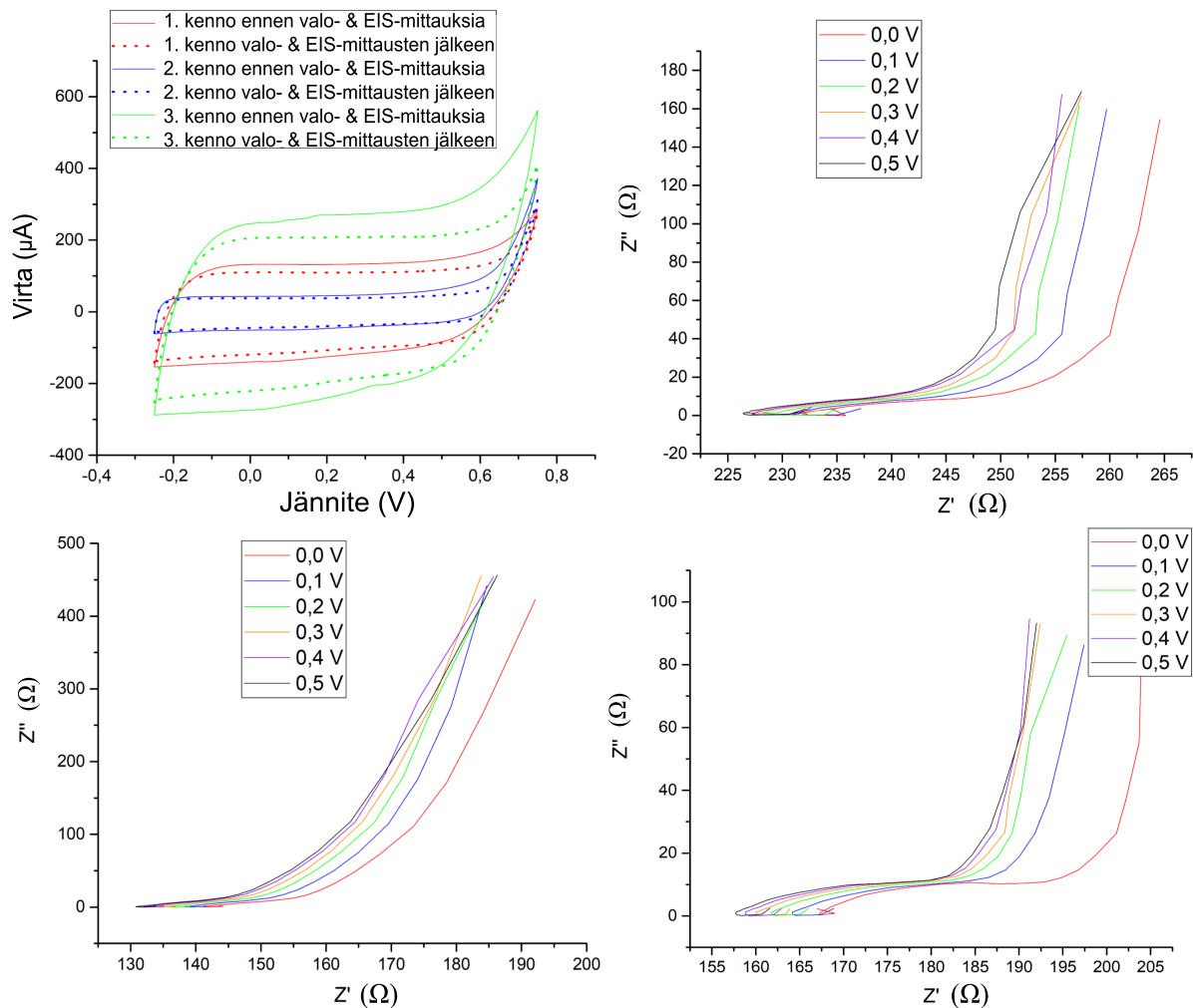
Välittäjäaineilla kuten DCBQ, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ja PYO (Kuva 4.) saadaan luonnollisesti korkeampia virtavasteita kuin ilman niitä. Virrantiheysarvot paranevat niin pimeässä, kuin valossakin. Myös näiden kahden erotus kasvaa. Näistä DCBQ ja $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ on näkyvissä tässä tutkielmassa, mutta PYO:n tulokset löytyvät liitteistä. PYO on erittäin kallis välittäjäaine ja käytössä oli vain väärin säilytettyä PYO:ta, joka ei toiminut toivotulla tavalla. Liitteistä löytyy myös valomittausten tulokset käyttäen inhibiittori DCMU:ta. Sekään ei ollut oikeaoppisesti kylmässä, mutta inhiboi silti fotosynteesiä, jolloin virtavaste jäi erittäin pieneksi.

Lisäaineiden myrkyllisyydestä johtuen aineita pyrittiin käyttämään mahdollisimman vähän, sillä esimerkiksi DCBQ on syöpää aiheuttava aine suurina määrinä hengitettynä. Vaikka PYO on luonnollinen lisäaine, jota löytyy monista bakteereista, niin myös se on myrkyllistä. Se voi aiheuttaa keuhkosairauksia kuten esimerkiksi kystistä fibroosia ja vahingoittaa solukalvon proteiineja. Syanobakteerit eivät luonnollisesti tuota pyrosyaniinia, mutta sitä tuottava geeni voidaan siirtää niihin.



Kuva 24. Ylärivissä $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -lisäaineen käyttö (15 μl , 10 mmol). Vasemmalla käytössä sininen 460 nm valo ja 0,5 V jännite ja neljännen syanobakteerierän kolmas kenno. Oikealla käytössä punainen 660 nm valo ja 0,5 V jännite ja sama kenno. Alarivissä DCBQ-lisäaineen käyttö (15 μl , 10 mmol). Vasemmalla käytössä sininen 460 nm valo ja 0,5 V jännite ja neljännen syanobakteerierän ensimmäinen kenno. Oikealla käytössä punainen 660 nm valo ja 0,5 V jännite ja sama kenno.

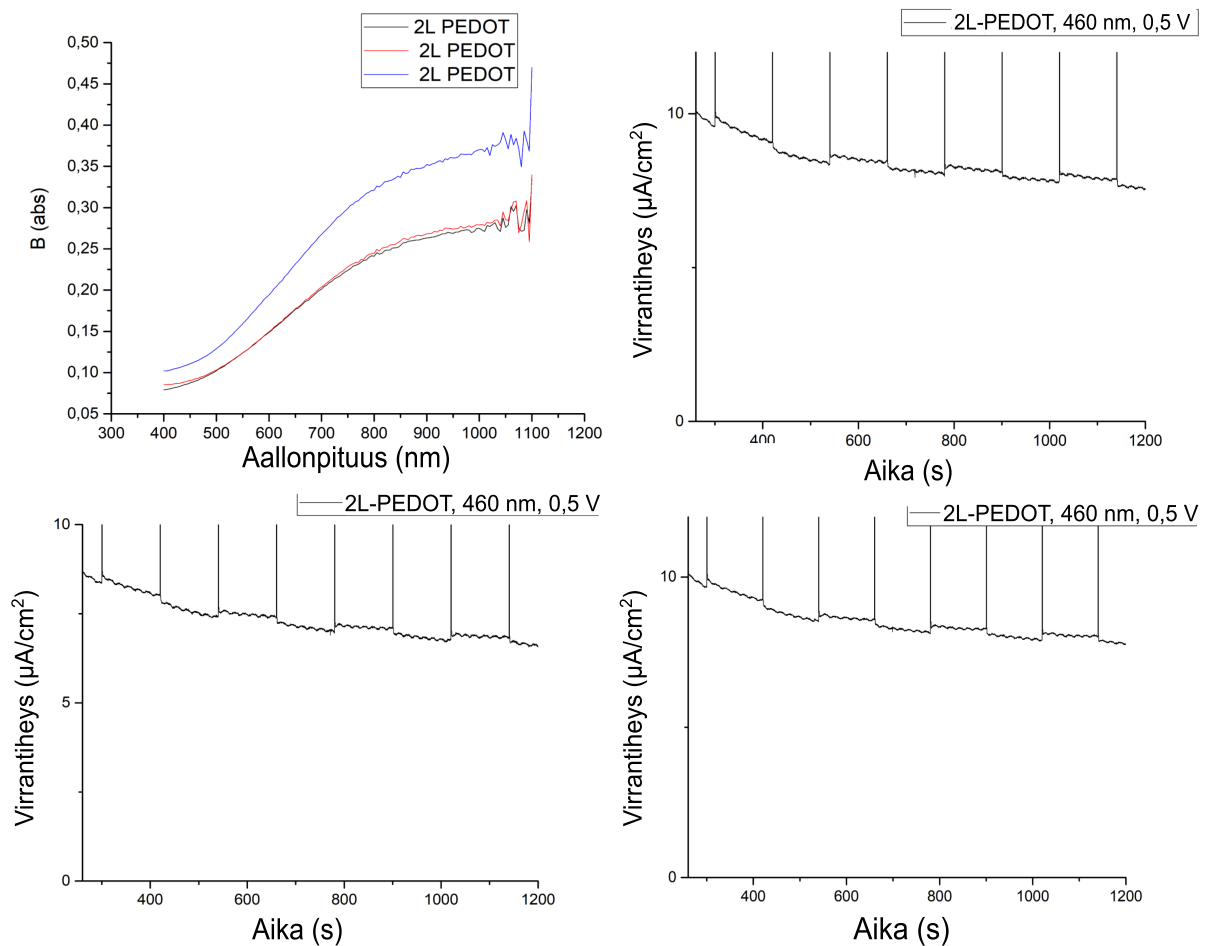
Neljännen syanobakteerierän kennoihin kokeiltiin myös erilaisia lisäaineita varsinaisten mittausten jälkeen. Ferrisyanidi-lisäaine ei juurikaan lisännyt virrantiheyttä, mutta DCBQ-lisäaine toi huomattavan suuren parannuksen. DCBQ:n kanssa punainen (660 nm) valo tuotti paremman virtavasteen kuin sininen (460 nm) valo, mikä oli päinvastainen tulos kaikkiin muihin mittauksiin verrattuna. Erotus virrantiheydessä pimeän ja valon aikana oli $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ainetta käytettäessä noin $0,6 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ (460 nm valo) ja $0,2 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ (660 nm valo). DCBQ:lla sama erotus oli $3 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ (460 nm valo) ja $16 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ (660 nm valo). Koska yksi työn tavoitteista oli saada tämä erotus mahdollisimman suureksi, niin DCBQ-lisäaine yhdistettynä punaiseen 660 nm valoon tuotti parhaimman lopputuloksen tässä asiassa. $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -lisäaineella 460 nm valo ja DCBQ-lisäaineella 660 nm valo tuottivat myös hieman nousevan virtakäyrän. Kun lisäaineilla tuotettuja virrantiheyksiä kuvasta 24. vertaa kuvan 23. samoilla PEDOT-kalvoilla mitattuihin virrantiheyksiin, niin ero on valtava.



Kuva 25. Ylhäällä vasemmalla neljännen syanobakteerierän jokaisen kennon CV:t ennen ja jälkeen valo- ja impedanssimittausten. (-0,25 - 0,75 V ja 100 mV/s) Ylhäällä oikealla neljännen syanobakteerierän ensimmäisen kennon impedanssikuvaaja. Alhaalla vasemmalla on saman erän toisen kennon impedanssikuvaaja ja alhaalla oikealla puolestaan on kolmannen kennon impedanssikuvaaja. Jännitevälinä oli kaikissa 0,0-0,5 V ja taajuutena 100000-1 Hz. Kahdessa ensimmäisessä kennossa punainen valo (660 nm) oli impedanssimittauksen aikana päällä, kolmannessa käytössä oli sininen valo vertailun vuoksi.

Neljännen syanobakteerierän impedanssimittaukset tehtiin muuten samalla tavalla kuin kolmannessakin erässä, mutta yhden kennon impedanssimittauksien ajan sininen valo (460 nm) oli päällä. Kaikissa muissa impedanssimittauksissa punainen valo oli päällä ja impedanssien perusteella valon värillä ei ole kovin paljon merkitystä lopputulokseen. Kuvasta 25. näkee näiden impedanssivertailuiden lisäksi myös saman erän CV-kuvaajat. Tämän erän CV:t eivät näytä olevan yhtä samanarvoisia keskenään kuin edellisessä kolmannen syanobakteerierän kanssa mitattujen kalvojen. Virtavasteen koko on alunperin kolmannessa kalvossa yli kaksi kertaa toista suurempi, mutta valo- ja EIS-mittausten jälkeen ero kaventuu selvästi. Virtavasteiden absoluuttiset arvot ovat kuitenkin edellistä PEDOT-erää parempia ja potentiaali-ikkuna on noin 0,1 V laajempi.

3.2.3. Virtavasteen parantaminen muilla tavoin



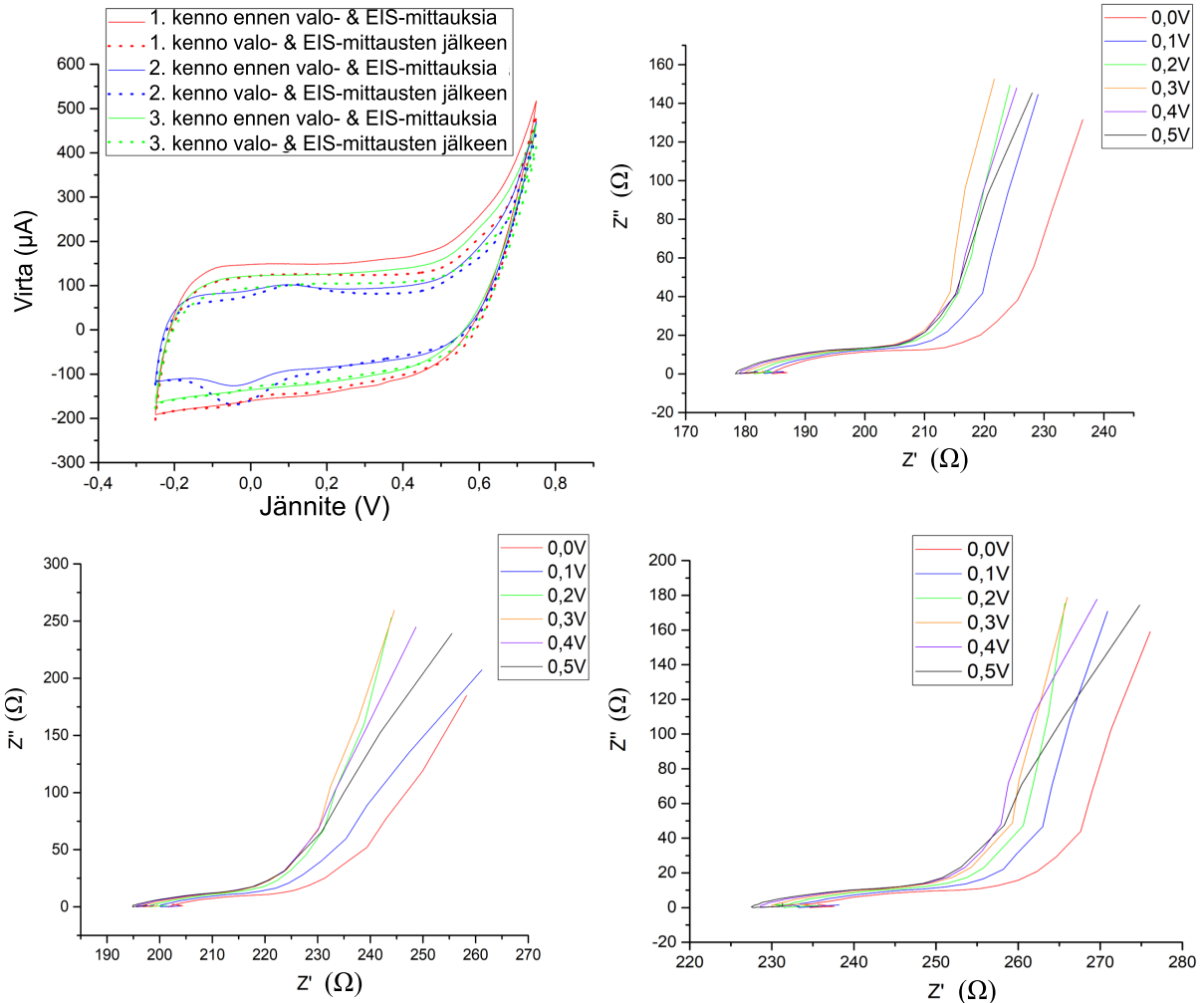
Kuva 26. Ylhäällä vasemmalla PEDOT-levyjien UV-VIS spektrit viidennen syanobakteerierän mittauksia varten käyttäen kaksikerroksisia PEDOT-kalvoja. Muissa kuvissa saman syanobakteerierän virrantiheyskuvaajat (rinnakkaismittaus). Kaikissa kuvattuna käyttäen sinistä 460 nm valoa ja 0,5 V jännitettä. Ensimmäinen kenno oikealla ylhäällä, toinen alhaalla vasemmalla ja viimeinen alhaalla oikealla.

Taulukko 8. Kaksikerroksisen PEDOT-kalvon pinta-resistiivisyydet.

Pinta-resistiivisyys ----- Kalvo	Forward (Ω/\square)
1.	161-220
2.	151-178
3	89-143

2L-kalvojen kolmannen kalvon paksumpi PEDOT-kerros näkyy muuta pienempänä resistiivisyytenä (taulukko 8.) sekä suurempana absorbanssina UV-Vis-kuvassa (kuva 26.) Valomittauksissa virtavaste on yksikerroksisia kalvoja parempi, mutta virta ei silti juurikaan kasva valon ollessa päällä verrattuna sen ollessa pois päältä. Virrantiheyskuvaajat eivät

kuitenkaan näytä jyrkästi laskevia virrantiheyksiä. Tämä saattaa johtua siitä että kun PEDOT-kerros on 2L-kalvojen tapauksessa paksumpi, niin syanobakteerit tarttuvat paremmin sen onkaloihin kiinni. Näin sähkökemiallisen kennon pieni liike ei aiheuta suurta haittaa eikä bakteerit siirry pois kalvon päältä.

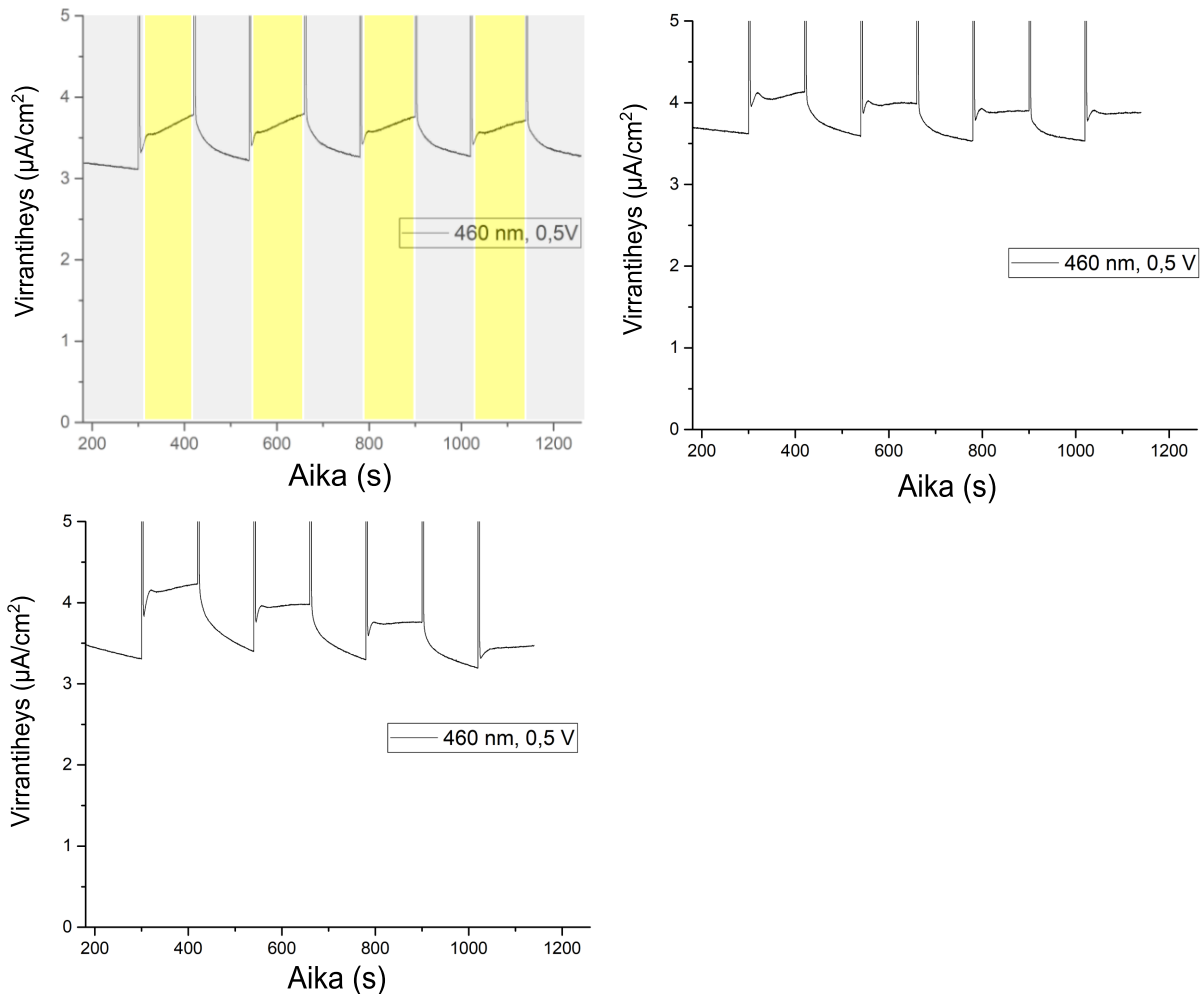


Kuva 27. Ylhäällä vasemmalla viidennen syanobakteerierän jokaisen kennon CV:t ennen ja jälkeen valo- ja impedanssimittausten. (-0,25 - 0,75 V ja 100 mV/s) Ylhäällä oikealla viidennen syanobakteerierän ensimmäisen kennon impedanssikuvaaja. Alhalla vasemmalla on saman erän toisen kennon impedanssikuvaaja. Alhaalla oikealla puolestaan on kolmannen kennon impedanssikuvaaja. Jännitevälinä oli kaikissa 0,0-0,5 V ja taajuutena 100000-1 Hz. Sininen valo (460 nm) oli impedanssimittauksen aikana päällä.

Kaksikerroksisten PEDOT-kalvojen CV:t ei tässä erotu erityisen hyvinä verrattuna edellisen erän 1L-kalvoihin, vaikka pinta-resistiivisyydet ovatkin näissä erittäin hyviä. Muihin 1L-kalvoihin verrattuna näiden 2L-kalvojen CV:iden virtavasteet ovat suurinpiirtein kaksi kertaa suurempia. Kuvasta 27. näkee että toisessa kalvossa oli jokin ylimääräinen hapetus-pelkistysreaktio (hapetus kohdassa 0,1 V ja pelkistys kohdassa -0,05 V). Varsinkin pelkistyspiikki näyttäisi kasvavan selvästi valo- ja impedanssimittauksen aikana. Tämän

kalvon valomittausten virrantiheydet jäivät hieman muita pienemmäksi. Muissa tämän erän kalvoissa ei näy mitään ylimääräisiä reaktioita ja kaikki kolme CV:tä on hyvin samanmuotoisia ja -kokoisia.

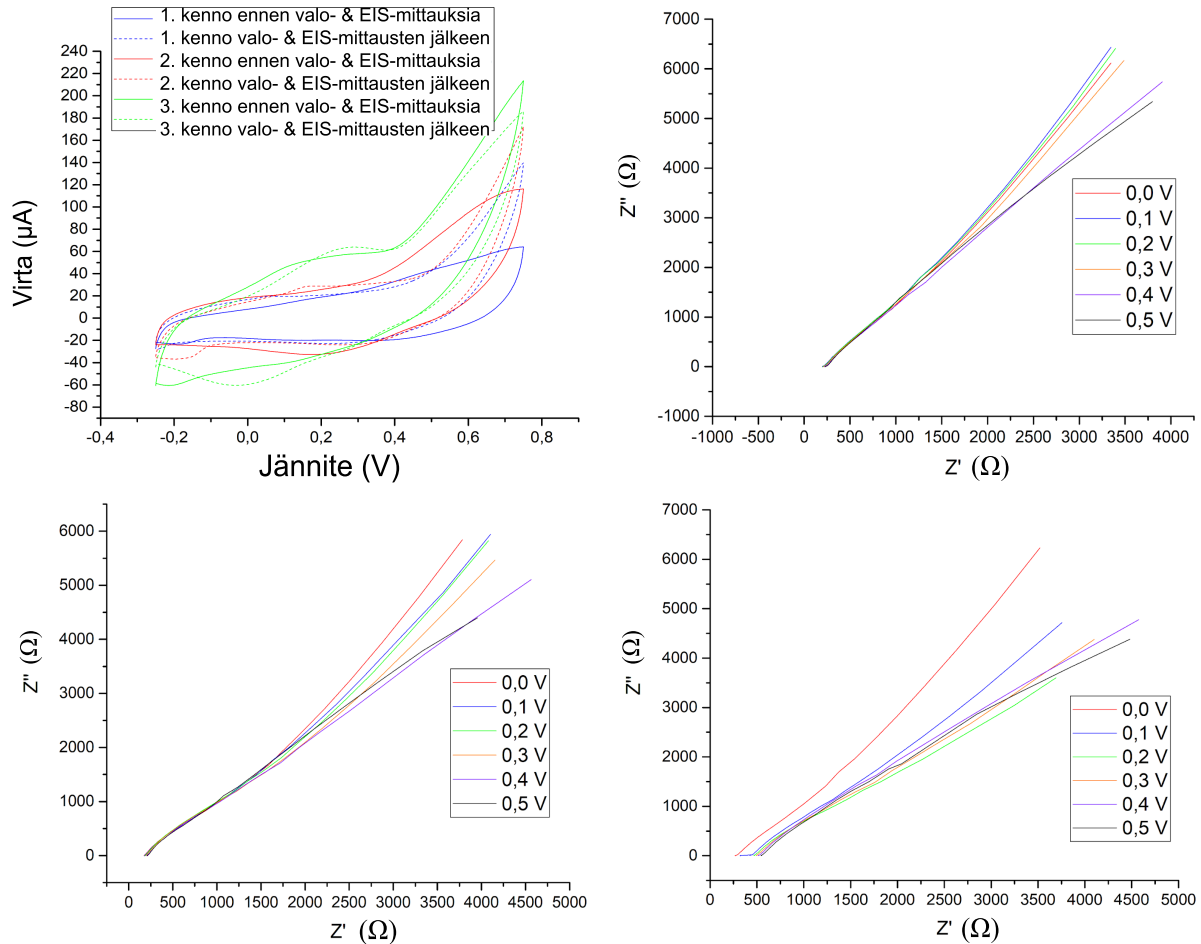
Samassa kuvassa näkyvät impedanssit eivät yllättäen eroa kovin paljoa yksikerroksisten PEDOT-kalvojen impedansseista. Kun kuvassa 12. vertailtiin 1L ja 2L impedansseja ilman syanobakteereita, niin 2L-kalvoilla oli selvästi pienempi resistanssi (R_s) kuin 1L-kalvoilla. Nyt kun näissä mittauksissa mukana on pelkän elektrolyytin lisäksi myös syanobakteerit, niin resistanssit ovat erittäin samaa suuruusluokkaa.



Kuva 28. Syanobakteerimittaukset käyttäen seitsemännen syanobakteerierän soluja ja elektrolyyttinä väkevöityä elektrolyyttiä (pH=8,2). Ylhäällä vasemmalla ensimmäinen kenno, ylhäällä oikealla toinen kenno ja alhaalla kolmas kenno. Näihin mittauksiin käytettyjen PEDOT-kalvojen UV-VIS-kuvaajat ja pinta-resistiivisyydet löytyvät kuvasta 8.

Kuvassa 28. näkyy väkevöidyn elektrolyytin vaikutus virrantiheyteen ja parantunut sähköjohtavuus näyttäisi olevan erittäin hyödyllinen kennon suorituskykyä mitattaessa. Vaikka sähkökemiallisten kennojen ylimääräiseen tärinään ja liikkeeseen ei kiinnitetty mitenkään erityisesti huomiota, niin silti virrantiheys-kuvaajat näyttäisivät olevan hyvin vaakasuoria, eli syanobakteerit ovat hyvin stabiileja PEDOT-kerroksen päällä. Tällöin

syanobakteerit eivät ole ajalehtimassa ravinneliuoksessa, vaan kiinnittyneinä elektrodin pintaan. Lisäksi pimeään ja valoisan virtavasteen välinen ero on hyvin huomattava, noin $0,5-1,0 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.

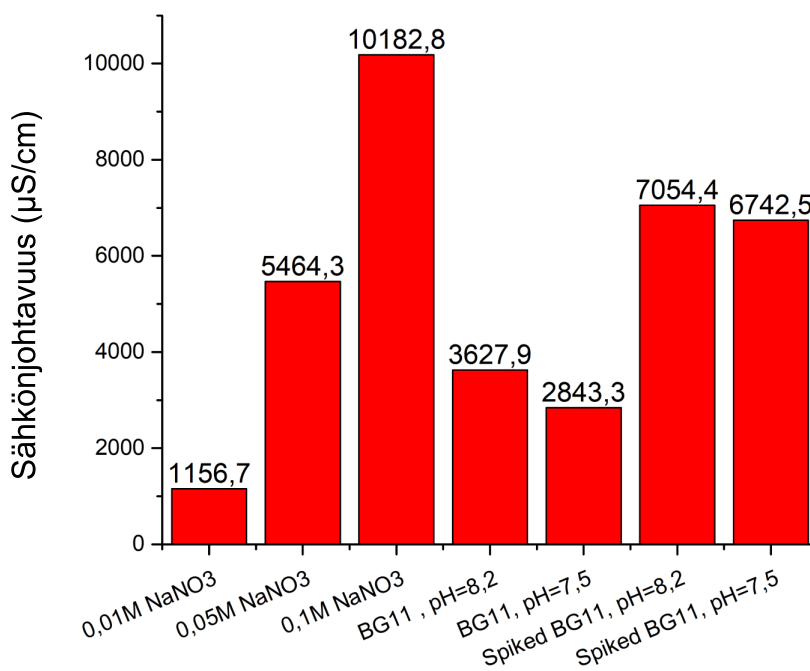


Kuva 29. Ylhäällä vasemmalla seitsemännen syanobakteerierän jokaisen kennon CV:t ennen ja jälkeen valo- ja impedanssimittausten. (-0,25 - 0,75 V ja 50 mV/s) Ylhäällä oikealla seitsemännen syanobakteerierän ensimmäisen kennon impedanssikuvaaja. Alhaalla vasemmalla on saman erän toisen kennon impedanssikuvaaja. Alhaalla oikealla puolestaan on kolmannen kennon impedanssikuvaaja. Jännitevälinä oli kaikissa 0,0-0,5 V ja taajuutena 100000-1 Hz. Ensimmäisessä kennossa ei ollut valoa päällä impedanssin aikana, mutta toisessa kennossa käytettiin punaista valoa (660 nm) ja kolmannessa kennossa sinistä valoa (460 nm).

Kuvassa 29. näkyy viimeisen syanobakteerierän CV, joka ei näytä yhtä hyvältä kuin aikaisemmillä erillä ja kalvoilla, vaikka nämä kalvot näyttivät hyvältä UV-spektrissä ja virrantiheydet valomittauksista olivat erinomaisia. Tässä käytettiin kuitenkin pienempää pyyhkäisy nopeutta, mikä paljastaa melko suuria hapetus- ja pelkistysreaktioita. Jostain syystä myös potentiaali-ikkuna näyttää kutistuvan hieman impedanssi- ja valomittauksen aikana. Kyseessä saattaa olla hapen vaikutus tai väkevöidyn ravinneliuoksen tuottamat

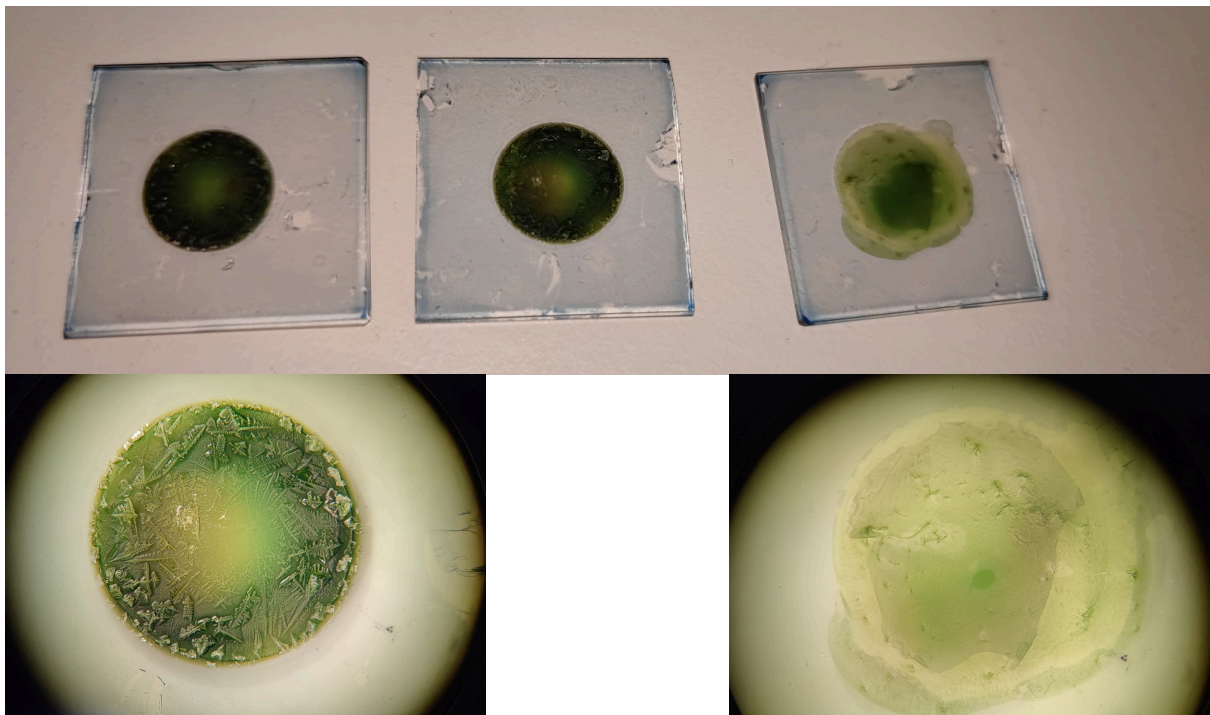
redox-reaktiot. Vaikka potentiaali-ikkuna ei olekaan yhtä leveä kuin pelkällä BG11 mitattaessa, niin parempi sähkönjohtavuus korvaa tämän puutteen. Kuvassa 30. on vertailtu eri elektrolyyttien sähkönjohtavuuksia. Siitä näkee selvästi miten spiked elektrolyyttien johtavuudet asettuvat odotetusti BG11:n ja 0,1 M NaNO₃:n väliin. Lisäksi pH:n ollessa 8,2, johtavuus on hieman pH=7,5 parempi. Näitä paremmin johtavia versioita käytettiin tämän työn valomittauksissa syanobakteerien kanssa. Myös happamampien eli pH=7,5 versioiden kokeileminen syanobakteerien kanssa voisi olla hyödyllistä, sillä kenties syanobakteerit pystyvät hyödyntämään näiden liuosten erilaista koostumusta hyödykseen sekä tuottamaan parempia virtavasteita.

3.2.4. Yhteenvedo tuloksista



Kuva 30. Elektrolyyttien ioniset johtavuudet LabQuest Mini-laitteella ja siihen yhdistetyllä Logger Pro-ohjelmalla. Väkevöidyt (spiked) BG11-elektrolyytit tehty 1:1 suhteella BG11 ja 0,1 M NaNO₃.

Kuvasta 30. nähdään myös se että vaikka BG11-ravinneliuoksen NaNO₃ konsentraatio on noin 0,01 M, niin silti sen sähkönjohtavuus on pelkkää 0,01 M NaNO₃-elektrolyyttiä selvästi parempi. BG11 sisältää myös monia muita sähköä johtavia ioniyhdisteitä, kuten kuparisulfaattia, magnesiumsulfaattia ja sinkkisulfaattia. Jatkossa olisi mielenkiintoista ja hyödyllistä kokeilla myös muita sekoitussuhteita, kuin pelkästään nyt käytetty 1:1. Esimerkiksi 1:2 tai 2:1 suhteet voisivat tarjota arvokasta tietoa miten ravinneliuoksen toimivuus bioaurinkokennoissa muuttuu. Elektrodin, eli PEDOT:in suhteen parempi sähkönjohtavuus on hyvä, mutta syanobakteerit eivät kestä liian suolaisia liuoksia. Toki uudenlaisten syanobakteerikantojen kehittäminen saattaa tuottaa ratkaisun tähänkin ongelmaan.

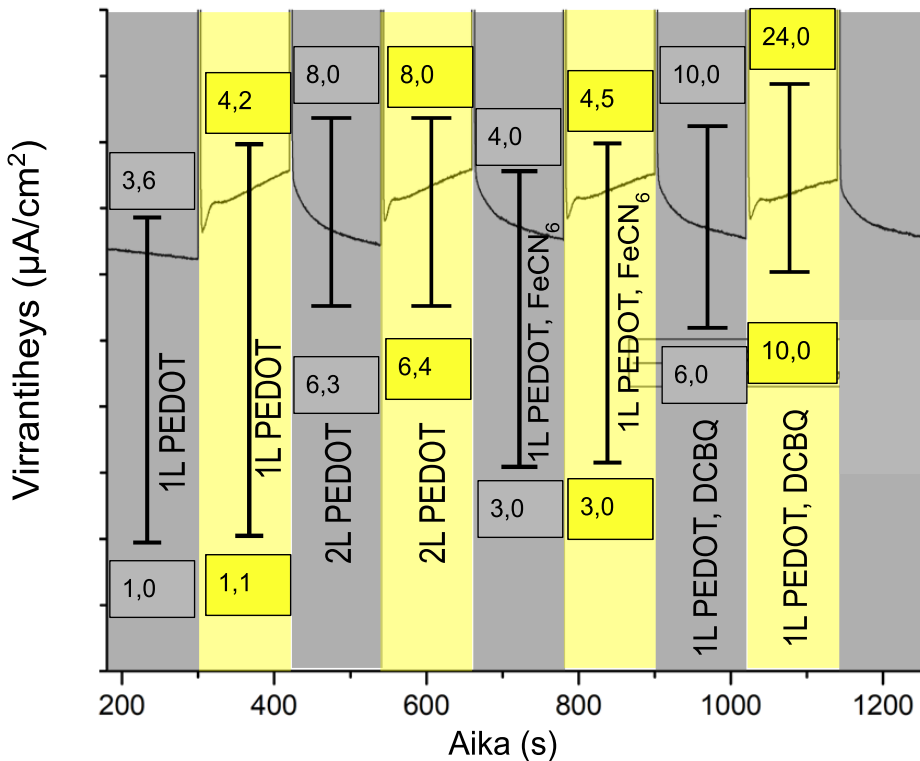


Kuva 31. Ylhäällä kolme PEDOT-kalvoa, joiden päällä kuivuneet syanobakteerikerrokset. Kaksi vasemmanpuolista olivat viikon ajan kennossa ilman sähkökemiallisen kennon tulppaa. Ravinneliuoksen natriumnitraatti on kristallisoitunut kun nestemäinen vesi on haihtunut kennosta pois. Oikeanpuolinen näyte oli kennossa, jossa tulppa oli kiinni koko ajan ja haihtumista ei tapahtunut juuri yhtään viikon aikana. Tämä näyte säilyi nestemäisenä. Alhaalla mikroskooppikuvat kahdesta PEDOT-kalvon pintaan jääneestä syanobakteeri-ravinneliuos-kerroksesta. Oikealla oleva kuva on nestemäiseksi jääneestä näytteestä ja vasemmanpuoleinen näyte on kuivunut ja kristallisoitunut. Nestemäinen näyte levisi koska tiivisterengas poistettiin kalvon päältä.

Kuvassa 31. näkyy jo mitatuista syanobakteerinäytteistä otettuja mikroskooppikuvia. Kun ravinneliuoksen ja syanobakteerit jättää sähkökemialliseen kennoon ilman kennon tulppaa, niin neste haihtuu melko nopeasti pois. Jäljelle jää vain vihreä kristallisoitunut kerros syanobakteereita PEDOT:in pinnalla. Kun tulppaa pidetään kennossa paikallaan, niin nestemäinen elektrolyytti pysyy huomattavasti kauemmin sisällä. Tällöin tätä samaa näytettä voi periaatteessa mitata vaikka viikonkin jälkeen, toki syanobakteerit ei ole enää elossa. Ne tarvitsevat lämpöä ja ennen kaikkea valoa elääkseen. Syanobakteerit säilyvät elossa kauemmin jos tulpan jättää auki ja kennon sisälle pääsee tarpeeksi valoa. Tällöin ilmasta tulevat epäpuhtaudet kuitenkin liukenevat elektrolyyttiin aiheuttaen ongelmia seuraavissa mittauksissa.

Ravinneliuoksen ja bakteerien alla olevaa PEDOT:ia voi kuitenkin käyttää jos kennon sisältö tyhjenetään mutta kennoa ei avata. Jos kennon avaa, eli ylä- ja alapuolel irrotetaan toisistaan, niin tiivisterengaan irrottaminen aiheuttaa helposti PEDOT:in repeämisen. Tällöin

PEDOT-kalvoon tulee ympyrän muotoinen reikä ja sen käyttäminen mittauksissa ei enää onnistu. Kalvoon voi tulla myös pieniä halkeamia joita ei voi nähdä paljaalla silmällä, mutta jotka romahduttavat PEDOT:in johtavuuden ja kapasitanssin. Nämä vauriot tulevat PEDOT-kalvoon myös ilman syanobakteereita, eli jo pelkällä elektrolyytillä mitattaessa tiivisterengas tarttuu kalvon pintaan tiukasti.



Kuva 32. Viimeisen syanobakteerierän ensimmäisen kennon virrantiheyskuvaaja, jossa mukana kaikkien muidenkin valomittausten virrantiheys-arvot. Harmaat alueet tarkoittavat 120 sekunnin aikajaksoja, jolloin kennoa ei valaistu. Keltaisina 120 sekunnin väleinä kennoa valaistiin joko 460 nm valolla tai 660 nm valolla. Virrantiheydet ja palkit eivät ole kuvassa oikeassa suhteessa.

Kuvassa 32. on yhdistetty kaikkien valomittausten virrantiheysarvoja samaan kuvaan. Taustalla kuva on otettu kuvasta 28, joten muiden mittausten virrantiheyksiä ei voi lukea sen kuvan virrantiheysasteikolta suoraan. Osa arvoista on arvioita, mihin arvo asettuisi kun bakteerit on laskeutuneet PEDOT:in pintaan. Vasemmalla on siis 1L PEDOT:in virrantiheysarvot mitattuna joko BG11 tai vahvistetulla BG11-ravinneliuoksella ilman mitään lisäaineita (ensin pimeässä ja sitten valaistuna (460 nm)). Seuraavaksi kuvassa on 2L PEDOT:in vastaavat arvot sekä pimeässä että sinisellä valolla. Kuudes ja seitsemäs pystypalkki kuvaa virrantiheydet käyttäen lisäaineena ferrisyaniidia ja kaksi viimeistä palkkia on saatu aikaiseksi käyttämällä lisäaineena DCBQ:ta. Lisäaineilla saatuihin arvoihin on käytetty sekä sinistä että punaista valoa.

Taulukko 9. Kaikkien valomittausten virrantiheys-arvot sekä pimeässä että valon ollessa päällä yksikössä $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Lisäksi maksimi erotus näiden kahden arvon välillä.

	1L (460 nm)	1L (spiked BG11, 460 nm)	2L (460 nm)	$\text{Fe}(\text{CN})_6$ (460 nm)	$\text{Fe}(\text{CN})_6$ (660 nm)	DCBQ (460 nm)	DCBQ (660 nm)
Pimeä	1,0-3,0	3,3-3,6	6,3-8,0	3,2-4,2	2,9-3,3	8,5-13,1	6,0-9,0
Valo päällä	1,1-3,2	3,8-4,2	6,4-8,0	4,0-4,7	3,0-3,4	11,9-15,2	23,8-24,0
Maksimi erotus	2,2	0,9	1,7	1,5	0,5	6,7	18

Sekä kuvasta 32. että taulukosta 9. näkee saman asian hieman eri tavalla esitettynä. Eli parhaimmat virtavasteet saavutetaan DCBQ-lisäaineella punaisella valolla ja huonoimmat arvot yksinkertaisella kalvolla jossa elektrolyytinä tavallinen BG11. Tosin tällä huonoimmat absoluuttiset arvot tuottavalla 1L-kalvolla saatiin kohtuulliset virtavaste-erot pimeän ja valon välille. Koska 2L-kalvolla saadaan hyviä virrantiheys-arvoja BG11-elektrolyytissä, niin olisi hyvä kokeilla myös samaa kalvoa vahvistetussa ravinneliuoksessa (spiked BG11). Näin voisi saada erinomaisia tuloksia ilman mitään haitallisia lisäaineita.

4. Lopputulokset ja päätelmät

Tämän työn tarkoituksena oli tutkia PEDOT-johdepolymeerin soveltuvuutta bioaurinkokennojen elektrodimateriaalina. Aiemmin indium tinaoksidia on käytetty samassa tarkoituksessa, mutta PEDOT:in myrkyttömyys ja edullinen hinta tekevät siitä varteenotettavan vaihtoehdon ITO:n kaltaisille materiaaleille. Vaikka PEDOT:in käyttäminen bioaurinkokennoissa ei vielä tässä työssä tuottanutkaan tavallisten piipohjaisten aurinkokennojen hyötysuhdetta tai virrantiheyttä, niin uskon että tälläkin teknologialla on paikkansa.

Työssä valmistettiin ohuita PEDOT-kalvoja lasisubstraatin pinnalle höryfaasipolymerisaatiolla. Näiden kalvojen tasalaatuisuutta tutkittiin pinta-resistanssia ja UV-VIS-spektrejä hyödyntäen. Kalvojen toimivuutta sähkökemiallisessa kennossa testattiin CV- ja EIS-mittauksilla samalla vertaillen erilaisia elektrolyyttejä. Lopuksi kennon päälle asetettiin kerros syanobakteereja ja ravinneliuosta elektrolyytiksi. Näissä mittauksissa käytettiin kahta (460 nm ja 660 nm) valoa, jotta saatiin selville syanobakteerien tuottaman sähkövirran suuruus. PEDOT osoittautui bioyhteensopivaksi materiaaliksi, sillä syanobakteerit säilyivät hengissä elektrodin pinnalla kunhan ne saivat tarpeeksi valoa ja ravinteita.

Paras elektrolyytti kokeilluista vaihtoehdoista oli vahvistettu ravinneliuos (spiked BG11) (pH=8,2). Sillä PEDOT saavutti parhaimman suorituskyvyn ilman että syanobakteerit häiriintyivät suuremmasta suolapitoisuudesta. Lisäaineilla kennon tuottama virtavaste on parempi kuin ilman. Mutta varsinkin DCBQ on myrkyllistä, joten siitäkin olisi hyvä päästä eroon. Kaksikerroksinen PEDOT on parempi elektrodimateriaali kuin yksikerroksinen

PEDOT, vaikka sen läpinäkyvyys ei olekaan yhtä hyvä kuin yksikerroksisella kalvolla. Saavutetut tehotehdydet olivat $5 - 120 \text{ mW/m}^2$ käyttäen $0,5 \text{ V}$ jännitettä. Jatkossa vielä parempien tulosten tavoittelussa hyödyllisiä keinoja ovat kaksikerroksisen PEDOT:in ja johtavuudeltaan vahvistetun ravinneliuoksen yhdistäminen. Myös PEDOT-kerrosten määrän optimointi sekä BG11-liuoksen ja NaNO_3 :n suhteen optimointi toisivat parempia virtavasteita.

Työssä havaittuja hyödyllisiä metodeja bioaurinkokennojen kehityksessä ja toiminnan tutkimisessa ovat tässäkin työssä käytetyt CV, EIS, valomittaus, pinta-resistiivisyyden mittaaminen ja UV-VIS. Myös kennon sähköpiiriä kuvaava ekvivalentti piiri auttaa havainnollistamaan kokonaisuutta. Kennoa voitaisiin myös kuvata Randlesin piirillä, jossa on lisäksi vakiofaaselementti (CPE) sarjaan kytkettynä R_p :n kanssa. Tällöin CPE kuvaa kaksoiskerroksen (EDL) kapasiteettia. Valon pitäminen päällä tai sen värin muuttaminen impedanssimittausten aikana ei tässä työssä tuonut kovin suuria muutoksia mitattuihin kapasitanssi-arvoihin, vaikka muissa tutkimuksissa sen kaltaisia tuloksia on esitetty.³² PEDOT-polymeerin käyttö elektrodina ITO:n tai FTO:n tilalla tuottaa erinomaisia tuloksia. Kun otetaan huomioon PEDOT:in muut hyvät puolet, eli raskasmetallittomuus, ympäristöystävällisyys ja hyvä johtavuus, niin ei ole syytä käyttää ITO:n kaltaisia materiaaleja.

Kun tulevaisuudessa rakennetaan kaupallisia ja käytännöllisiä bioaurinkokennoja, niin huomioon tulee ottaa lukuisia asioita. Esimerkiksi käytettävän fotoaktiivisen eliön valinnalla voidaan tehostaa sähköntuotantoa tai käyttöolosuhteita. Eri syanobakteerilajit esimerkiksi kestävät erilaisia lämpötiloja, jolloin löytämällä sopivin laji tiettyihin ilmasto-olosuhteisiin, voidaan virrantuotanto maksimoida kullakin alueella. Muita huomioon otettavia asioita ovat elektrodien ja elektrolyytin valinta, joita tässäkin tutkielmassa käytiin läpi. Näitä optimoimalla voidaan sähköntuotantoa ja ympäristöystävällisyyttä parantaa vielä entisestään. Välittäjäaineita käyttämällä saadaan hyötysuhdetta kasvatettua, mutta samalla kenno sisältää haitallisia aineita ja sen ympäristöystävällisyys kärsii selvästi.

Kaupallisten bioaurinkokennojen lopullinen fyysinen muoto muuttuu vielä varmasti, mutta koska elektrodit ovat PEDOT:ia ja lasi-substraattia käytettäessä läpinäkyviä, niin rakenne poikkeaa tavallisista piipohjaisista aurinkokennoista. Kenno voitaisiin koota niin että lasilevyn päällä olevan ohuen PEDOT-kerroksen alla on kerros syanobakteereita ravinneliuoksessa. Taustalevynä eli vastaelektrodina olisi jokin metallikalvo. Tällöin kenno toimisi samaan tapaan kuin tavallisetkin aurinkokennot. Jos molemmat elektrodit olisivat läpinäkyviä eli molemmat olisivat esimerkiksi PEDOT-johdepolymeerikalvoja tai toinen grafeenikalvo, niin kenno olisi kokonaan läpinäkyvä. Tämä mahdollistaisi auringonvalon pääsyn syanobakteereille sekä kennon etu- että takapuolelta, jolloin kenno voidaan asettaa pystyyn. Tämä parantaisi hyötysuhdetta entisestään.

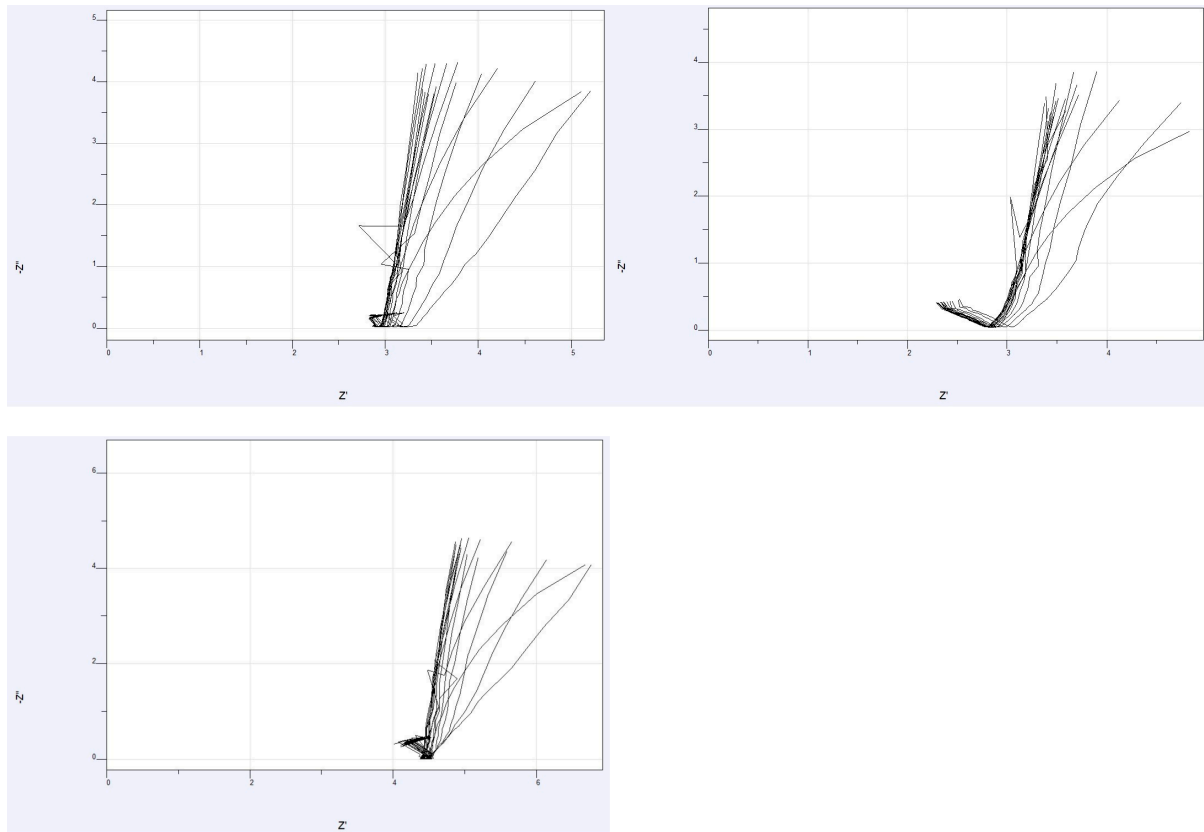
Viitteet

- [1] Kuruvinashetti, K.; Tanneru, H. K.; Pillay, P.; Packirisamy, M. Review on microphotosynthetic power cells—a low-power energy-harvesting bioelectrochemical cell: From fundamentals to applications. *Energy Technology*, 9(7), 2. **2021**. <https://doi.org/10.1002/ente.202001002>
- [2] Zhu, H.; Wang, H.; Zhang, Y.; Li, Y. Biophotovoltaics: Recent advances and perspectives. *Biotechnology Advances*, 64, 108101, 1–6. **2023**. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108101>
- [3] Ge-Zhang, S.; Cai, T.; Song, M. Life in biophotovoltaics systems. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1–3. **2023**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1151131>
- [4] Raven, P. H.; Evert, R. F.; Eichhorn, S. E. *Biology of plants*. Macmillan, 244–355. **2005**. <https://www.macmillanlearning.com/college/us/product/Raven-Biology-of-Plants/p/1429219610>
- [5] Clifford, E. R.; Bradley, R. W.; Wey, L. T.; Lawrence, J. M.; Chen, X.; Howe, C. J.; Zhang, J. Z. Phenazines as model low-midpoint potential electron shuttles for photosynthetic bioelectrochemical systems. *Chemical Science*, 12(9), 3328–3338. **2021**. <https://doi.org/10.1039/d0sc05655c>
- [6] Reece, J. B.; Urry, L.; Cain, M.; Wasserman, S.; Minorsky, P.; Jackson, R. *Campbell biology*. Benjamin Cummings, 185–213. **2011**. <https://www.amazon.com/Campbell-Biology-9th-Jane-Reece/dp/0321558235>
- [7] Saper, G.; Kallmann, D.; Conzuelo, F.; Zhao, F.; Tóth, T. N.; Liveanu, V.; Meir, S.; Szymanski, J.; Aharoni, A.; Schuhmann, W.; Rothschild, A.; Schuster, G.; Adir, N. Live cyanobacteria produce photocurrent and hydrogen using both the respiratory and photosynthetic systems. *Nature Communications*, 9(1), 2–5. **2018**. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04613-x>
- [8] Ermakova, M.; Huokko, T.; Richaud, P.; Bersanini, L.; Howe, C. J.; Lea-Smith, D.; Peltier, G.; Allahverdiyeva, Y. Distinguishing the roles of thylakoid respiratory terminal oxidases in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Physiology*, pp.00479.2016, 1–7. **2016**. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00479>
- [9] Lawrence, J. M.; Yin, Y.; Bombelli, P.; Scarampi, A.; Storch, M.; Wey, L. T.; Climent-Catala, A.; Baldwin, G. S.; O’Hare, D.; Howe, C. J.; Zhang, J. Z.; Ouldrige, T. E.; Ledesma-Amaro, R. Synthetic biology and bioelectrochemical tools for electrogenetic system engineering. *Science Advances*, 8(18), 1–3. **2022**. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abm5091>
- [10] Bond, D. R.; Lovley, D. R.. Electricity Production by *Geobacter sulfurreducens* Attached to Electrodes. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(3), 1548–1555. **2003**. <https://doi.org/10.1128/aem.69.3.1548-1555.2003>
- [11] Wey, L.; Yewale, R.; Hautala, E.; Hannonen, J.; Katavisto, K.; Kvarnström, C.; Allahverdiyeva, Y.; Damlin, P. Optoelectronic enhancement of photocurrent by cyanobacteria on sustainable ap-vpp-fabricated pedot electrodes. *Electrochimica Acta*. Elsevier BV, 1–19. **2024**. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4605314>

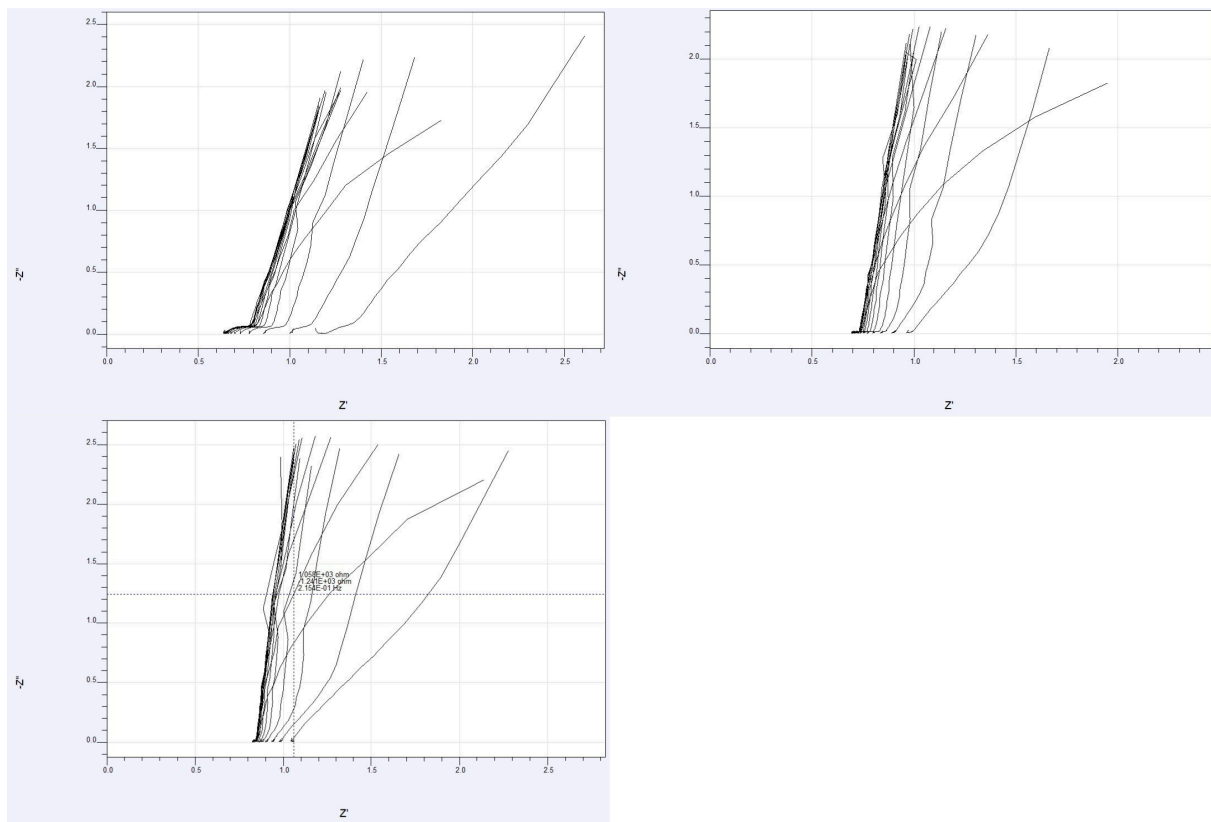
- [12] Wey, L. T.; Lawrence, J. M.; Chen, X.; Clark, R.; Lea-Smith, D. J.; Zhang, J. Z.; Howe, C. J. A biophotoelectrochemical approach to unravelling the role of cyanobacterial cell structures in exoelectrogenesis. *Electrochimica Acta*, 395, 139214, 1–9. **2021**. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2021.139214>
- [13] Anam, M.; Gomes, H. I.; Rivers, G.; Gomes, R. L.; Wildman, R. Evaluation of photoanode materials used in biophotovoltaic systems for renewable energy generation. *Sustainable Energy & Fuels*, 5(17), 4209–4232. **2021**. <https://doi.org/10.1039/d1se00396h>
- [14] Schneider, K.; Thorne, R. J.; Cameron, P. J. An investigation of anode and cathode materials in photomicrobial fuel cells. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 374(2061), 20150080, 7–16. **2016**. <https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0080>
- [15] Zhang, J.; Chen, X.; Lawrence, J.; Wey, L.; Jing, Q.; Kar-Narayan, S.; Schertel, L.; Vignolini, S.; Howe, C. 3D-printed hierarchical pillar array electrodes for high performance semi-artificial photosynthesis. *Nature Materials*, Cambridge University Press (CUP), 6. **2021**. <http://dx.doi.org/10.33774/chemrxiv-2021-rrg7q>
- [16] Lund, S.; Wey, L. T.; Peltonen, J.; Bobacka, J.; Latonen, R.-M.; Allahverdiyeva, Y. Graphene and graphene–cellulose nanocrystal composite films for sustainable anodes in biophotovoltaic devices. *Sustainable Energy & Fuels*, 8(2), 210–224. **2024**. <https://doi.org/10.1039/d3se01185b>
- [17] Zavřel, T.; Očenášová, P.; Červený, J. Phenotypic characterization of *Synechocystis* sp. PCC 6803 substrains reveals differences in sensitivity to abiotic stress. *PLOS ONE*, 12(12), 2. **2017**. e0189130. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189130>
- [18] Gwinn, W. M.; Qu, W.; Bousquet, R. W.; Price, H.; Shines, C. J.; Taylor, G. J.; Waalkes, M. P.; Morgan, D. L. Macrophage Solubilization and Cytotoxicity of Indium-Containing Particles as in vitro Correlates to Pulmonary Toxicity in vivo. *Toxicological Sciences*, 144(1), 17–26. **2014**. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu273>
- [19] McCormick, A. J.; Bombelli, P.; Bradley, R. W.; Thorne, R.; Wenzel, T.; Howe, C. J. Biophotovoltaics: Oxygenic photosynthetic organisms in the world of bioelectrochemical systems. *Energy & Environmental Science*, 8(4), 1092–1109. **2015**. <https://doi.org/10.1039/c4ee03875d>
- [20] Hosler, J. P.; Yocum, C. F. Regulation of cyclic photophosphorylation during ferredoxin-mediated electron transport. *Plant Physiology*, 83(4), 965–969. **1987**. <https://doi.org/10.1104/pp.83.4.965>
- [21] Nie, S.; Li, Z.; Yao, Y.; Jin, Y. Progress in synthesis of conductive polymer poly(3,4-ethylenedioxythiophene). *Frontiers in Chemistry*, 9, 1–6. **2021**. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.803509>
- [22] Yewale, R.; Damlin, P.; Kvarnström, C. Effect of oxidants on properties of electroactive ultrathin polyazulene films synthesized by vapor phase polymerization at atmospheric pressure. *Langmuir*, 38(49), 15165–15177. **2022**. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.2c02215>

- [23] Gvozdenovic, M., M.; Jugovic, B., Z.; Stevanovic, J., S.; Grgur, B., N. Electrochemical synthesis of electroconducting polymers. *Chemical Industry*, 68(6), 673–684. **2014**. <https://doi.org/10.2298/hemind131122008g>
- [24] Yamamoto, T.; Abila, M. Synthesis of non-doped poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and its spectroscopic data. *Synthetic Metals*, 100(2), 237–239. **1999**. [https://doi.org/10.1016/s0379-6779\(99\)00005-3](https://doi.org/10.1016/s0379-6779(99)00005-3)
- [25] Karthik, M.; Gohil, J. M.; Suresh, A. K. Probing the thickness and roughness of the functional layer in thin film composite membranes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(42), 26464–26474. **2017**. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.07.145>
- [26] Elgrishi, N.; Rountree, K. J.; McCarthy, B. D.; Rountree, E. S.; Eisenhart, T. T.; Dempsey, J. L. A practical beginner's guide to cyclic voltammetry. *Journal of Chemical Education*, 95(2), 197–206. **2017**. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>
- [27] Lasia, A. *Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications*. Springer New York, 2–321. **2014**. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-8933-7>
- [28] Lazanas, A. C.; Prodromidis, M. I.; *Electrochemical impedance spectroscopy A tutorial*, 3–5 (164–166). **2023**. <https://doi.org/10.1021/acsmeasuresciau.2c00070.s001>
- [29] Cevik, E.; Buyukharman, M.; Yildiz, H. B. Construction of efficient bioelectrochemical devices: Improved electricity production from cyanobacteria (*Leptolyngbia* sp.) based on π -conjugated conducting polymer/gold nanoparticle composite interfaces. *Biotechnology and Bioengineering*, 116(4), 757–768. **2019**. <https://doi.org/10.1002/bit.26885>
- [30] Lea-Smith, D. J.; Ross, N.; Zori, M.; Bendall, D. S.; Dennis, J. S.; Scott, S. A.; Smith, A. G.; & Howe, C. J. Thylakoid Terminal Oxidases Are Essential for the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 to Survive Rapidly Changing Light Intensities. *Plant Physiology*, 162(1), 484–495. **2013**. <https://doi.org/10.1104/pp.112.210260>
- [31] Keplinger, M. L.; Suissa, L. W. Toxicity of fluorine short-term inhalation. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 29(1), 10–18. **1968**. <https://doi.org/10.1080/00028896809342975>
- [32] Adachi, M.; Noda, K.; Tanino, R.; Adachi, J.; Tsuchiya, K.; Mori, Y.; Uchida, F. Comparison of electrochemical impedance spectroscopy between illumination and dark conditions. *Chemistry Letters*, 40(8), 890–892. **2011**. <https://doi.org/10.1246/cl.2011.890>

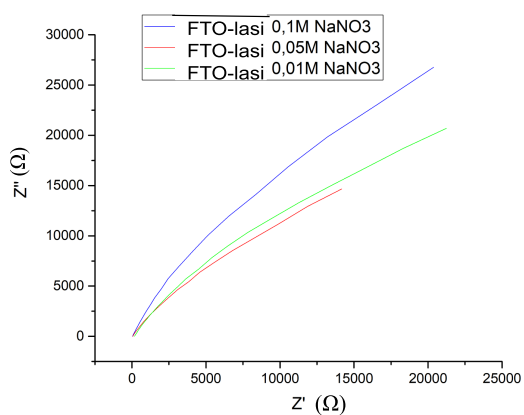
Liitteet



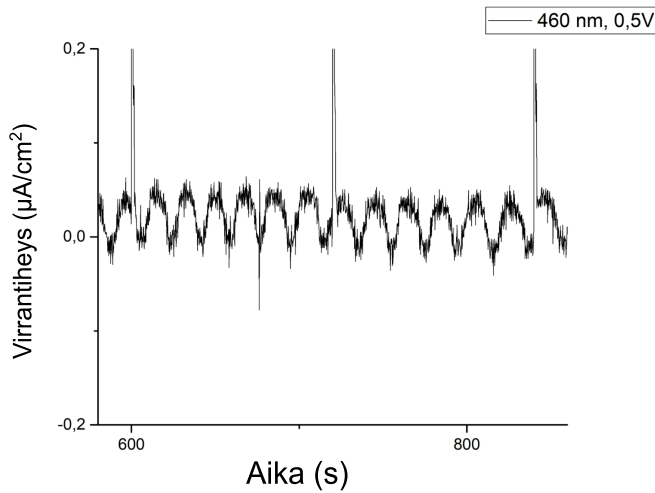
Kuva 1. Yksikerroksisen PEDOT-levyn EIS-mittaukset eri NaNO_3 konsentraatioilla. Ylhäällä vasemmalla on pienin konsentraatio eli 0,01 M, ylhäällä oikealla keskimäinen eli 0,05 M ja alhaalla vasemmalla suurin konsentraatio eli 0,1 M. Kuvissa näkyy koko potentiaali-ikkuna, eli $-0,8\text{V} - 0,8\text{V}$ ja taajuusalueena käytetty 100 000 Hz- 0,1 Hz. Nämä kuvat on ensimmäisistä mittauksista, eli gradussa olevat kuvat yksittäisistä impedansseista eivät ole samoista mittauksista. Z' ja Z'' arvot yksiköissä ohmi.



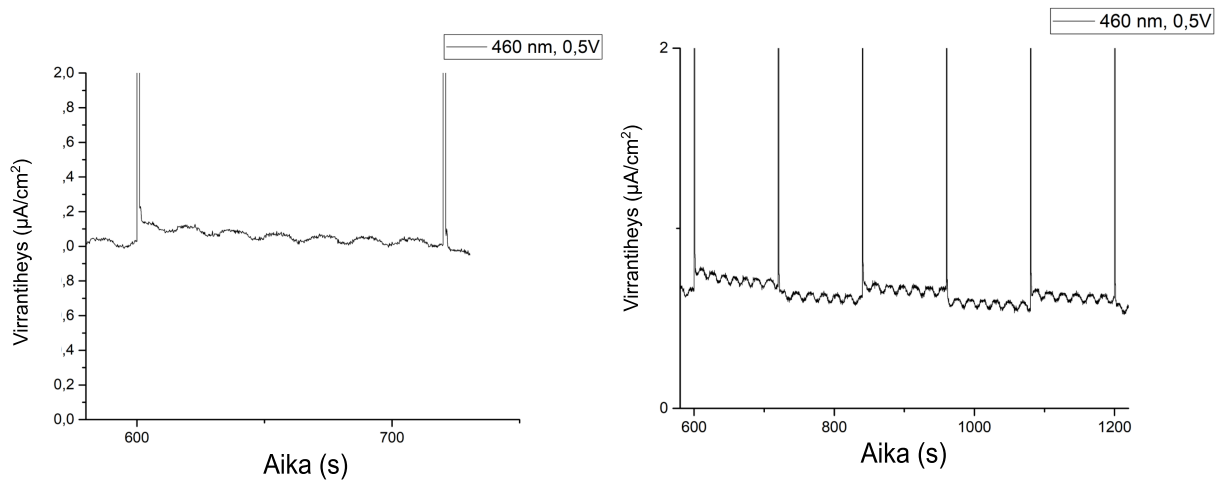
Kuva 2. Kaksikerroksisen PEDOT-levyn EIS-mittaukset eri NaNO_3 konsentraatioilla. Ylhäällä vasemmalla on pienin konsentraatio eli 0,01 M, ylhäällä oikealla keskimäinen eli 0,05 M ja alhaalla vasemmalla suurin konsentraatio eli 0,1 M. Kuvissa näkyy koko potentiaali-ikkuna, eli $-0,8\text{V} - 0,8\text{V}$ ja taajuusalueena käytetty 100 000 Hz- 0,1 Hz. Z' ja Z'' arvot yksiköissä ohmi.



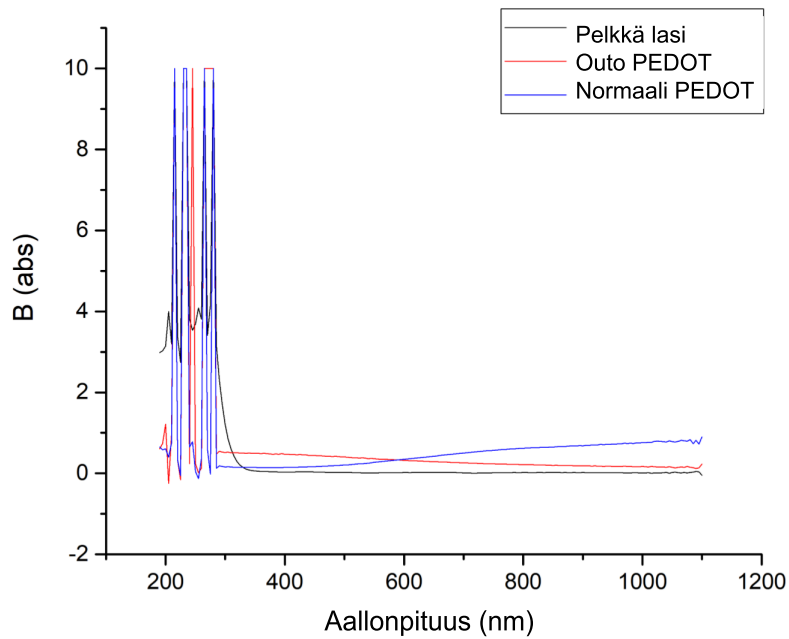
Kuva 3. FTO-levyn impedanssimittaukset kolmella eri NaNO_3 konsentraatiolla. Potentiaali tässä on 0,0V. Tässä mittauksessa ei käytetty kupariteippiä.



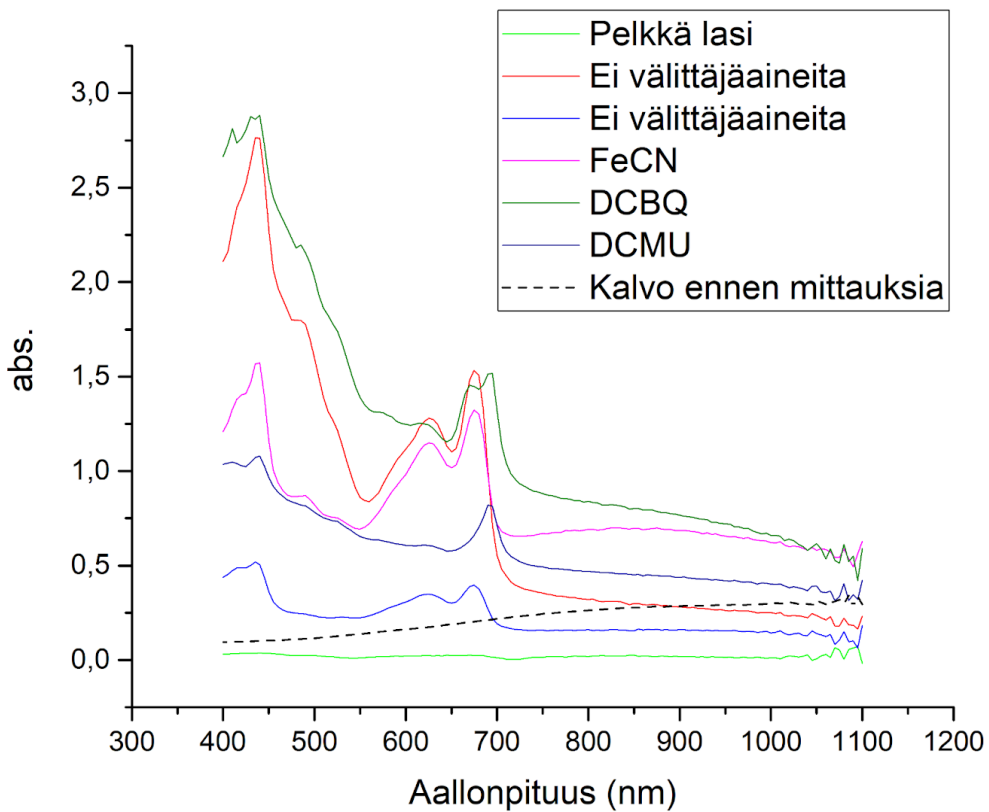
Kuva 4. DCMU inhibiittorin kokeilu kolmannen syanobakteerierän kolmanteen kennoon. Fotosynteesi on käytännössä kokonaan estetty. DCMU ei kuitenkaan ollut pakkasessa ennen käyttöä.



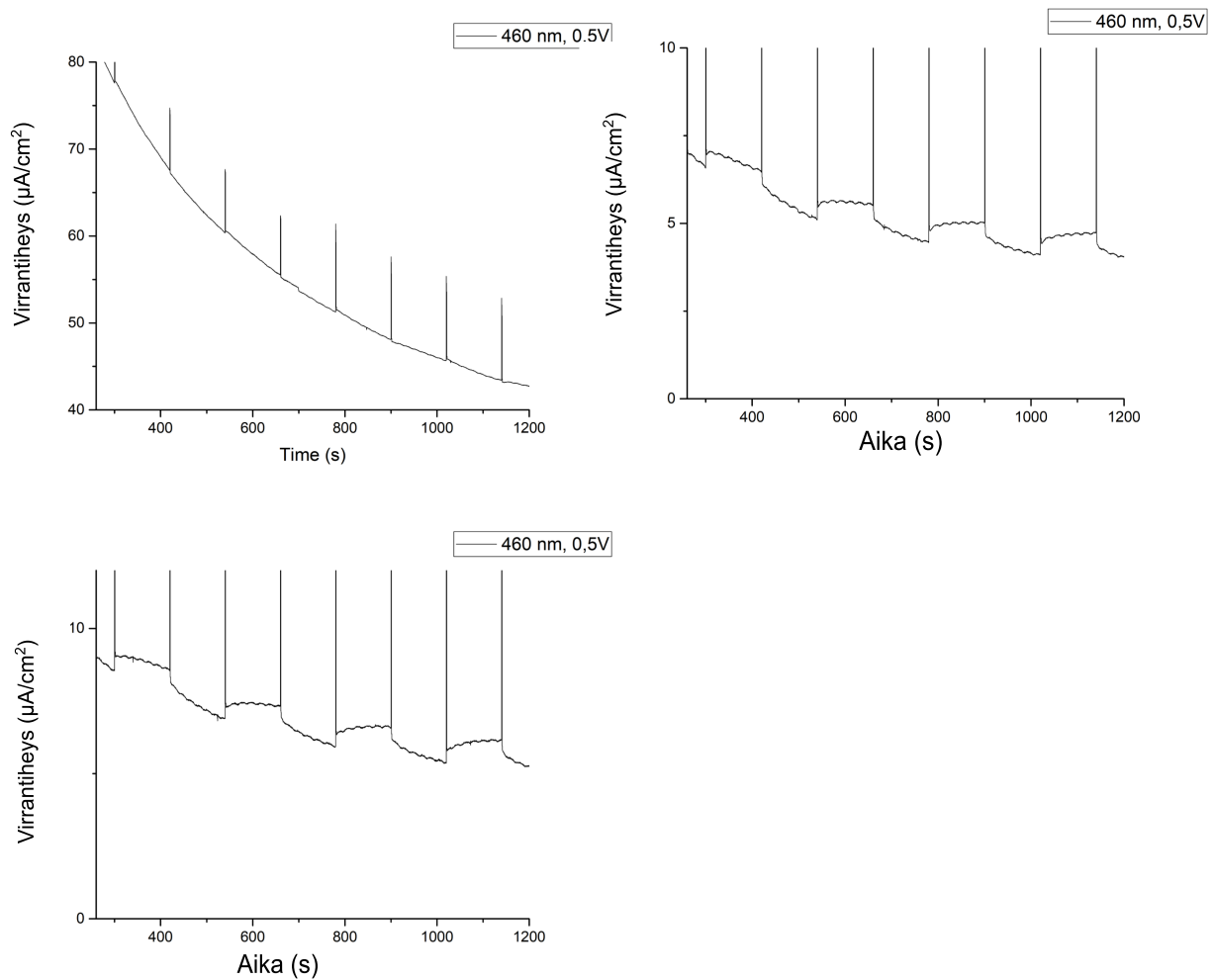
Kuva 5. PYO-buusterin kokeilu kolmannen syanobakteerierän toiseen kennoon. PYO ei kuitenkaan ollut pakkasessa ennen käyttöä. Vasemmassa kuvaajassa käytetty 12 μl eli 7,9 mmol välittäjäainetta ja oikealla 24 μl eli 15,9 mmol.



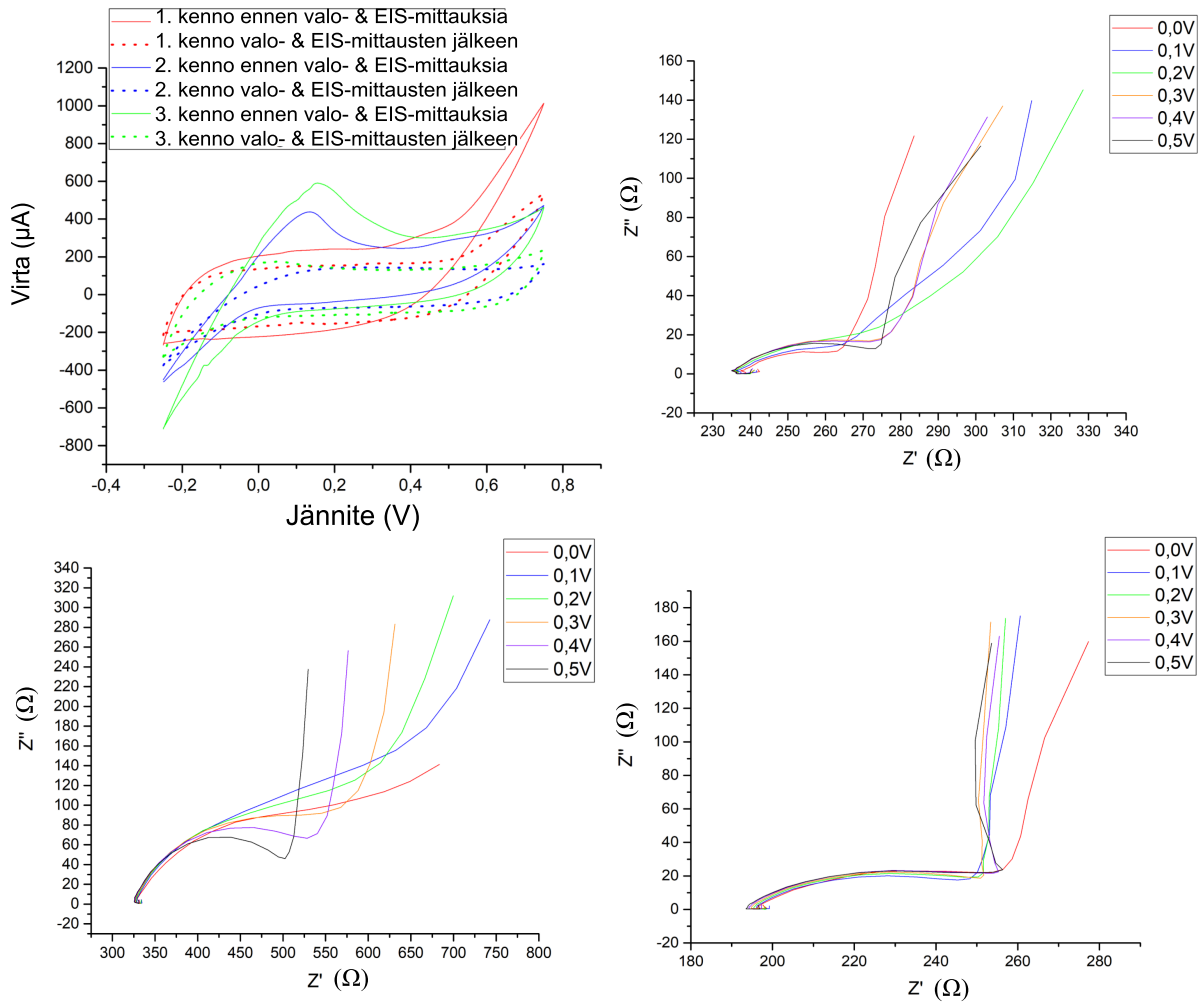
Kuva 6. Normaalin ja oudon PEDOTin vertailu koko UV-Vis skaalalla.



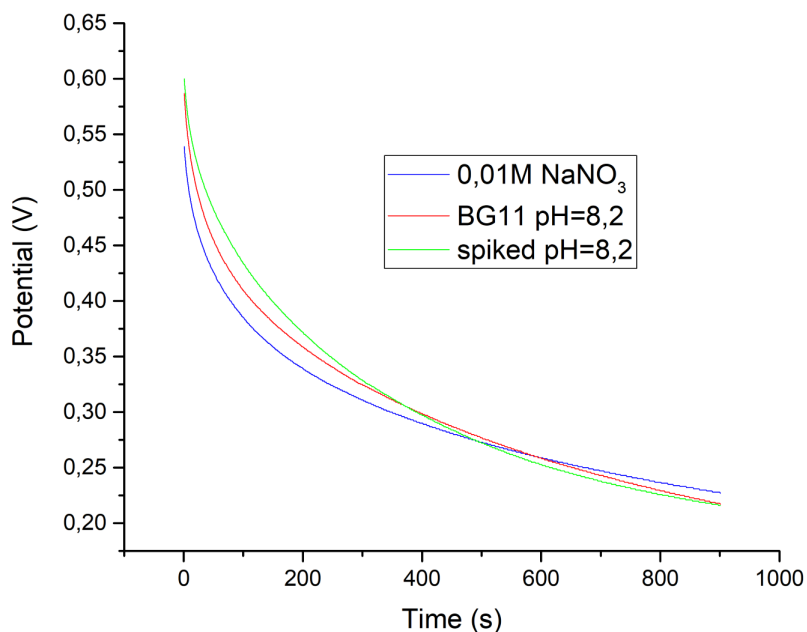
Kuva 7. UV-Vis spektrit eri kalvoista valo- ja EIS-mittauksen jälkeen.



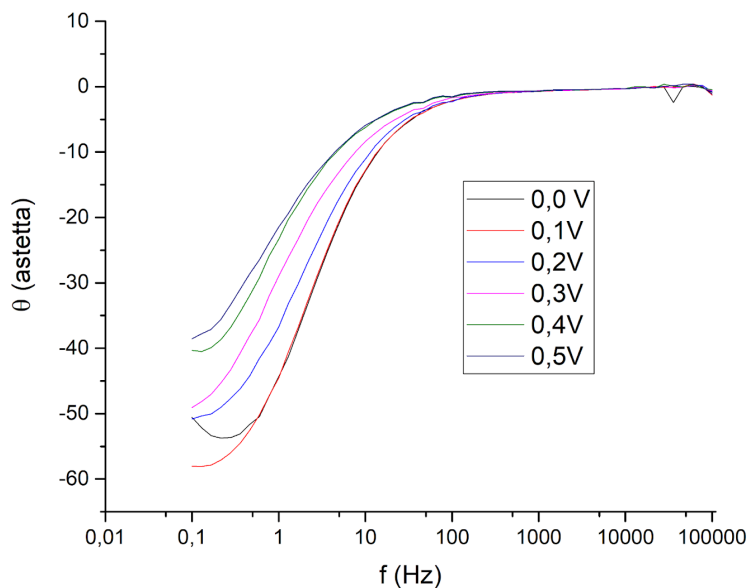
Kuva 8. Kuudes erä syanobakteereita (rinnakkaismittaus). Kaikissa käytössä sininen 460 nm valo ja 0,5 V jännite. Ylhäällä vasemmalla ensimmäisen kennon virrantiheys ajan funktiona. Tästä tuli huono tulos. Ylhäällä oikealla mukana välittäjäaine DCBQ (150 μl, 100 nM). Tämäkin mittaus epäonnistui, välittäjäainetta oli ehkä liikaa. Alhaalla vasemmalla DCBQ:ta vain 15 μl, mutta virtavaste on silti heikko. Bakteerierä saattoi olla huonompi kuin aikaisemmat.



Kuva 9. Ylhäällä vasemmalla kuudennen syanobakteerierän jokaisen kennon CV:t ennen ja jälkeen valo- ja impedanssimittauksen. (-0,25... 0,75 V ja 100 mV/s) Ylhäällä oikealla saman syanobakteerierän ensimmäisen kennon impedanssikuvaaja. Alhaalla vasemmalla on saman erän toisen kennon impedanssikuvaaja. Alhaalla oikealla puolestaan on kolmannen kennon impedanssikuvaaja. Jännitevälinä oli kaikissa 0,0-0,5 V ja taajuutena 100000-1 Hz. Sininen valo (460nm) oli impedanssimittauksen aikana päällä.



Kuva 10. Jännitteen tasaantuminen impedanssin viimeisestä jännitteestä 0,6V vartin aikana. kohti OCP-arvoa. BG11:tä sisältävät elektrolyytit tasaantuvat hieman 0,01M NaNO₃ hitaammin.



Kuva 11. Yksikerroksisen PEDOT-kalvon impedanssidatan Bode-kuvaaja. Elektrolyytinä spiked BG11 (pH=7,5). Kuvaajassa siis Nyquist-kuvaajaan (Z' vs. Z'') verrattuna vaihe-eron kulma taajuuden funktiona.