

# **Syanobakteeriaurinkokennon elektronisiirron optimoiminen AP-VPP-PEDOT-ohutkalvoilla**

Emilia Hautala

Pro Gradu -tutkielma

Kestävän kehityksen materiaalien kemia

Kemian laitos

Turun yliopisto

Maaliskuu 2024

Pro gradu -tutkielma

**Oppiaine:** Kemia

**Tekijä:** Emilia Hautala

**Otsikko:** Syanobakteeriaurinkokennon elektronisiirron optimoiminen AP-VPP-PEDOT-ohutkalvoilla

**Ohjaaja:** Pia Damlin

**Sivumäärä:** 54 sivua

**Päivämäärä:** 14.3.2024

## Tiivistelmä

Yhteyttäessään omavaraiset eliöt kuten syanobakteerit tuottavat energettisiä elektroneja veden hajoamisprosessissa. Näitä elektroneja on mahdollista johtaa ulkoiseen virtapiiriin sähköisenä energiana bioaurinkokennoissa. Toisin kuin toisen varaisia mikrobeja virrantuotantoon valjastavat biopolttokennot, bioaurinkokennot eivät vaadi orgaanisen hiilen lisäämistä systeemiin, vaan aurinkokenno toimii pelkällä valolla, hiilidioksidilla, vedellä ja ravinteilla. Tämän lisäksi elävät solut pystyvät korjaamaan valoenergian muodostamien radikaalien aiheuttamaa vahinkoa soluelimissään pidentäen kennon käyttöikä.

Tällä hetkellä bioaurinkokennokehityksen suurin haaste on elektroninsiirron tehottomuus elävästä solusta anodimateriaalille. Anodilla on suuri merkitys, sillä sen on oltava läpinäkyvä, erittäin johtava sekä pinnan ominaisuuksiltaan solujen kiinnittymistä edistävä, jotta vuorovaikutus yhteyttävien solujen ja anodin välillä on mahdollisimman tehokasta. Höyryfaasipolymerisoidulla poly(3,4-etyleenidioksidiofeenilla) (PEDOT) on korkean transmittanssin ja matalan pintaresistanssin lisäksi hyvä bioyhteensopivuus, joustavuus ja vakaus. Lisäksi PEDOT-ohutkalvo voidaan valmistaa monenlaisten substraattimateriaalien pinnalle höyryfaasipolymerisaatiolla ilmanpaineessa (AP-VPP) ilman suuria rajoituksia pinnanmuodoille ja riippumatta materiaalin sähkönjohtavuudesta. PEDOT on bioyhteensopivaa ja orgaanisena materiaalina sen käyttö bioaurinkokennossa edistää kennon kierrätettävyyttä. Sen lisäksi, että PEDOTin johtavuusominaisuudet orgaanisena materiaalina ovat erinomaiset, siitä on mahdollista valmistaa AP-VPP-menetelmällä hyvin läpinäkyvä ja tasainen ohutkalvo. AP-VPP:ssä ei ole tarvetta äärimmäisille reaktio-olosuhteille eikä vaarallisten orgaanisten liuottimien käytölle. Lisäksi kustannuksia ja ympäristörasitteita pystytään laskemaan.

Työn tarkoitus oli tutkia sileäpintaisen PEDOT-ohutkalvon ja syanobakteerien välistä elektroninsiirtoa ja kehittää sitä. Bioaurinkokennon toimintaa mallinsi mittauksissa sähkökemiallinen kenno, jossa työelektrodina toimi lasisubstraatille valmistettu tosylaatilla (TOS) seostettu PEDOT-ohutkalvo ja yhteyttävänä kerroksena syanobakteerit (*Synechocystis* sp. PCC 6803). Elektrolyytiksi valittiin syanobakteerien ravinneliuoksena ja kasvatusympäristönä käytettävä BG11-liuos, jotta mikrobien elinolosuhteet olivat mahdollisimman hyvällä tasolla mitausten aikana. Kerros valmistettiin laskeuttamalla syanobakteerit kerrokseksi anodin pinnalle elektrolyytissä.

PEDOT:TOS-anodin ja syanobakteerien välistä elektroninsiirtoa tutkittiin sähkökemiallisilla mittauksilla. Lisäksi myös hyvin laajasti läpinäkyvänä elektrodina käytettävällä indiumtinaoksidi (ITO) -elektrodilla tehtiin mittauksia vertailukohtana PEDOT:ille. Kronoamperometrialla (CA) mitattiin syanobakteerikerroksen muodostamat virtavasteet valoaltistuksessa. Mittauksilla tutkittiin eroja virtavasteessa pimeään ja valoaltistuksen välillä siten, että valo- ja pimeäjaksoja vuoroteltiin mitausten aikana eri vakiopotentiaaleissa. Valo ohjattiin kennoon PEDOT:TOS-ohutkalvon läpi joko sinisen valon 460 nm ja tummanpunaisen valon 660 nm aallonpituuksilla, joiden tiedetään aktivoivan fotosysteemi I ja II -reaktiokeskuksia. Johtuen potentiaalialueesta 0,1–0,5 V, joissa CA-mittaukset tehtiin, PEDOT:TOS-kalvo kuitenkin absorboi tummanpunaista valon aallonpituutta enemmän kuin oli huomioitu pienentäen syanobakteerien valoaltistusta. Tämä heijastui virtatiheystuotannoissa, jotka laskettiin valovasteen ja pimeäjakson virtatiheyden erotuksena. Lopulta parhaimmat tulokset kuitenkin saavutettiin 660 nm aallonpituudella välittäjäaineen tehostamana, kun taas ilman välittäjäaineita virtatiheydet 460 nm aallonpituudella olivat paljon suuremmat. PEDOT:TOS-kalvon johtavuusominaisuuksia sekä vakautta valoaltistuksessa mitattiin syklisen voltammetrian (CV) avulla. CV-mittauksilla myös BG11-liuoksen sähkökemiallinen sopivuus elektrolyytiksi todettiin riittäväksi.

**Avainsanat:** syanobakteeriaurinkokenno, elektroninsiirto, PEDOT, AP-VPP, kronoamperometria, valon aallonpituus

# Sisällysluettelo

<b>Tiivistelmä</b>	<b>2</b>
<b>Lyhenteet</b>	<b>5</b>
<b>1 Johdanto</b>	<b>6</b>
<b>1.1 Syanobakteerit</b>	<b>7</b>
<b>1.2 Elektroninsiirto syanobakteerisoluista anodille</b>	<b>8</b>
1.2.1 Suora elektroninsiirto	10
1.2.2 Epäsuora elektroninsiirto	11
<b>1.3 Bioaurinkokennon anodimateriaalin edellytykset</b>	<b>12</b>
1.3.1 Läpinäkyvyys	13
1.3.2 Joustavuus	13
1.3.3 Sähkönjohtavuus	14
1.3.4 Vakaus	15
1.3.5 Bioyhteensopivuus	16
1.3.6 Pinnan rakenne	16
<b>1.4 PEDOT-ohutkalvon ominaisuuksiin vaikuttavat tekijät</b>	<b>17</b>
1.4.1 Seostusaine	18
1.4.2 VPP-olosuhteet	19
1.4.3 Substraatti	20
<b>2 Materiaalit ja menetelmät</b>	<b>21</b>
<b>2.1 Sähkökemiallisen kennon esivalmistelu</b>	<b>22</b>
<b>2.2 Anodimateriaali</b>	<b>22</b>
<b>2.3 Sähkökemialliset menetelmät</b>	<b>23</b>
2.3.1 Syklinen voltammetria	23
2.3.2 Kronoamperometria	23
2.3.3 Sähkökemialliseen kennoon lisätyt aineet	25
2.3.4 Pseudovertailuelektrodi	26
<b>2.4 Pintaresistanssin mittaaminen</b>	<b>26</b>
<b>3 Tulokset</b>	<b>27</b>
<b>3.1 Syanobakteerien ja PEDOT-ohutkalvon välinen elektroninsiirto</b>	<b>27</b>
3.1.1 Kronoamperometria	27
3.1.2 Syanobakteerikerroksen kiinnittäminen anodin pinnalle	41
<b>3.2 PEDOT-ohutkalvon ominaisuudet</b>	<b>43</b>

3.2.1	Pintaresistanssi	43
3.2.2	Syklinen voltammetria	44
<b>4</b>	<b>Johtopäätökset</b>	<b>48</b>
	<b>Viittaukset</b>	<b>50</b>

## Lyhenteet

AP-VPP	<i>Atmospheric Pressure Vapor Phase Polymerization</i> , höyryfaasipolymerisaatio ilmanpaineessa
ATP	adenosiinitrifosfaatti
CA	<i>Choroamperometry</i> , kronoamperometria
CV	<i>Cyclic Voltammetry</i> , syklinen voltammetria
DCBQ	2,6-dikloori-1,4-bentsokinoni
DCMU	3-(3,4-dikloorifenyyli)-1,1-dimetyyliurea
EDOT	3,4-etyleenidioksitefeeni
FeCN	ferrisyaniidi
ITO	indiumtinaoksidi
NADPH	nikotiiniamidiadeniininukleotidifosfaatti
OTf	triflaatti
PEDOT	poly(3,4-etyleenidioksitefeeni)
PSI	<i>Photosystem I</i> , fotosysteemi I -proteiinikompleksi
PSII	<i>Photosystem II</i> , fotosysteemi II -proteiinikompleksi
PSS	polystyreenisulfonaatti
TOS	tosylaatti

# 1 Johdanto

Tämän hetken uusiutumattomien energiamuotojen epävarma saatavuus ja siten epävakaat energiamarkkinat johtavat kasvavaan tarpeeseen kehittää eteenpäin uusiutuvia energiantuotantoteknologioita, jotka ovat edullisia ja joiden energiantuotanto on luotettavaa. [1] Vuonna 2022 aurinkoenergialla tuotettiin 4,5 % maailman sähkötarpeesta, ja sen kehitys on tällä hetkellä nopeinta. [2] Kun tavoitteena on lisäksi ympäristöystävällisyys sekä kestävä kehityksen tukeminen, bioaurinkokennot ovat lupaava kehityssuunta.

Vaikka bioaurinkokennokehitys on edistynyt viime vuosina merkittävällä tavalla, se on tällä hetkellä edelleen merkittävästi tavanomaisia aurinkokennoja jäljessä. [3] Bioaurinkokennojen kehityksessä tähdätään luomaan laitteita, joilla on kohtuullisen yksinkertainen konfiguraatio ja jotka valmistetaan matalalla kynnyksellä kierrätettävistä materiaaleista. [4] Tällä kehityssuunnalla pystytään välttämään haasteet, joita kohdataan tavanomaisien aurinkokennojen valmistamisessa, korjaamisessa ja vaihtamisessa uusiin niin hinnan kuin saatavuuden suhteen. Bioaurinkokennoissa valoa sähköksi muuntava materiaali koostuu elävistä yhteyttävistä mikrobeista tai solun osista. Toisin kuin tavanomaisissa aurinkokennoissa bioaurinkokennoissa valoaktiivinen kerros pystyy lisääntymään, kun saatavilla on yksinkertaisesti ravinteita, vettä, valoa ja hiilidioksidia. [3] Toisenlaiset energiantuotantomenetelmät elävillä soluilla, biopolttokennot, taas kuluttavat orgaanisia hiiliyhdisteitä polttoaineenaan tasaisesti suhteessa virrantuotantoonsa, jolloin systeemi vaatii jatkuvaa ylläpitoa. Verrattuna muihin aurinkokennosovelluksiin bioaurinkokennot poikkeavat myös siinä, että niillä on mahdollista tuottaa virtaa myös pimeässä. Elävien mikrobien aineenvaihdunnan muistakin prosesseista, jotka eivät vaadi valoaltistusta, kuten soluhengitys, voidaan eristää elektroneja. [5]

Äärimmäisen tärkeäksi bioaurinkokennojen teollistamisessa ja kaupallistamisessa nousee elektrodimateriaalien kehittäminen helposti saataviksi ja edullisiksi muiden laitteen toiminnalle välttämättömien ominaisuuksien lisäksi. [3] Tehokkaamman laitteen kehittämiseksi sekä erilaisten konfiguraatioiden suunnittelulle lisää vaihtoehtoja antaa läpinäkyvän anodimateriaalin käyttäminen. Tällä hetkellä näyttötekniologiassa yleinen läpinäkyvä anodimateriaali on indiumtinaoksidi (ITO) -ohutkalvo erilaisten läpinäkyvien substraattien pinnalla. ITO kuitenkin sisältää harvinaista indiummetallia, joka on vaikeasti saatavilla ja vääjäämättä loppumassa maapallolta teknologian kysynnän edelleen jyrkästi kasvaessa. [6] Edellä mainituista syistä raaka-aine on lisäksi erittäin kallista ja sen korvaaminen

laitekehityksessä on tärkeää. Monin tavoin ITOLle kilpailukykyinen ohutkalvomateriaali on johdepolymeeri 3,4-polyetyleenidioksidiofeeni (PEDOT). Sen lisäksi, että materiaalilla on korkea sähkönjohtavuus sekä transmittanssi näkyvän valon aallonpituuksilla hapettuneessa muodossaan, sen valmistaminen höyryfaasipolymerisaatiolla ilmanpaineessa (AP-VPP) on edullista verrattain yksinkertaisen toteutuksen vuoksi. PEDOT on joustava materiaali, joka tämän hetken puuttavien teknologiasovellusten kehityksen aikana mahdollistaa uudenlaisten laiterakenteiden tutkimisen.

Kokonaisia syanobakteerisoluja hyödyntävien bioaurinkokennojen teoreettinen kvanttisuhde on matala verrattuna muunlaisiin aurinkokennotyyppeihin. Täten on erityisen tärkeää minimoida tehokkuutta vähentävät tekijät ja kehittää anodimateriaaleja paremmin bioaurinkokennoihin sopiviksi. [12] Yhteyttävien mikrobien oletetaan toimivan 5–10 % sisäisellä kvanttisuhteella, johon ei tämän hetken mikrobien ja elektrodien välisellä vuorovaikutuskapasiteetilla yllätä. [10] Itse fotoneita absorboivat ja elektroninsiirtoketjut aloittavien reaktiokeskuksien PSI:n ja PSII:n ensimmäiset reaktiot toimivat kuitenkin jopa 100 % kvanttisaannolla, mikä luo mahdollisuuden kehittää elektroninluovutuksen tehokkuutta merkittävästi. [7, 8] Elektroninsiirto valoaktiivisen kerroksen ja anodin välillä rajoittaa bioaurinkokennojen tehokkuutta. Anodin suunnittelussa sähkönjohtavuus-, läpinäkyvyys-, joustavuus-, bioyhteensopivuus- ja pinnan rakenneominaisuudet sekä kemiallinen vakaus ovat tekijöitä, jotka osaltaan määräävät elektroninsiirron tehokkuuden. PEDOT-materiaali täyttää suuren osan vaatimuksista tavanomaisissa olosuhteissa: se on hyvin sähköä johtava, sen transmittanssi on korkea, ohuena kalvona se on hyvin joustava sekä se on bioyhteensopiva ja vakaa tarvittavalla potentiaalialueella sekä elektrolyyttialtistuksessa. AP-VPP -menetelmä sallii erilaisia substraatin pinnan morfologioita, jolloin anodin pinnanmuotoja on mahdollista hallita substraatin valinnalla sekä menetelmää muuntelemalla.

## 1.1 Syanobakteerit

Yksisoluisien syanobakteerien käyttämistä suositaan bioaurinkokennokehityksessä, sillä ne keräävät auringonenergiaa tehokkaammin kuin eukaryootit [7] ja yksinkertaisen rakenteensa vuoksi myös geenimuuntelu on mutkatonta. Lisäksi ne lisääntyvät nopeasti ja ovat helppoja kasvattaa. [8]

Yhteyttävinä mikrobeina syanobakteerit ovat merkittäviä ilmakehän hiilidioksidin kuluttajia sekä hapen tuottajia. Samalla ne vastaavat huomattavasta osasta perustuotantoa sitomalla auringonvalosta sidottua energiaa kemialliseen muotoon orgaanisiksi yhdisteiksi.

Syanobakteerien keskeisin valoa absorboiva pigmentti on klorofylli, joka absorboi valoa tehokkaimmin aallonpituuksilla 420–460 nm sekä 670–700 nm. [9] Sininen valo voi kuitenkin aiheuttaa esimerkiksi syanobakteerilajissa *Synechocystis* sp. PCC 6803 (*Synechocystis*) stressireaktiota muistuttavia aineenvaihdunnallisia muutoksia, ja solujen kasvunopeus hidastuu. Syanobakteerisoluiissa on huomattavasti enemmän PSI-komplekseja verrattuna PSII-komplekseihin. [13] Punaista sekä sinistä valoa absorboiva lehtivihreä sijoittuu suurimmaksi osin PSI-kompleksiin [10, 11], jolloin viritysten tasapainottaminen tapahtuu fykobiliinikompleksien välityksellä PSII-kompleksiin [12]. Sinisen valon altistuksessa lehtivihreä absorboi fotoneja tehokkaimmin ja fykobiliinikompleksi taas hyvin tehottomasti. Täten sinisen valon esitetään vaikuttavan epäedullisesti *Synechocystis*-soluissa PSI- ja PSII-kompleksien väliseen viritystasapainoon siten, että PSI on virittyneempi kuin PSII. Tätä hypoteesia tukee sinisessä valoaltistuksessa soluissa lisääntyvä PSII-kompleksin rakenneosien valmistus sekä fykobiliinikompleksin hajottamiseen ohjaavien geenien ilmeneminen, sillä fykobiliini ei absorboi sinistä valoa, ja sitä olisi mahdollista käyttää PSII-kompleksien rakenneosina. [13] Auringonvalossa fykobiliinikompleksin ansiosta näkyvän valon spektrin aallonpituusvälillä 560–680 nm pystytään absorboimaan fotoneja yhteyttämisprosessissa. [9]

Yhteyttämisprosessissa PSII tuottaa elektroneja veden hapettamisreaktioketjulla valoaltistuksessa. Elektronit kuljetetaan elektroninsiirtoketjulla PSI, jolloin pelkistyy hiilensidontareaktioiden elektronien lähteenä käytettävää yhdistettä nikotiiniamidiadeniinidinukleotidifosfaattia (NADPH). Edellä mainittujen reaktioiden aikana muodostetut protonit hyödynnetään adensiinitrifosfaatin (ATP) valmistamiseen, mikä on toinen hiilensitomisreaktioille välttämätön yhdiste. [9]

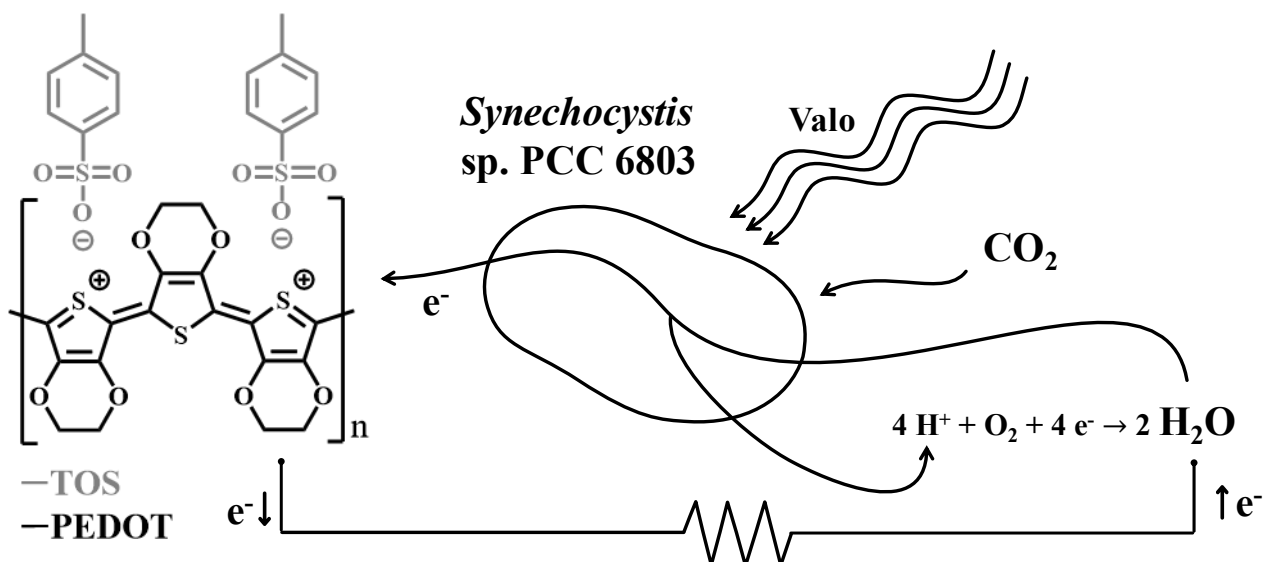
## 1.2 Elektroninsiirto syanobakteerisoluiista anodille

Toisin kuin tavanomaisissa aurinkokennosovelluksissa, joissa energia auringonvalosta muunnetaan sähköksi puolijohdemateriaalien avulla, bioaurinkokennoissa valoaktiivinen materiaali muodostuu yhteyttämiseen kykenevistä eliöistä, soluista tai solunosista.

Reaktioketjua, jonka kautta yhteyttävät syanobakteerit luovuttavat elektroneita anodille, on toistaiseksi kiistatta todistamatta. On esitetty, että PSI on proteiinikompleksi, josta yhteyttämisprosessissa veden hajoamisen yhteydessä erotetut elektronit kulkeutuvat ulkoiselle virtapiirille (**Kuva 1**). Näin päädyttäisiin siihen, ettei



PSII-proteiinikompleksi osallistuu elektroninsiirtoon solusta anodille lainkaan. Tämä perustuu tutkimustulokseen, jonka mukaan virrantuotanto bioaurinkokennoissa säilyy ennallaan, vaikka PSII:n toimintaa inhiboitiin tris(hydroksimetyyli)aminometaanilla. [14] Elektroneja voi päätyä virtapiirille myös ilman valoaltistusta solun muista aineenvaihdunnan prosesseista.



**Kuva 1** Syanobakteeriaurinkokennon toimintaan osallistuvat tekijät: PEDOT:TOS (mukailtu lähteestä [15]), synechocystis sp. PCC 6803 -syanobakteerit, auringonvalo, hiilidioksidi ja vesi. Kuvattu elektroninsiirtoketju on mukailtu lähteestä [16].

Bioaurinkokennon valoaktiivisen kerroksen muodostamiseen käytetyllä menetelmällä voidaan vaikuttaa elektroninsiirron tehokkuuteen ja täten virtatiheystuotannon suuruuteen sekä laitteen käyttöikään. Kerros voidaan valmistaa antamalla mikrobisolujen kasaantua anodin pinnalle elektrolyyttiliuoksessa ilman väliaineita tai kiinnittämällä solut anodin pinnalle hyödyntäen siihen soveltuvaa materiaalia kuten natriumalginaattia. [17] Alginaattien kopolymeerien molekulaarinen koostumus vaihtelee niiden alkuperän mukaan, kun taas polymeerirakenne alginaattimassassa koostuu aina epäsäännöllisistä monomeeriyksiköistä. Biokalvo muodostetaan sekoittamalla alginaatti ja syanobakteerit, jonka jälkeen pinnalle muodostetaan kuori silloittamalla se kaksiarvoisia kationeja kuten Ca<sup>2+</sup> hyödyntäen. Näin kalvo ei sekoitu elektrolyyttiin. [18] Verrattuna elektrolyytissä leijuvista eliöistä muodostettuun kerrokseen alginaattimassalla anodin pintaan sidotulla biokalvolla on pidempi käyttöikä sekä suurempi virrantuotanto. Parannukset kennon toiminnassa johdetaan alginaatin sisälle sidottujen mikrobien vakaampaan ja tehokkaampaan vuorovaikutukseen anodin kanssa. Toisin kuin biokalvo painovoimaisesti elektrolyytin varassa kasaantunut mikrobikerros on alttiimpi eliöiden ja anodin kosketuspinta-alaa vahingoittaville häiriöille. [17]

Yhteyttävien solujen sisäistä tehokkuutta muuntaa valoenergiaa kemialliseksi ei rajoita valoa absorboivat kompleksit PSI ja PSII, vaan elektroninsiirtoketju niiden ympärillä. Tämän takia liian suuressa valon intensiteetissä soluissa alkaa muodostua radikaaleja, jotka aiheuttavat valohapettumista ja näin solun osien vaurioitumista. Toisin kuin eristetyillä valoa absorboivilla proteiinikomplekseilla, kokonaiset solut pystyvät estää fotosysteemikompleksien ylivirittymistä muuntamalla energian lämmöksi, säännöstelemällä elektroninsiirtoa fotosysteemien välillä sekä inhiboimalla PSII-kompleksia väliaikaisesti. [19] Bioaurinkokennoissa fotosysteemien ja elektroninsiirtoketjun tehokkuuden eroa voidaan hyödyntää, ja samalla edistää solujen toimintaa korkeissa valon intensiteeteissä. Kun valoa on riittävästi saatavilla, solut eivät kärsisi elektronin siirrosta solun ulkopuolelle, vaan fotosysteemikompleksit pystyisivät korvaamaan menetetyt elektronit. [20]

Elektroninsiirto solun ja anodin välillä tapahtuu joko suoralla tai epäsuoralla elektroninsiirrolla. Ensimmäinen vaatii fyysisen kosketuksen anodin pintaan ja toinen hapetuspelkistysyhdisteitä, jotka pääsevät liikkumaan solun ja anodin välillä elektrolyytissä.

### 1.2.1 Suora elektroninsiirto

Jotkin mikrobilajit kuten *Shewanella* on kykenevä luovuttamaan elektroneja suoralla elektroninsiirrolla solun ulkopuolella olevalle kiinteälle rauta(III)oksidille, jolloin solun anaerobinen soluhengitys on mahdollista. [21] Myös syanobakteereilla on havaittu kyky muodostaa johtavia nanolankarakenteita. [22] Suora elektroninsiirto tapahtuu fyysisen vuorovaikutuksen kautta elävien solujen solukalvon ja elektrodin välillä. Se on nopeampaa kuin epäsuora elektroninsiirto, sillä elektronien diffuusio elektrolyytissä ei rajoita siirron nopeutta.

Vaikka sen tiedetään teoriassa olevan mahdollista, mitään näyttöä siitä, että suoraa elektroninsiirtoa tapahtuisi syanobakteerien ja anodin välillä ei ole. Päinvastoin merkittävää kasvua virrantuotannossa ei havaita, kun verrataan nanohuokoista anodipintaa pintaan, jonka huokosiin syanobakteerit mahtuvat asettumaan. Kuitenkin bakteerilajilla *Shewanella oneidensis*, joka todistetusti kykenee suoraan elektroninsiirtoon [22], elektroninsiirto mikrohuokoisella solut osittain ympäröivällä anodilla on huomattavasti suurempaa kuin vain nanohuokoisella. [23]

## 1.2.2 Epäsuora elektroninsiirto

Epäsuoralla elektroninsiirrolla tarkoitetaan toimintaketjua, jossa jokin tai jotkin hapetuspelkistysyhdisteet toimivat välittäjäaineina elektroninsiirrossa solulta anodille. Suuri kokonaisia eläviä mikrobisoluja käyttävien bioaurinkokennojen tehokkuutta laskeva tekijä on solukalvon aiheuttama elektroninsiirron este. Plasmasolukalvo sekä tylakoidikalvorakenne, jossa yhteyttävät soluosat sijaitsevat, ovat läpäisemättömiä valtaosalle ioneja ja poolisia molekyyliä. [24] Solukalvottomalla syanobakteerimutaatiolla *Synechocystis* slr0688i pystytään saavuttamaan yhden kokoluokan suurempi virrantuotanto verrattuna syanobakteereihin, joilla ei ole mutaatiota. Ulkoisen solukalvon huono läpäisevyys on merkittävä osatekijä syanobakteereilla havaitussa matalassa eksoelektrogeenisessä aktiivisuudessa. [25]

Välittäjäaineina voidaan käyttää keinotekoisia ulkoisesti lisättäviä yhdisteitä, jolloin niiden hapetuspelkistyspotentiaaloin keskikohta pystytään määrittämään systeemille sopivaksi. Välittäjäaineet, joiden kohde ei ole hyvin tarkasti määritetty ja optimoitu voivat aiheuttaa enemmän haittaa kuin hyötyä bioaurinkokennon käyttäjälle. [23] Hapetuspelkistysmolekyylit nimittäin reagoivat minkä tahansa hapetuspelkistysaktiivisen molekyylin kanssa, jonka puolivälipotentiaali on sopiva. [24] Potentiaalialueen kohdistaminen energiatehokkaaksi mutta yhä vakaaksi on haastavaa, sillä elektroninsiirron energiahäviöitä vähentävä alhainen puolivälipotentiaali saa aikaan suuremman alttiuden epätoivotulle reaktiivisuudelle hapen kanssa. Tehokas välittäjäaine kykenee läpäisemään solukalvon ja toimimaan pitoisuuksissa, jotka eivät vahingoita soluja. Lisäksi yhdisteen ei tulisi olla altis osallistumaan haitallisiin sivureaktioihin tai herkkä hajoamaan edellyttäen jatkuvaa aineen lisäämistä. [26]

Yhdisteiden ominaisuuksien perusteella ne pystyvät etenemään eri etäisyyksille elektronin eristämisen prosessissa bioaurinkokennosovelluksissa. Yleisistä välittäjäaineina käytetyistä yhdisteistä esimerkiksi kaliumferrisyaniidi ( $\text{FeCN}$ ) ei kykene läpäisemään solukalvoa ja täten tehostaa elektroninsiirtoa ainoastaan, jos elektronit ensin kulkeutuvat solukalvon ulkopuolelle. Kaikilla mikrobilajeilla ei ole solukalvollaan hapetuspelkistysyhdisteitä, joiden kautta  $\text{FeCN}$ :n olisi mahdollista tehostaa elektroninsiirtoa välittäjäaineena. [27] Lajityypin ominaisuudet täytyy siis sovittaa valittavaan välittäjäaineeseen tai päinvastoin. Toinen usein käytetty elektroninsiirtoa edistävä välittäjäaine on 2,6-dikloori-1,4-bentsokinoni (DCBQ), jonka taas on mahdollista kulkeutua aina yhteyttämissoluelimien sisäpuolelle asti, jolloin se kykenee kuljettamaan anodille merkittävästi suuremman määrän elektroneja. Syanobakteerisolujen on

kuitenkin havaittu muodostuvan vastustuskyvyn välittäjäaineen toiminnalle elektroninsiirtäjänä liian suurissa pitoisuuksissa sekä altistuksen pituuden myötä. [26] DCBQ toimii solussa lähinnä PSII-kompleksiin vuorovaikutuksessa. [28]

Syanobakteerit kykenevät myös itse eristämään elektroninvälittäjinä toimivia yhdisteitä. Tämä on havaittavissa siitä, että anodipinnan nanohuokoisuus riittää tehostamaan bioaurinkokennon virrantuotantoa merkittävästi tasaiseen pintarakenteeseen verrattuna kennossa, johon ei ole lisätty ulkoisesti välittäjäaineita. Koska nanohuokoisuus ei lisännyt huokosia suurempikokoisten mikrobien kosketuspinta-alaa anodiin, ainoastaan epäsuoran elektroninsiirron oli mahdollista olla suuremman virrantuotannon taustalla. [23]

Elektroninsiirtoa pystytään estämään esimerkiksi rikkakasvien torjunta-aineena käytettävällä yhdisteellä 3-(3,4-dikloorifenyyli)-1,1-dimetyyliurealla (DCMU), joka estää PSII-kompleksia seuraavan elektroninsiirtäjien välisen vuorovaikutuksen yhteyttämisen elektroninsiirtoketjussa. [29] Koska aine estää PSII-kompleksin toiminnan yhteyttämässä, sen avulla on mahdollista saada lisää tietoa elektroninsiirtoketjun reitistä solusta anodille bioaurinkokennossa.

### **1.3 Bioaurinkokennon anodimateriaalin edellytykset**

Bioaurinkokennoissa mikrobien ja elektrodimateriaalin vuorovaikutukseen vaikuttavat ominaisuudet korostuvat bioaurinkokennon anodin valinnassa ja kehittämisessä. Tällaisia ominaisuuksia ovat pintaenergia, pinnan morfologia ja bioyhteensopivuus. [16] Bioaurinkokennojen toimintaa ja rakennesuunnittelua edelleen kehittäviä ominaisuuksia ovat läpinäkyvyys [30] ja joustavuus. Kuten anodimateriaalille missä tahansa sovelluksessa hyvä sähköjohtavuus ja sähkökemiallinen vakaus laitteen toimintapotentiaaleissa pitkäkestoisesti on välttämätöntä. [31]

ITO on yksi parhaiten toimivista läpinäkyvistä elektrodimateriaaleista, sillä sen optinen energiarako on suuri, jolloin se on läpinäkyvä näkyvän valon aallonpituuksilla. Kuitenkin materiaalin raaka-aineen indiumin korkea hinta ja harvinaisuus kuten myös ITO-kalvon hauraus ja kalvon valmistamismenetelmän hintavuus ovat suuria syitä korvaavien anodimateriaalien käyttämiselle ja edelleen kehittämiselle. [32] Monin tavoin samankaltainen PEDOT-ohutkalvo ei kärsi samalla tavoin edellä mainituista haasteista. PEDOT-ohutkalvojen sähköiset ja mekaaniset ominaisuudet soveltuvat korvaamaan ITO:n erilaisissa sovelluksissa sekä laajentamaan sovelluskohteita myös joustaviin taipuisiin elektronisiin laitteisiin.

### 1.3.1 Läpinäkyvyys

Läpinäkyvä anodimateriaali mahdollistaa valon yltämisen huokoisessa pintarakenteessa myös elektrodin sisälle upotettuihin yhteyttäviin soluihin. Kun erilaisia anodin pinnan rakenteita voidaan hyödyntää laajemmin, myös elektroninsiirto sekä solujen asettuminen ja kiinnittyminen anodille on parempi. [30] Bioaurinkokennojen rakenteen suunnittelussa valon läpäisevän elektrodimateriaalin avulla valo kyettäisiin ohjaamaan mikrobikerrokselle sekä suoraan, että anodin lävitse. Läpinäkyvillä elektrodimateriaaleilla myös monikerroksiset rakenteet ovat mahdollisia. Näin valon hyödyntäminen on tehokkaampaa, kun ensimmäisen mikrobikerroksen läpi kulkeutuva valo pystytään seuraavan kerroksen avulla edelleen muuntamaan sähköksi virtapiiriin. Käytännössä tällaisella sovelluksella myös tilankäyttö on tehokkaampaa ja siten kannattavampaa. [33]

AP-VPP-menetelmällä valmistetulla PEDOT:TOS-ohutkalvolla voidaan saavuttaa transmittanssi 94 % aallonpituudella 550 nm ja johtavuus  $575 \pm 83 \text{ S cm}^{-2}$ . In situ hapetinpolymerisaatiota käyttäen ja PEDOT-polystyreenisulfonaatti (PSS) -pyörityspäällystysmenetelmällä samantasoin arvoihin molemmissa ominaisuuksissa ei ylletty. [34] ITO-ohutkalvon transmittanssi 95 % aallonpituusalueella 550–650 nm on vain hieman PEDOT-kalvoa suurempi. [35] ITO:n transmittanssi pysyy yli 80 %:n tasolla koko näkyvän valon spektrillä [36], sillä sen ominainen energiavyö 3,4–4,3 eV on hyvin leveä [37]. Tästä poiketen rautakloridilla seostettu PEDOT-ohutkalvo, joka valmistettiin hapettavaa kemiallista höyryfaasipinnoitusta käyttäen, transmittanssi laskee kohtuullisen lineaarisesti noin 80 %:sta aallonpituudella 550 nm lähes 20 % matalammaksi aallonpituuden kasvaessa arvoon 800 nm. Transmittanssi on kuitenkin mahdollista nostaa antraseenilla silloitettulla EDOT-kopolymeerillä yli 80 %:n tasolle näkyvän valon aallonpituuksilla, joskin johtavuus laskee merkittävästi, vaikka lukeutuu edelleen puolijohteeksi. [38]

### 1.3.2 Joustavuus

Joustavalla elektrodimateriaalilla pystytään valmistamaan laajempi kirjo erilaisia sovelluksia, kuten esimerkiksi puettavia laitteita, jotka ovat tällä hetkellä yleisesti suuri kehityskohde sähkökemiallisille energianvarastointi- ja energianmuuntolaitteille. [39]

PEDOT-ohutkalvojen joustavuutta ja kestävyyttä venytyksessä pystytään parantamaan lisäämällä joustomuoviaineita polymeerien väleihin. Tämä on VPP-menetelmällä toteutettavissa sekoittamalla lisättävä aine hapettimeen, jolla polymerisaatio käynnistetään.

PEDOT:TOS polymerisoituna termoplastiseen polyuretaanielastomeeriin ja sen pinnalle VPP-menetelmällä loi hybridin, jonka hajoamiseen johtava venytysrasitusaste oli yli 200 %, sillä sulfonaateilla on pehmitinominaisuuksia. [40]

Myös substraatin valinnalla on mahdollista vaikuttaa joustavuuteen PEDOT-ohutkalvon luontaisen joustavuuden rajoissa. Kun PEDOT:TOS-ohutkalvon substraattina käytettiin nanokomposiittia pelkistetyistä grafeenioksidista ja hiilinanoputkista, valmistettiin elektrodi, jonka kapasitanssiominaisuudet olivat 90 asteen kulmassa 98 % alkuperäisestä. [41]

ITO-ohutkalvon paksuus vaikuttaa sen pintaresistanssiin venytettäessä negatiivisesti. Paksumman kalvon resistanssi nousee matalammalla venytysasteella kuin ohuen kalvon. Materiaali on suhteellisen haurasta ja kestää vain 2–3 % venytysrasitusta ennen kuin siihen muodostuu halkeamia ja sen resistanssi lähtee yhtäkkiseen nousuun. [42]

### 1.3.3 Sähkönjohtavuus

Tehokas elektroninsiirto bioaurinkokennossa vaatii anodilta hyvää sähkönjohtavuutta. Sähkönjohtavuus laskee laitteen sisäistä vastusta ja näin nostaa kvanttisuhdetta.

PEDOT kuten muutkin johdepolymeerit ovat ioneja läpäiseviä materiaaleja toisin kuin metallit. Tämän ansioista sähkökemiallisia vuorovaikutuksia elektrolyytin ja PEDOTin välillä voi tapahtua myös materiaalin sisällä polymeeriketjujen muodostaman huokoisen rakenteen vuoksi. [43] Esimerkiksi välittäjäaineena käytettävä hapetuspelkistyspari  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  pystyy osittain tunkeutumaan PEDOT:TOS-kalvon sisään. [44] Näin elektrodin sähkökemiallinen pinta-ala verrattuna metalliseen on suurempi, mutta ulkomuoto yhtäläinen. [43] Metallielektrodeilla esiintyvää eristävää oksidikerrosta ei myöskään muodostu orgaanisilla johdepolymeereillä, mikä edelleen vahvistaa välitöntä kosketuspinta-alaa elektrolyyttiin. [44]

PEDOT-johdepolymeerin sähkönjohtavuus on korkeimmillaan Ag/AgCl-referenssielektrodia vasten potentiaalivälillä 0,5–1,0 V, jolloin materiaali on hapettuneimmassa muodossaan. [45] Tällöin polymeerirakenteessa on polaroneja ja bipolaroneja, jotka vastaavat yhdenarvoisesti varautunutta kationitilaa ja kahdenarvoisesti varautunutta kationitilaa edellä mainitussa järjestyksessä. PEDOT-materiaalin sähkönjohtavuus on suurimmillaan, kun polymeeri on bipolaronimuodossaan. Tällöin energiatasoero bipolaronivyön ja valenssivyön välillä on pienin mahdollinen. Polaronimuodossa polymeerirakenteessa on yksiarvoinen positiivinen varaus eikä johtavuus ole yhtä hyvällä tasolla. PEDOT-ohutkalvojen synteessin optimoimisessa pyritään minimoimaan polaronimuodon esiintyminen ja maksimoimaan bipolaronimuoto. [46] Korkea

seostusaste saa aikaan lineaaristen polymeeriketjujen muodostumisen kolloidirakenteiden sijaan, jolloin elektronien on mahdollista liikkua ketjujen välillä. [47]

VPP-menetelmällä pystytään muodostamaan PEDOT-ohutkalvo, jonka polymeeriketjut ovat järjestäytyneempiä kuin esimerkiksi kemiallisella valmistusmenetelmällä. [48] Ohutkalvojen järjestäytymistä edistää mahdollisuus muodostaa ainoastaan nanometriä paksuisia kalvoja, joita voidaan myös valmistaa useita kerroksia. [47] Pitkistä konjugoituneista, lineaarisista ja järjestäytyneistä polymeeriketjuista koostuvien ohutkalvojen sähkönjohtavuus on merkittävästi suurempi kuin lyhytketjuisten, epäjärjestelmällisten ja hyvin amorfisten materiaalien. [48] Haaroittuvat polymeeriketjut taas kasvattavat johdepolymeerien pintaresistanssia, sillä niiden muoto estää seostamisen aikaansaamat johtavuutta lisäävät muutokset polymeerirakenteessa. [49]

#### 1.3.4 Vakaus

Sähkökemiallinen vakaus tarvittavalla potentiaalialueella on edellytys virrantuotannolle bioaurinkokennossa. Lisäksi myös kemiallinen, fyysinen ja entsyymaattinen pysyvyys ovat anodille tarpeellisia ominaisuuksia, jotta pitkäkestoinen tasalaatuinen virrantuotanto laitteella olisi mahdollista. Paikallisesti hapetus- ja pelkistysolosuhteet voivat olla keskimääräistä huomattavasti ankarampia. Mikäli anodi on altis sivureaktioille kennon olosuhteissa, vaarantuu mikrobikerroksen ja anodin välinen elektroninsiirtovuorovaikutus kosketuspinta-alan ja materiaalin vahingoittuessa. [50] Sivureaktioita voivat aiheuttaa myös anodimateriaalin sisältämät epäpuhtaudet, joten raaka-aineiden puhtauden varmistaminen ja valmistusmenetelmien kehittäminen tukemaan tätä päämäärää on tarpeellista. [16] Sen lisäksi että sivureaktiot kuluttavat kennon rakenneosia myös solujen yhteyttämisessä muodostetut ja eristetyt elektronit saattavat virtapiiriin sijaan kulua sivureaktion tuotteisiin. Anodimateriaalikehityksessä pyritään luomaan bioaurinkokennossa vallitsevan mahdollisesti vaihtelevan ionivahvuuden, kemiallisen koostumuksen, pH:n ja jännitteen kestäviä materiaaleja. [50]

PEDOT-materiaali on seostettuna vakaa ilmassa ja korkeissa lämpötiloissa, sillä happisubstituentit, jotka kykenevät luovuttamaan elektroneja tasapainottavat vapaita radikaaleja sekä polaroni- ja bipolaronitiloja. Myös steeristen esteiden poissaolo vakauttaa rakennetta. [51] Esimerkiksi PEDOT-triflaatti (OTf) -kalvolla rikkihappokäsittely ei vaikuta kalvon vakauteen käsittelemättömään verrattuna, vaan pysyy lähestulkoon samalla tasolla pintaresistanssin ja CV-mittausten mukaan. Jälkikäsitteilyn myötä ohutkalvon johtavuus

kuitenkin nousee merkittävästi. [52] Mikäli ITO taas altistetaan hapolle, siihen muodostuu halkeamia jo 1 % vetorasitusasteella, minkä lisäksi elektrodista tulee käyttökelvoton kolmasosassa aikaa, joka kuluu käsittelemättömän kalvon hajoamiseen. [53]

### 1.3.5 Bioyhteensopivuus

Jotta elektroninsiirto mikrobien ja anodimateriaalin välillä olisi tehokasta bioaurinkokennoissa, tulee anodimateriaalin olla bioyhteensopiva valitun mikrobilajin kanssa. Bioyhteensopivuudella tarkoitetaan sitä, ettei materiaali ole myrkyllinen tai haitallinen soluille. Bioyhteensopivan anodin pinnalle mikrobit kiinnittyvät tehokkaasti ja muodostuva mikrobikerros on hyvin pakkautunut. [54]

Bioyhteensopivuuteen vaikuttavat myös mahdolliset epäpuhtaudet, joita voi päätyä anodimateriaaliin, mikäli raaka-aineiden puhtaus ei ole tarkoin säädelyä. Epäpuhtaudet tai sivureaktioiden tuotteet saattavat olla eläville mikrobisoluille myrkyllisiä ja lyhentää laitteen käyttöikää merkittävästi. [50]

PEDOT:TOS-materiaalin bioyhteensopivuus on todistettu nisäkässoluille. [55] Se ei ole haitallinen biologisille soluille, mutta funktionaalisten ryhmien puute puhtaan PEDOT-materiaaliin ei edistä solujen kiinnittymistä tai vuorovaikutusta pintaan. PEDOT-materiaalin ominaisuuksia on kuitenkin VPP-menetelmän avulla eri lisäainein mahdollista muokata kuten myös pinnan ominaisuuksia erikseen kalvonvalmistuksen jälkeen. PEDOT-materiaalia pyritään soveltamaan biologisissa käyttötarkoituksissa sen hyvän sähkönjohtavuuden ja joustavuuden vuoksi. [56] Esimerkiksi VPP-PEDOT:TOS-materiaali yhdistettynä liivateeseen on todettu edistävän nautaeläinten aivohiussuonien endoteelisolujen kiinnittymistä ja kasvua. [57]

### 1.3.6 Pinnan rakenne

Pinnan morfologiaa muokkaamalla pystytään vaikuttamaan bioaurinkokennon tehokkuuteen. Tasainen pinta anodilla sallii vaivattoman massansiirron, mutta ongelmia voi aiheuttaa mikrobikerroksen irtoaminen ja vahingoittuminen. Ohutkalvoanodien tavanomaisesti sileä pinnan morfologia altistaa edellä mainituille ongelmille. Karheampi ja huokoinen pinta taas edistävät mikrobien jakautumista, solutiheyttä ja vakautta. [58]

Biopolttokennosovelluksien parissa tasomaiset sileät materiaalit kuten paperi ovat todettu hauraiksi, mitä vastoin kangasmaiset materiaalit ovat joustavampia ja pinnanominaisuuksiltaan karheita. Kangasmateriaalejakin kolmiulotteisemmilla materiaaleilla kuten vaahtomuovilla tai



huovalla on entistä suurempi pinta-ala ja huokoisuus, jotka edistävät mikrobien kasvua ja kiinnittymistä biopolttokennosovelluksissa. Haasteet kolmiulotteisessa anodipinnassa ovat lähtöaineiden ja reaktiotuotteiden massansiirron estyminen. Tällaisen anodin käyttöikä lyhenee, mikäli biomassan kertyminen tukkii anodin huokosia. [58]

Sekä nano- ja mikrokokoluokan huokoisuus tehostavat bioaurinkokennon virrantuotantoa ITO-kalvolla yhdellä suuruusluokkatasolla, kun verrataan sileäpintaiseen ITO-kalvoon. Nanohuokosisuuden tehostavan vaikutuksen takana on elektrolyytin ja anodin suurempi kosketuspinta-ala, jolloin elektronien välittäjinä toimivien hapetuspelkistysyhdisteiden yhteys anodiin parantuu. Mikrohuokoinen anodipinta mahdollistaa saman kokoluokan mikrobien asettumisen huokosiin, mikä edistää suoraa elektronisiirtoa. Huukoilla elektrodeilla myös valoaltistuksen synnyttämä virtapiikki syntyy huomattavasti nopeammin verrattuna tasaiseen pintaan. [23] Kuten ITO myös PEDOT ohutkalvona vaatii substraatin, jolle se valmistetaan. AP-VPP-menetelmällä valmistettu johdepolymeeriohutkalvo on pinnan muodoltaan hyvin tasainen, mutta esimerkiksi substraatin valinnalla sekä seostusaineilla on mahdollista vaikuttaa muodostuvan pinnan lopulliseen morfologiaan. [34] ITO-kalvon valmistaminen vaatii ankarammat olosuhteet rajaten mahdollisten substraattimateriaalien määrää verrattuna AP-VPP-menetelmään. Morfologisesti, optisesti ja sähkönjohto-ominaisuuksiltaan laadukkaiden ITO-kalvojen valmistaminen tähänhetkisillä menetelmillä vaatii substraatin lämmittämistä yleensä noin 250–500 °C:een. Tällöin substraattina ei kyetä käyttämään esimerkiksi orgaanisia polymeerimateriaaleja, joiden avulla pystyttäisiin valmistamaan joustavia sovelluksia. [59]

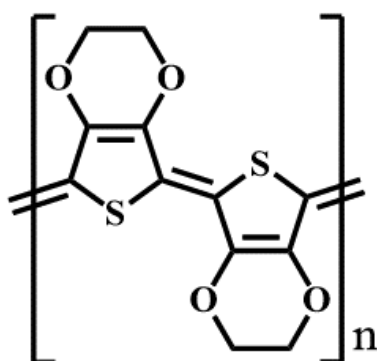
#### **1.4 PEDOT-ohutkalvon ominaisuuksiin vaikuttavat tekijät**

VPP on menetelmä, jolla pystytään valmistamaan kymmenien nanometriä paksuisia tasalaatuisia johdepolymeeriohutkalvoja. Kalvonmuodostus koostuu karkeasti kahdesta vaiheesta, joista ensimmäisessä substraatin pinnalle levitetään ohut kerros hapetinta ja toisessa hapetinkerros altistetaan monomeerihöyrylle. Hapetin laukaisee polymerisaatioreaktion, joka etenee substraattia kohti monomeeri kerrallaan luoden hyvin järjestelmällisesti rakentuneen ohutkalvon. Polymerisaatioreaktiossa polymeerit varautuvat positiivisesti, jolloin varauksen tasapainottamiseksi hapettimessa on oltava anioni, jotta polymeerin rakenteesta saadaan vakaa. Jotta hapetin ei aiheuttaisi hallitsemattomia sivureaktioita, on sen toimintaa inhiboitava joko sisällyttämällä inhiboiva aine hapettimeen tai esimerkiksi polymerisaatioreaktioympäristön kosteutta säätelemällä. Kalvon valmistuksen päätteeksi tulee se vielä huuhdella reaktiosivutuotteista, ylimäärästä hapetinta sekä adsorboituneista monomeereistä. [60]

Menetelmä soveltuu monenlaisten polymeeriohutkalvojen valmistamiseen, sillä reaktioolosuhteet eivät ole äärimmäiset ja lähtöaineita on mahdollista vaihtaa vaivattomasti verrattain laajalla kirjolla. Toisin kuin sähkökemiallisessa ohutkalvon valmistamisessa VPP-menetelmällä pystytään muodostaa kalvoja substraateille, jotka eivät ole sähköä johtavia. Kun taas verrataan VPP:ta kemialliseen ohutkalvon valmistusmenetelmään, voidaan VPP:ssa välttää erittäin vahingollisten liuottimien käyttäminen, kun monomeerin liuottaminen ei ole tarpeellista. Myös ohutkalvojen nanotason paksuus ja sileä pintamorfolgia ovat muihin menetelmiin verrattuna hyvällä tasolla. Edellä mainituista syistä sekä, koska menetelmää käytetään ilmanpaineessa sekä kohtuullisen matalassa lämpötilassa ja yksinkertaisella laitteistolla, on VPP myös verrattain edullinen menetelmä. [47]

#### 1.4.1 Seostusaine

Johdepolymeerien elektroninsiirto-ominaisuuksiin ja täten sähköjohtavuuteen sekä morfologiaan pystytään vaikuttamaan seostamiseen käytettävän anionin valinnalla. Molekyylidynamiikkamallinnuksien perusteella jotkin anionit saattavat jopa liittyä johdepolymeerien piisidosten rakenteeseen. [61] Seostamisen tarkoitus on hapettimen avulla luoda positiivisia varauksia konjugoituneeseen hiiliketjurakenteeseen, jotka tasapainotetaan hapettimen anionilla. Vastaioni myös lyhentää atomien etäisyyksiä rakenteessa siten, että konjugoituneesta hiilirungosta tiivistyy tasomaisempi. Seostamisastetta nostamalla rakenteen atomien etäisyydet edelleen pienevät ja aromaattinen rengas muuntuu kinoidin kaltaiseksi (Kuva 2).



**Kuva 2** Suuren seostusasteen PEDOT-polymeerin kinoidia muistuttava rakenne (vrt. Kuva 1). Mukailtu lähteestä [62].

Kun PEDOT-ohutkalvon seostamiseen käytetään tosylaattia, pystytään parantamaan ohutkalvon johtavuutta ja Seebeckin vakiota verrattuna polystyreenisulfonaatilla seostettuun PEDOTiin. [63] Vaihtoehtoinen vastaioni yleisesti käytetylle tosylaatille (TOS) on triflaatti (OTf), jolla PEDOT-ohutkalvon johtavuus on mahdollista miltei kaksinkertaistaa

tyhjiöhöyryfaasipolymerisaatio (VVPP) -menetelmällä. Näin johtavuus on jo ITO-ohutkalvon tasolla. [52]

Impedanssimittauksien perusteella PEDOT:TOS on kohtuullisen vakaa verrattuna PEDOT:PSS-materiaaliin olosuhteissa, joissa kalvot ovat upotettuina biologiseen liuokseen sekä ravisteltu tasoravistelijassa 24 tunnin ajan. Biologisella liuoksella tarkoitetaan tässä pääosin neutraalin pH:n keinotekoisesta kudostenesteestä valmistettua liuosta. [64] PEDOT:PSS kestävyys vedessä ei ole soveltuva bioaurinkokennosovelluksiin, sillä se voi hajota jo 10 minuutin altistuksen jälkeen. [63]

Seostusaineen koko vaikuttaa merkittävästi polymeerirakenteen tiiviyyteen. Kloridianionin käyttäminen vastaionina yhdessä nanojohtojen kanssa on tuottanut tähän mennessä suurimmat johtavuusarvot, joihin PEDOT materiaalilla on saavutettu. [65] Halidit ovat kuitenkin hyvin reaktiivisia ja voivat hajaantua polymeerirakenteesta, mikä tekee niiden käyttämisestä mahdollisesti epäedullisempää. [62]

#### 1.4.2 VPP-olosuhteet

VPP-menetelmällä pystytään vaikuttamaan ohutkalvon johtavuuteen polymerisaatioreaktiota säättämällä olosuhteiden kuten lämpötilan ja kosteuden säädöillä sekä lisäämällä hapettimeen erilaisia kemiallisia aineita. [66]

Erittäin happamat olosuhteet VPP-menetelmän polymerisaatiovaiheessa saavat aikaan sellaisen sivutuotteen muodostumisen, jota ei ole mahdollista hapettaa konjugoituneeksi PEDOT-ketjuksi. Menetelmän olosuhteita, kuten esimerkiksi hapettimen konsentraatiota ja liuottimena käytettävää ainetta sekä lämpötilaa säätelemällä pystytään vaikuttamaan polymerisaatioreaktion pH-olosuhteisiin ja estää hapon laukaisema sivureaktio. Esimerkiksi käytettäessä rauta(III)tosylaattia hapettimena pH:n on kuitenkin oltava riittävän matala polymerisaatioreaktion käynnistämiseksi, joten myös seostusaineen valinta vaikuttaa olosuhteiden vaatimuksiin. [67]

Hapetinliuokseen lisättävällä emäksisellä inhibiittorilla, kuten yleisesti käytettävällä pyridiinillä voidaan estää hapon laukaisema polymerisaatio. Pyridiini on kuitenkin nopeasti haihtuva, jolloin polymerisaatiokammion lämpötilan sekä ylimääräisen liuottimen haihduttamiseen käytetty lämpötila on säädettävä juuri oikealle tasolle.

Ylimääräinen kosteus saa aikaan tavanomaisten hapettimien kuten rauta(III)tosylaatin ja rautakloridin kiteytymisen, jolloin PEDOT-ohutkalvon tasalaatuisuus ja pinnan sileys kärsivät.

Kun VPP-menetelmän sijaan käytetään VVPP-menetelmää, jossa polymerisaatiovaihe tapahtuu tyhjiökammiossa, voidaan PEDOT:OTf-ohutkalvon johtavuutta nostaa kolmeneljäsosaa (arvosta 1000 Scm<sup>-1</sup> arvoon 4000 Scm<sup>-1</sup>). Tyhjiön merkittävän positiivisen vaikutuksen oletetaan johtuvan suurimmaksi osaksi siitä, että tyhjiössä kosteus ei pääse häiritsemään polymeerien muodostumista. [61] Vesi on kuitenkin pienissä määrin välttämätön protoninpoistaja rauta(III)tosylaattihapettimen toiminnassa VPP-menetelmässä, joten sen optimoimisella saavutetaan laadukkaampia kalvoja. [15] Vesi koordinoituu rautaan, jota tavanomaisissa hapettimissa kuten rauta(III)tosylaatissa on. Koordinoitumisen merkitys on polymerisaation ydintämispisteiden lukumäärässä. Mikäli koordinoivalla liuottimella tai kelaatioligandilla korvataan rautaan kompleksoituneita vesimolekyylejä, polymerisaatioreaktion ydintämispisteitä on vähemmän. Tämä näkyy muodostuvan PEDOT-kalvon suurempana raekokona sekä kalvonmuodostuksen hidastumisena ja näin suhteessa ohuempien kalvojen muodostuksena. [68]

Menetelmään kiinteästi kuuluvien vaiheiden lisäksi kalvon ominaisuuksiin kuten johtavuuteen pystytään vaikuttamaan jälkikäsitteilyllä. VVPP-menetelmällä valmistetun PEDOT:OTf-ohutkalvon johtavuus nousi lähes viidesosan rikkihappoliuoskäsittelyn jälkeen. [52]

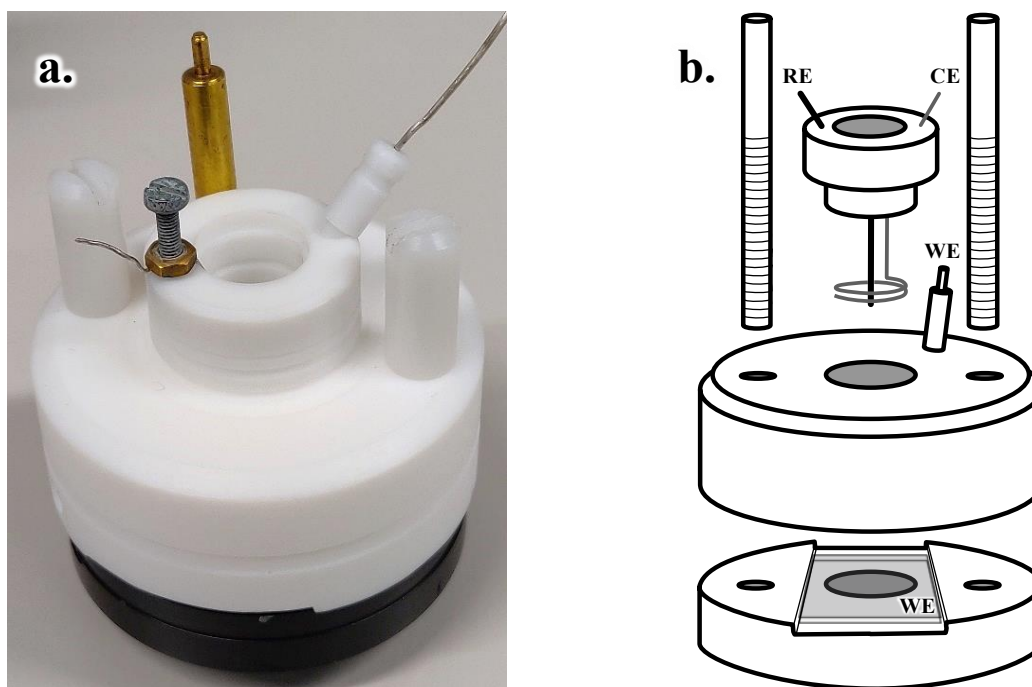
### 1.4.3 Substraatti

Substraatin valinnalla pystytään vaikuttamaan anodin joustavuuteen, pinnan morfologiaan sekä valon läpäisevyyteen. AP-VPP-menetelmällä on mahdollista valmistaa johtava ohutkalvo laajalle kirjolle eri materiaaleista koostuvia substraatteja. Substraatin valintaa ei rajoita materiaalin sähkönjohtavuus kuten esimerkiksi sähkökemiallisessa päällystämässä. [69] Se, ettei menetelmässä käytetä äärimmäistä lämpötilaa tai painetta, lisää materiaalivaihtoehtoja edelleen. Substraatin ei tarvitse kestää vaarallisia orgaanisia liuottimia [60], mutta tulee kuitenkin kestää hapetin- ja pesuliuoksia, joissa on jonkin verran vaihtelua.

Käytännössä bioaurinkokennolaitteiden ulkoiset olosuhteet vaikuttavat myös substraattimateriaaleihin, joita voidaan harkita käytettävän.

## 2 Materiaalit ja menetelmät

Syanobakteeriaurinkokennon toimintaa tutkittiin sähkökemiallisilla mittauksilla sähkökemiallisessa kennossa, jolla mallinnettiin bioaurinkokennolaitetta (**Kuva 3**). Kennossa oli yksi kammio elektrolyyttille, jossa myös pseudo-Ag/AgCl-vertailu- ja platinavastaelektrodi olivat upotettuna. Työelektrodina toimi mikroskooppilasin päälle valmistettu johtava ja läpinäkyvä PEDOT-ohutkalvo tai kaupallinen ITO-ohutkalvo, joiden pinta-alasta  $0,916 \text{ cm}^2$  oli kosketuksissa elektrolyyttiin sähkökemiallisessa kennossa. Kalvo yhdistettiin laitteistoon kullatulla jousella, joka painettiin kuivaan pintaan elektrolyyttikammion ulkopuolella. Kenno oli suunniteltu siten, että valo pystyttiin ohjata syanobakteerikerrokseen alhaalta ylöspäin työelektrodin läpi tai ylhäältä alaspäin elektrolyyttin läpi. Tutkimuksessa onnistuneemmin käytetty suunta oli alhaalta ylöspäin. Lisäksi mittausten kannalta tämä teki yksinkertaisemmaksi kennon peittämisen sekä välittäjäaineiden lisäämisen. Varsinkin kun syanobakteerikerros muodostettiin elektrolyytissä laskeuttamalla, altisti kennoon koskemisen kerroksen irtoamiselle.



**Kuva 3 a.** Kuva kasatusta teflonisesta sähkökemiallisesta kennosta, jolla syanobakteerien ja anodin välistä vuorovaikutusta valoaltistuksessa tutkittiin. **b.** Kaavio kokeissa käytetystä sähkökemiallisesta kennosta. Kaaviossa sekä anodina toimiva PEDOT-ohutkalvo lasisubstraatilla kennorakenteiden välissä sekä kontakti, joka painettiin jousen avulla hellästi anodille, on nimetty työelektrodiksi (WE). Vertailuelektrodi (RE) taitettiin siten, että se pystyttiin kiinnittämään reiällisen korkein reunaan ja yhä kohdistamaan keskelle elektrolyyttikammiota. Vastaelektrodi (CE) oli platinalankaa, joka kierrettiin useaan kierrokseen, jotta pinta-ala olisi mahdollisimman suuri. Kenno koottiin kahdella kierteellisellä muovisella ruuvilla siten, että anodimateriaali ja elektrolyyttikammio tiivistettiin o-renkaalla. Kontakti painautui työelektrodiin kohtaan, jossa WE ei ollut elektrolyytissä. Elektrolyyttiin upotettavien elektrodien korkeus arvioitiin sen mukaan, kuinka suuri tilavuus syanobakteereja lisättiin.

## 2.1 Sähkökemiallisen kennon esivalmistelu

Valoa sähköiseen muotoon muuntavana materiaalina käytettiin syanobakteerilajiketta *Synechocystis* sp. PCC 6803. Kerros valmistettiin laskeuttamalla syanobakteerisolut suoraan kennon elektrolyyttiliuoksessa painovoimaisesti työelektrodin pinnalle. Sähkökemialliseen kennoon koottiin ensimmäiseksi työelektrodiksi lasisubstraatille valmistettu anodi, jonka päälle lisättiin 150 tai 250  $\mu\text{l}$  syanobakteeri-BG11-sekoitusta, jonka syanobakteeripitoisuus oli 150  $\text{nmol}_{\text{lehtivihreä}} \text{ml}^{-1}$ . Syanobakteerikerroksen päälle lisättiin varovasti 1,35 tai 1,25 ml elektrolyyttiä, joka oli syanobakteereilla tavanomaisesti ravinneliuoksena käytettävää BG11-liuosta siten, että kennon kokonaistilavuus oli 1,5 ml. Lopuksi kennoon lisättiin korkki, johon vertailu- ja vastaelektrodi olivat kiinnitettyinä. Mittauksissa käytettiin umpinaista sekä reiällistä korkkia, joista jälkimmäisellä lisäaineiden lisääminen pystyttiin tekemään ilman elektrolyytin ja kiinnittämättömän syanobakteerikerroksen sekoittamista. Kuitenkin, kun reiällistä korkkia käytettiin, avoin kenno suojattiin Parafilm-M-kalvolla haihtumisen estämiseksi kennon latauksesta eteenpäin pois lukien välittäjäaineiden lisäyshetket. Ennen sähkökemiallisia mittauksia syanobakteerikerroksen annettiin laskeutua kennossa valolta suojattuna vähintään 16 h ajan.

Vaihtoehtoisena menetelmänä painovoiman avulla kerrostetulle syanobakteerikerrokselle oli biokalvo, jossa syanobakteerit kiinnitettiin anodin pinnalle 2-% alginaattiseoksella. Biofilmin sekoittuminen elektrolyyttiin estettiin muodostamalla kalvon pinnalle silloittamalla kuori  $\text{CaCl}_2$ -liuoksella ennen elektrolyytin lisäämistä.

## 2.2 Anodimateriaali

Anodimateriaalina käytetty PEDOT valmistettiin VWR-valmistajan mikroskooppilasille AP-VPP-menetelmällä. PEDOT-kalvojen valmistuksessa, sekä substraatin esivalmistelussa noudatettiin menetelmäohjetta, joka on kuvattu tarkasti lähteessä [47]. Hapettimen koostumus oli 0,236 M rauta(III)tosylaattia sekä 0,141 M pyridiiniä n-butanoliliuoksessa. Monomeereina käytettiin EDOT-liuosta ja loppuhuuhtelu tehtiin asetonitriiliin kastamalla.

Toisena anodimateriaalina kokeissa käytettiin valmistajan Delta Technologies ITO-ohutkalvoa, jonka pintaresistanssi oli noin  $10 \Omega/\square$  ja paksuus 125 nm. Substraattina materiaalilla oli kvartsi.

## 2.3 Sähkökemialliset menetelmät

AP-VPP-PEDOT-ohutkalvon ja syanobakteerien välistä elektroninsiirtoa tutkittiin sekä syklistä voltammetriaa (CV) että kronoamperometriä (CA) käyttämällä. Mittauslaitteisto oli Ivium potentiostaatti, jonka valmistajan lisäosaa käytettiin myös sähkökemiallisen kennon valaisuun määrättyillä valon intensiteeteillä ja aallonpituuksilla. Kolmen elektrodin sähkökemiallista kennoa käytettiin syanobakteeri-PEDOT-mittauksiin BG11-elektrolyytissä.

### 2.3.1 Syklinen voltammetria

CV-mittauksissa käytettiin pyyhkäisy nopeutta 50 mV/s potentiaalivälillä -0,25–0,75 V. Aluksi CV-mittauksia tehtiin jokaisen CA-mittauksen välissä eri valon aallonpituuksilla ja eri potentiaalitasoilla. Esikokeiden jälkeen CV-mittaukset rajattiin vain anodimateriaalin laadun ja kennon johtojen yhteyksien varmistamiseksi ennen kokeen aloitusta, jotta syanobakteereja ei vahingoitettaisi liiallisesti suurilla potentiaaliarvoilla- ja vaihtelulla. Asetuksissa pyyhkäisy nopeudeksi muutettiin samalla 100 mV/s mittaussarjojen jouduttamiseksi.

### 2.3.2 Kronoamperometria

CA-mittaukset sisälsivät amperometrisiä mittauksia pimeä- ja valoaltistusjaksoilta eri vakio potentiaalitasoilla. Ivium-lisäosalla, jossa oli eri aallonpituuksilla valaisevia LED-valoja, pystyttiin Ivium-ohjelmalla säätämään valoaltistuksen intensiteetti, aallonpituus ja kesto. Mittauksissa seurattiin bioaurinkokennoa mukailevan sähkökemiallisen kennon tuottamaa virtaa ajan suhteen. Ivium-ohjelmalla Mixed mode -asetuksilla luotiin mittausohjelmia, jossa laite suoritti määrättyt mittaukset tietyssä järjestyksellä valituilla potentiaali-, aika- sekä valon intensiteetti- ja aallonpituusasetuksilla. Asetukset valittiin sekä PEDOT-ohutkalvon sähkökemiallisen vakauden, optimaalisen johtavuuden että syanobakteereille edulliset elinolosuhteet huomioiden, joskin syanobakteerien elinolosuhteet olivat tärkeysjärjestyksessä korkeammalla kuin PEDOT-kalvon huippujohtavuustasoon yltäminen. Esikokeiden jälkeen suunniteltiin mittausohjelma, jonka mukaisesti pyrittiin mittamaan kolme rinnakkaista mittauskokonaisuutta viidellä eri kennokokoonpanolla sekä yksi sarja DCMU:ta käyttäen, mutta epäonnistuneiden kokeiden myötä toisintoja ei ehditty kaikilla muuttujilla mitata (**Taulukko 1**). **Taulukko 2** esittää mittausohjelman yksinkertaisimmillaan. Sanallinen selvitys vaiheista on seuraavanlainen:

1. Vakiopotentialiksi asetetaan 0.1 V Ag/AgCl-pseudovertailuelektrodia vasten ja viiden minuutin pimeäjakson jälkeen vuorotellaan neljä tai kuusi toistoa kahden minuutin valo- ja pimeäjaksoa sinisellä valolla (460 nm, 4 mWcm<sup>-2</sup>).
2. Vakiopotentiali ei muutu, ja viiden minuutin pimeäjakson jälkeen neljä valo- ja pimeäjaksoa tummanpunaisella valolla (660 nm, 4 mWcm<sup>-2</sup>).
3. Vakiopotentialiksi vaihtuu 0.3 V, ja lukuun ottamatta valon aallonpituuden vaihtamista takaisin siniseen asetukset eivät muutu.
4. Valo vaihdetaan tummanpunaiseen muiden asetusten pysyessä ennallaan.
5. Vakiopotentialiksi vaihtuu 0,5 V, ja valoksi sininen ilman muita muutoksia edelliseen.
6. Valo vaihdetaan tummanpunaiseen muiden asetusten pysyessä ennallaan.
7. Kennoon lisätään 15 µl 100 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]-liuosta siten, että kennon [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>-pitoisuus on 1 mM ja jatketaan kuten edellä, mutta sinisellä valolla.
8. FeCN -pitoisuus pysyy samana, mutta valon väri vaihtuu tummanpunaiseksi.
9. Vakiopotentialiksi vaihtuu 0,3 V, ja kennoon lisätään 15 µl 100 mM DCBQ-dimetyylisulfoksidiliuosta siten, että kennon DCBQ-pitoisuus on 1 mM. Kymmenen minuutin pimeäjakson jälkeen valo- ja pimeäjakson toistoja mitataan kolme sinisellä valolla.
10. DCBQ-pitoisuus pysyy samana, ja viiden minuutin pimeäjakson jälkeen mittaukset jatkuvat tummanpunaisella valolla.

**Taulukko 1** Tietoja eri koesarjoista.

Koesarjan tunniste Rinnakkaiset kokeet		0			1			2		3		4	5		
		a	b	c	c	d	e	b	c	a	b	c	a	b	c
Materiaali		PEDOT						ITO		PEDOT					
Anodi	Kerroksien lukumäärä	1								2		1			
	Pintaresistanssi	Ω/□	320	268	245	245	262	255	10	10	280	288	118	245	250
Kennon lataus	Syanobakteerien määrä	ml	0,15						0,25		0,15				
	Elektrolyytin tilavuus	ml	1,35						1,25		1,35				



**Taulukko 2** CA:n mittausohjelmat eri koesarjoissa.

Koesarjojen 0, 1, 2, 3 ja 4 mittausohjelma						
Potentiaalitaso	Valoaltistus		Valo- ja pimeä jaksot sarjassa		Lisätty aine	
	Aallonpituus	Intensiteetti	Jakson kesto	Valojaksojen lukumäärä	Lyhenne	Pitoisuus elektrolyytissä
V	nm	mWcm <sup>-2</sup>	min			mM
0,1	460 nm	4	2	4 tai 6	-	-
0,1	660 nm	4	2	4	-	-
0,3	460 nm	4	2	4	-	-
0,3	660 nm	4	2	4	-	-
0,5	460 nm	4	2	4	-	-
0,5	660 nm	4	2	4	-	-
0,5	460 nm	4	2	4	FeCN	1
0,5	660 nm	4	2	4	FeCN	1
0,3	460 nm	4	2	3	DCBQ	1
0,3	660 nm	4	2	3	DCBQ	1
Koesarjan 5 mittausohjelma						
0,1	460 nm	4	2	4 tai 6	-	-
0,1	660 nm	4	2	3 tai 4	-	-
0,1	460 nm	4	2	3 tai 4	DCMU	1
0,1	660 nm	4	2	3 tai 4	DCMU	1

### 2.3.3 Sähkökemialliseen kennoon lisätyt aineet

Koesarjojen lopuksi mitattiin syanobakteerien sisäiseen ja ulkoiseen elektroninsiirtoon vaikuttavien tunnettujen aineiden (**Taulukko 3**) vaikutusta virrantuotantoon valoaltistuksessa. DCBQ ja FeCN lisättiin kennoon tehostamaan elektronin siirtoa ja erillisessä koesarjassa DCMU inhiboimaan elektroninsiirtoa PSII-kompleksin pelkistyselektroninsiirtoketjussa. Lisäykset tehtiin tarkasti pipetillä, jonka jälkeen kenno suljettiin uudelleen parafilmillä. Mittauksiin asetetut vakiopotentialit määräytyivät kyseenomaisen aineen hapetuspelkistyspotentiaalın puolivälin mukaan, jolloin toiminta oli tehokkainta (**Taulukko 3**). Aineen pitoisuus elektrolyytissä asetettiin jokaisessa tapauksessa 1 mM:iin, jolloin syanobakteerien elinolosuhteet säilyivät riittävällä tasolla kokeiden ajan ja hapetuspelkistysreaktioiden vaikutus oli riittävän suuri mitattavaksi.

**Taulukko 3** Syanobakteerien ja anodin välistä elektroninsiirtoa tehostavat aineet FeCN ja DCBQ sekä inhiboiva DCMU.

Triviaalinimi	Systemaattinen nimi	Lyhenne	Kemiallinen kaava	Hapetuspelkistys -potentiaali V
Ferrisyaniidi	Heksasyanoferraatti(III)	FeCN	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	0,5
	2,6-Dikloori-p-bentsokinoni	DCBQ	$\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2\text{O}_2$	0,3
	3-(3,4-Diklorofenyyl)-1,1-dimetyyliurea	DCMU	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2$ O	0,1

### 2.3.4 Pseudovertailuelektrodi

Vertailuelektrodina käytettävät Ag/AgCl-päällystetyt hopealangat valmistettiin sähkökemiallisesti ja kalibroitiin mittauksia edeltävänä päivänä kalomeli-elektrodia vasten. Mikäli elektrodien välinen potentiaaliero poikkesi arvosta, joka sen tuli olla kalomelia vasten, pyrittiin käyttämään toista elektrodia tai valmistamaan kokonaan uusi.

## 2.4 Pintaresistanssin mittaaminen

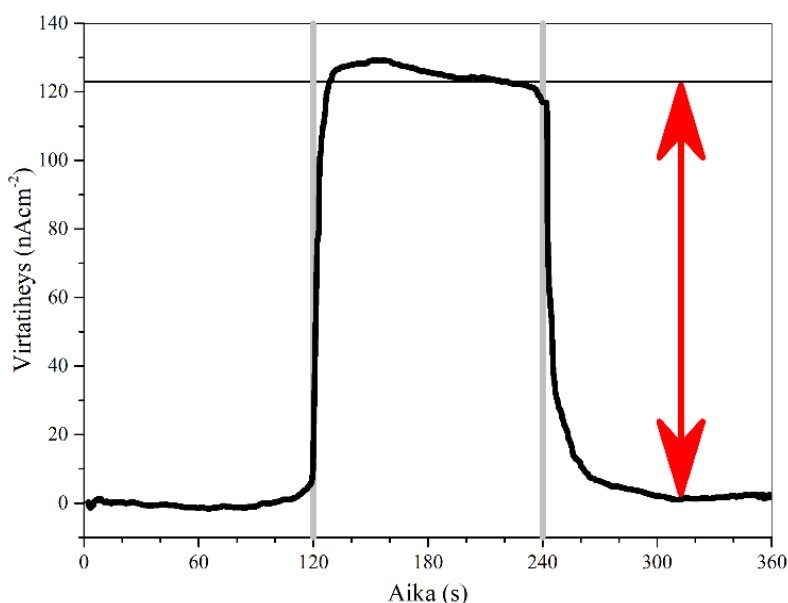
PEDOT-ohutkalvojen johtavuusominaisuuksien määrittämiseen käytettiin useampaa menetelmää, joista ensimmäinen oli pintaresistanssimittaus. Mittauksissa käytettiin nelipisteanturia valmistajalta Jandel mallissa RM3000+. Mittauspään ominaisuudet olivat seuraavat: anturin neljän pisteen etäisyys toisistaan oli 1,00 mm, jokaisen mittauspisteen säde oli 100  $\mu\text{m}$  ja kuormitus yli 60 g. Mittaukset tehtiin mahdollisimman pian kalvon valmistuksen jälkeen ja vähintään samana päivänä. Mittauksia otettiin neljästä tai useammasta eri kohdasta kalvoa, joiden keskiarvoa käytettiin luonnehtimaan kalvon pintaresistanssiominaisuuksia.

### 3 Tulokset

#### 3.1 Syanobakteerien ja PEDOT-ohutkalvon välinen elektronisiirto

##### 3.1.1 Kronoamperometria

CA-mittausten tulokset muunnettiin virtatiheyksiksi, jotta ne olivat vertailukelpoisia muihin tutkimuksiin verrattuna. Kuvaajissa, jossa virtatiheys on piirretty ajan suhteen, virtatiheys lähtee jyrkkään nousuun valoaltistuksessa 120 sekunnin kohdalla ja alkaa tasaantua, kunnes seuraavan pimeäjakson alkaessa 240 sekunnin kohdalla laskee jyrkästi takaisin lähtöarvoa kohti. Mittausten perusteella pystytään laskemaan tuotanto virtatiheytenä valo- ja pimeäjakson tasaantuneiden arvojen välisenä erotuksena, kun kuvaajan pohja on tasattu (**Kuva 4**). Tulosten avulla tarkastellaan syanobakteeriaurinkokennoa jäljittelevän kokonaisuuden tehokkuutta sekä erityisesti, miten elektroninsiirto toimii syanobakteerien ja anodin välillä ja eri muuttujien vaikutusta siihen.



**Kuva 4** Virtatiheystuotot laskettiin virtatiheyksien tasaantuneista arvoista valo- ja pimeäjakson välillä.

Tuloksia saatiin yhteensä viidestä eri koesarjasta: 0 ilman syanobakteerikerrosta, 1 ja 3 eri määrillä syanobakteereja PEDOT-anodilla, 2 ITO-anodilla, 4 kaksikerroksisella PEDOT-ohutkalvoanodilla sekä 5 PEDOT-anodilla DCMU:ta käyttäen (**Taulukko 1**). Tuloksia tarkastellaan sellaisenaan ilman pelkällä PEDOT-anodilla mitattujen arvojen vähentämistä vastaavanlaisella anodilla tehtyjen kokeiden tuloksista (**Taulukko 4**). Näin tulosten tarkastelu on selkeämpää, sillä jokaiselle kokeelle ei mitattu pohjaa.

**Taulukko 4** Saavutettujen virtatiheystuottojen keskiarvot ja suurimmat arvot koesarjan kaikkien kokeiden valojaksojen kesken eri mittaolosuhteissa. Huomattavaa esitetyissä tuloksissa on se, että PEDOT-ohutkalvolla ilman syanobakteerikerrosta tehdyn koesarjan PEDOT 0 virtatiheystuottoja ei ole otettu huomioon taulukon muissa PEDOT-anodilla tehtyjen mittausten tuloksissa.

Valon aallonpituus	460 nm		660 nm		460 nm		660 nm		460 nm		660 nm			
Potentiaalitaso	0,1 V		0,1 V		0,3 V		0,3 V		0,5 V		0,5 V			
Lisätty aine	-	DCMU	-	DCMU	-	DCBQ	-	DCBQ	-	FeCN	-	FeCN		
Virtatiheystuotto (nAcm <sup>-2</sup> )	0	Keskiarvo	12	-	-4	-	55	1 040	1	0	118	462	-15	3
		Ylin arvo	23	-	2	-	80	2 450	10	0	244	630	31	16
	1	Keskiarvo	53	-	9	-	146	3 040	18	13 365	325	442	31	156
		Ylin arvo	84	-	21	-	204	5 032	31	24 978	492	634	56	581
	2	Keskiarvo	151	-	66	-	352	1 880	441	6 419	533	370	450	468
		Ylin arvo	321	-	145	-	632	3 859	706	14 107	1 006	713	747	613
	3	Keskiarvo	27	-	5	-	135	3 093	15	9 079	295	331	26	24
		Ylin arvo	32	-	8	-	153	5 396	23	17 480	387	419	34	42
	4	Keskiarvo	81	-	7	-	203	5 199	40	14 376	572	735	100	52
		Ylin arvo	133	-	9	-	258	10 307	44	21 637	646	743	113	59
	5	Keskiarvo	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ylin arvo	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-

### 3.1.1.1 CA-mittaukset potentiaalissa 0,1V sekä 1 mM DCMU-konsentraatiossa

Potentiaalissa 0,1 V virtatiheysmuutokset ovat sinisen valon aallonpituudella 460 nm huomattavasti tasalaatuisemmat kuin punaisella 660 nm (**Kuva 5**). Lisäksi jokaisessa PEDOT-anodilla tehdyssä mittauksessa tummanpunaisella valolla kuvaajissa on huomattava notkahdus 125–130 sekunnin kohdalla eli 5–10 sekuntia valon sytyttämisen jälkeen. Virtatiheys nousee sitten jyrkästi ja tasaantuu koesarjoissa 1, 3, ja 4 hieman pohjaa korkeammalle tasolle, kun taas pelkällä PEDOT-kalvolla tehdyssä koesarjassa 0 kuvaaja tasaantuu jopa pohjatasonsa alle. Notkahduksen aiheuttajaksi on esitetty bakteereilla tutkittu kyky ajoittaa aineenvaihdunnallisia toimintojaan kaliumionikanavien avulla tuotetuilla sähköisillä viesteillä [70].

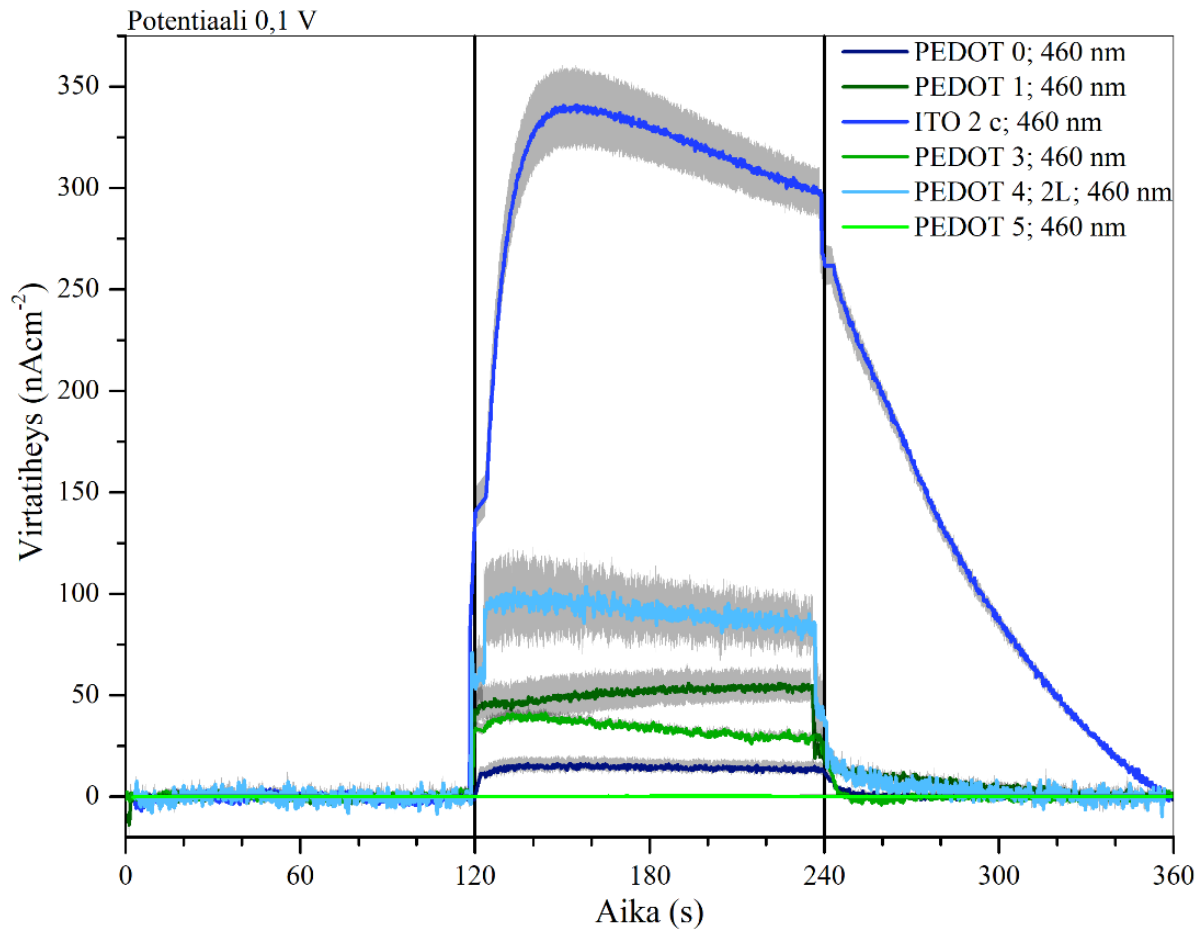
Potentiaalissa 0,1 V sininen valo sai aikaan jokaisessa koesarjassa vähintään kaksinkertaisen ja enimmillään 14-kertaisen kasvun virrantuotannon keskiarvoissa. PEDOT-kalvolla ero aallonpituuksien välillä liittyy ohutkalvon matalaan transmianssiin 660 nm aallonpituudella potentiaalissa 0,1 V, kun neutraali rakenne alkaa vasta muuttumaan bipolaroni- ja polaronimuotoihin. Bipolaronimuodossa PEDOT-ohutkalvo on läpinäkyvä, mutta pelkistyneessä muodossaan tummansininen [45], [71]. Vaikka ohutkalvon hento sininen sävy neutraalissa tilassa otettiin huomioon ennen mittauksia, PEDOT-kalvon värinmuutosta potentiaalinvaihtelusta ei huomioitu. Tummanpunaisen valoaltistuksen olematon vaikutus johtuu siis siitä, että PEDOT-kalvo absorboi suuren osan valosta. Suurin virtatiheysero eri

aallonpituuksien välillä havaitaan kaksikerroksisella PEDOT-anodilla suoritetussa kokeessa 4, mikä aiheutuu jälleen entistä pienemmästä transmittanssista sähkökromisen reaktion vuoksi verrattuna yksikerroksiseen anodiin. Kaksikerroksisellekin kalvolle mitattiin erikseen valon intensiteetit, mutta ne tehtiin jälleen asettamatta vakipotentialiaa.

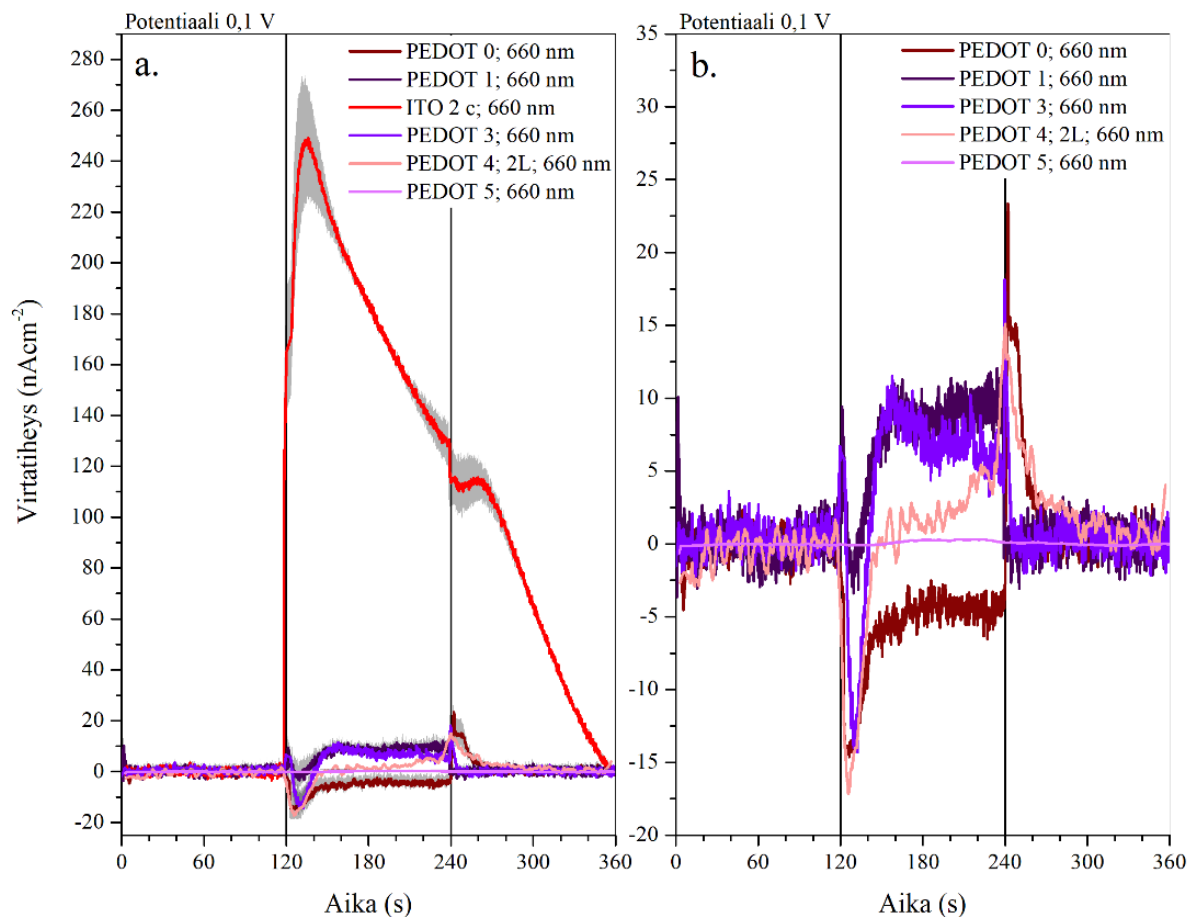
Osatekijänä sinisen valon aiheuttamien virtatiheysvasteiden nostamisessa saattoi olla myös se, että kyseinen sarja potentiaalissa 0,1 V oli jokaisen koesarjan ensimmäinen mittauspiste (**Taulukko 2**).

ITO-anodilla ero aallonpituuksien välillä on pienin, mutta se on silti huomattava. ITO:n transmittanssi on 10 % korkeampi aallonpituudella 660 nm kuin 460 nm [72], joten tulos viittaa ehkä virheelliseen valon intensiteettien määrittämiseen, kun valon asetukset säädettiin. Toinen ITO-anodilla mitattujen eri aallonpituuksien erotusta selittävänä tekijänä on tummanpunaisella valolla mitatun virtatiheyskuvaajan epätyypillinen muoto (**Kuva 7**). Valoaltistuksen aiheuttama vaste vaikuttaa laskevan hyvin jyrkästi jo valojakson aikana, mikä poikkeaa olennaisesti tavanomaisesta syanobakteeriaurinkokennon CA-kuvaajan muodosta, jollaisia esimerkiksi sinisen valon altistuksella muodostui potentiaalissa 0,1 V (**Kuva 5**). Virtatiheystuotot laskettiin jokaisesta kuvaajasta valotusajan lopun virtatiheysarvon ja seuranneen pimeäjakson lopun virtatiheyden erotuksena. Mikäli tuo virtatiheyshuippua otettaisiin vertailuun, olisi ero aallonpituuksien välillä pienempi, mutta sininen edelleen aiheuttaisi suuremman virrantuotannon. Jo potentiaalissa 0,1 V on huomattavaa, ettei virtatiheys tasaannu koesarjan 2 jälkimmäisen kahden minuutin pimeäjakson aikana kuten muut, joten pimeäjakson pituus ei ole ollut riittävä (**Kuva 5, Kuva 6**).

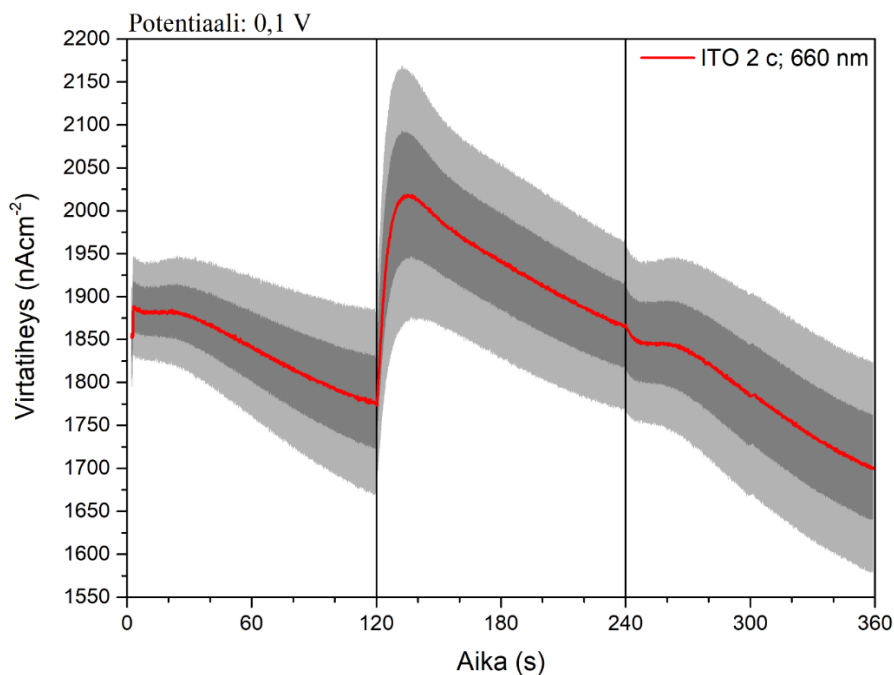
Koesarjassa 5 potentiaalissa 0,1 V ei muodostunut mainittavia virtatiheysvasteita valoaltistuksessa niin DCMU:n lisäystä ennen kuin sen jälkeenkään PEDOT-syanobakteeriyhdistelmässä.



**Kuva 5** CA-mittausten virtatiheydet ajan suhteen koesarjojen keskiarvoina vakipotentialissa 0,1 V. Aikajanalla 120–240 s on pystyviivoilla merkattu valojakso pimeäjaksojen välissä. Valon aallonpituus oli 460 nm ja voimakkuus noin 4 mWcm<sup>-2</sup>. Kuvassa harmaalla on merkitty keskivirhe koesarjan eri kokeista ja kokeen eri valojaksojen kuvaajista.



**Kuva 6** CA-mittausten virtatiheydet ajan suhteen koesarjojen keskiarvoina vakio potentiaalissa 0,1 V. Aikajanalla 120–240 s on pystyviivoilla merkattu valojakso pimeäjaksoiden välissä. Valon aallonpituus oli 660 nm ja voimakkuus noin  $4 \text{ mW cm}^{-2}$ . Kuvaajassa **a.** jokaisen koesarjan tulokset on esitetty. Kuvaajassa **b.** on suurennos viereisen kuvaajan matalimman virtatiheyden pisteistä. Kuvassa harmaalla on merkitty keskivirhe koesarjan eri kokeista ja kokeen eri valojaksojen kuvaajista.



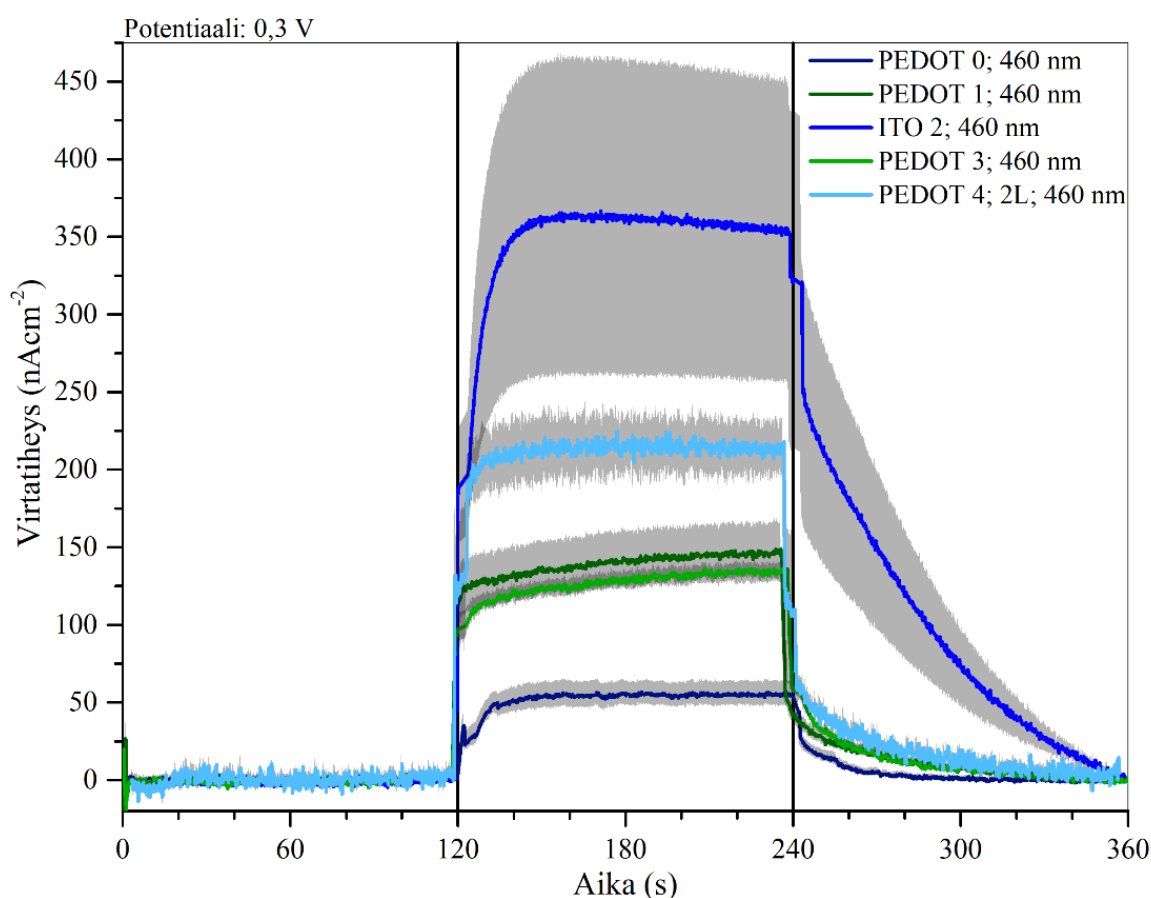
**Kuva 7** Kuvaaja CA-mittauksen virtatiheyden kehityksestä ITO-anodilla ilman pohjan tasausta.

### 3.1.1.2 CA-mittaukset potentiaalissa 0,3 V

Potentiaalitasolla 0,3 V PEDOT-syanobakteerikoesarjojen 1, 3 ja 4 keskimääräiset virrantuotannot sinisellä valolla olivat 5–9-kertaiset tummanpunaiseen valoon verrattuna (**Taulukko 4**). Koesarjassa 2 ITO-anodilla virtatiheydet olivat jonkin verran suuremmat tummanpunaisella aallonpituudella verrattuna siniseen.

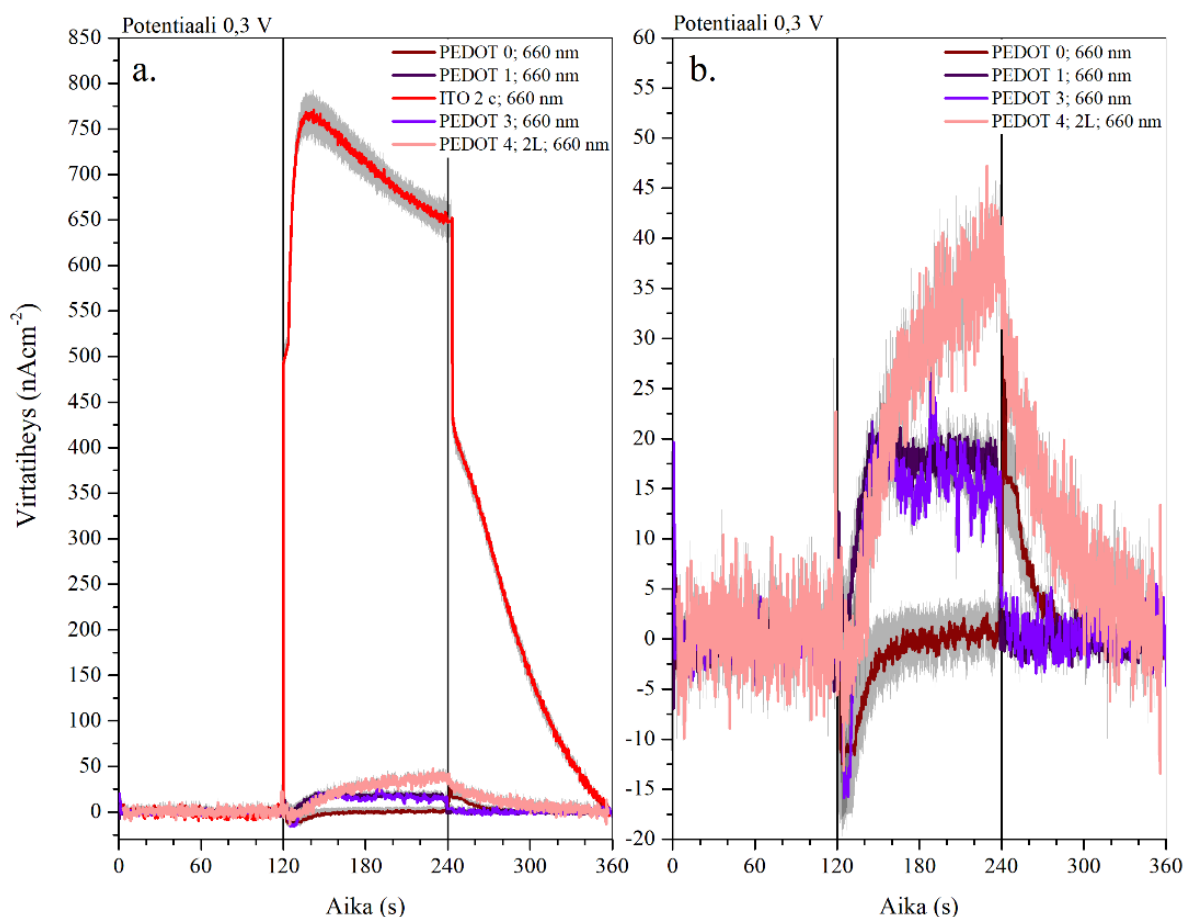
Potentiaalissa 0,3 V aallonpituuden vaikutus oli koesarjojen kesken keskimäärin matalampi kuin 0,1 V potentiaalissa, sillä PEDOT-materiaali on hapettuneemmassa muodossa. Verrattaessa potentiaaleja 0,1 V ja 0,3 V tasonosto aiheutti keskimäärin nelinkertaisesti korkeammat virtatiheystuotot korkeammassa potentiaalissa.

Kuten potentiaalissa 0,1 V myös potentiaalissa 0,3 V tummanpunaisen aallonpituuden virtatiheyskuvaajissa jyrkkä lasku valojakson alussa, joka kuitenkin vaikuttaa siirtyneen lähemmäksi pistettä 120 s, mikä saattaa johtua suuremman potentiaalil aiheuttamasta suuremmasta lopullisesta virtatiheydestä, johon kuvaaja nousee lähes välittömästi (**Kuva 9**).



**Kuva 8** CA-mittausten virtatiheydet ajan suhteen koesarjojen keskiarvoina vakio potentiaalissa 0,3 V. Aikajanalla 120–240 s on pystyviivoilla merkattu valojakso pimeäjaksojen välissä. Valon aallonpituus oli 460 nm ja voimakkuus noin 4 mW cm<sup>-2</sup>. Kuvassa harmaalla on merkitty keskivirhe koesarjan eri kokeista ja kokeen eri valojaksojen kuvaajista.





**Kuva 9** CA-mittausten virtatiheydet ajan suhteen koesarjojen keskiarvoina vakipotentialissa 0,3 V. Aikajanalla 120–240 s on pystyviivoilla merkattu valojakso pimeäjaksojen välissä. Valon aallonpituus oli 660 nm ja voimakkuus noin 4 mW cm<sup>-2</sup>. Kuvaajassa **a.** Jokaisen koesarjan tulokset on esitetty. Kuvaajassa **b.** on suurennos viereisen kuvaajan matalimman virtatiheyden pisteistä. Kuvassa harmaalla on merkitty keskivirhe koesarjan eri kokeista ja kokeen eri valojaksojen kuvaajista.

### 3.1.1.3 CA-mittaukset potentiaalissa 0,3 V 1 mM DCBQ-konsentraatiossa

Potentiaalissa 0,3 V korkeimmat virtatiheystuotot saatiin koesarjassa 2 ITO-anodilla. Ilman lisättyä välittäjäainetta korkeimmat virtatiheydet olivat sinisellä aallonpituudella 632 nA m<sup>-2</sup> ja tummanpunaisella 706 nA m<sup>-2</sup> (**Taulukko 4**). Koesarjoissa PEDOT-anodilla virtatiheydet olivat molemmilla aallonpituuksilla olennaisesti matalammat, mutta sinisellä valolla yhä vähintään nelinkertaiset verrattuna tummanpunaiseen aallonpituuteen. Jokaisen koesarjan keskiarvot kuitenkin nousivat verrattuna potentiaalissa 0,1 V mitattuihin tuloksiin, mikä voidaan yhdistää PEDOT-anodikokeissa polymeerien hapettumiseen.

Kun elektrolyyttiin lisättiin DCBQ-välittäjäaine, saavutettiin suurimmat virtatiheyshuiput sinisellä valolla kokeessa 4 arvolla 10 307 nA m<sup>-2</sup> ja tummanpunaisella koesarjassa 1 arvolla 24 978 nA m<sup>-2</sup>. PEDOT-ohutkalvolla pystyttiin saavuttamaan noin kaksinkertainen virtatiheystuotto ITO-kalvoon verrattuna molempien aallonpituuksien kesken.

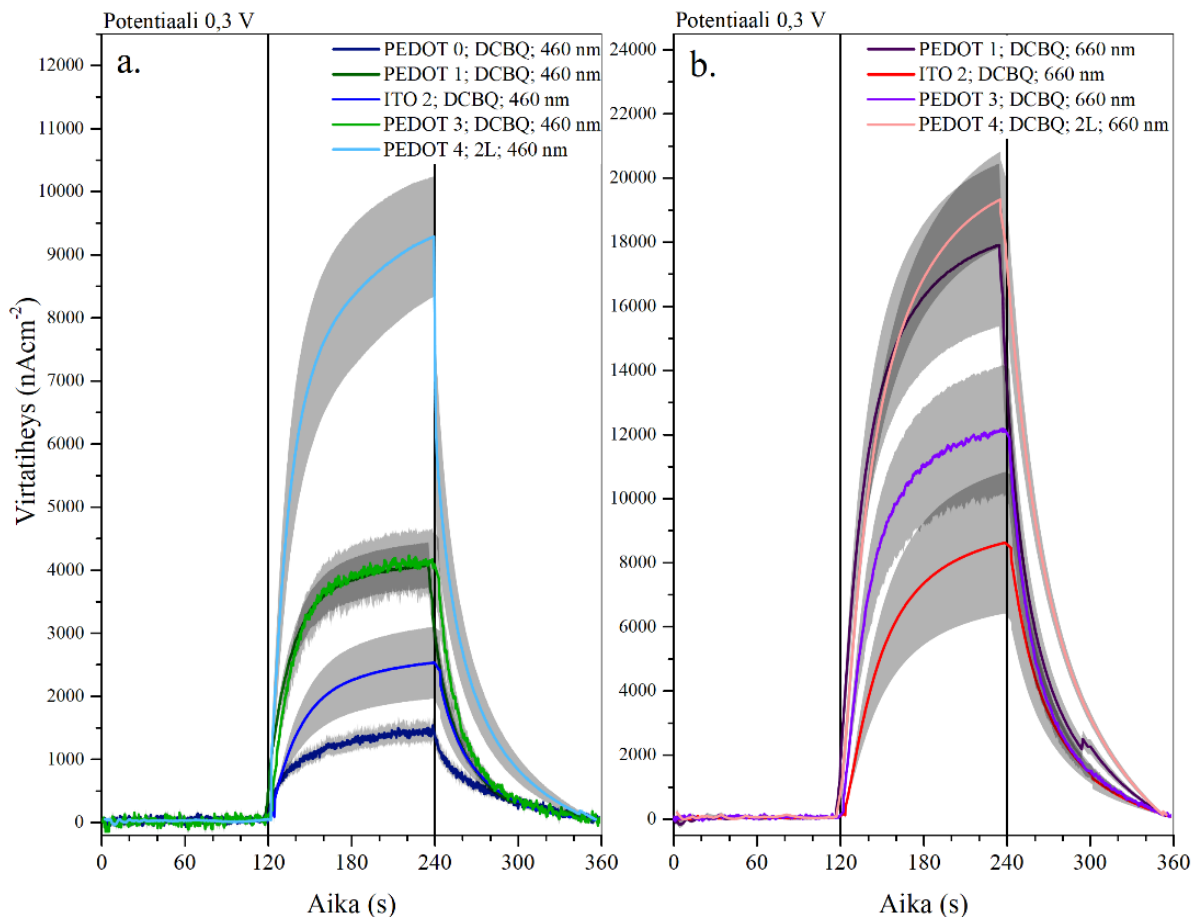
Virtatiheystuotanto nousi DCBQ-välittäjäaineella jopa yli 800-kertaiseksi tummanpunaisen valon aallonpituudella koesarjassa 1 ja muissa PEDOT-syanobakteerikoesarjoissa vähintään useampi satakertaiseksi. Sinisellä aallonpituudella DCBQ:n vaikutus oli jokaisessa kokeessa pienempi korkeintaan muutama kymmenkertainen. On selvää, että DCBQ tehosti huomattavasti enemmän tummanpunaisen aallonpituuden virtatiheystuotantoa soluissa verrattuna siniseen. Koska tummanpunainen valo lähestulkoon kaikissa muissa tapauksissa PEDOT-anodilla tuotti huomattavasti matalampia tuloksia, muutos DCBQ:lla vaikuttaa olevan solunsisäinen. Tämä voisi olla mahdollista, mikäli synechocystis-soluissa kuten syanobakteereissa on useissa tutkimuksissa todistettu sinisen valoaltistuksen virittävän fotosysteemikompleksit epätasaisesti, kun fykobiliinikompleksit eivät kykene absorboimaan sinistä valoa tehokkaasti [13]. Tehokkaan välittäjäaineen ansiosta elektroninsiirto ei rajoita valon absorboimista, jolloin tummanpunaisen valon altistuksessa suurempi osa yhteyttämispigmenteistä pystyisi yhteyttämään, kun taas sinisellä valolla fykobiliinikompleksit eivät osallistuisi elektronien tuottamisketjuun. Myös fotosysteemien epätasainen virittyminen on voinut olla virtatiheystuotannon rajoittava tekijä, mikäli solut ovat valmistautuneet valmistamaan lisää PSII-kompleksin osia hidastaen yhteyttämistä [13].

PEDOT-anodi ilman syanobakteerikerrosta ei tuottanut lainkaan virtaa tummanpunaisen valoaltistuksen aikana ennen DCBQ-lisäystä eikä sen jälkeenkään. Tästä poiketen sinisen valon aallonpituudella potentiaalissa 0,3 V virtatiheystuotot olivat korkeimmillaan  $80 \text{ nA m}^{-2}$  ja DCBQ:n lisäämisen jälkeen jopa  $2\,450 \text{ nA m}^{-2}$  ilman yhteyttävää solukerrosta. Selvää on, että PEDOT-materiaali ei DCBQ:n vaikutuksesta lisännyt elektroninsiirtoa anodille tummanpunaisessa valossa, vaan suuret virtatiheystuotannot olivat peräisin syanobakteereista.

Kun verrataan koesarjaa 3 koesarjaan 1, jossa syanobakteerikerros oli ohuempi, virtatiheydet ovat molemmilla aallonpituuksilla suuremmat koesarjassa 1 (**Taulukko 4**). DCBQ-lisäyksen jälkeen tummanpunaisella aallonpituudella koesarjassa 1 yllettiin yli 40 % korkeampiin virtatiheyksiin kuin koesarjassa 3. Sinisellä aallonpituudella vastaavaa eroa ei ole ja virtatiheystuotot ovat lähes samalla tasolla. Muissa potentiaaleissa koesarjan 3 virtatiheystuotot olivat huonompia, mistä voi tehdä johtopäätöksen ohuemman syanobakteerikerroksen toimivan tehokkaammin, vaikka ero ei kaikissa mittauspisteissä ollutkaan suuri.

Potentiaalissa 0,3 V, kun DCBQ-välittäjäaine on lisätty kennoon, havaitaan hyvin sille ominaisia verrattain loivemmin kohoavan muotoisia virtatiheyskuvaajia (**Kuva 10**). Virtatiheyden laskuun pimeäjakson aikana vaadittaisiin pidempi aika kuin, mitä koesarjojen

mittausohjelmassa käytettiin. Koska kuvaajat eivät ole täysin tasaantuneet ennen uutta valojaksoa, vasteista lasketut virtatiheydet ovat matalammat kuin todellisuudessa. Etenkin DCBQ-mittauksissa virheen suuruus ei ole niin merkittävä vasteen suuruuteen verrattuna.



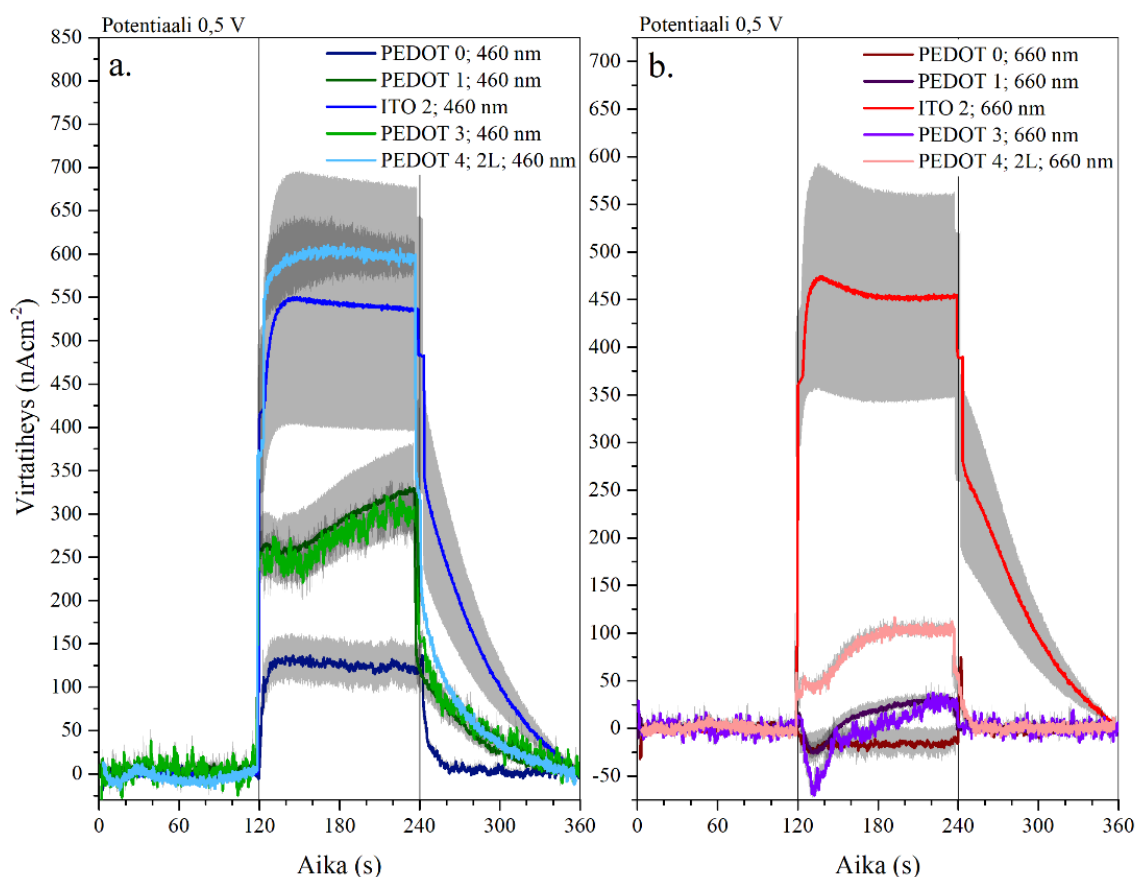
**Kuva 10** CA-mittausten virtatiheydet ajan suhteen koesarjojen keskiarvoina vakipotentialissa 0,3 V ja DCBQ-konsentraatiossa 1 mM. Aikajanalla 120–240 s on pystyviivoilla merkattu valojakso pimeäjaksojen välissä. Valon voimakkuus oli noin 4 mW cm<sup>-2</sup>. Kuvaajassa **a.** Valon aallonpituus valojaksolla oli 460 nm. Jokaisen koesarjan tulokset on esitetty. Kuvaajassa **b.** Valon aallonpituus valojaksolla oli 660 nm. Jokaisen koesarjan tulokset on esitetty. Kuvassa harmaalla on merkitty keskivirhe koesarjan eri kokeista ja kokeen eri valojaksojen kuvaajista.

#### 3.1.1.4 CA-mittaukset potentiaalissa 0,5 V sekä 1 mM FeCN-konsentraatiossa

Ainoastaan koesarjassa 1 FeCN-välittäjäaineen lisääminen nosti virtatiheysarvoja merkittävästi tummanpunaisen valon altistuksessa (**Taulukko 4**) verrattuna tuloksiin samassa potentiaalissa 0,5 V ilman välittäjäainetta. Muissa koesarjoissa lievä etu oli havaittavissa tai vähintään samantasoisia virtatiheysarvoja tuotettiin tummanpunaisen valon altistuksessa. Aallonpituudella 460 nm 1 mM FeCN konsentraatiossa PEDOT-kalvo yksistään koesarjassa 0 tuotti huipussaan jopa 630 nA m<sup>-2</sup>, mikä ei eroa lähes lainkaan koesarjassa 1 saavutetusta huippuarvosta 643 nA m<sup>-2</sup>. Lisäksi suhteessa muiden koesarjojen ylimpiin virtatiheyksiin

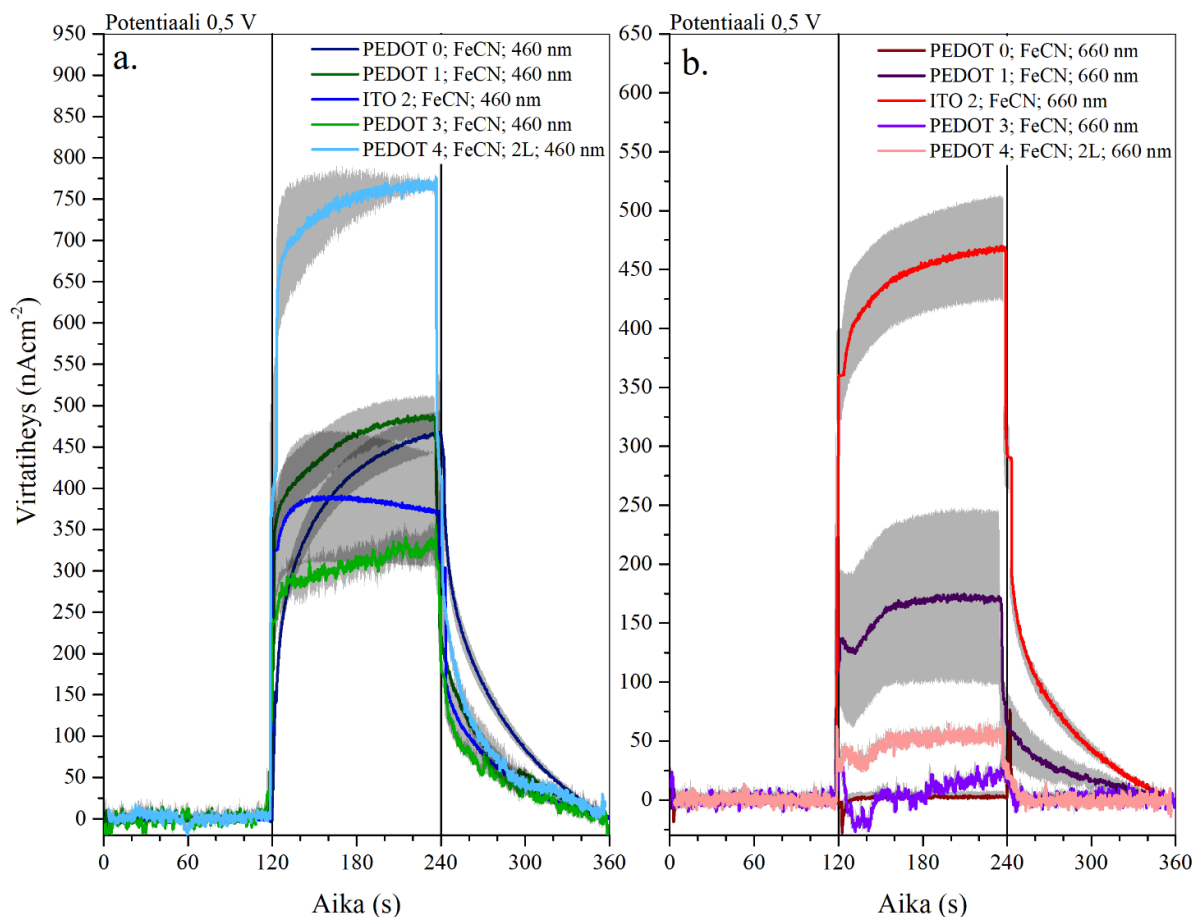
koesarjan 0 tulos on jopa 85 % pois lukien koesarjan 3, jonka virtatiheyden ylin arvo oli kolmasosan pienempi kuin koesarjassa 0. Välittäjäaineena FeCN toimi siis lähinnä sinisen valon aallonpituudella verrattuna tummanpunaiseen, mikä johtunee PEDOT-anodilla jälleen matalammasta syanobakteerit valaisevasta intensiteetistä anodin absorption vuoksi. Tummanpunaisen valon altistuksessa ainoastaan solun sisälle pääsevä välittäjäaine todella tehosti virtatiheystuotantoa. Ainoastaan solun ulkopuolella toimiva FeCN ei näin pysty edistämään elektroninsiirtoa, kun elektroneja ei vaikuta kulkeutuvan tehokkaasti solun ulkopuolelle.

Potentiaalissa 0,5 V havaitaan myös sinisen valon aallonpituuden kuvaajissa lievät notkahdukset valojakson alussa (**Kuva 11**). Suunnilleen 140 sekunnin kohdalla virtatiheys alkaa kuitenkin taas kohoamaan hieman ja tasoittuu sitten. Tummanpunaisen valon kuvaajilla notkahduksia tapahtuu kaikissa muissa paitsi koesarjan 2 kuvaajassa, jossa anodina ei toimi PEDOT vaan ITO.



**Kuva 11** CA-mittausten virtatiheydet ajan suhteen koesarjojen keskiarvoina vakipotentialissa 0,5 V. Aikajanalla 120–240 s on pystyviivoilla merkattu valojakso pimeäjaksojen välissä. Valon voimakkuus oli noin  $4 \text{ mW cm}^{-2}$ . Kuvaajassa **a**. Valon aallonpituus valojaksolla oli 460 nm. Jokaisen koesarjan tulokset on esitetty. Kuvaajassa **b**. Valon aallonpituus valojaksolla oli 660 nm. Jokaisen koesarjan tulokset on esitetty. Kuvassa harmaalla on merkitty keskivirhe koesarjan eri kokeista ja kokeen eri valojaksojen kuvaajista.

Sinisen valojakson aikana esiintyneet notkahdukset eivät toistu FeCN-välittäjäaineen vaikutuksesta, toisin kuin tummanpunaisen valon altistuksessa, jossa välittäjäaineella ei ole huomattavaa vaikutusta kuvaajien muotoon (**Kuva 11, Kuva 12**).

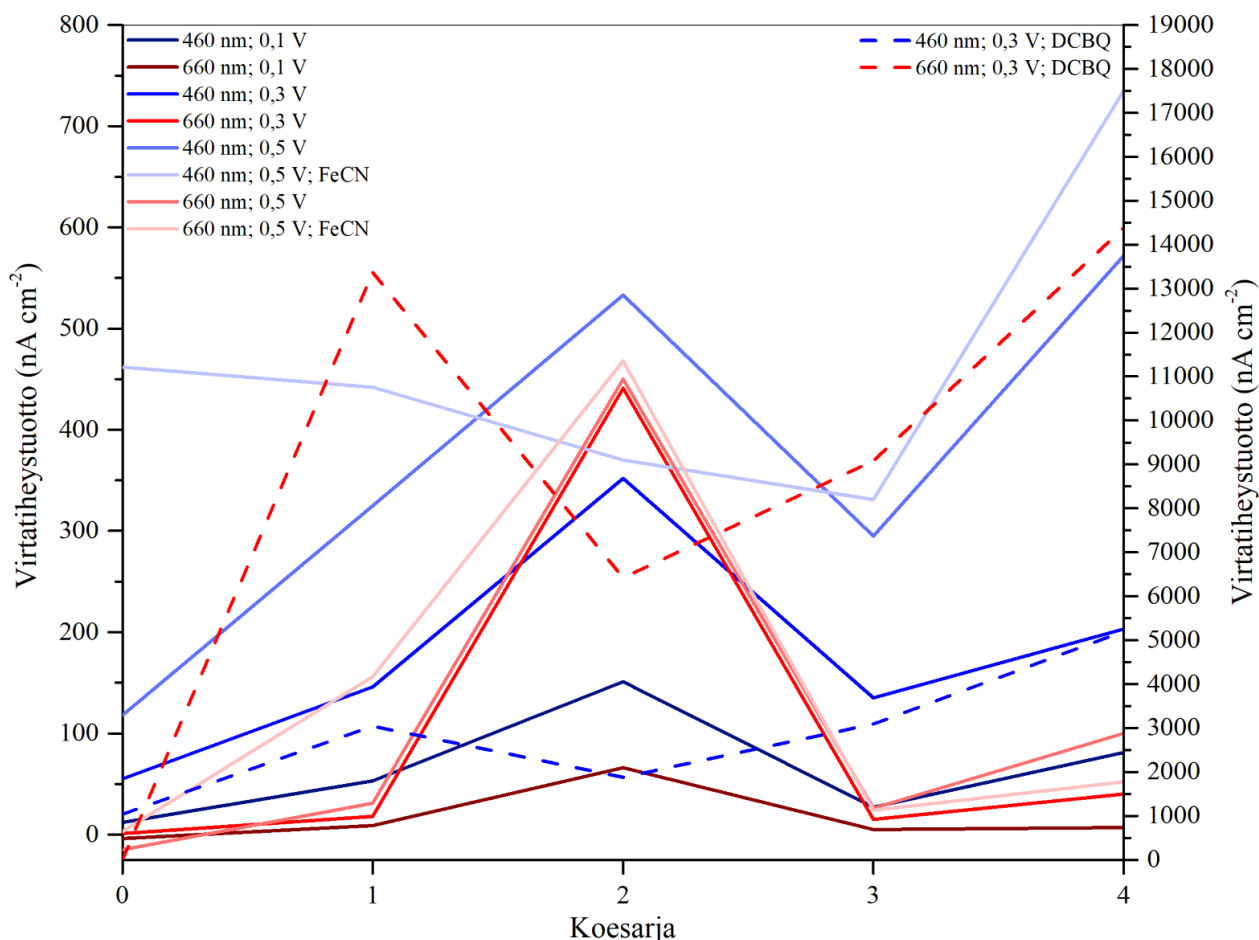


**Kuva 12** CA-mittausten virtatiheydet ajan suhteen koesarjojen keskiarvoina vakio potentiaalissa 0,5 V ja FeCN-konsentraatiossa 1 mM. Aikajanalla 120–240 s on pystyviivoilla merkattu valojakso pimeäjaksojen välissä. Valon voimakkuus oli noin  $4 \text{ mW cm}^{-2}$ . Kuvaajassa **a**. Valon aallonpituus valojaksolla oli 460 nm. Jokaisen koesarjan tulokset on esitetty. Kuvaajassa **b**. Valon aallonpituus valojaksolla oli 660 nm. Jokaisen koesarjan tulokset on esitetty. Kuvassa harmaalla on merkitty keskivirhe koesarjan eri kokeista ja kokeen eri valojaksojen kuvaajista.

### 3.1.1.5 CA-mittaukset eri koesarjoissa

Koesarjassa 2 ITO-kalvolla, joka ei ole sähkökrominen materiaali, valon aallonpituudella oli PEDOT-anodikoesarjoihin verrattuna pienin vaikutus. Ainoastaan yhdessä DCBQ:n kanssa virtatiheystuotot kohosivat yli kolminkertaisiksi tummanpunaisella valolla verrattuna siniseen. Niin merkittävää eroa ei selitä ITO-materiaalin hieman suurempi absorptio sinisen valon aallonpituudella, joten syyksi voidaan ehdottaa sinisen valon tehottomampi absorptioon fotosysteemeissä tai jonkin soluprosessin rajoittavan yhteyttämistä. ITO-kalvolla sinisen valon altistuksessa virtatiheystuotanto DCBQ-konsentraatiossa 1 mM oli vain  $1880 \text{ nA cm}^{-2}$ , mikä

oli kolmasosan koesarjan 1 vastaavaa tulosta pienempi. Tulos tukee ilman syanobakteereja PEDOT-kalvolla mitattua keskimääräistä virtatiheystuottoa  $1\ 040\ \text{nA cm}^{-2}$ . Myös tummanpunaisen valon aallonpituudella ITO-anodi oli huomattavasti huonompi virtatiheystuotoissa. Tämän selittämiseksi voidaan ehdottaa PEDOT-kalvon suurempaa sähkökemiallista pinta-alaa, jonka kautta välittäjäaineen lisäämä elektroninsiirto on tehokkaampaa. Tätä eivät kuitenkaan tue mittauspisteet FeCN-välittäjäaineella, jolloin virtatiheydet ITolla olivat PEDOTilla mitattujen virtatiheyksien tasolla tai korkeampia (**Taulukko 4, Kuva 13**). Vaikuttaa siltä, että PEDOT-kalvon ja syanobakteerien välinen vuorovaikutus tehostaa yhteyttämistä tai elektroninluovutusta solusta, sillä DCBQ ei tehostanut valoreaktiota PEDOT-kalvolla ilman syanobakteereja tummanpunaisessa valoaltistuksessa. ITolla ja PEDOTilla mitatut virtatiheystuotot eroavat myös polymeerirakenteen muutoksen vaikutuksesta. ITO-anodilla tulokset matalammassakin potentiaalissa olivat jo korkeammalla tasolla sekä jakaantuivat vähemmän aallonpituuksien välillä verrattuna PEDOT-anodiin, jonka johtavuus oli hyvin matala vielä potentiaalissa 0,1 V ja tulokset sinisellä valolla olivat pääosin merkittävästi suurempia tummanpunaiseen valoon verrattuna. Molemmat eroavaisuudet anodien ominaisuuksissa johtuvat PEDOT-materiaalin polymeerien rakenteen muutoksesta polaroneiksi ja bipolaroneiksi korkeampaan potentiaaliin siirtyessä, sillä kalvon johtavuus kasvaa ja absorbanssi tummanpunaisen valon aallonpituudella pienenee. Kokonaisuudessaan ITolla saavutettiin säännöllisesti parhaimpia virtatiheystuloksia kaikista koesarjoista, mikä voidaan yhdistää sen korkeaan transmittanssiin jokaisella potentiaalitasolla sekä matalaan pintaresistanssiin  $10\ \Omega/\square$  ja sitä myöten korkeaan sähkönjohtavuuteen.



**Kuva 13** Kuvaaja virtatiheyksien keskiarvoisista tuotoista. Lähde arvoille on **Taulukko 4**.

Kaksikerroksisen PEDOT-anodin kokeista vain yksi onnistui, joten tulokset ovat keskiarvoja samasta kennokokonaisuudesta ja mittausjaksosta. Tulokset ovat kuitenkin johdonmukaisia oletettuihin vaikutuksiin paksummalla anodimateriaalilla. Tummanpunaisen valon absorboituminen vaikutti kuten yksikerroksisen kalvon koesarjoissa. Verrattuna yksikalvoisiin anodeihin virtatiheysarvot olivat selvästi suuremmat, kun elektrolyytissä oli lisättyjä välittäjäaineita sekä potentiaalissa 0,5 V. Välittäjäaineiden suurempi vaikutus seuraa anodin suuremmasta pinta-alasta, jolloin välittäjäaineiden toiminta on tehokkaampaa. Potentiaalissa 0,5 V kaksikerroksinen PEDOT-kalvo on yksikerroksista johtavampi ja siitä siirtyy enemmän elektroneja polaroni- ja bipolaronien muodostuessa.

Virtatiheystuottojen suuruuksien perusteella voidaan päätellä elektroninsiirron olevan tasomaisella sileäpintaisella PEDOT:TOS-anodilla tehokkaampaa ulkoisesti lisätyn DCBQ-välittäjäaineen ansiosta. FeCN-välittäjäaine taas ei vaikuttanut lisäävän epäsuoraa elektroninsiirtoa solulta anodille lukuun ottamatta PEDOT-anodilla sinisessä valoaltistuksessa mitattuja virtatiheyksiä. Tällöinkään etu ei ollut suuri. Suoran elektroninsiirron toteutumisesta tai osuudesta ei ole mahdollista tehdä johtopäätöksiä työssä tutkittujen muuttujien ja

mittausmenetelmien puitteessa, sillä vaikka mittapisteitä oli ilman ulkoisia välittäjäaineita, syanobakteerit eristävät myös omia välittäjäaineitaan. Tutkimuksessa ei keskitytty elektroninsiirron tavan tutkimiseen, joten esimerkiksi anodin pintarakenteita ei muunneltu eikä syanobakteerikerroksen ominaisuuksia analysoitu.

### 3.1.1.6 Yhteenveto CA-mittausten tuloksista

CA-mittauksissa virtatiheysarvot kohosivat järjestelmällisesti potentiaalitasojen kohotessa, kun välittäjäaineita ei ollut lisätty. Tämä seurasi PEDOT-kalvon hapettumisesta ja polymeerien muuntumisesta polaroni- ja bipolaronimuotoon, jolloin elektroneja siirtyi anodilta virtapiirille tasaisesti. Lisäksi PEDOT-anodi kuitenkin tehosti erityisesti sinisessä valoaltistuksessa virtavastetta toisin kuin tummanpunaisella valolla, jolla vastaavaa vaikutusta ei esimerkiksi virtatiheyskuvaajien muodoista päätellen ollut. PEDOT-anodilla sinisellä valolla lähes kaikki virtatiheyskuvaajat olivat melko suoralinjaisia, kun taas tummanpunaisen valon altistuksessa virtatiheysvasteissa oli erilaisia epätasaisuuksia ja notkahduksia. Tuloksista päätellen PEDOT-kalvo tehosti elektroninsiirtoa virtapiirille merkittävästi sinisessä valossa ja tuskin lainkaan tummanpunaisessa valossa. Syanobakteereihin asti yltävän valon intensiteetin eron vaikutusta ei kuitenkaan voi jättää huomiotta, ja se voi olla yksinkin suurin vaikuttava tekijä virtatiheyseroihin aallonpituuksien välillä.

Tuloksien tason arvioimiseksi on virtatiheystuottoja verrattava muihin bioaurinkokennotutkimuksissa saavutettuihin tuloksiin. Eräässä usein tavoin tätä työtä vastaavassa tutkimuksessa käytettiin synechocystis-syanobakteerilajia, josta muodostettiin mikronihuokoiselle ITO-anodille biokalvo. Elektrolyyttinä toimi BG11 ja välittäjäaineeksi oli lisätty DCBQ:ta konsentraation nostamiseksi 1 mM:iin. CA-mittauksissa vakipotentialiksi oli asetettu 0,3 V standardivetyelektrodia vasten sekä valon aallonpituudeksi 685 nm ja intensiteetiksi 1 mW cm<sup>-1</sup>. Näillä muuttujilla tutkimuksen huippuvirtatiheys oli 8,9±1,4 μA cm<sup>-2</sup>, mikä on hieman yli kolmasosa tässä työssä saavutetusta tuloksesta 660 nm aallonpituudella ja 4 mW cm<sup>-1</sup> intensiteetillä. Selvää on, että ero intensiteeteissä selittää tuloksien suuruuksia. Toisaalta anodimateriaali oli kuitenkin huokoista ITO-materiaalia, jonka kosketuspinta-ala sekä syanobakteerisoluihin, että elektrolyyttiin on suurempi. Syanobakteerikerros oli tutkimuksessa valmistettu kiinnittämällä solut anodille, minkä vaikutuksen suuntaa virtatiheystuottoon on vaikea arvioida. Olosuhteet pidettiin kokeessa myös hapettomina. [73] Tuloksia ei siis voi suoraan verrata keskenään, mutta kokoluokasta voidaan päätellä tämän työn tulosten olevan hyvällä tasolla. Koska tulokset toiseen tutkimukseen eroavat hyvin paljon ja osa tämän työn



tuloksista eivät olleet johdonmukaisia, on tulosten luotettavuutta kuitenkin syytä kyseenalaistaa. Esimerkiksi valon intensiteetti on saattanut olla suurempi kuin sen on ollut tarkoitus olla, sillä Iviumin LED-lisäosa aiheutti joitain ongelmia työn aikana. Myös vertailuelektrodin laatu vaihteli mittausten välillä jokseenkin.

### 3.1.2 Syanobakteerikerroksen kiinnittäminen anodin pinnalle

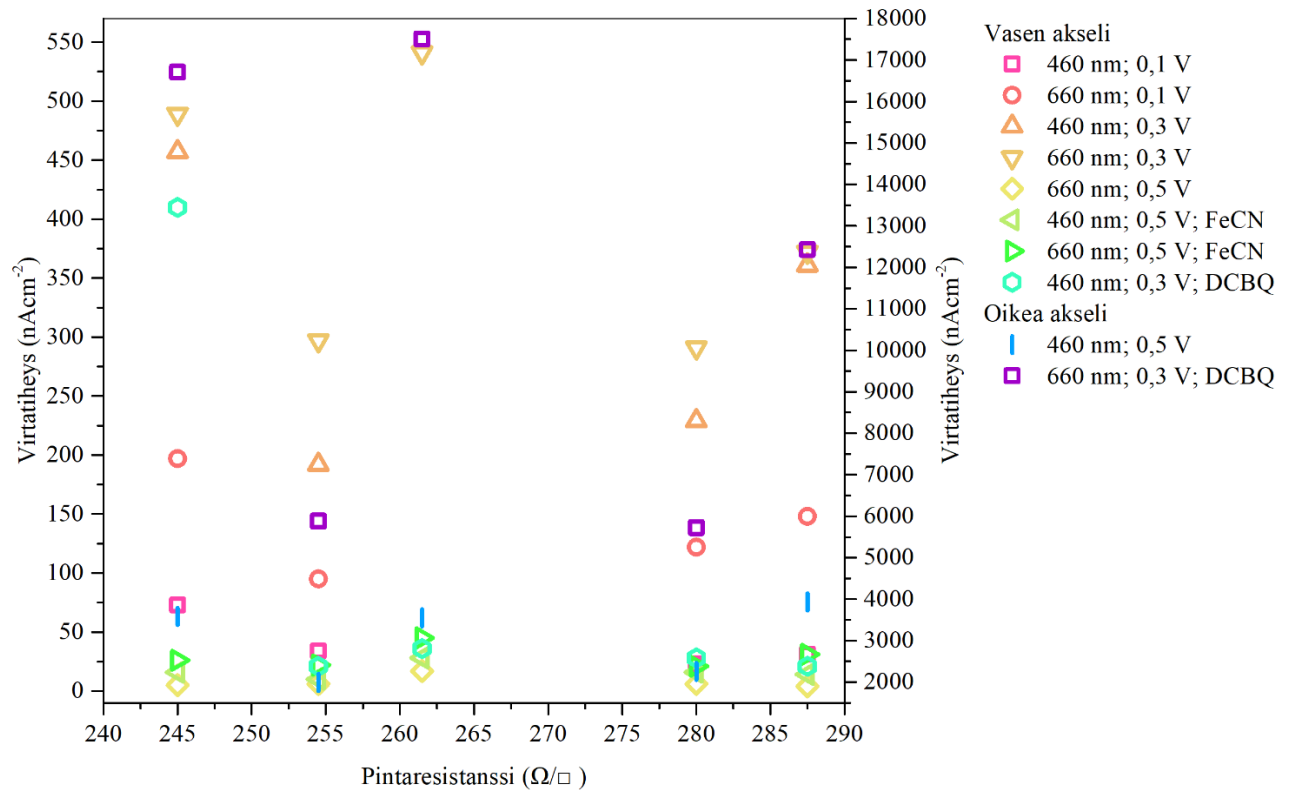
Esikokeissa tutkittiin myös mahdollisuutta valmistaa syanobakteereista ja alginaatista biokalvo, jolloin syanobakteerit olisivat kiinnitettynä anodin pintaan. Tällä tavoin bioaurinkokennon rakenne olisi vähemmän altis ympäristön häiriöille verrattuna elektrolyytin varassa painovoimalla muodostettuun syanobakteerikerrokseen. Biokalvolla on myös esitetty olevan mahdollista saavuttaa suuremmat virtatuotannot [17]. Biokalvon valmistuksessa kokeiltiin muutamaa erilaista menetelmää  $\text{CaCl}_2$ -liuoksella, joista kalvon valmistaminen ja hydraattikerroksen muodostaminen biokalvon pinnalle olivat parhaiten toteutettavissa anodin ollessa jo kiinnitettynä kennoon. Kokeissa ei kuitenkaan edetty tällä linjalla, sillä CA-mittauksissa ei mitattu minkäänlaista vastetta valoaltistukselle. Mahdollisia syitä epäonnistumisille saattoi aiheutua tarkkuutta vaativien valmistelumenetelmien vääränlaisesta ja epästeriilistä toteutuksesta sekä liian korkeista potentiaaleista ja valon intensiteeteistä, joita esikokeissa vielä käytettiin. BG11-elektrolyytti sisälsi myös muun muassa sitruunahappoa (**Taulukko 6**), joka vahingoittaa alginaatin pinnalle muodostettua hydraattikuorta [18]. Merkkejä syanobakteerien vapautumisesta elektrolyyttiin ei kuitenkaan havaittu, mutta mikäli biokalvoa tutkittaisiin lisää, tulisi elektrolyytin koostumus mahdollisesti huomioida paremmin. Kennosta poistettuja anodeja myöhemmin tarkastellessa näkyi kuivuneessa biokalvossa selkeitä ilmakuplia PEDOT-ohutkalvon ja biokalvon välissä, mikä viittasi selvästi olosuhteiden olleen liian äärimmäiset yhdistelmälle (**Kuva 14**) kuten myös mahdolliselle materiaalien yhteensopimattomuudelle.

Jos verrataan biokalvoa painovoimaisesti muodostettuun syanobakteerikerrokseen, syanobakteerit pääsevät välittömämpään kosketukseen anodin kanssa kerrostuessaan vapaana elektrolyytissä leijuvista soluista sitä vastoin, että solut olisi kiinnitetty aloilleen väliaineeseen. Kokeellisessa toiminnassa painovoimainen kerrostaminen kuitenkin altisti ulkoisille häiriöille sekä epävarmuudelle kerroksen tiiviyydestä ja kosketuspinta-alasta anodin kanssa.



## 3.2 PEDOT-ohutkalvon ominaisuudet

### 3.2.1 Pintaresistanssi



**Kuva 15** Anodimateriaalin pintaresistanssin suhde keskiarvoisiin virtatiheystuottoihin.

Pintaresistanssimittauksilla varmistettiin anodimateriaalin laatu ennen sen käyttämistä sähkökemiallisessa kennossa CA-mittauksissa. Yksikerroksisista PEDOT-ohutkalvoista mitatut pintaresistanssiarvot vaihtelivat välillä 245–288  $\Omega/\square$  syanobakteerikennomittauksissa (**Taulukko 1**). Suoraa vaikutusta pintaresistansseilla mitattuihin virtatiheystuottoihin ei voida johtaa, sillä minkäänlaista korrelaatiota ei ole havaittavissa (**Kuva 15**). Korrelaation puuttuminen ei kuitenkaan poissulje johtavuuden merkitystä elektrodissa, vaan tässä tapauksessa todistaa sen olevan vähemmän merkityksellinen kuin muut muuttujat systeemissä. Mikäli johtavuuksissa olisi ollut huomattavampaa vaihtelua, vaikutus olisi luultavasti selkeämpi. Tarkasteluun ei otettu merkittävästi lähtötilanteeltaan poikkeavia syanobakteereilla tehtyjä koesarjoja: 2 eri anodimateriaalin vuoksi, 4 eri anodimateriaalin paksuuden ja siihen liittyvien mittauseroista vuoksi sekä 5 valovasteen tarkoituksellisen inhiboimisen vuoksi.

### 3.2.2 Syklinen voltammetria

Syklisellä voltammetrialla (CV) luonnehdittiin PEDOT-ohutkalvojen sähkökemiallisia ominaisuuksia ja kalvoissa tai elektrolyytissä mahdollisesti olevia epäpuhtauksia. Mittauksia otettiin esikokeissa ennen ja jälkeen jokaisen mittauksen, jolloin pystyttiin analysoimaan kalvon kestävyyttä olosuhteissa. Esikokeiden jälkeen CV-mittauksia ei enää analysoitu tarkoin, sillä ne lisäsivät mahdollisuutta vaurioittaa syanobakteereja valoaktiivisessa kerroksessa ja CV-mittauksilla tutkittavat muuttujat oli jo käyty läpi.

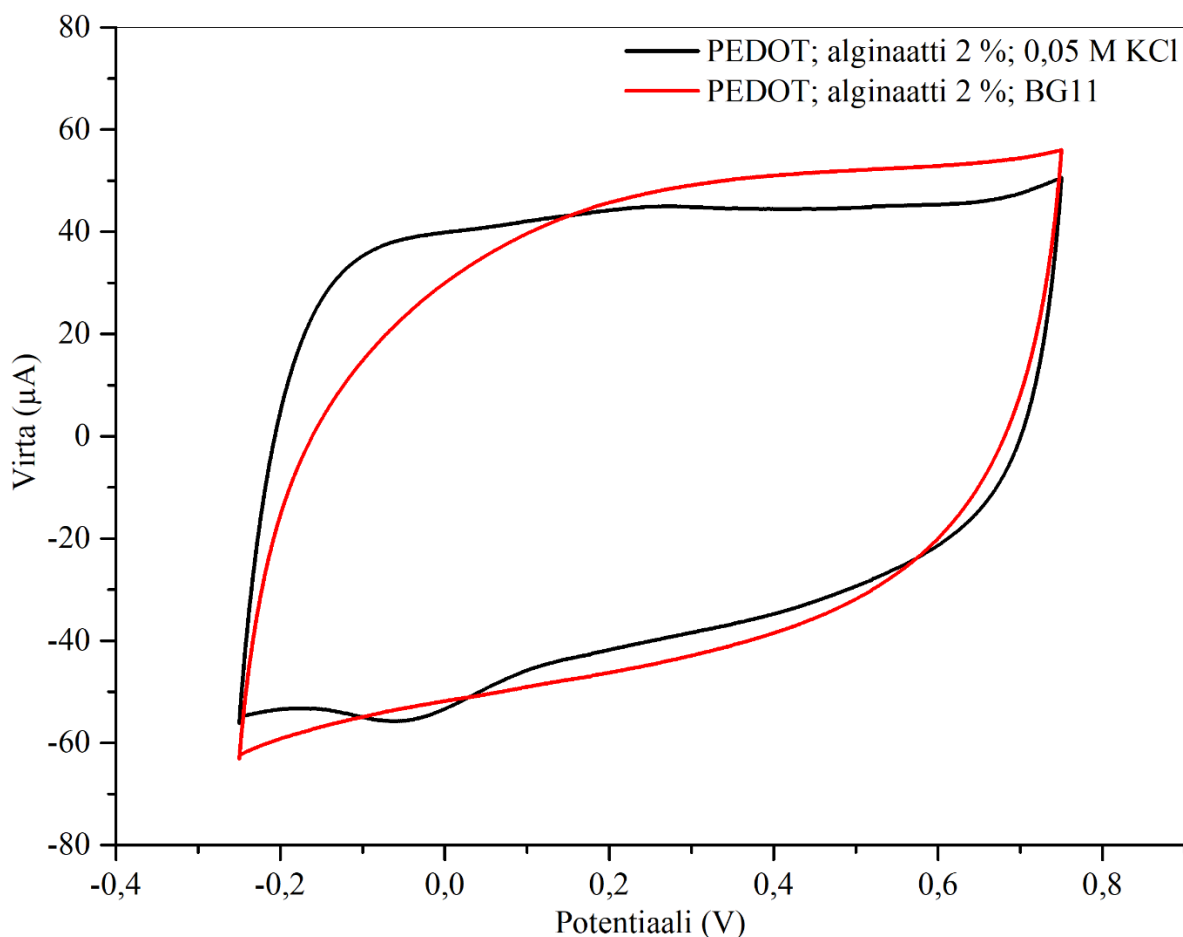
PEDOT:TOS-materiaalin CV:n tulisi olla mahdollisimman neliskulmainen, jotta hapetuspelkistysreaktiot olisivat hyvin reversiibeileitä ja materiaalin virran varaus- ja purkausominaisuudet olisivat hyvät [47].

Esikokeiden aikana verrattiin erilaisen elektrolyyttiliuoksen käyttöä tavanomaiseen KCl-elektrolyyttiin verrattuna. BG11 on syanobakteerilajille *Synechocystis* sopiva ravinne- ja kasvatusliuos. Sähkökemiallisesti nesteen merkittävin ainesosa on natriumnitraatti, jonka pitoisuus liuoksessa on 1 500 mg/l eli 17,6 mM (**Taulukko 5**). Elektrolyyttien toimintaa verrattiin CV:llä BG11-liuoksella ja sitten 0,05 M KCl-liuoksella samaa biokalvon ja anodin kokonaisuutta käyttäen. KCl sai aikaan jyrkemmin kohoavan virtakuvaajan verrattuna BG11-liuokseen (**Kuva 16**). Huomioonotettavaa on kuitenkin konsentraatioero liuosten välillä. BG11-elektrolyytillä mitattu kuvaajan suipompi muoto viittaa hitaampaan elektroninsiirtoon elektrodilla, mikä ei kuitenkaan estä sen käyttöä elektrolyytinä. Elektroninsiirto on CV-muodon perusteella riittävällä tasolla, jolloin se on toimiva syanobakteeriaurinkokennokokeiden elektrolyytiksi. Syanobakteerilaji *synechocystis*, jota koesarjoissa käytetään ei siedä korkeita suolapitoisuuksia, jolloin hieman epäedullisemmilla sähkökemiallisilla pystytään varmistamaan valoaktiivisen kerroksen eliöille parhaat mahdolliset olosuhteet.

**Taulukko 6** BG-11-ravinneliuoksen ja syanobakteeriaurinkokennokokeissa käytetyn elektrolyytin koostumus [74].

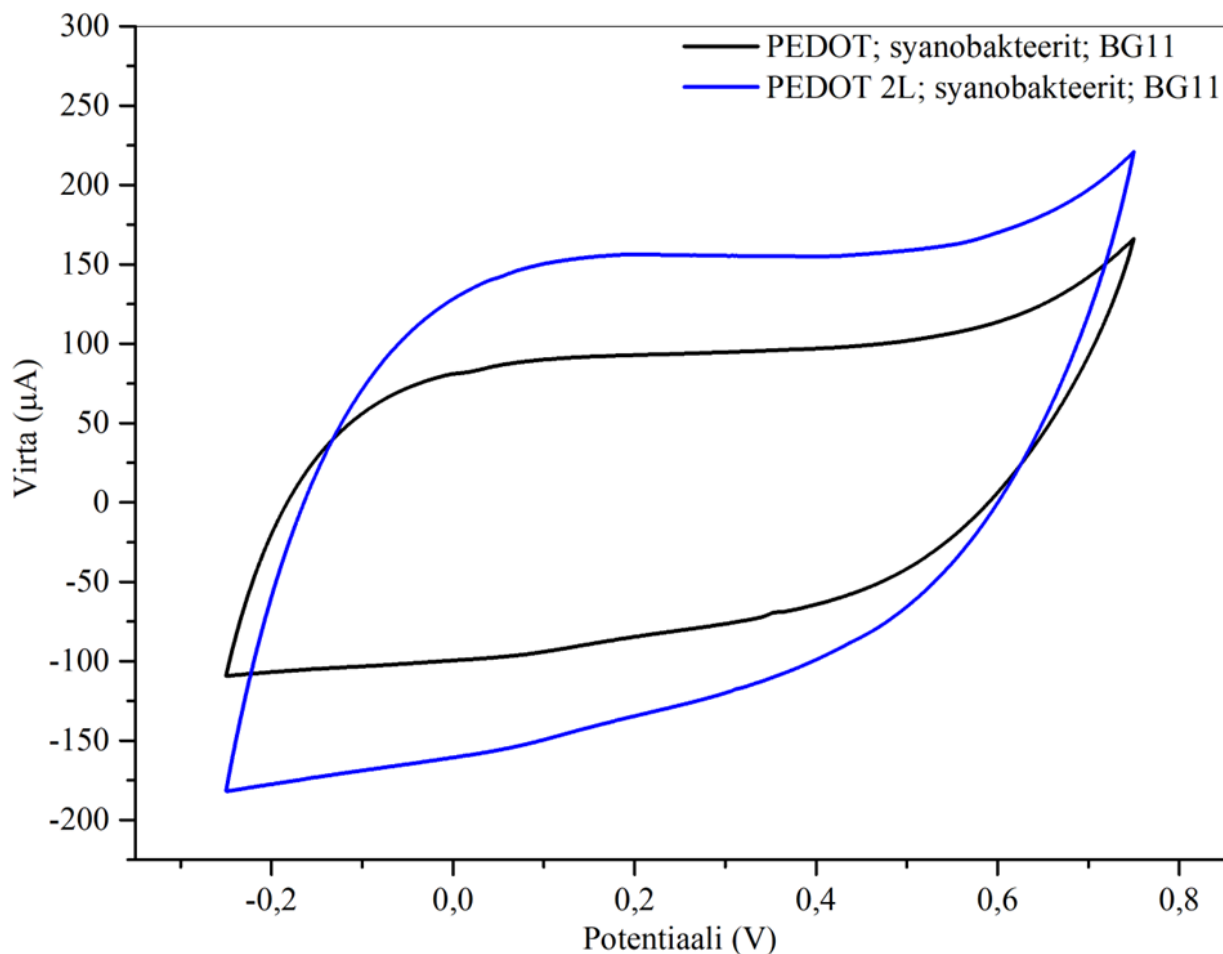
Nimi	Kemiallinen kaava	Pitoisuus mg/l	Konsentraatio mM
Natriumnitraatti	NaNO <sub>3</sub>	1 500	17,6
Kaliumvetyfosfaatti	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	40	0,23
Magnesiumsulfaatin heptahydraatti	MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	75	0,30
Kalsiumkloridin monohydraatti	CaCl <sub>2</sub> · H <sub>2</sub> O	36	0,24
Sitruunahappo	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> · H <sub>2</sub> O	6	0,031
Natriumkarbonaatti	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	20	0,19

Natriumetyleenidiamiinitetraetikkahappo	$\text{Na}_2[\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2]_2$	1	0,0027
Ferriammoniumsitraatti	$(\text{NH}_4)_5[\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_7)_2]$	6	0,021
Boorihappo	$\text{H}_3\text{BO}_3$	2,86	0,0046
Mangaanikloridin tetrahydraatti	$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	1,81	0,00091
Sinkkisulfaatin heptahydraatti	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,222	0,000077
Natriummolybdaatin monohydraatti	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,39	0,0044
Kuparisulfaatin pentahydraatti	$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,079	0,00032
Koboltinitraatin heksahydraatti	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,0494	0,00017



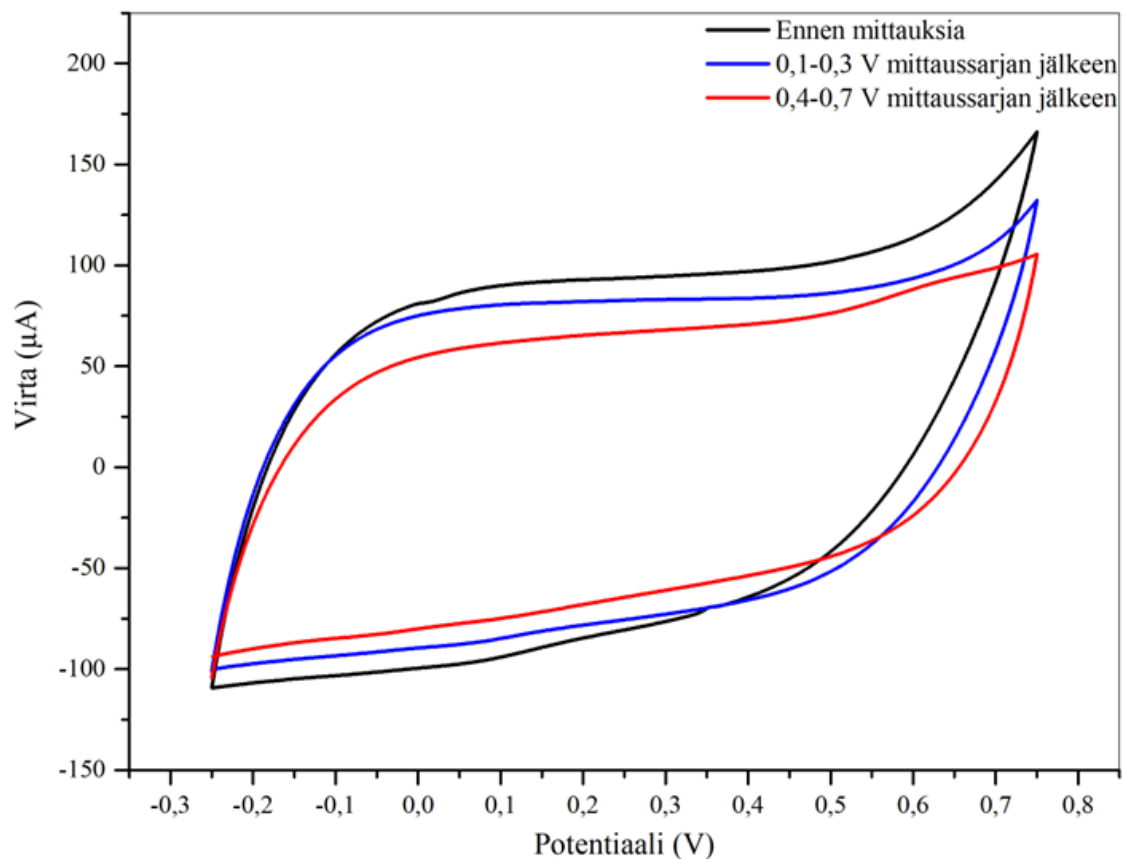
**Kuva 16** CV-mittaukset 0,05 M KCl elektrolyytillä sekä BG11-ravinneliuksella, jonka  $\text{NaNO}_3$ -konsentraatio on 0,018 M. CV:t mitattiin potentiaalien -0,25 V ja 0,75 V välillä pyyhkäisy nopeudella  $50 \text{ mV s}^{-1}$  BG11 ennen CA-mittauksia ja KCl samalla biokalvolla, jolla oli jo tehty mittauksia.

PEDOT-kalvon paksuus vaikuttaa CV-kuvaajan muotoon ja varaustiheyksiin. Myös PEDOT-kalvojen yksilölliset sähkökemialliset ominaisuudet sekä elektrodien kontakti anodiin vaikuttavat CV-mittauksissa havaittaviin varaustiheyksiin ja CV:n muotoon. Yksi- ja kaksikerroksisten PEDOT-kalvojen välillä näkyy oletettava ero varaustiheyksissä, sillä paksummalla anodilla on suurempi sähkökemiallinen pinta-ala (**Kuva 17**). Kuvaajien muodot ovat riittävällä tasolla elektrolyytin konsentraation ja mittauksen pyyhkäisy nopeuden huomioon ottaen.



**Kuva 17** CV-mittaukset yksi- ja kaksikerroksisesta PEDOT-anodista, jonka päälle oli kerrostettu BG11-elektrolyytissä 150 µl syanobakteereja. CV:t mitattiin potentiaalien -0,25 V ja 0,75 V välillä pyyhkäisy nopeudella 100 mV s<sup>-1</sup> ennen CA-mittauksia.

Esikokeissa tutkittiin PEDOT-ohutkalvon vakautta CV-mittauksilla ennen CA-mittauksia ja niiden jälkeen, jotta voitiin varmistaa anodin vakaus valoaltistuksissa ja BG11-elektrolyytissä. CV-kuvaajan muoto muuttui potentiaalisarjan 0,1 V, 0,2 V ja 0,3 V mittaamisen jälkeen hieman suorakulmaisemmaksi (**Kuva 18**). Muoto vastaa yhä johtavalle PEDOT-kalvolle ominaista kuvaajaa. Korkeampien potentiaalitasojen 0,4 V, 0,5 V, 0,6 V ja 0,7 V jälkeen hieman suurempi ero on huomattavissa, kun elektroninsiirto ei ole enää yhtä tehokasta. BG11-liuoksen verrattain matala NaNO<sub>3</sub>-konsentraatio saattaa vaikuttaa elektronisiirron hidastumiseen.



**Kuva 18** CV-mittaukset ennen ja jälkeen CA-mittausten jokaisessa potentiaalissa 0,1–0,7 V yhden desimaalipykälän välein. CA-mittaukset kyseisissä esikokeissa koostuivat yhdestä valo- ja pimeäajaksosta valon aallonpituuksilla 460 nm ja 660 nm jokaista potentiaalipykälää kohden. CV:t mitattiin potentiaalien -0,25 V ja 0,75 V välillä pyyhkäisy nopeudella  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Syanobakteerikerros oli  $150 \mu\text{l}$ .

## 4 Johtopäätökset

AP-VPP-PEDOT-ohutkalvo toimii anodimateriaalina syanobakteerilajin *Synechocystis* sp. PCC 6803 kanssa bioaurinkokennoa jäljentävässä sähkökemiallisessa kennokokonaisuudessa. Elektroninsiirtoa PEDOT-ohutkalvon ja syanobakteerien välillä optimoitiin muodostamalla valoaktiivinen syanobakteerikerros painovoimaisesti sen sijaan, että se kiinnitettäisiin pintaan 2-%:sta natriumalginaattia hyödyntäen. Reaktio-olosuhteita säädettiin tukemaan syanobakteerisolujen elinvoimaisuutta laskemalla potentiaalitasoa ja käyttäen matalan ionivahvuuden BG11-ravinneliuosta elektrolyytinä. Sähkökemiallisesti nämä muutokset eivät olleet edullisia, mutta yhdistelmällä saavutettiin kuitenkin selviä virtavasteita valoaltistuksessa. Lisäksi äärimmäisen tasainen elektrodipinta, jollainen AP-VPP-menetelmällä PEDOT-ohutkalvosta muodostuu lasipinnalle, ei ole optimaalinen elektroninsiirtoa tai syanobakteerisolujen kiinnittymistä tehostava pinnan muoto. Tällä tavoin kuitenkin pystyttiin täysin poissulkea huokoisuuden aiheuttama edut ja tutkia nimenomaan PEDOT-materiaalin ja syanobakteerien vuorovaikutusta elektroninsiirrossa. Kuitenkin painovoimalla irtonaisista syanobakteereista laskeutettu kerros elektrolyytissä on haastava toistaa rinnakkaisissa kokeissa, joten todennäköisesti osa tuloksien vaihtelusta saattoi aiheutua siitä.

PEDOT:TOS-kalvojen pintaresistanssien vaikutus ei ollut huomattavissa selkeästi virtatiheystuottoihin verrattuna luultavasti kohtuullisen pienen hajonnan vuoksi (245–288  $\Omega/\square$ ). Lisäksi koesarjojen sisäisesti ja niiden välillä oli useita muuttujia tarkoituksenmukaisesti muutettujen tekijöiden lisäksi. CV-mittauksilla pystyttiin myös varmistamaan PEDOT-ohutkalvon johtavuusominaisuudet ja lisäksi myös vakaus. Mittausten mukaan PEDOT:TOS-kalvojen johtavuus oli kohtuullisen hyvä ja kuten odotettua sen parani kaksikerroksisella ohutkalvolla yksikerroksiseen verrattuna. Ennen CA-mittauksia ja niiden jälkeen mitatut CV:t osoittivat kohtuullista sähkökemiallista vakautta.

Parhaat virtatiheystuotot saavutettiin punaisella valon aallonpituudella 660 nm potentiaalissa 0,3 V välittäjäaine-DCBQ-konsentraatiossa 1 mM arvolla 24 978 nA cm<sup>-2</sup> yksikerroksisella PEDOT-ohutkalvolla ja 150  $\mu$ l:n syanobakteerikerroksella. Monilta olosuhteilta vastaavassa bioaurinkokennotutkimuksessa saavutettiin virtatiheyshuippu  $8,9 \pm 1,4 \mu$ A cm<sup>-2</sup> [73], joka on hieman alle kolme kertaa pienempi kuin mitä PEDOT-kalvolla saavutettiin tässä työssä. Tulosten taso on siis melko korkealla. Sinisen valon aallonpituudella 460 nm suurin virtatiheystuotto 10 307 nA cm<sup>-2</sup> mitattiin kaksikerroksisella PEDOT-anodilla potentiaalissa 0,3 V DCBQ-välittäjäaineella konsentraatiossa 1 mM. Välittäjäaineettomista mittaustuloksista



korkeimmat olivat kaksikerroksisella PEDOT-kalvolla potentiaalissa 0,5 V sinisellä aallonpituudella 646 nA cm<sup>-2</sup> ja punaisella 113 nA cm<sup>-2</sup>. Ilman välittäjäaineita ITO-anodilla virtatiheystuotot olivat potentiaalissa 0,5 V 1 006 nA cm<sup>-2</sup> ja 747 nA cm<sup>-2</sup> sinisellä ja punaisella aallonpituudella edellä mainitussa järjestyksessä. Raja-arvoksi virtatiheystuotannolle bioaurinkokennoissa on laskettu 24 mA m<sup>-2</sup> [5], mikä on yhä kaukana bioaurinkokennokehityksessä.

Virtatiheystuotannot nousivat tasaisesti PEDOT:TOS-anodilla vakipotentialin noustessa, sillä polymeerien rakenteeseen muodostui lisää polaroni- ja bipolaronitiloja sen hapettuessa, jolloin ohutkalvon johtavuus ja transmittanssi kasvoivat [46]. Transmittanssin kasvaminen ei näkynyt virtatiheystuottojen suhteessa suurempana kasvussa tummanpunaisessa (660 nm) valoaltistuksessa verrattuna siniseen (460 nm) valoaltistukseen, vaan sininen valon aallonpituus aiheutti lähes poikkeuksetta suuremmat valovasteet PEDOT-koesarjojen kesken. PEDOT-materiaali vaikuttaa edistävän syanobakteerien virtatiheystuotantoa valoaltistuksessa tehokkaasti. Ainoastaan DCBQ-välittäjäaineella tummanpunaisella valolla saavutettiin sinistä suuremmat virtatiheystuotot. Ristiriitaisen ilmiön selittäminen on haastavaa. Jo DCBQ:n toimintapotentiaalissa 0,3 V PEDOT-kalvo oli jo läpinäkyvämpi tummanpunaiselle valolle ja johtavammassa muodossa, joten on selvää, miksi tummanpunainen valo voisi saada aikaan suuret virtatiheysvasteet. Se, miksi sinisen valon tulokset jäivät huomattavasti matalammiksi, kieli jonkin rajoittavan virtavastetta luultavasti solunsisäisesti, sillä solujen ulkopuolella mikään ei muuttunut. Syanobakteereilla on havaittu sinisen valon absorboituvan huonosti toiseen fotosysteemi-reaktiokeskukseen ja hidastavan solujen yhteyttämistä [13]. Tämän teorian toteutuminen edellyttäisi sitä, että tummanpunaisessa valossa fotosysteemien tasapaino pysyisi paremmalla tasolla, sillä molempien reaktiokeskusten pigmentit kykenivät absorboimaan tummanpunaista valoa ja solun sisältäkin elektroneja anodille kuljettava DCBQ tehostaisi elektroninsiirtoa merkittävästi. Sinisen valon tapauksessa taas PSI:n viritys kasvaisi liian suureksi tiettyyn virtatiheystuotantoonsa mennessä, jonka jälkeen solun aineenvaihdunta aloittaisi hillitsemään PSI:ssa tapahtuvaa elektroninsiirtoa. Vaatii lisää tutkimustuloksia, jotta kiistattomien johtopäätösten tekeminen olisi mahdollista. Tässä työssä tehtyjen rinnakkaisten tulosten määrä ei vaikuta olevan riittävä, sillä joissain tuloksissa on suuri hajonta.

## Viittaukset

- [1] IEA, "World Energy Outlook 2023," IEA, Pariisi, 2023.
- [2] M. Wiatros-Motyka, "Global Electricity Review 2023," Ember, 2023.
- [3] C. J. Howe ja P. Bombelli, "Electricity Production by Photosynthetic Microorganisms," *Future Energy*, osa/vuosik. 4, nro 10, pp. 2065–2069, 2020.
- [4] P. Bateson, J. E. H. Fleet, A. S. Riseley, E. Janeva, A. S. Marcella, C. Farinea, M. Kuptsova, N. C. Pueyo, C. J. Howe, P. Bombelli ja B. M. Parker, "Electrochemical Characterisation of Bio-Bottle-Voltaic (BBV) Systems Operated with Algae and Built with Recycled Materials," *Biology (Basel)*, osa/vuosik. 7, nro 2, pp. 2079–7737, 2018.
- [5] A. J. McCormick, P. Bombelli, R. W. Bradley, R. Thorne, T. Wenzel ja C. J. Howe, "Biophotovoltaics: oxygenic photosynthetic organisms in the world of bioelectrochemical systems," *Energy Environmental Science*, osa/vuosik. 8, nro 4, pp. 1092–1109, 2015.
- [6] G. Kavlak, J. McNerney, R. L. Jaffe ja J. E. Trancik, "Metal production requirements for rapid photovoltaics deployment," *Energy Environ. Sci.*, osa/vuosik. 8, nro 6, pp. 1651–1659, 2015.
- [7] I. Carmeli, M. Mangold, L. Frolov, B. Zebli, C. Carmeli, S. Richter ja A. Holleitner, "A Photosynthetic Reaction Center Covalently Bound to Carbon Nanotubes," *Adv. Mater.*, osa/vuosik. 19, nro 22, pp. 3901–3905, 2007.
- [8] Y. Xu, J. Fei, G. Li, T. Yuan, X. Xu, C. Wang ja J. Li, "Optically Matched Semiconductor Quantum Dots Improve Photophosphorylation Performed by Chloroplasts," *Angew. Chem. Int. Ed.*, osa/vuosik. 57, nro 22, pp. 6532–6535, 2018.
- [9] R. L. Oliver, D. P. Hamilton, J. D. Brooks ja G. G. Ganf, "Physiology, Blooms and Prediction of Planktonic Cyanobacteria," tekijä: *Ecology of Cyanobacteria II*, B. A. Whitton, Toim., Dordrecht, Springer, 2012, pp. 155–187.
- [10] T. Malavath, I. Caspy, S. Y. Netzer-El, D. Klaiman ja N. Nelson, "Structure and function of wild-type and subunit-depleted photosystem I in *Synechocystis*," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, osa/vuosik. 1859, pp. 645–654, 2018.
- [11] C. J. Gisriel, J. Wang, J. Liu, D. A. Flesher, K. M. Reiss, H.-L. Huang, K. R. Yang, W. H. Armstrong, M. R. Gunner, V. S. Batista ja G. W. Brudvig, "High-resolution cryo-electron microscopy structure of photosystem II from the mesophilic cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC 6803," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, osa/vuosik. 119, nro 1, p. e2116765118, 2022.
- [12] J. J. van Thor, C. W. Mullineaux, H. C. P. Matthijs ja K. J. Hellingwerf, "Light Harvesting and State Transitions in Cyanobacteria," *Botanica Acta*, osa/vuosik. 111, nro 6, pp. 430–443, 1998.
- [13] V. M. Luimstra, J. M. Schuurmans, K. J. Hellingwerf, H. C. P. Matthijs ja J. Huisman, "Blue light induces major changes in the gene expression profile of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803," *Physiologia Plantarum*, osa/vuosik. 170, nro 1, pp. 10–26, 2020.
- [14] G. Saper, D. Kallmann, F. Conzuelo, F. Zhao, T. N. Tóth, V. Liveanu, S. Meir, J. Szymanski, A. Aharoni, W. Schuhmann, A. Rothschild, G. Schuster ja N. Adir, "Live cyanobacteria produce photocurrent and hydrogen using both the respiratory and photosynthetic systems," *Nature Communications*, osa/vuosik. 9, nro 1, p. 2168, 2018.
- [15] M. Mueller, M. Fabretto, D. Evans, P. Hojati-Talemi, C. Gruber ja P. Murphy, "Vacuum vapour phase polymerization of high conductivity PEDOT: Role of PEG-PPG-PEG, the origin of water, and choice of oxidant," *Polymer*, osa/vuosik. 53, nro 11, pp. 2146–2151, 2012.
- [16] P. Bombelli, M. Zarrouati, R. J. Thorne, K. Schneider, S. J. L. Rowden, A. Ali, K. Yunus, P. J. Cameron, A. C. Fisher, D. I. Wilson, C. J. Howe ja A. J. McCormick, "Surface morphology and surface energy of anode materials influence power outputs in a multi-

- channel mediatorless bio-photovoltaic (BPV) system,” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, osa/vuosik. 14, nro 35, pp. 12221–12229, 2012.
- [17] F.-L. Ng, S.-M. Phang, V. Periasamy, K. Yunus ja A. C. Fisher, ”Enhancement of Power Output by using Alginate Immobilized Algae in Biophotovoltaic Devices,” *Scientific reports*, osa/vuosik. 7, nro 1, p. 16237, 2017.
- [18] O. S.-B. G. Smidsrød, ”Alginate as immobilization matrix for cells,” *Trends in Biotechnology*, osa/vuosik. 8, pp. 71–78, 1990.
- [19] G. H. Krause, ”Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms,” *Physiologia Plantarum*, osa/vuosik. 74, nro 3, pp. 566–574, 1988.
- [20] G. Longatte, F. Rappaport, F.-A. Wollman, M. Guille-Collignon ja F. Lemaître, ”Electrochemical Harvesting of Photosynthetic Electrons from Unicellular Algae Population at the Preparative Scale by Using 2,6-dichlorobenzoquinone,” *Electrochimica Acta*, osa/vuosik. 236, pp. 337–342, 2017.
- [21] D. R. Lovley, E. J. Philips ja D. J. Lonergan, ”Hydrogen and Formate Oxidation Coupled to Dissimilatory Reduction of Iron or Manganese by *Alteromonas putrefaciens*,” *Applied and environmental microbiology*, osa/vuosik. 55, nro 3, p. 700–706, 1989.
- [22] Y. A. Gorby, S. Yanina, J. S. McLean, K. M. Rosso, D. Moyles, A. Dohnalkova, T. J. Beveridge, I. S. Chang, B. H. Kim, K. S. Kim, D. E. Culley, S. B. Reed, M. F. Romine ja D. A. Saffarini, ”Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, osa/vuosik. 103, nro 30, pp. 11358–11363, 2006.
- [23] T. Wenzel, D. Härtter, P. Bombelli, C. J. Howe ja S. Ullrich, ”Porous translucent electrodes enhance current generation from photosynthetic biofilms,” *Nature communications*, osa/vuosik. 9, nro 1, p. 1299, 2018.
- [24] R. W. Bradley, P. Bombelli, S. J. L. Rowden ja C. J. Howe, ”Biological photovoltaics: intra- and extra-cellular electron transport by cyanobacteria,” *Biochem Soc Trans*, osa/vuosik. 40, nro 6, pp. 1302–1307, 2012.
- [25] S. Kusama, S. Kojima, K. Kimura, G. Shimakawa, C. Miyake, K. Tanaka, Y. Okumura ja S. Nakanishi, ”Order-of-magnitude enhancement in photocurrent generation of *Synechocystis* sp. PCC 6803 by outer membrane deprivation,” *Nature Communications*, osa/vuosik. 13, nro 1, p. 3067, 2022.
- [26] E. R. Clifford, R. W. Bradley, L. T. Wey, J. M. Lawrence, X. Chen, C. J. Howe ja J. Z. Zhang, ”Phenazines as model low-midpoint potential electron shuttles for photosynthetic bioelectrochemical systems,” *Chemical Science*, osa/vuosik. 21, nro 9, pp. 3328–3338, 2021.
- [27] N. Z. Petrova, T. N. Tóth, P. Shetty, G. Maróti ja S. Z. Tóth, ”Enhancing biophotovoltaic efficiency: Study on a highly productive green algal strain *Parachlorella kessleri* MACC-38,” *Bioresource Technology*, osa/vuosik. 394, p. 130206, 2024.
- [28] V. V. Terentyev, A. K. Shukshina ja A. A. Chetverkina, ”Action of 2,6-Dichloro-1,4-benzoquinone on the O<sub>2</sub>-Evolving Activity of Photosystem II in *Chlamydomonas reinhardtii* Cells with and without Cell Wall: Inhibitory Effect of Its Oxidized Form,” *Cells*, osa/vuosik. 12, nro 6, p. 907, 2023.
- [29] J. G. Metz, H. B. Pakrasi, M. Seibert ja C. J. Arntzer, ”Evidence for a dual function of the herbicide-binding D1 protein in photosystem II,” *FEBS Letters*, osa/vuosik. 205, nro 2, pp. 269–274, 1986.
- [30] K. Schneider, R. J. Thorne ja P. J. Cameron, ”An investigation of anode and cathode materials in photomicrobial fuel cells,” *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, osa/vuosik. 374, nro 2061, p. 20150080, 2016.

- [31] M. Anam, H. I. Gomes, G. Rivers, R. L. Gomes ja R. Wildman, "Evolution of photoanode materials used in biophotovoltaic systems for renewable energy generation," *Sustainable Energy Fuels*, osa/vuosik. 5, nro 4209, pp. 4209–4232, 2021.
- [32] S. Mukherjee, R. Singh, S. Gopinathan, S. Murugan, S. Gawali, B. Saha, J. Biswas, S. Lodha ja A. Kumar, "Solution-Processed Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) Thin Films as Transparent Conductors: Effect of p-Toluenesulfonic Acid in Dimethyl Sulfoxide," *American Chemical Society*, osa/vuosik. 6, nro 20, pp. 17792–17803, 2014.
- [33] A. J. McCormick, P. Bombelli, A. M. Scott, A. J. Philips, A. G. Smith, A. C. Fisher ja C. J. Howe, "Photosynthetic biofilms in pure culture harness solar energy in a mediatorless biophotovoltaic cell (BPV) system," *Energy & Environmental Science*, osa/vuosik. 4, nro 11, pp. 4699–4709, 2011.
- [34] C. M. Madl, P. N. Kariuki, J. Gendron, L. F. J. Piper ja E. J. J. Wayne, "Vapor phase polymerization of poly (3,4-ethylenedioxythiophene) on flexible substrates for enhanced transparent electrodes," *Synthetic Metals*, osa/vuosik. 161, nro 13–14, pp. 1159–1165, 2011.
- [35] B. Sopori, R. N. Chauhan, C. Singh, R. S. Anand ja J. Kumar, "Effect of Sheet Resistance and Morphology of ITO Thin Films on Polymer Solar Cell Characteristics," *International Journal of Photoenergy*, osa/vuosik. 2012, p. 879261, 2012.
- [36] M. Buchanan, J. B. Webb ja D. F. Williams, "Preparation of conducting and transparent thin films of tin-doped indium oxide by magnetron sputtering," *Applied Physics Letters*, osa/vuosik. 37, nro 2, pp. 213–215, 1980.
- [37] V. Sivaji Reddy, K. Das, A. Dhar ja S. K. Ray, "The effect of substrate temperature on the properties of ITO thin films for OLED applications," *Semiconductor Science and Technology*, osa/vuosik. 21, nro 12, p. 1747, 2006.
- [38] S. Lee ja K. K. Gleason, "Enhanced Optical Property with Tunable Band Gap of Cross-linked PEDOT Copolymers via Oxidative Chemical Vapor Deposition," *Advanced Functional Materials*, osa/vuosik. 25, nro 1, pp. 85–93, 2015.
- [39] K. Shang, J. Gao, X. Yin, Y. Ding ja Z. Wen, "An Overview of Flexible Electrode Materials/Substrates for Flexible Electrochemical Energy Storage/Conversion Devices," *European Journal of Inorganic Chemistry*, osa/vuosik. 2021, nro 7, pp. 606–619, 2020.
- [40] P. M. Losaria ja J.-H. Yim, "A highly stretchable large strain sensor based on PEDOT–thermoplastic polyurethane hybrid prepared via in situ vapor phase polymerization," *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, osa/vuosik. 74, pp. 108–117, 2019.
- [41] L. Xu, J. Xu, Y. Yang, X. Mao, X. He, W. Yang, Y. Zhao ja Y. Zhou, "A flexible fabric electrode with hierarchical carbon-polymer composite for functional supercapacitors," *J Mater Sci: Mater Electron*, osa/vuosik. 29, nro 3, pp. 2322–2330, 2018.
- [42] D. Cairns, R. Witte, D. Sparacin, S. Sachsman, D. Paine, G. Crawford ja R. Newton, "Strain-dependent electrical resistance of tin-doped indium oxide on polymer substrates," *Applied Physics Letters*, osa/vuosik. 76, nro 11, pp. 1425–1427, 2000.
- [43] C. Boehler, Z. Aqrave ja M. Asplund, "Applications of PEDOT in bioelectronic medicine," *Bioelectronics in Medicine*, osa/vuosik. 2, nro 2, pp. 89–99, 2019.
- [44] K. Wijeratne, M. Vagin, R. Brooke ja X. Crispin, "Poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-tosylate (PEDOT-Tos) electrodes in thermogalvanic cells," *Journal of Materials Chemistry A*, osa/vuosik. 5, nro 37, pp. 19619–19625, 2017.
- [45] M. Culebras, B. Uriol, C. Gómez ja A. Cantarero, "Controlling the thermoelectric properties of polymers: application to PEDOT and Polypyrrole," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, osa/vuosik. 17, nro 23, pp. 15140–15145, 2015.
- [46] W. A. Muñoz, S. K. Singh, J. F. Franco-Gonzalez, M. Linares, X. Crispin ja I. V. Zozoulenko, "Insulator to semimetallic transition in conducting polymers," *Physical Review B*, osa/vuosik. 94, nro 20, p. 205202, 2016.

- [47] R. Yewale, P. Damlin, M. Salomäki ja C. Kvarnström, "Layer-by-layer approach to engineer and control conductivity of atmospheric pressure vapor phase polymerized PEDOT thin films," *Material Today Communications*, 2020.
- [48] O. Bubnova, Z. U. Khan, H. Wang, S. Braun, D. R. Evans, M. Fabretto, P. Hojati-Talemi, D. Dagnelund, J.-B. Arlin, Y. H. Geerts, S. Desbief, D. W. Breiby, J. W. Andreasen, R. Lazzaroni ja W. Chen, "Semi-metallic polymers," *Nature Materials*, osa/vuosik. 13, nro 2, p. 190, 2014.
- [49] R. Yewale, P. Damlin, M. Suominen ja C. Kvarnström, "Fabrication of electroactive multi-layered polyazulene thin films by atmospheric pressure-vapor phase polymerization," *Materials Chemistry and Physics*, osa/vuosik. 275, p. 125292, 2022.
- [50] Mustakeem, "Electrode materials for microbial fuel cells: nanomaterial approach," *Mater Renew Sustain Energy*, osa/vuosik. 4, nro 22, 2015.
- [51] G. Heywang ja F. Jonas, "Poly(alkylenedioxythiophene)s—new, very stable conducting polymers," *Advanced Materials*, osa/vuosik. 4, nro 2, pp. 116–118, 1992.
- [52] S. Rudd, J. F. Franco-Gonzalez, S. K. Singh, Z. U. Khan, X. Crispin, J. W. Andreasen, I. Zozoulenko ja D. Evans, "Charge transport and structure in semimetallic polymers," *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, osa/vuosik. 56, nro 1, pp. 97–104, 2018.
- [53] K. A. Sierros, N. J. Morris, K. Ramji ja D. R. Cairns, "Stress–corrosion cracking of indium tin oxide coated polyethylene terephthalate for flexible optoelectronic devices," *Thin Solid Films*, osa/vuosik. 517, nro 8, pp. 2590–2595, 2009.
- [54] E. Taşkan, S. Bulak, B. Taşkan, M. Şaşmaz, S. E. Abed ja A. E. Abed, "Nitinol as a suitable anode material for electricity generation in microbial fuel cells," *Bioelectrochemistry*, osa/vuosik. 128, pp. 118–125, 2019.
- [55] L. Jimison, A. Hama, X. Strakosas, V. Armel, D. Khodagholy, E. Ismailova, G. Malliaras, B. Winther-Jensen ja R. Owens, "PEDOT:TOS with PEG: A biofunctional surface with improved electronic characteristics," *Journal of Materials Chemistry*, osa/vuosik. 22, pp. 19498–19505, 2012.
- [56] X. Strakosas, B. Wei, D. C. Martin ja R. M. Owens, "Biofunctionalization of polydioxithiophene derivatives for biomedical applications," *Journal of Materials Chemistry B*, osa/vuosik. 4, nro 29, pp. 4952–4968, 2016.
- [57] M. Bongo, O. Winther-Jensen, S. Himmelberger, X. Strakosas, M. Ramuz, A. Hama, E. Stavrinidou, G. G. Malliaras, A. Salleo, B. Winther-Jensen ja R. M. Owens, "PEDOT:gelatin composites mediate brain endothelial cell adhesion," *Journal of Materials Chemistry B*, osa/vuosik. 1, nro 31, pp. 3860–3867, 2013.
- [58] Y. L. Kang, S. Ibrahim ja S. Pichiah, "Synergetic effect of conductive polymer poly(3,4-ethylenedioxythiophene) with different structural configuration of anode for microbial fuel cell application," *Bioresource Technology*, osa/vuosik. 189, p. 364.369, 2015.
- [59] A. Korneluk, J. Szymczak ja T. Stefaniuk, "Annealing-free fabrication of high-quality indium tin oxide films for free-carrier-based hybrid metal–semiconductor nanophotonics," *Sci Rep*, osa/vuosik. 13, nro 1, p. 18520, 2023.
- [60] D. Bhattacharyya, R. M. Howden, D. C. Borrelli ja K. K. Gleason, "Vapor phase oxidative synthesis of conjugated polymers and applications," *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.*, osa/vuosik. 50, nro 19, pp. 1329–1351, 2012.
- [61] R. Brooke, J. F. Franco-Gonzalez, K. Wijeratne, E. Pavlopoulou, D. Galliani, X. Liu, R. Valiollahi, I. V. Zozoulenko ja X. Crispin, "Vapor phase synthesized poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-trifluoromethanesulfonate as a transparent conductor material," *Journal of Materials Chemistry A*, osa/vuosik. 6, nro 43, pp. 21304–21312, 2018.
- [62] J. K. Park, T.-G. Kang, B.-H. Kim, H.-J. Lee, H. H. Choi ja J.-G. Yook, "Real-time Humidity Sensor Based on Microwave Resonator Coupled with PEDOT:PSS Conducting Polymer Film," *Sci Rep*, osa/vuosik. 8, 2018.

- [63] Z. Wang, J. Xu, Y. Yao, L. Zhang, W. Yangping, H. Song ja D. Zhu, "Facile preparation of highly water-stable and flexible PEDOT:PSS organic/inorganic composite materials and their application in electrochemical sensors," *Sensors and Actuators B: Chemical*, osa/vuosik. 196, pp. 357–369, 2014.
- [64] J. Ogle, D. Powell, D.-M. Smilgies, D. Nordlund ja L. Whittaker-Brooks, "Promoting Bandlike Transport in Well-Defined and Highly Conducting Polymer Thin Films upon Controlling Dopant Oxidation Levels and Polaron Effects," *ACS Appl. Polym. Mater.*, osa/vuosik. 3, nro 6, pp. 2938–2949, 2021.
- [65] B. Cho, K. S. Park, J. Baek, H. S. Oh, Y.-E. Koo Lee ja M. Sung, "Single-Crystal Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) Nanowires with Ultrahigh Conductivity," *Nano Letters*, osa/vuosik. 14, nro 6, pp. 3321–3327, 2014.
- [66] J.-Y. Kim, M.-H. Kwon, Y.-K. Min, S. Kwon ja D.-W. Ihm, "Self-Assembly and Crystalline Growth of Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) Nanofilms," *Advanced Materials*, osa/vuosik. 19, nro 21, pp. 3501–3506, 2007.
- [67] B. Winther-Jensen ja K. West, "Vapor-Phase Polymerization of 3,4-Ethylenedioxythiophene: A Route to Highly Conducting Polymer Surface Layers," *Macromolecules*, osa/vuosik. 37, nro 12, pp. 4538–4543, 2004.
- [68] P. Hojati-Talemi, C. Bächler, M. Fabretto, P. Murphy ja D. Evans, "Ultrathin Polymer Films for Transparent Electrode Applications Prepared by Controlled Nucleation," *ACS Applied Materials & Interfaces*, osa/vuosik. 5, nro 22, pp. 11654–1660, 2013.
- [69] J. Roncali, "Conjugated poly(thiophenes): synthesis, functionalization, and applications," *Chemical Reviews*, osa/vuosik. 92, nro 4, pp. 711–738, 1992.
- [70] A. Prindle, J. Liu, M. Asally, S. Ly, J. Garcia-Ojalvo ja G. M. Süel, "Ion channels enable electrical communication in bacterial communities," *Nature*, osa/vuosik. 527, nro 7576, pp. 59–63, 2015.
- [71] C. Kvarnström, H. Neugebauer, S. Blomquist, H. Ahonen, J. Kankare ja A. Ivaska, "In situ spectroelectrochemical characterization of poly(3,4-ethylenedioxythiophene)," *Electrochimica Acta*, osa/vuosik. 44, nro 16, pp. 2739–2750, 1999.
- [72] X. Liu, Q. Zhang, J. Li, N. Valanoor, X. Tang ja B. Garcia, "Increase of power conversion efficiency in dye-sensitized solar cells through ferroelectric substrate induced charge transport," *Sci Rep*, osa/vuosik. 8, nro 1, 2018.
- [73] J. Z. Zhang, P. Bombelli, K. P. Sokol, A. Fantuzzi, A. W. Rutherford, C. J. Howe ja E. Reisner, "Photoelectrochemistry of Photosystem II in Vitro vs in Vivo," *Journal of the American Chemical Society*, osa/vuosik. 140, nro 1, pp. 6–9, 2018.
- [74] F. El-Baz, S. Abdo, M. Abdo ja G. Ali, "Enhancement of oil accumulation in microalga *Scenedesmus obliquus*," *International Journal of Pharmacology Science Review Research*, osa/vuosik. 35, pp. 110–115, 2015.
- [75] T. Roach ja A. Krieger-Liszkay, "Regulation of photosynthetic electron transport and photoinhibition," *Current protein and peptide science*, osa/vuosik. 51, nro 4, pp. 351–362, 2014.