

**GLUKOZ OKSİDAZ TABANLI  
BİYOYAKIT PİLİ GELİŞTİRİLMESİ**

**DEVELOPING OF GLUCOSE OXIDASE  
BASED BIOFUEL CELL**

**CEYDA BÜYÜKNOHUTÇU**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

KİMYA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2009

## KABUL VE ONAY

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....  
Prof. Dr. Ufuk Bakır

Üye (Danışman) :.....  
Prof. Dr. Tülay Durusoy

Üye :.....  
Prof. Dr. Menemşe Gümüşderelioğlu

Üye :.....  
Doç. Dr. İsmail Hakkı Boyacı

Üye (Danışman) :.....  
Prof. Dr. Selma Mutlu

ONAY

Bu tez ...../06/2009 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Erdem Yazgan  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# GLUKOZ OKSİDAZ TABANLI BİYOYAKIT PİLİ GELİŞTİRİLMESİ

Ceyda Büyüknohutçu

## ÖZ

Sunulan çalışma ile dünyada giderek artan enerji ihtiyacının karşılanabilmesi ve çevresel problemlerin önüne geçilebilmesi amacıyla başlayan alternatif yakıt arayışı ve kullanımı kapsamında yeni bir seçeneğin oluşturulması hedeflenmiştir.

Bu amaçla, son yıllarda bilimsel araştırma geliştirme çalışmalarının odak noktası olan yakıt pilleri gibi yeni, temiz ve yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımı esas alınarak; enzim tabanlı bir biyoyakıt pili tasarımı önerilmiştir.

Tez kapsamında amaçlanan enzim tabanlı biyoyakıt pili bileşenlerinden enzim elektrodu tasarım çalışmaları gerçekleştirilmiş; hazırlanan hedef elektrotlar ile tek hücreli biyoyakıt pili kurulumu tamamlanmıştır.

Enzim elektrodu tasarım çalışmaları iletken polimerler polianilin ve polipirol (PAN ve PPy) ile medyatör olarak dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) yapısının kullanıldığı karbon elektrot yüzey modifikasyonu ve sonrasında yakıt olarak kullanılan glukozun enzim tabanlı tepkimesini katalize edecek biyolojik molekül olan glukoz oksidazın (GOx) tutuklanması işlemlerini kapsamaktadır.

Hazırlanan enzim tabanlı elektrotların bir elektrokimyasal potansiyostat-galvanostat sisteminden alınan dönüşümlü voltamogramları (CV) ile performans değerlendirmeleri sunulmuştur.

Tasarlanan enzim elektrotlarının anodik performans değerlendirmeleri göz önünde bulundurulduğunda biyoanot tasarımı için en uygun kaplamanın PPy-DMAMFc-GOx olduğu saptanmıştır.

İletken polimer olarak polipirol (PPy), medyatör olarak 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazidin-6-sulfonik asit) (ABTS) ve biyolojik katalizleme ile indirgeme işlemi yapan lakkaz enziminin kullanıldığı grafit elektrot ile PPy-ABTS-Lakkaz kaplı biyokatot tasarımı gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen elektrot performans sonuçlarına dayanarak hedef biyoanot olarak tasarlanan PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot ve biyokatot olarak tasarlanan PPy-ABTS-Lakkaz kaplı grafit elektrot ile biyolojik yakıt hücresi kurulmuştur.

Biyoyakıt hücrelerinin performansı, 50 mM glukoz çözeltisi içinde alınan akım-voltaj karakteristiğini veren değerlendirmeler ile sunulmuştur. Bu sonuçlara göre oluşturulan biyoyakıt pilinin açık devre potansiyeli (OCP) 538 mV, kısa devre akım yoğunluğu  $37.67 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  ( $0.85 \Omega$  direnç altında) ve maksimum güç yoğunluğu  $3.94 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  olarak bulunmuştur.

Son bölümde, elektrot olarak kullanılan karbon çubuklara elektro-aktif ve biyo-aktif özellikleri kazandırmak üzere uygulanan modifikasyon işlemleriyle elde edilen hedef elektrot yüzeyleri AFM ve FTIR teknikleri ile topografik ve kimyasal olarak karakterize edilmiştir.

Bu çalışma ile dünyada son dönemde hızlı bir gelişme sürecine giren enzim tabanlı yakıt pili teknolojisinin bir uygulaması gerçekleştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Enerji, Yakıt pili, Biyoyakıt pili, Enzim, Elektrot, İletken polimer, Glukoz oksidaz

**Danışman:** Prof. Dr. Selma MUTLU, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

# **DEVELOPING OF GLUCOSE OXIDASE BASED BIOFUEL CELL**

**Ceyda Büyüknohutçu**

## **ABSTRACT**

This study aims to develop a reliable option for the efforts on supplying the ever increasing energy demand and preventing the growing environmental problems worldwide.

For this purpose, especially considering the recent scientific progresses on fuel cell technology based on the research for usage of novel, clean and renewable energy sources, a new enzymatic biofuel cell design has been suggested. In the scope of this thesis the intended enzyme electrode design studies were carried out which is the basic component of an enzymatic biofuel cell and with the target electrodes designed, a compartmentless biofuel cell set up has been completed.

Enzyme electrode design studies have included the conducting polymer polyaniline and polypyrrole (PAn and PPy) and the mediator dimethylaminomethyl ferrocene (DMAMFc) modification, following with the biological molecule glucose oxidase (GOx) immobilization processes.

The performances of the modified electrodes were discussed with the cyclic voltammograms taken from electrochemical potentiostat-galvanostat equipment.

Considering the anodic performances of the designed enzyme electrodes, the PPy-DMAMFc-GOx coated carbon electrode was found to be the most suitable bioanode construction.

Using polypyrrole (PPy) as conducting polymer, 2,2-azinobis-(3-ethylbenzotiozidin-6-sulfonik asit) (ABTS) as mediator and laccase as biologic catalyst for reduction PPy-ABTS-Lakkaz coated graphite electrode was designed as biocathode.

The enzymatic biofuel cell has been constructed with the designed electrodes, PPy-DMAMFc-GOx coated graphite electrode as bioanode and PPy-ABTS-Laccase coated graphite electrode as biocathode. The performance of the biofuel cell was discussed from current-potential characteristics observed in 50 mM glucose solution. The operational parameters of the biofuel cell were observed where the open circuit potential (OCP) was 538 mV, short circuit current density

was  $37.67 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  (under  $0.85 \Omega$  resistance) and maximum power density was  $3.94 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ .

Moreover, the target electrode surfaces prepared by the modification of carbon rods with the purpose of electrochemical and biological activation were characterized by AFM and FTIR techniques.

With this study an example for the application of the increasingly popular enzyme based fuel cell technology has been performed.

**Keywords:** Energy, Fuel Cell, Biofuel Cell, Enzyme, Electrode, Conducting Polymer, Glucose Oxidase

**Supervisor:** Prof. Dr. Selma MUTLU, Hacettepe University, Chemical Engineering Department

## TEŞEKKÜR

Akademik yolda attığım ilk adımdan bu aşamaya kadar geçen süreçte bana yol gösteren, gerekli bilgiye ulaşma ve kat ettiğim yolda bu donanımı doğru şekilde kullanarak yönümü belirleme yeteneğini bana kazandıran, bilgi ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım ve Değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Selma Mutlu' ya,

Bu teze maddi destek veren ve tamamlanmasını sağlayan TÜBİTAK Araştırma Destek Programları Başkanlığı, Mühendislik Araştırma Grubu (MAG), 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı'na,

Engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, oluşturduğu düzen içerisinde yer alarak düşüncelerimi paylaşma fırsatı bulduğum ve bu sayede akademik bakış açımın gelişmesine yardımcı olan sayın Prof. Dr. Mehmet Mutlu ve Plazma Destekli Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Araştırma Grubu'na,

Çalışmalarım sırasında gerektiğinde bilgi danışabildiğim, teknik destek ve yardımlarını esirgemeyen Prof Dr. Kadir Pekmez ve Arş. Gör. Deniz Baş'a,

Bu tezin oluşum aşamasında en az benim kadar emek ve zaman harcayan, beraber çalışmaktan ve arkadaşlığından büyük keyif aldığım Hürkan Çatalkaya'ya; kısa zamanda kurduğumuz dostlukla bana her açıdan destek olan Gonca Bilge'ye; her anımızda tükenmeyen enerjisiyle ortama neşe katan Yeliz Çakır'a ve en olumsuz anlarımda bile arkadaşlığıyla bana yeniden umut kazandıran Nesrin Şir'e;

Aynı laboratuvarı paylaştığım arkadaşım Oğulcan Evirgen'e; pek çok konuda fikirlerine ve deneyimlerine başvurduğum ve desteklerini hep yanımda hissettiğim Tolga Şirin ve Ebru Akdoğan'a;

Çalışmalarım süresince dostluklarıyla her zaman yanımda olan, en zor zamanlarımı ve en mutlu anlarımı içtenlikle paylaşan canım arkadaşlarım Işıl Beşkardeş, Yasemin Onaran, Gonca Sağlam, Pınar Gördesli ve Emel Semiz'e;

İlgi, sabır ve her türlü desteklerini hep yanımda hissettiğim, canım ailem, annem, babam, sevgili kardeşim ve hayatımı birleştireceğim bitaneciğime

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM..

**Ceyda Büyüknohutçu**

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZ .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xvi
<b>1. GİRİŞ ve ÇALIŞMANIN AMACI .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Enerji.....</b>	<b>3</b>
2.1.1. Enerji Çeşitleri ve Sınıflandırılması .....	3
2.1.2. Dünyada Enerji Tüketim Durumu ve Yeni Kaynak Arayışları .....	4
<b>2.2. Yakıt Pili.....</b>	<b>5</b>
2.2.1. Yakıt Pilinin Tarihsel Gelişimi.....	5
2.2.2. Yakıt Pili Çalışma Prensibi .....	7
2.2.3. Yakıt Pili Türleri.....	8
2.2.3.1. Çalışma Sıcaklığına Göre Yakıt Pilleri.....	8
2.2.3.2. Çalışma Basıncına Göre Yakıt Pilleri .....	8
2.2.3.3. Kullandıkları Yakıt ve Oksitleyici Türüne Göre Yakıt Pilleri .....	8
2.2.3.4. Kullandıkları Elektrolit Tipine Göre Yakıt Pilleri .....	9
2.2.4. Yakıt Pilinin Uygulama Alanları.....	11
2.2.4.1. Uzay Çalışmaları/Askeri Uygulamalar .....	11
2.2.4.2. Taşımacılık Uygulamaları .....	12
2.2.4.3. Evsel Uygulamalar .....	13
2.2.4.4. Çevresel Uygulamalar (Atık/Atık Su Uygulamaları) .....	13
2.2.4.5. Sabit Güç Üretim Sistem Uygulamaları .....	13
2.2.4.6. Taşınabilir Güç Kaynağı Uygulamaları .....	14
2.2.5. Yakıt Pilinin Avantajları ve Dezavantajları.....	15



<b>2.3. Biyoyakıt Pili.....</b>	<b>16</b>
2.3.1. Biyoyakıt Pilinin Tarihsel Gelişimi .....	17
2.3.2. Biyoyakıt Pili Çalışma Prensibi.....	19
2.3.3. Biyoyakıt Pili Türleri .....	20
2.3.3.1. Mikrobiyal Biyoyakıt Pili .....	20
2.3.3.2. Enzimatik Biyoyakıt Pili .....	23
2.3.4. Biyoyakıt Pilinin Uygulama Alanları.....	24
2.3.5. Biyoyakıt Pilinin Avantajları ve Dezavantajları .....	26
<b>2.4. Enzim Elektrotları.....</b>	<b>26</b>
2.4.1. Medyatörlü Elektron Aktarımı (MET).....	28
2.4.2. Direk Elektron Aktarımı (DET).....	30
<b>2.5. İletken Polimerler .....</b>	<b>31</b>
<b>2.6. Yüzey Modifikasyonu .....</b>	<b>35</b>
2.6.1. Plazma Polimerizasyonu.....	35
2.6.2. Elektrokimyasal Polimerizasyon.....	36
<b>2.7. Enzim Tutuklanması .....</b>	<b>37</b>
2.7.1. Enzim Tutuklama Metotları .....	37
2.7.1.1. Taşıyıcı İçine Tutuklama Yöntemi .....	38
2.7.1.2. Hapsetme Yöntemi.....	40
<b>2.8. Elektrokimyasal Ölçümler .....</b>	<b>41</b>
2.8.1. Voltametri.....	41
2.8.1.1. Dönüşümlü Voltametri .....	41
2.8.1.2. Kronoamperometri.....	42
2.8.1.3. Kronopotansiyometri .....	42
<b>2.9. Biyoyakıt Pili Performansı.....</b>	<b>42</b>
2.9.1. Polarizasyon Eğrisi .....	42
2.9.2. Güç Yoğunluğu .....	44
<b>2.10. Yüzey Karakterizasyonu.....</b>	<b>44</b>
2.10.1. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) .....	44
2.10.2. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) .....	45
<b>3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....</b>	<b>46</b>
<b>3.1. Kullanılan Malzemeler .....</b>	<b>46</b>
3.1.1. Kimyasal Maddeler .....	46
3.1.2. Deney Sistemleri.....	47

<b>3.2. Enzim Elektrodu Hazırlanması.....</b>	<b>48</b>
3.2.1. Elektrot Seçimi.....	48
3.2.2. Elektrot Yüzey Modifikasyonu.....	48
3.2.2.1. Plazma Polimerizasyonu.....	49
3.2.2.2. Elektrokimyasal Polimerizasyon.....	51
3.2.3. Enzim Tutuklanması.....	54
<b>3.3. Elektrot Performans Çalışmaları.....</b>	<b>55</b>
3.3.1. Enzim Elektroduyla Elektrolitik Hücre Kurulumu.....	55
3.3.2. Elektrokimyasal Ölçümler.....	55
<b>3.4. Enzimatik Biyoyakıt Pili Çalışmaları.....</b>	<b>56</b>
3.4.1. Biyoyakıt Pili Kurulumu.....	57
3.4.1.1. Biyoanot Tasarımı.....	57
3.4.1.2. Biyokatot Tasarımı.....	57
3.4.1.3. Biyoyakıt Hücresi Tasarımı.....	57
3.4.2. Biyoyakıt Pili Performansının Değerlendirilmesi.....	58
<b>3.5. Elektrot Yüzeylerinin Karakterizasyonu.....</b>	<b>58</b>
3.5.1. FTIR (Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi) Analizi.....	58
3.5.2. AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) Analizleri.....	58
<b>4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞILMASI.....</b>	<b>59</b>
<b>4.1. Enzim Elektrodu Hazırlanması.....</b>	<b>59</b>
4.1.1. Enzim Elektrodu Olarak Tasarlanan Karbon ve Grafit Elektrotlar ...	59
4.1.2. Elektrot Yüzey Modifikasyonu.....	60
4.1.2.1. Plazma Polimerizasyonu.....	61
4.1.2.2. Elektrokimyasal Polimerizasyon.....	75
4.1.3. Enzim Tutuklama.....	95
<b>4.2. Elektrot Performans Çalışmaları.....</b>	<b>97</b>
4.2.1. Enzim Elektrodu ile Elektrolitik Hücre Kurulumu.....	97
4.2.2. Elektrokimyasal Ölçümler.....	97
<b>4.3. Enzimatik Biyoyakıt Pili Çalışmaları.....</b>	<b>102</b>
4.3.1. Biyoyakıt Pili Kurulumu.....	102
4.3.1.1. Biyoanot Tasarımı.....	102
4.3.1.2. Biyokatot Tasarımı.....	102
4.3.1.3. Biyoyakıt Hücresi Tasarımı.....	102
4.3.2. Biyoyakıt Pili Performans Çalışmaları.....	103

4.3.2.1. Açık devre potansiyeli .....	103
4.3.2.2. Kısa devre akım yoğunluğu .....	103
4.3.2.3. Güç yoğunluğu .....	104
4.3.2.4. Polarizasyon eğrisi .....	105
<b>4.4. Elektrot Yüzeylerinin Karakterizasyonu .....</b>	<b>106</b>
4.4.1. FTIR (Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi) Analizi .....	106
4.4.2. AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) Analizleri .....	107
<b>5. GENEL SONUÇLAR .....</b>	<b>109</b>
<b>KAYNAKLAR DİZİNİ .....</b>	<b>113</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>121</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiozdin-6-sulfonik asit)
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
An	: Anilin
CV	: Dönüşümlü Voltametri
DET	: Direk Elektron Aktarımı
DMAMFc	: Dimetilaminometil Ferrosen
$E_0$	: Standart Potansiyel
FTIR	: Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi
GA	: Glutaraldehit
GOx	: Glukoz Oksidaz
I	: Akım (A)
MET	: Medyatörlü Elektron Aktarımı
o-ASA	: Ortanilik asit
P	: Güç (W)
PAn	: Polianilin
PBS	: Potasyum Fosfat Tamponu
PPy	: Polipirol
Py	: Pirol
R	: Direnç ( $\Omega$ )
V	: Potansiyel (V)

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Yakıt çeşidine göre dünyada 1990-2030 yılları arası enerji tüketim grafiği (EIA, 2008). .....	4
Şekil 2.2.	Hidrojen/oksijen yakıt pili çalışma prensibi (Çavuşoğlu, 2006). .....	8
Şekil 2.3.	Elektrolit tipine göre sınıflandırılmış yakıt pilleri ve çalışma prensipleri (Appleby and Foulkes, 2004). .....	11
Şekil 2.4.	Tipik bir biyoyakıt pili gösterimi (www.sciencemag.org, 2008). .....	16
Şekil 2.5.	Biyoyakıt pili yarı hücresinin şematik gösterimi (Bullen et al., 2006). .....	20
Şekil 2.6.	Bir mikrobiyal yakıt pilinin şematik gösterimi. (a) elektrokimyasal hücrenin anodik kısmından ayrı bir yerde yakıt sağlayan mikrobiyal biyoreaktörlü sistem. (b) elektrokimyasal hücrenin anodik kısmında yakıt sağlayan mikrobiyal biyoreaktörlü sistem (Katz et al., 2003) ....	21
Şekil 2.7.	Mikrobiyal yakıt pillerinde medyatörlü elektron aktarımının şematik gösterimi (Bullen et al., 2006). .....	22
Şekil 2.8.	Elektrot üzerinde gerçekleşen enzimatik tepkimenin şematik gösterimi (Katz et al., 2003). .....	23
Şekil 2.9.	Enzim tabanlı bir biyoyakıt pilinin şematik gösterimi (Kim et al., 2006). .....	24
Şekil 2.10.	Medyatörlü elektron aktarımının şematik gösterimi (Kano and Ikeda, 2003). .....	29
Şekil 2.11.	Direk elektron aktarımının şematik gösterimi (Kano and Ikeda, 2003). .....	30
Şekil 2.12.	Bazı iletken polimerlerin yapısı (Cosnier, 1999). .....	31
Şekil 2.13.	Polianilin için yükseltgenme mekanizması (Yakar, 2006). .....	33
Şekil 2.14.	Pirol için yükseltgenme mekanizması (Yakar, 2006). .....	34
Şekil 2.15.	Çapraz bağlanma yönteminin şematik görünümü. ....	38
Şekil 2.16.	Fiziksel adsorpsiyon ile enzim tutuklama şematik gösterimi. ....	39
Şekil 2.17.	Kovalent bağlanma ile enzim tutuklama şematik gösterimi. ....	39
Şekil 2.18.	Mikrokapsülleme yöntemi ile enzim tutuklama şematik gösterimi. ....	40
Şekil 2.19.	Fiber tutuklama yöntemi ile enzim tutuklama şematik gösterimi. ....	41
Şekil 2.20.	Tipik bir potansiyel-zaman grafiği (Yakar, 2006). .....	41
Şekil 2.21.	Yakıt pili polarizasyon eğrisi. ....	43

Şekil 2.22.	Yakıt pili güç eğrisi. ....	44
Şekil 2.23.	AFM yüzey analizinin şematik gösterimi (Çökeliler, 2006). ....	45
Şekil 3.1.	Plazma Sistemi. (Diener PICO, Almanya) .....	50
Şekil 3.2.	Elektrokimyasal Potansiyostat-Galvanostat Cihazı. (Iviumstat, Hollanda) .....	52
Şekil 3.3.	Elektrokimyasal çalışma istasyonuna bağlı üçlü elektrot sistemi. ....	55
Şekil 3.4.	Hazırlanan biyoanot ve biyakatot ile kurulan devre, biyoyakıt pili. ....	58
Şekil 4.1.	Kullanılan karbon elektrotların görünümü. (a) karbon eskiz kalem uçları (b) saf grafit elektrotlar. ....	60
Şekil 4.2.	Polianilin geçiş formları (Cruz et al., 1997). ....	62
Şekil 4.3.	2 mM Potasyum Ferrosiyandır + 1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması. ....	64
Şekil 4.4.	0.1 M KHSO <sub>4</sub> (pH=2.0) çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması. ....	66
Şekil 4.5.	Elektrot yüzeyinde PAn-DMAMFc modifikasyonu ve elektron aktarım mekanizmalarının şematik gösterimi. ....	67
Şekil 4.6.	İki farklı plazma polimerizasyonu yöntemiyle PAn-DMAMFc kaplanmış karbon elektrodun 2 mM Potasyum Ferrosiyandır+ 1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içinde çekilen voltamogramları. ....	68
Şekil 4.7.	0.1 M KHSO <sub>4</sub> (pH=2.0) çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAn-DMAMFc kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAn-DMAMFc kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması. ....	69
Şekil 4.8.	Polipirol'ün geçiş formları (Cabala, 2000). ....	71
Şekil 4.9.	2 mM Potasyum Ferrosiyandır+1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması. ....	72

- Şekil 4.10. 0.1 M  $\text{KHSO}_4$  (pH=2.0) çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması..... 73
- Şekil 4.11. Plazma polimerizasyon yöntemiyle ve elektropolimerizasyon yöntemiyle oluşturulan PAn tabakalarının etkinliğinin 0.1 M  $\text{KHSO}_4$  çözeltisinde karşılaştırılması..... 75
- Şekil 4.12. Üç aşamada gerçekleştirilen An elektropolimerizasyonu (a) 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  katkılması (b) 0.1 M An + 0.1 M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  + 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  kaplama çözeltisinde elektropolimerizasyon öncesi potansiyel taraması (katyon oluşturma basamağı) (c) An elektropolimerizasyon basamağına ait dönüşümlü voltamogram..... 76
- Şekil 4.13. 2mM Potasyum Ferrosiyandır + 1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması. .... 78
- Şekil 4.14. 0.1 M  $\text{KHSO}_4$  (pH=2.0) çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması..... 79
- Şekil 4.15. Emeraldin ve lökoemeraldin formları arasında polianilin yükseltgenme mekanizması (Yakar, 2006)..... 80
- Şekil 4.16. PAn ve DMAMFc redoks tepkimeleri..... 81
- Şekil 4.17. Üç aşamada gerçekleştirilen An An-DMAMFc elektropolimerizasyonu (a) 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  katkılması (b) 0.1 M An + 0.1 M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  + 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  + 0.5 M DMAMFc kaplama çözeltisinde elektropolimerizasyon öncesi potansiyel taraması (katyon oluşturma basamağı) (c) An elektropolimerizasyon basamağına ait dönüşümlü voltamogram. .... 81
- Şekil 4.18. 0.1 M  $\text{KHSO}_4$  (pH=2.0) çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAn-DMAMFc kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAn-DMAMFc kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması. .... 83
- Şekil 4.19. pH 5.5 PBS çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle (An-Ortanilik asit)-DMAMFc kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle poli(An-o-ASA)-DMAMFc kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması..... 86

Şekil 4.20. Pirol elektropolimerizasyonuna ait zamana karşı potansiyel-akım grafiği. ....	87
Şekil 4.21. Pirol için yükseltgenme mekanizması (Yakar, 2006). ....	88
Şekil 4.22. 2 mM Potasyum Ferrosiyandır + 1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması. ....	89
Şekil 4.23. pH 5.5 PBS çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması. ....	91
Şekil 4.24. 2mM Potasyum Ferrosiyandır çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması. ....	93
Şekil 4.25. pH 5.5 PBS çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması. ....	94
Şekil 4.26. Fiziksel adsorpsiyon ile enzim tutuklanmasının şematik gösterimi. ...	96
Şekil 4.27. Enzim elektrodunda elektron aktarım mekanizmasının şematik gösterimi. ....	96
Şekil 4.28. Hazırlanan enzim elektrodunun performansının bakıldığı yarı hücre (üçlü elektrot sistemi) ....	97
Şekil 4.29. Elektrot yüzeyinde (An-o-ASA)-DMAMFc-GOx modifikasyonu ve elektron aktarım mekanizmalarının şematik gösterimi. ....	98
Şekil 4.30. (An-o-ASA)-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun pH 5.5 PBS tampon çözeltisi ve farklı derişimlerdeki glukoz çözeltilerinde çekilen dönüşümlü voltamogramı. ....	99
Şekil 4.31. Elektrot yüzeyinde Py-DMAMFc-GOx modifikasyonu ve elektron aktarım mekanizmalarının şematik gösterimi. ....	100



Şekil 4.32. PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun pH 5.5 PBS tampon çözeltisi ve farklı derişimlerdeki glukoz çözeltilerinde çekilen dönüşümlü voltamogramı. ....	101
Şekil 4.33. Hazırlanan biyoanot ve biyokatot ile kurulan devre, biyoyakıt pili. ....	103
Şekil 4.34. Kurulan biyoyakıt hücrenin güç yoğunluğu grafiği. ....	104
Şekil 4.35. Kurulan biyoyakıt hücrenin polarizasyon eğrisi. ....	105
Şekil 4.36. PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrot yüzeyine ait FTIR spektrumu. ....	106
Şekil 4.37. Elektrot yüzeylerinin AFM görüntüleri (a) kaplanmamış karbon elektrot yüzey morfolojisi (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc-GOx kaplanmış karbon elektrot yüzey morfolojisi .....	107
Şekil 4.38. Elektrot yüzeylerinin 3 boyutlu AFM görüntüleri (a) kaplanmamış karbon elektrot yüzey morfolojisi (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc-GOx kaplanmış karbon elektrot yüzey morfolojisi .....	108

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Enerji kaynaklarının sınıflandırılması .....	3
Çizelge 3.1. Plazma polimerizasyon koşulları (iki farklı metot) .....	51
Çizelge 3.2. Elektrokimyasal polimerleşme sisteminde kullanılan elektrolit ortam	52
Çizelge 3.3. An elektropolimerizasyonu için uygulanan basamaklar .....	52
Çizelge 3.4. Elektrokimyasal polimerleşme sisteminde kullanılan elektrolit ortam	53

## 1. GİRİŞ ve ÇALIŞMANIN AMACI

Günümüzde artan nüfusla beraber fosil yakıtların yoğun şekilde kullanılması, mevcut enerji kaynaklarının tüketilmesi, ortaya çıkan ve giderek büyüyen çevre problemleri ve tüm hepsinin sonucu alternatif enerji kaynaklarına duyulan ihtiyaç, teknolojik, bilimsel ve sektörel anlamda yeni, temiz ve yenilenebilir enerji kaynaklarının araştırılması ve kullanılabilir hale getirilmesi gibi beklentiler yaratmıştır.

Bu noktada temiz, güvenli ve yüksek verimli olması gibi özellikleri barındırdığından yakıt pilleri, gelecekte ihtiyaç duyulan enerjinin büyük bir kısmını karşılaması düşünülen enerji çevrim araçları olarak ilgiyi çekmektedir. Yakıtlardaki kimyasal enerjiyi doğrudan elektrik enerjisine çeviren cihazlar olarak tanımlanan yakıt pilleri yüksek verimle güç üretimi ve düşük çevresel zarara yol açmaları gibi iki önemli avantaja sahiptir.

Son yıllarda, yeni bir çeşit enerji dönüşüm teknolojisi olan; maliyet, verimlilik, küçük ölçekli sistemlere güç kaynağı olarak uygulanabilirlik ve oda sıcaklığı ile basıncı gibi normal koşullarda çalışabilirlik gibi özelliklere sahip olmasıyla konvansiyonel enerji sistemlerinden tümüyle farklı olan biyolojik yakıt pilleri bilimsel araştırmaların ve geliştirme çalışmalarının odak noktası olmuştur.

Biyoyakıt pilleri aktivitelerinin bir bölümünü biyolojik katalizleme ile sağlayan yakıt pilleridir. İnorganik katalizörlerin yerine mikroorganizma veya enzim gibi biyolojik katalizörlerin kullanımı esastır. Biyolojik bileşen olarak enzimlerin kullanıldığı enzimatik biyoyakıt pillerinde ise enzim kullanımı daha küçük sistemlerde ve canlı yapılar içindeki uygulamalara olanak verecek şekilde tasarlanabilmekte, normal çalışma şartları altında bile yüksek verim sağlayabilmektedir.

Enzim bazlı katalizörlerin kullanıldığı biyoyakıt pillerinin yüksek dönüşüm hızlarında enerji üretimi, daha düşük maliyeti ve küçük uygulamalara olanak verecek mekanizması gibi olumlu yönleri araştırmaların bu yöne kaymasına yol açmıştır.

Son yıllarda biyoyakıt hücresi çalışmalarına bakıldığında atılan en büyük adım biyoanot ve biyokatot kavramlarının geliştirilmesi ve ara yüzey kullanımıyla sağlanan elektron transferi (MET) yerine doğrudan elektron transferi (DET)

sağlayan sistemin tasarlanması olmuştur. Bu gelişme ile kullanılan ara yüzeyin yarattığı kısa pil ömrü, katalitik yetersizlik ve düşük verim gibi problemlerin bir ölçüde üstesinden gelinmiştir. Doğrudan elektron transfer sistemi daha önce bazı elektro-analitik uygulamalarda yer alsa da biyoyakıt pillerinde ilk olarak 2006 yılında uygulanmıştır: Bu çalışmalar, “lakkaz kullanılarak oksijenin indirgendiği biyokatot geliştirilmesi” (Yan et al., 2006), “bilirubin oksidaz kullanılarak oksijenin indirgendiği biyokatot geliştirilmesi” (Duma and Minteer, 2006) ve “glukoz oksidaz kullanan biyoanot geliştirilmesi” (Ivnitski et al., 2006) konuları ile literatürde yer almıştır. Ulaşılan bir diğer büyük gelişme immobilize edilen enzimlerin aktif yaşam sürelerinin uzatılması olmuştur. Tampon çözelti içerisinde 8-20 saat kadar aktif yaşam sürelerinin olduğu bilinen enzimlerin ömürleri tutuklama yoluyla elektrot yüzeyine immobilizasyonu, kimyasal bağlanma ve çapraz-bağlanma yöntemleri kullanılarak 7-20 güne kadar uzatılabilmektedir (Kim et al., 2006). Günümüzde enzimlerin aktivitesi miselli polimerler içine hapsedme yöntemiyle daha da uzatılabilmektedir. Bu tip polimerler fiziksel olarak enzimi hapsederek sağlanan biyoyumlu hidrofobik ortamda enzimi denaturasyondan korurlar (Moore et al., 2004; Topcagic et al., 2004; Akers et al., 2005).

Günümüzde çalışmalar enzimlerin aktivitelerinin uzun süreler boyunca koruyamamasından kaynaklı kısa pil ömrü ve katalitik yetersizlik problemlerine çözüm bulmaya odaklanmıştır. Fakat aynı zamanda geliştirilmiş güç yoğunluğu üzerinde yapılan çalışmalar hala yetersiz kalmaktadır.

Bu tez, insanlık için her zaman başlıca bir gereksinim olan enerjinin teminine dayalı bir çalışma olması dolayısıyla sadece konu itibari ile önemi kaçınılmazdır. Çalışmanın dünya genelinde başlayan alternatif enerji kaynaklarının araştırılması ve kullanımı içindeki yerini vurgulamak belirleyici olacaktır ve temelde giderek artan bu arayışlara bir çözüm sunmak amaçlanmaktadır.

Bu bağlamda dünyada son dönemde hızlı bir gelişme sürecine giren enzim tabanlı yakıt pili teknolojisinin bir uygulamasını ülkemizde gerçekleştirmek, daha uzun ömürlü ve yüksek verimli bir biyoyakıt pili tasarlamak bu çalışmanın esas hedefidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Enerji

Enerji, insana yönelik tüm faaliyetlerin ve üretim basamaklarının gerçekleşmesi için gerekli temel kaynaktır. İnsanlığın gelişimi ile birlikte enerji ihtiyacı da sürekli olarak artmaktadır. Günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin en önemli gereksinimi enerjidir.

Endüstrileşme ile baş gösteren buhar gücü gereksinimi, dolayısıyla kömür kullanımı büyük bir hızla artmıştır. Daha sonraları elektrik enerjisinin kullanılmaya başlanması ve içten yanmalı motorların kullanım alanının genişlemesi ile elektrik üretiminde kömür ve petrol kullanımı çok büyük bir hızla artmıştır. Sonunda endüstri ve çağdaş yaşam için en önemli ham madde, fosil yakıtlar (kömür, doğal gaz, petrol vb.) olmuştur (Yıldızbilir, 2006).

#### 2.1.1. Enerji Çeşitleri ve Sınıflandırılması

Enerji temelde birincil ve ikincil enerji kaynakları olarak sınıflandırılır. Çizelge 2.1.'de enerji kaynaklarını sınıflandırılması gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Enerji kaynaklarının sınıflandırılması

Birincil Enerji Kaynakları	Yenilenemeyen Enerji Kaynakları	kömür, petrol, doğal gaz gibi fosil yakıtlar ve nükleer enerji
	Yenilenebilir Enerji Kaynakları	biyokütle (odun, bitki artıkları vb.) rüzgâr, hidrolik, jeotermal ve güneş enerjisi
	Alternatif Enerji Kaynakları	bunların yerine geçebilecek enerji kaynakları
İkincil Enerji Kaynakları	elektrik (termik santraller, nükleer santraller, barajlar); ısı enerjisi (kazanlar, özel nükleer santraller); mekanik enerji (fosil yakıtlı motorlar)	

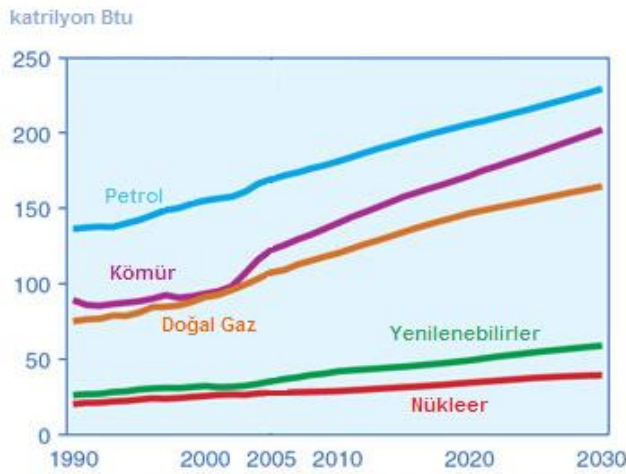
Birincil enerji kaynakları kömür, petrol, doğal gaz gibi fosil yakıtlar ve nükleer enerji gibi kendi kendini yenilenemeyen enerji kaynakları ile su, jeotermal, biyokütle, rüzgâr ve güneş enerjisi gibi yenilenebilir enerji kaynaklarının tümünü içermektedir. Alternatif enerji kaynakları ise yenilenebilir ve yenilenemeyen tüm enerji kaynakları yerine geçebilecek kaynaklar olarak tanımlanabilir.

İkincil enerji kaynakları ise birincil enerji kaynakları kullanılarak tüketime hazır hale getirilmiş enerji kaynaklarıdır. Elektrik enerjisi (termik santraller, nükleer santraller, barajlar); ısı enerjisi (kazanlar, özel nükleer santraller) ve mekanik enerji (fosil yakıtlı motorlar) gibi enerji kaynakları ikincil olarak oluşan enerji kaynakları asında yer alır (EIA, 2008).

### 2.1.2. Dünyada Enerji Tüketim Durumu ve Yeni Kaynak Arayışları

20'li yüzyıllara gelindiğinde, dünyada enerji tüketiminin, nüfus artışına, sanayileşmeye ve teknolojik gelişmelere bağlı olarak hızla arttığı görülmektedir. Her geçen yıl büyüyen küresel enerji ihtiyacının önemli bir bölümünü fosil yakıtlar karşılıyor olsa da giderek artan talebinin yanı sıra petrol ve petrol ürünleri gibi fosil enerji kaynaklarının rezervleri de hızla azalmaktadır. Ayrıca bu yakıtların yakılması ile ortaya çıkan karbon dioksit, karbon monoksit, azot oksitler, metan, kükürt dioksit gibi gazların sürekli salgılanması sonucu küresel ısınma, iklim değişikliği ve sera etkisi gibi çevre sorunları da oluşmaktadır. Günümüzde rezervleri azalan, çevreyi kirleten fosil enerji kaynaklarının yerine doğa ile dost, yenilenebilir kaynakların kullanımı gündeme gelmiştir (Çetinkaya ve Karaosmanoğlu, 2003).

Uluslararası Enerji Ajansı'nın 2008 yılında yayınladığı rapora göre dünyada enerji tüketiminde en büyük payı yine petrol ve kömür gibi fosil yakıtlar oluşturmaktadır. Bu sıralamayı doğal gaz takip etmekte; geri kalan tüketim de biyokütle ve nükleer enerji gibi diğer enerji kaynaklarından karşılanmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Yakıt çeşidine göre dünyada 1990-2030 yılları arası enerji tüketim grafiği (EIA, 2008).

Uluslararası Enerji Ajansı'nın aynı raporda yayınladığı tahmine göre, dünyanın enerji ihtiyacı 2005 yılından 2030 yılına kadar %50 oranında büyüme gösterecektir (EIA, 2008).

Tüm dünyada kişi başına düşen enerji tüketim miktarındaki artış ve bunun sonucu başlayan yeni kaynak arayışları toplumların bilim ve mühendislik alanında araştırmaların üzerinde yoğunlaştığı önde gelen iki temel unsur olmuştur (Durusoy and Gümüşderelioğlu, 2004).

Bu tablodan şu sonucu çıkarabiliriz ki; günümüzde artan nüfusla beraber fosil yakıtların yoğun şekilde kullanılması, mevcut enerji kaynaklarının tüketilmesi, ortaya çıkan ve giderek büyüyen çevre problemleri, alternatif enerji kaynaklarına duyulan ihtiyaç teknolojik, bilimsel ve sektörel anlamda yeni, temiz, yenilenebilir enerji kaynakları bulunması ve kullanılabilir hale getirilmesi gibi beklentiler yaratmıştır. Bu durum yüksek verime sahip, temiz ve çevreye zarar vermeyen enerji dönüşüm teknolojisi olan yakıt pillerinin önemini ortaya koymaktadır.

## **2.2. Yakıt Pili**

Enerji kullanımının büyük bölümünün giderek tükenmekte olan ve artan miktarda çevresel probleme yol açan fosil yakıtlardan sağlanması sonucu yakın gelecekte oluşacak enerji problemi son yıllarda dünyada üzerinde tartışılan önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Bu noktada temiz, güvenli ve yüksek verimli olması gibi özellikleri barındırdığından yakıt pilleri, gelecekte ihtiyaç duyulan enerjinin büyük bir kısmını karşılaması düşünülen enerji çevrim araçları olarak ilgiyi çekmektedir (Oğuz, 2006).

Yakıt pilleri, yakıtlardaki kimyasal enerjiyi doğrudan elektrik enerjisine çeviren cihazlar olarak tanımlanır. Yüksek verimle güç üretimi ve düşük çevresel zarara yol açmaları, yakıt pillerinin geleceğin enerji kaynağı olarak sayılmasında büyük payı olan iki önemli özelliğidir (Appleby and Foulkes, 2004).

### **2.2.1. Yakıt Pili Tarihsel Gelişimi**

Yakıt pili fikri ilk olarak 1838 yılında İngiliz fizikçi Sir William R. Grove tarafından ortaya atılmıştır. Suyun elektrolizi konusunda çalışmalar yapan bilim adamı, yakıt hücrelerinin temel çalışma prensibi olan elektrolizin tersine çevrilmesiyle hidrojen

ve oksijenden elektrik enerjisi üretme fikrine ulaşarak ilk yakıt pilini geliştirmiştir. Geliştirdiği hücreyle çinko sülfat içerisine çinko elektrot ve nitrik asit içerisine platin elektrot daldırılarak yaklaşık 1.8 volt civarında gerilim ve 12 amperlik akım üretmiştir. Sonrasında da elektrolit olarak seyreltik sülfürik asit, oksitleyici etken olarak oksijen ve yakıt olarak da hidrojenden oluşan yakıt pili sistemi yapmıştır. 1882 yılında Lord Rayleigh platin elektrotların verimini arttırmak için katı elektrot, gaz ve sıvı arasındaki işlem yüzeyini artırarak ve yakıt olarak kömür gazı kullanarak çalışmalar yapmıştır. 1889 yılında Ludwig Mond ve Charles Langer, Grove'un çalışmalarından hareketle, oksijen kaynağı olarak havayı, hidrojen kaynağı olarak da endüstriyel kömür gazını kullanarak 1.5 W güç üreten ve % 50 verimle çalışan bir yakıt pili geliştirmişlerdir ve ilk olarak literatüre yakıt pili (fuel cell) terimini geçirmişlerdir. 1894'de Wilham Oswald kömür türevli yakıtlar ile çalışan bir elektrokimyasal pil yapmıştır. Sonrasında da 1932 yılında Francis T. Bacon hidrojen-oksijen hücre ve alkalın elektrolitin kullanıldığı ilk başarılı yakıt pilini geliştirmiştir. 1959'da Bacon, Mond ve Langer, daha sonraları modifiye edilerek Amerikan uzay programlarında kullanılacak olan, 5 kW'lık güç üreten bir yakıt pili yapmışlardır. Aynı yılın sonunda Harry Karl Ihring 20 beygir (yaklaşık 15 kW) gücünde yakıt piliyle çalışan traktör tasarlamış ve günümüzdeki modern yakıt piliyle çalışan makineler için bir ilk gerçekleştirmiştir (Bıyıköğlü, 2003; Yıldızbilir, 2006; Çavuşoğlu, 2006).

1950'lerin sonunda Amerikan Ulusal Uzay Dairesi (NASA), uzay araştırmalarında güç gerektiren sistemler için nükleer reaktörlerin riskli olması, pillerin ve akülerin çok ağır ve kısa ömürlü olmaları nedeniyle enerji kaynağı olarak yakıt pilleri kullanımına başlamışlardır.

1960'lı yıllara gelindiğinde NASA, hafif ve güvenli olmaları ve yan ürün olarak su üretmeleri yanı sıra; yüksek verim, düşük gürültü ve titreme, yüksek enerji yoğunluğu gibi avantajlarından dolayı uzay çalışmaları için oldukça uygun görülen bu yeni teknolojiye ciddi yatırımlar yapmıştır. Apollo ve Gemini uzay mekiklerinde elektrik ve su üretimini yakıt pilleriyle sağlamış ve ilk olarak Gemini uzay aracında General Elektrik tarafından üretilen proton değişim membran yakıt pili kullanılmıştır (Oğuz, 2006; Yıldızbilir, 2006; Çavuşoğlu, 2006).



1970'li yıllarda devlet destekli yakıt hücresi araştırmaları başlamıştır. General Motor aynı tarihlerde "Elektrovan" adlı yakıt hücresiyle çalışan bir araç geliştirmiştir.

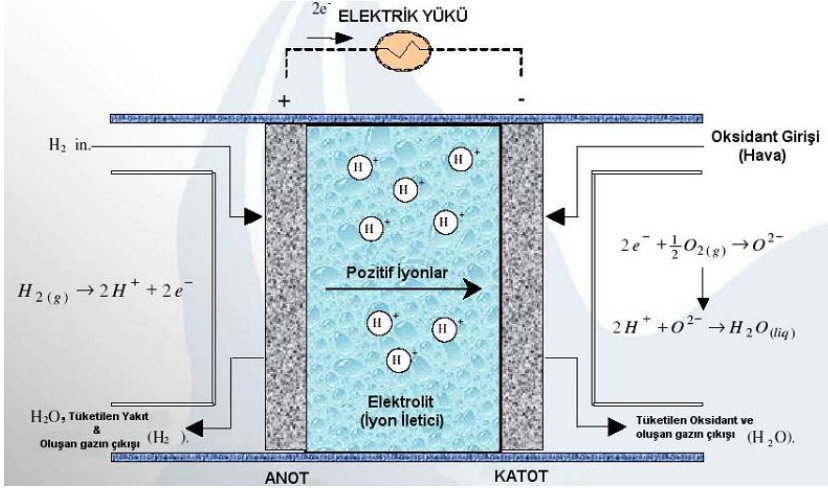
Son yıllarda bilim ve teknolojiye önde giden devletler ileriye dönük enerji yatırımlarının tamamını yakıt pili teknolojisi üzerine odaklamışlardır. Gelecek için yakıt hücrelerinin geleneksel güç kaynaklarının yerinin alması beklendiğinden hem kanunlarla hem de teşviklerle bu teknolojinin bir an önce ülke çapında yayılmasına abalanmaktadır. Taşınabilir sistemler için olan mikro yakıt hücrelerinden sabit santraller gibi büyük güçlü yığın yakıt hücrelerine kadar geniş çaplı çalışmalar sürmektedir (avuşoğlu, 2006; Yıldızbilir, 2006).

### **2.2.2. Yakıt Pili alışma Prensibi**

Yakıt pili, kimyasal reaksiyon enerjisini doğrudan elektrik enerjisine dönüştüren elektrokimyasal bir cihazdır.

Bir yakıt pilinde, "anot" olarak tanımlanan yakıt elektrotunda yükseltgenme (oksidasyon) tepkimesi gerçekleşirken, "katot"ta indirgenme (redüksiyon) tepkimesi gerçekleşir. Yakıt pilinde yükseltgenme reaksiyonu sonucu açığa çıkan elektronların bir dış devre yardımıyla katoda doğru hareketiyle elektriksel akım yaratılırken, karşıt yüklerin (genellikle (+) pozitif yüklü iyonlar) elektrolite doğru hareketiyle devre tamamlanmış olur (Bullen et al., 2006).

Yakıt pillerinin en tipik olanı hidrojenin yakıt olarak kullanıldığı hidrojen/oksijen yakıt pilleridir. (şekil 2.2) Hidrojen oksijenle reaksiyona girer ve yan ürün olarak su ortaya çıkarken elektrik enerjisi elde edilir. Geleneksel hidrojen/oksijen yakıt pilleri iki aşamada çalışır. Hidrojen yakıt pilinin anot kısmında proton ve elektronlarına ayrılır. Elektrolit yalnızca protonların geçmesini sağlarken elektronların geçmesine izin vermez. Elektronlar anottan katoda bir dış devre yardımıyla geçerler. Elektrolit içinden geçen protonlarda, katoda gelen bu elektronlarla ve oksijenle reaksiyona girerek su ortaya çıkarılırlar. Elektronların anottan katoda bir dış devre yardımıyla geçişi sırasında elektrik üretilir (amcı, 2005).



Şekil 2.2. Hidrojen/oksijen yakıt pili çalışma prensibi (Çavuşoğlu, 2006).

### 2.2.3. Yakıt Pili Türleri

Yakıt pilleri bilim ve teknoloji alanında gerçekleştirilen araştırmalar ve yaşanan gelişmeler sonucunda çeşitlenmiştir. Operasyon sıcaklık ve basıncına, kullanılan yakıt ve oksitleyicinin türüne, yakıtın dolaylı veya doğrudan verilmesine ve ayrıca kullanılan elektrot ve elektrolit cinsine bağlı olarak yakıt pilleri sınıflandırılırlar (Linden, 1984).

#### 2.2.3.1. Çalışma Sıcaklığına Göre Yakıt Pilleri

- Düşük sıcaklıkta çalışan yakıt pilleri (0-150°C)
- Orta sıcaklıkta çalışan yakıt pilleri (150-500°C)
- Yüksek sıcaklıkta çalışan yakıt pilleri (500-1000°C)

Düşük sıcaklık yakıt pillerinin hidrojen gibi basit yakıt ve platin gibi iyi ve pahalı katalizör gerektirmelerine karşı, yüksek sıcaklık yakıt pilleri hidrokarbon yakıt ve daha ucuz katalizör kullanabilme potansiyeline sahiptir.

#### 2.2.3.2. Çalışma Basıncına Göre Yakıt Pilleri

- Düşük basınçta çalışan yakıt pilleri
- Orta basınçta çalışan yakıt pilleri
- Yüksek basınçta çalışan yakıt pilleri

#### 2.2.3.3. Kullandıkları Yakıt ve Oksitleyici Türüne Göre Yakıt Pilleri

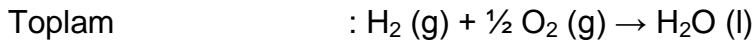
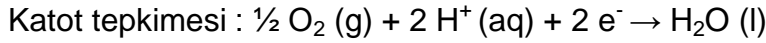
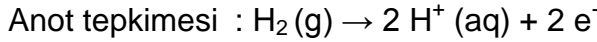
- Gaz girdili yakıt pilleri (hidrojen, amonyum, hava ve oksijen vb.)
- Sıvı yakıtlı yakıt pilleri (alkoller, hidrokarbonlar vb.)
- Katı yakıtlı yakıt pilleri ( kömür, hibritler vb.) (Çavuşoğlu, 2006)

#### 2.2.3.4. Kullandıkları Elektrolit Tipine Göre Yakıt Pilleri

- Polimer elektrolit (proton değişim) membranlı yakıt pilleri PEMYP (Proton Exchange Membrane Fuel Cells, PEMFC)
- Alkali yakıt pilleri, AYP (Alkaline Fuel Cells, AFC)
- Fosforik asit yakıt pilleri, FAYP (Phosphoric Acid Fuel Cells, PAFC)
- Erimiş karbonat yakıt pilleri, EKYP (Molten Carbonate Fuel Cells, MCFC)
- Katı oksit yakıt pilleri, KOYP (Solid Oxide Fuel Cells, SOFC)

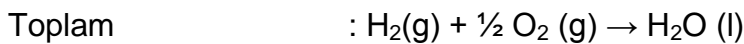
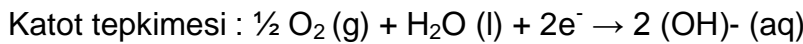
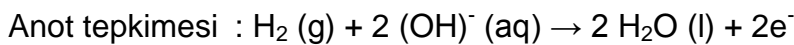
#### **Polimer elektrolit (proton değişim) membranlı yakıt pilleri (PEMFC)**

Elektrolit olarak yapısında flor bulunduran ve sülfonik asit polimerleri gibi iyon değiştirebilen çok ince polimer zar kullanılır. Proton geçirgen özellikte olan ve su, yakıt, oksijen ve havadaki diğer gazları geçirmeyen zarın kalınlığı azaldıkça verimliliği artar. Katalizör olarak anot ve katotta Pt (platin) veya Pd (paladyum) gibi metaller kullanılmaktadır. Çalışma sıcaklığı genellikle 100°C altında olup tipik çalışma sıcaklığı 60-80°C'dir. Proton değişim zarlı yakıt pilleri, ulaşım sektöründe kullanılan küçük birimler için kullanılan en uygun yakıt pili dir. PEM yakıt pilleri uzay teknolojisinde ve uzay araçlarında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.



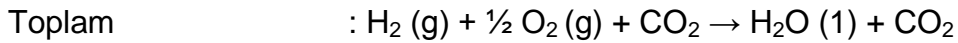
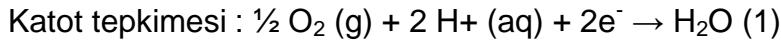
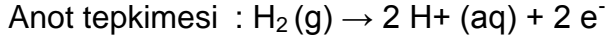
#### **Alkali yakıt pilleri (AFC)**

Elektrolit olarak sodyum hidroksit (NaOH) veya potasyum hidroksit (KOH) çözeltileri kullanılmaktadır. Yakıt olarak hidrojen, oksitleyici olarak da oksijen veya hava kullanılmaktadır. KOH ya da NaOH derişimi azaldıkça çalışma sıcaklığı da düşer, ortalama 80-120°C civarındadır. Katalizör olarak Ni (nikel), Ag (gümüş), metal oksitler veya özel bazı metaller kullanılır. Alkali yakıt pilleri çalışma ömürlerinin uzun olduğundan, uzay araçlarındaki uygulamalarda ve NASA'nın diğer uygulamalarında en eski ve en çok kullanılan yakıt pili çeşididir. Bunun yanı sıra elektrikli araçlarda ve denizaltılarda da kullanılmaktadır.



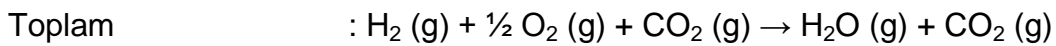
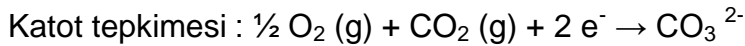
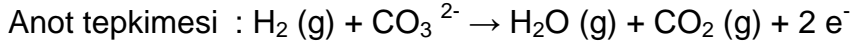
### **Fosforik asit yakıt pilleri (PAFC)**

Elektrolit olarak %100 fosforik asit (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) kullanılır. Çalışma sıcaklığı 150-220°C'dir. Katalizör olarak anot ve katotta Pt (platinum black) veya Pd (paladyum) kullanılmaktadır. Fosforik asitli yakıt pillerinin ulaşım araçlarında kullanımı en uygun seçenek olarak gözükmemektedir. 1970'li yıllarda Los Alamos National Laboratory mühendisleri fosforik asitli yakıt piliyle çalışan golf arabası üretmiştir.



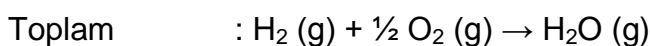
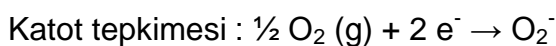
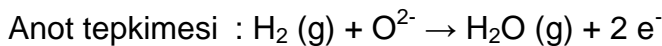
### **Erimiş karbonat yakıt pilleri (MCFC)**

Elektrolit olarak Li (lityum), Na (sodyum), K (potasyum) gibi alkali karbonatlarının LiAlO<sub>2</sub> biçimindeki seramikleri kullanılır. Bu elektrolit 650-700°C çalışma sıcaklığına sahiptir ve karbonat iyonları iletimi sağlamaktadır. Katalizör olarak anotta Ni (nikel) katotta ise nikel oksitler kullanılmaktadır. Erimiş karbonat yakıt pilleri çok yüksek çalışma sıcaklıklarına ihtiyaç duyduğundan ancak sabit, büyük santrallerde yerleşimleri mümkün olmaktadır.

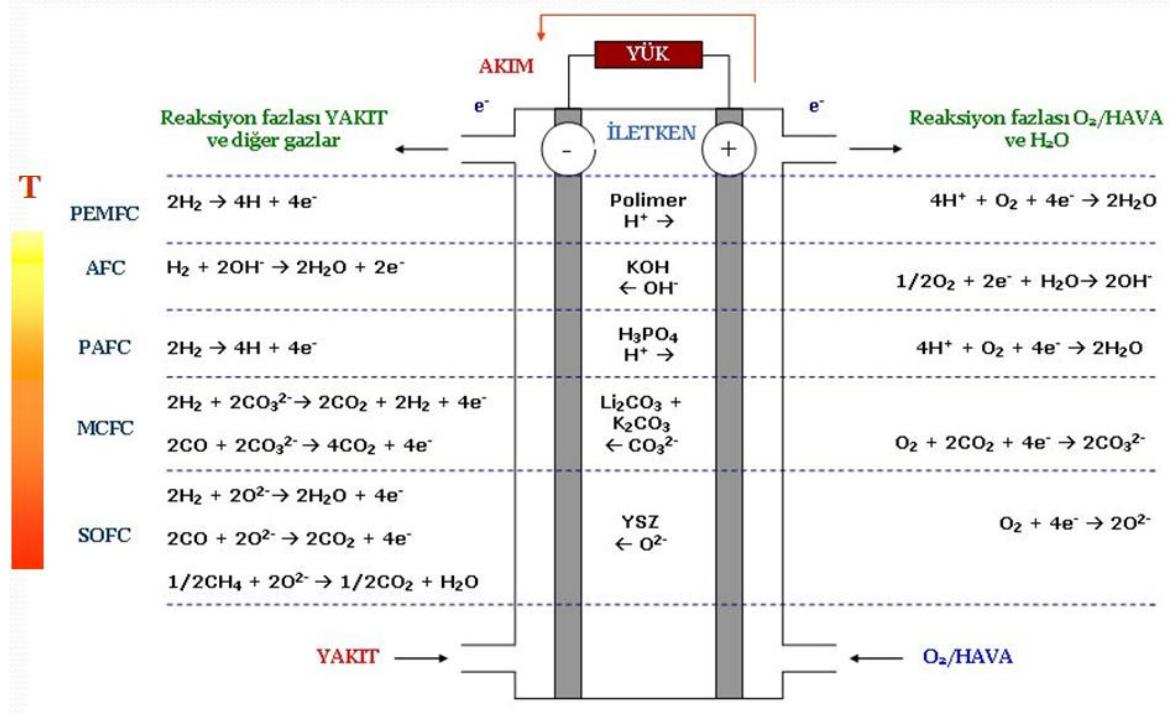


### **Katı oksit yakıt pilleri (SOFC)**

Elektrolit olarak katı, gözeneksiz metal oksitler genellikle Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ile desteklenmiş ZrO<sub>2</sub> kullanılır. Katı oksit yakıt pillerinde yakıt olarak hidrojenin yanı sıra doğal gaz da kullanılabilir. Çalışma sıcaklığı 650-1000°C'dir. Katalizör olarak anotta Co-ZrO<sub>2</sub> veya Ni-ZrO<sub>2</sub> katotta ise Sr ile desteklenmiş LaMnO<sub>3</sub> kullanılır. Katı oksit yakıt pilleri, erimiş karbonat yakıt pillerinde olduğu gibi çok yüksek sıcaklıklarda faaliyet gösterdiğinde genelde büyük sabit santrallerde kurulur ve yine yüksek sıcaklıktan dolayı açığa çıkan ısı kojenerasyonda kullanılmaya uygundur. Yakıt pilinden çıkan ısının buhar türbinlerinde kullanılması da mümkündür.



Ayrıca 'Doğrudan metanol kullanan yakıt pili (DMYP)', 'Dönüşümlü yakıt pili (DYP)', 'Çinko-hava yakıt pili (ÇHYYP)', 'Protonik Seramik yakıt pili (PSYP)' diğer yakıt pili tipleri arasındadır (Bıyıkoğlu, 2003; Appleby and Foulkes, 2004; Oğuz, 2006). Elektrolit tipine göre sınıflandırılmış yakıt pili Şekil 2.3'de özetlenmiştir.



Şekil 2.3. Elektrolit tipine göre sınıflandırılmış yakıt pilleri ve çalışma prensipleri (Appleby and Foulkes, 2004).

## 2.2.4. Yakıt Pili Uygulama Alanları

İlerleyen bilim ve teknolojiyle beraber yakıt pili teknolojisi de gelişmektedir ve bu gerçekleşen bu gelişmeler yakıt pillerinin çok farklı alanlarda kullanımını sağlamaktadır. Yakıt pili teknolojisinin uygulama alanları, uzay çalışmaları ve askeri uygulamalardan, evsel ve çevresel (atık/atık su uygulamaları) uygulamalar ile ulaşım ve taşıma alanındaki uygulamalara, sabit güç sistemlerinden taşınabilir uygulamalara kadar oldukça geniş bir yelpazeye sahiptir. Bu uygulamalar çeşitli ana başlıklar altında incelenebilir.

### 2.2.4.1. Uzay Çalışmaları/Askeri Uygulamalar

Yakıt pillerinin en geniş uygulanma alanı bulunduğu yerlerden biri uzay çalışmalarıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde NASA'nın çalışmaları kapsamında Apollo, Gemini, ve Space Shuttle uzay gemileri için  $H_2/O_2$  yakıt pilleri üretilmiştir

(325 kW/h'lik enerji üretimi sağlanmıştır); ve ayrı olarak Gemini uzay aracında PEM yakıt pilleri kullanılmıştır. Bugün uzay mekiği elektriği 12 kW'lık yakıt pilleri ile üretilmektedir. Amerikan UTC Fuel Cell firması NASA ihtiyacını karşılamaktadır.

Yakıt pilleri aynı zamanda yakıt çeşitliliği ve veriminden dolayı, askeri amaçla da kullanılabilir en iyi yakıtlardan biridir. Gerek askeri araçlarda, gerek ısı ve elektrik ihtiyacı durumunda kolay kullanımıyla askeri yönden kullanım alanı bulan bir enerji kaynağıdır.

#### **2.2.4.2. Taşımacılık Uygulamaları**

Gerek kara, gerek hava veya da deniz taşımacılığı olsun bu alanda da yakıt pilleri geleceğin alternatif enerji kaynağıdır. Enerjiyi doğrudan hattan alarak (tren, trolleybüs, tramvay, metro gibi), depolanmış bir sistemden kullanarak (akülü taşıtlar, ultra kapasitörlü taşıtlar), taşınabilir bir sistemden anında üreterek (yakıt pilli taşıtlar, güneş pilli-fotovoltaik pilli taşıtlar) ya da hibrit şeklinde (benzin-yakıt pili, motorin-yakıt pili taşıtları) uygulanabilecek taşıma sistemleri için yakıt pili teknolojisi daha temiz ve enerji bakımından daha verimli olması açısından oldukça avantajlıdır.

Yakıt pillerinin uygulandığı ve gelecekte de daha fazla yer bulacağı alan otomotiv sektörüdür. Günümüzde taşıt emisyonlarının çevre kirliliği üzerindeki etkileri düşünüldüğünde, yakıt pili ile çalışan araçlar çevre dostu ve daha verimli olmasından dolayı da doğru bir tercihtir. Otomotiv sektöründe hedef, içten yanmalı motorların yerine 75 kW gücünde yakıt hücre sistemlerini yerleştirmektir.

Hava taşımacılığında da yakıt pili uygulama alanı bulmuştur. Helios isimli planör uçuşu için gerekli enerjiyi geliştirilen hidrojen kaynaklı yakıt pilinden sağlamaktadır. Airbus şirketi yaptığı çalışmaları doğrultusunda, uçakta kullanılacak yakıt pili prototipi üzerinde çalışmalarını sürdürmektedir.

Bunun yanında deniz taşımacılığında, 1980'de ilk defa yakıt pillerinin denizaltılara uygulanması ile ilgili Howaltswerke-Deutsch Werft AG (HDW), Ingenieurkontrol Lubeck (IKL) ve Ferrostaal tarafından bir şirketler birliği oluşturmuştur. İlk araştırmalarda PEM yakıt pillerinin denizaltı sistemlere uygulanması ile ilgili büyük gelişme kaydedilmiştir. Daha sonra Siemens tarafından 6.2 kW'lık yakıt pilleri geliştirilmiştir. Bunun yanında yat ve gemi sektörü de yakıt pilli gemiler üzerine

çalışmalarını sonuca ulaştırmak üzeredir. Üretilen bazı yat ve gemiler bu sektörün de yakıt pilli araçlar konusunda geride kalmayacağı sinyallerini vermektedir.

#### **2.2.4.3. Evsel Uygulamalar**

Sessiz ve temiz çalışan yakıt pilleri, konutlarda elektrik ve ısıtma ihtiyacını karşılayabilecek iyi bir yakıt alternatifidir. Evsel uygulamalarda kullanılacak yakıt pilleri için oluşturulan prototiplerin çoğunda hidrojen, propan ve doğal gazdan elde edilmekte ve yakıt pili ünitesi de hidrojen ve havadaki oksijeni, elektrik, su buharı ve ısıya dönüştürmektedir. Böylece konutlarda hem elektrik üretiminin sağlanması, hem de oluşan ısının geri kazanılarak ısıtma sistemlerinde kullanılması planlanmaktadır. Ancak günümüz koşullarında bir pilin maliyeti ve sağlayacağı enerji düşünüldüğünde, geri ödemesinin karşılanamadığı görülmektedir. Çok sayıda şirket bu problemi aşmak amacıyla konut uygulamaları için yakıt pilleri geliştirmekte ve test etmektedirler. Ayrıca konut tipi yakıt pillerinin ticaretini ilerletmek için, yakıt pillerini teşvik edici, konut uygulamalarında yakıt pili satın alan iş ve konut sahibi vergi mükelleflerine kredi imkânı sağlayacak kanun tasarıları hazırlanmıştır.

#### **2.2.4.4. Çevresel Uygulamalar (Atık/Atık Su Uygulamaları)**

Evsel uygulamaların yanı sıra çevresel uygulamalarda da yakıt pili teknolojisi yerini bulmuştur. Atık su ve atıkların işlenmesi sırasında yanma reaksiyonları sonucunda oluşan emisyonları azaltmak ve oluşan metan gazından güç elde etmek için özellikle biyolojik esaslı yakıt pilleri kullanılmaktadır. 1992 yılında California, Sun Valley'deki Penrose atık alanındaki başarılı deneme testinde, atık alanlarında ve su arıtma tesislerinde yakıt pili çalışması için epey yol kat edilmiştir. Elektrik üretmek için kentsel atığın işlenmesinden elde edilen metan emisyonlarını kullanan yakıt pili birimi aynı zamanda an aerobik sindiricilerin yeni gelen kentsel atığı işlemek için ihtiyacı olan ısıyı kendi üzerinden sağlayacaktır.

#### **2.2.4.5. Sabit Güç Üretim Sistem Uygulamaları**

Sabit güç santralleri yakıt pili teknolojisi için önemli bir pazar konumundadır. Pek çok sabit güç kaynağı olarak kurulmuş yakıt pili istasyonu, hastane, otel, iş yerleri, okullar, havaalanları vb. yerlere enerji sağlamaktadır.

Büyük miktarlarda elektrik üretecek yakıt pillerinde katı oksit ya da ergimiş karbonat teknolojisi yeğleniyor. Bunlar gerek fosforik asitli gerekse PEM'li yakıt pillerinden çok daha yüksek sıcaklıklarda çalışıyor ve enerji verimleri de % 55 düzeyinde. Elektrik üretimi esnasında ortaya çıkan karbon dioksit ve sıcak su buharı da başka bir türbini döndürmede, yani ilave elektrik üretiminde kullanılıyor. Böylece bu yakıt pilli elektrik santrallerinde enerji verimi % 80'ler düzeyine yükseliyor. Görülmemiş düzeydeki enerji veriminin yanı sıra, yakıt pilli elektrik santrallerinin çok az yer kaplaması bir diğer avantajdır ve elektriğin, tüketicilerin bulunduğu kentlerden uzakta üretilmesi gerekliliğini ortadan kaldırmaktadır. Gelecekte tüketicilerin bulunduğu yerlerin yakınına kurulacak yakıt pilli santralleri, gereksinimleri karşılayacak elektrik santrallerinden kullanıcılara kadar uzanan yüzlerce hatta binlerce kilometrelik iletim hatlarına, aradaki transformatör merkezlerine de gerek kalmayacaktır. Böylece üretim sırasında ortaya çıkan elektrik kayıpları ve fazla maliyetin de önüne geçilecektir.

#### **2.2.4.6. Taşınabilir Güç Kaynağı Uygulamaları**

Taşınabilir güç kaynağı gerektiren uygulamalar için gelişmekte olan ve çalışmaların sürdüğü yakıt pilli teknoloji, telekomünikasyon alanında, bilgisayar dünyasında, görüntü teknolojisinde, alarm sistemleri gibi alanlarda uygulama bulacaktır. Örneğin enerji tüketimi ortalama 400 mW olan cep telefonları ve enerji tüketimi ortalama 10 W olan dizüstü bilgisayarları her gün büyüyen bir pazar payına sahiptir ve bu cihazların bataryaları ömür ve verim açısından geliştirilmeye açıktır. Cep telefonu ve dizüstü bilgisayarlarda kullanılan piller içinde en verimli olan Li-on bataryaların yaklaşık 160 Wh/kg'lık bir enerjisi (telefon için 1-2 günlük ve dizüstü bilgisayar için yaklaşık 3 saatlik bir enerji) vardır. Bu anlamda giderek artan talebi karşılamaya yönelik çalışmalar yakıt pilli destekli şarj edilebilir, küçük boyutlu piller üzerinde yoğunlaşmıştır. Günümüzde kullanılan batarya ile aynı oranda yer kaplayacak ve yakıt tankının bir dolumuyla (metanol, hidrojen..vb.) günümüz pillerinden 3–5 kat daha fazla enerji sağlayacak yakıt pilli prototipleri oluşturulmuştur ve ilk ticari pilin 2010 yıl içinde piyasada olacağı söylenmektedir (Yıldızbilir, 2006; Çavuşoğlu, 2006).



### 2.2.5. Yakıt Piliin Avantajları ve Dezavantajları

Yakıt pilleri kendisine yakıt ve oksitleyici temin edildiği sürece çalışarak elektrik enerjisi üretmeye devam eden elektrokimyasal cihazlardır. Geleneksel enerji üreten sistemlere göre oldukça üstün özelliklere sahip olmaları yakıt pillerinin geleceğin enerji üretim kaynağı olarak görülmesinde temel sebeptir.

Yakıt pillerinde enerji üretim verimi konvansiyonel enerji sistemlerine göre oldukça yüksektir. Elektrik enerjisi eldesinde termal sistemlerin aksine "Carnot çevrimi" kısıtlamalarından etkilenmeyen yakıt pili sistemlerinde ortalama verim % 70 civarındadır.

Yakıt pillerinin çevresel zararları diğer yakıtlara oranla oldukça düşüktür. Bir yakıt hücresinde meydana gelen emisyon miktarı (karbon dioksit, karbon monoksit, azot oksitler, metan, kükürt dioksit gibi gazların emisyonu) diğer yakıtlara göre ihmal edilecek kadar azdır. Ayrıca hareketli parçaları olmadığından sessiz çalışıp gürültü kirliliği yaratmazlar ve katı atık içermezler.

Yakıt pillerinde kullanılacak yakıt sayısı çok çeşitlidir, fosil ve alternatif yakıtların kullanımının kolaylığı nedeniyle çok farklı alanlarda kullanılabilmektedir.

Yakıt pillerinde ölçü ve boyut esnekliği vardır, yani istenilen büyüklükte ve kapasitede hücreler üretilebilir. Basit bir yapıya sahip olan yakıt hücreleri modüler sistemlerdir ve taşınabilirler, montaj süresi kısadır ve gerekli görülen her yerde kullanılabilir ve yerleştirilebilirler. Yani bir yakıt pilinin işletim karakteristiği uygulamada oldukça kolaylıklar sağlar.

Yüksek sıcaklıklı yakıt pillerinde elektrik üretiminin yanı sıra yan ürün olarak oluşan atık ısı geri kazanılabilir ve buhar santralleri gibi çeşitli yerlerde yeniden kullanılabilirler.

Yakıt pilleri dayanıklı ve güvenli sistemlerdir.

Yakıt pili teknolojisi geleceğe yönelik olarak gelişme potansiyeli oldukça yüksek bir teknolojidir.

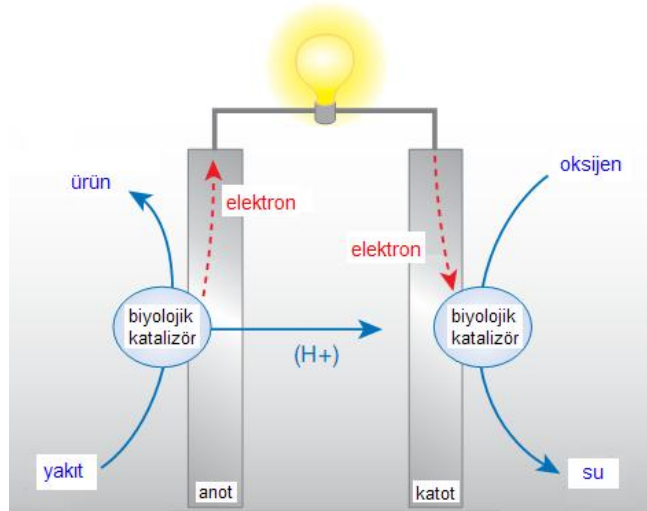
Yakıt pili teknolojisi araştırmalarında ve üretimlerinde maliyet yüksektir. Güç üretim endüstrisi için yeni sayılabilecek bir teknolojidir ve gelişimleri için daha ileri bir

teknolojiye ihtiyaç vardır. Bazı yakıt türleri için (hidrojen, metanol..vb) bir dağıtım altyapısı bulunmamaktadır. Ömürleri içindeki maddelere bağlıdır ve tam olarak belirlenememektedir. Son olarak da uygulamalarının ve seri üretimlerinin tam verimle gerçekleşmesi için biraz daha zamana ve paraya ihtiyaç vardır (Çetinkaya ve Karaosmanoğlu, 2003; Yıldızbilir, 2006; Çavuşoğlu, 2006).

### 2.3. Biyoyakıt Pili

Son yıllarda, yeni bir çeşit enerji dönüşüm teknolojisi olan; maliyet, verimlilik, küçük ölçekli sistemlere güç kaynağı olarak uygulanabilirlik ve oda sıcaklığı ile basıncı gibi normal koşullarda çalışabilirlik gibi özelliklere sahip olmasıyla konvansiyonel enerji sistemlerinden tümüyle farklı olan biyoyakıt pilleri bilimsel araştırmaların ve geliştirme çalışmalarının odak noktası olmuştur.

Biyoyakıt pilleri, kimyasal enerjinin elektrik enerjisine dönüşümü için yenilenebilir ve güçlendirilebilir enerji kaynağı olarak biyokütle, yani glukoz ya da etil alkol gibi yakıtları ve biyokatalizör olarak da enzim ya da mikroorganizmaları kullanarak elektriksel güç üretirler (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Tipik bir biyoyakıt pili gösterimi (www.sciencemag.org, 2008).

Konvansiyonel yakıt pilleri Pt, Pd ya da Ru gibi pahalı metal katalizörle ihtiyaç duyarken, biyoyakıt pillerinde kullanılan biyokatalizörler bu tip yakıt pillerine biyoyoumluluk, yüksek verim ve membran gereksinimini ortadan kaldıracak substratla seçiciliği gibi avantajları sağlamaktadır. Bu özellikler biyoyakıt pillerini biosensörler, kalp pilleri, kateterler, defibrilatörler, aktif taşıma cihazları (örneğin insulin pompaları), ilaç salım sistemleri, orta kulak işitme cihazları, kedinden güç

üreten yapay kaslar ve biyo-elektronik alanında uzaktan algılama, iletişim cihazları gibi implant edilebilen sistemlerde kullanımı için uygun hale getirmektedir. Bu tip dikkate değer özellikleri ve çeşitli alanlarda gerçekleştirilen çarpıcı uygulamaları araştırmacıları biyoyakıt pili teknolojisini geliştirmeye motive etmiştir (Inamuddin et al., 2009).

### **2.3.1. Biyoyakıt Pilinin Tarihsel Gelişimi**

Biyolojik reaksiyonlarla elektrokimyasal olayların birbiriyle bağlantısı ilk olarak 1780'li yıllarda Galvani'nin yaptığı deney sırasında statik elektrik üreticiden çıkan akımın bir kurbağanın bacağında seğirmeye yol açtığını keşfetmesiyle ortaya çıkmıştır (Galvani, 1791). Bundan sonra ise elektriksel etkinin biyolojik bir tepkimeyi başlatabildiği gibi tersinin de doğru olduğu, biyolojik bir prosesin elektriksel enerji kazanımı için kullanılabileceği fikri ortaya çıkmıştır. Bu konuda atılan ilk adım 1910 yılında Potter tarafından geliştirilmiş mikroorganizma (*Escherichia coli*) kullanarak elektrik üreten bir yarı hücredir. Bu sonuçlar 1931 yılında seri olarak bağlanmış mikrobiyal yakıt pillerinden 35 V üzerinde bir gerilim yaratan Cohen tarafından geniş bir şekilde rapor edilmiştir (Cohen, 1931). 1960'ların sonuna doğru, biyoyakıt pillerinde serbest enzim kullanımı başlamış ve kalıcı implant kalp için güç kaynağı oluşturma fikrinin temelleri atılmıştır (Wingard et al.,1982; Kreysa et al.,1990).

Biyoyakıt hücresi kavramı ilk olarak 1982 yılında Wingard ve ekibi tarafından öne sürülmüş ve bu alanda araştırmalara yön verilmiştir (Wingard et al., 1982). Daha sonra Aston ve Turner 1984'te enzimler ile elektrotların elektriksel ilişkilerini incelemişler, ancak çalışmalarında enerji üretiminden çok biyosensör tasarım ve kullanımına odaklanmışlardır (Aston and Turner, 1984). Van Dijk ve ekibi bir sonraki yıl yaptıkları çalışmalarda enzim katalizli biyoyakıt hücrelerini, bunların elektro-sentezlerini ve amperometrik biyosensörleri incelemişlerdir (Van Dijk et al., 1985). Palmore ve Whitesides, 1994 yılında öz bir giriş yaptıktan sonra 1985 ve 1992 yılları arasında yapılmış foto-mikrobiyal hücre deneylerini de içeren mikrobiyal ve enzimatik yakıt pilleri ile ilgili çalışmaların bir özetini yayınlamışlardır. Willner ve ekibi enzimleri tek-tabakalı veya çok-tabakalı şeklinde yeniden yapılandırılarak ve bağlayıcı kofaktörleriyle kullanarak biyosensör elektrotlarına bağlanması için uygulanacak metotları araştırmışlardır (Palmore and Whitesides, 1994). 1998 yılında da mikroperoksidazı altın katot üzerine immobilize ederek,

glukoz oksidaz ve kinon ile katodu modifiye ederek bir yakıt pili tasarlamışlardır (Willner et al.,1998). Katz ve ekibi 1999 yılında bir yakıt pili hücresinde anot ile katodu yarı-geçirgen bir membran ile ayırmanın zorunlu olmadığını göstermişler ve yine aynı sene içerisinde glukoz oksidaz ile immobilize edilmiş anot ve sitokrom c oksidaz bağlanmış katottan oluşan bir yakıt pili oluşturmuşlardır (Katz et al., 1999). 1999'da Cosnier daha çok biyosensör açısından yaklaşımlarda bulunmakla birlikte biyomoleküllerin elektrot yüzeylerine tutuklanması ya da elektrokimyasal polimerizasyonla oluşturulmuş filmlere bağlanması konusunda çalışmalar yapmıştır (Cosnier, 1999).

2000'li yıllara girildiğinde Habermuller ve ekibi amperometrik biyosensörlerde, biyoyakıt hücresi tasarımlarında da potansiyel kullanıma sahip birçok elektron transfer yolunu içeren, elektron transfer mekanizmalarını incelemişlerdir (Habermuller et al., 2000). Kano ve Ikeda 2000'de ara yüzeyin kullanıldığı (mediated) biyo-elektrokatalizlemenin temellerini ve uygulamalarını yazarak biyo-elektrokimyasal kinetik ve termodinamik için bir derleme yayınlamışlardır (Kano and Ikeda, 2000). Sonraki yıl biyolojik reaksiyonları incelemek üzere elektrokimyasal yaklaşımlarda bulunmuşlar; 2003 yılında da biyo-elektrokimya alanında kinoprotein enziminin tek başına ve hücrenin bir kısmı olarak bulunduğu biyo-elektrokatalizleme ve biyosensör uygulamalarını gerçekleştirmişlerdir (Kano and Ikeda, 2003). Aynı sene içerisinde Katz ve ekibi mikrobiyal ve enzimatik biyoyakıt hücresi sistemlerini içeren konu üzerinde yapılan çalışmalar ve yazılan makaleleri toparlamış derlemeleri güncellemişlerdir (Katz et al. 2003). Wong ve Schwaneberg 2003 yılında biyo-elektrokatalizlemenin protein mühendisliğine uygulamalarını gerçekleştirmişlerdir (Wong and Schwaneberg, 2003). Heller 2004'te implant edilebilen biyosensörlere güç sağlayabilmek için fiber glukoz/O<sub>2</sub> biyoyakıt pili kavramlarını, tasarımının temelini ve tahmini yeterliliğini içeren bir özet hazırlamıştır (Heller, 2004). Shukla ekibiyle birlikte 2004 yılında biyoyakıt pillerine kendi nihai uygulamalarını içeren bir özet yazmışlardır (Shukla et al., 2004). Akers ve ekibi 2005'de metanol ve etanol gibi alkol bazlı yakıtlar kullanan biyoyakıt pilini tasarlamışlardır (Akers et al., 2005).

Son yıllarda biyoyakıt hücresi çalışmalarına bakıldığında atılan en büyük adım biyoanot ve biyokatot kavramlarının geliştirilmesi ve ara yüzey kullanımıyla

sağlanan elektron transferi (MET) yerine doğrudan elektron transferi (DET) sağlayan sistemin tasarlanması olmuştur. Bu gelişme ile kullanılan ara yüzeyin yarattığı kısa pil ömrü, katalitik yetersizlik ve düşük verim gibi problemlerin bir ölçüde üstesinden gelinmiştir. Doğrudan elektron transfer sistemi daha önce bazı elektro-analitik uygulamalarda yer alsa da biyoyakıt pillerinde ilk olarak 2006 yılında uygulanmıştır: Bu çalışmalar, “lakkaz kullanılarak oksijenin indirgendiği biyokatot geliştirilmesi” (Yan et al., 2006), “bilirubin oksidaz kullanılarak oksijenin indirgendiği biyokatot geliştirilmesi” (Duma and Minteer, 2006) ve “glukoz oksidaz kullanan biyoanot geliştirilmesi” (Ivnitski et al., 2006) konuları ile literatürde yer almıştır.

Ulaşılan bir diğer büyük gelişme immobilize edilen enzimlerin aktif yaşam sürelerinin uzatılması olmuştur. Tampon çözelti içerisinde 8-20 saat kadar aktif yaşam sürelerinin olduğu bilinen enzimlerin ömürleri hapsetme yoluyla elektrot yüzeyine tutuklanması, kimyasal bağlanma ve çapraz-bağlanma yöntemleri kullanılarak 7-20 güne kadar uzatılabilmektedir (Kim et al., 2006). Günümüzde enzimlerin aktivitesi misel yapısındaki polimerler içine hapsetme yöntemiyle 1 yıla kadar uzatılabilmektedir. Bu tip polimerler fiziksel olarak enzimi hapsederek, sağlanan biyo-uyumlu hidrofobik ortamda enzimi denaturasyondan korurlar (Moore et al., 2004; Topcagic et al., 2004; Akers et al., 2005).

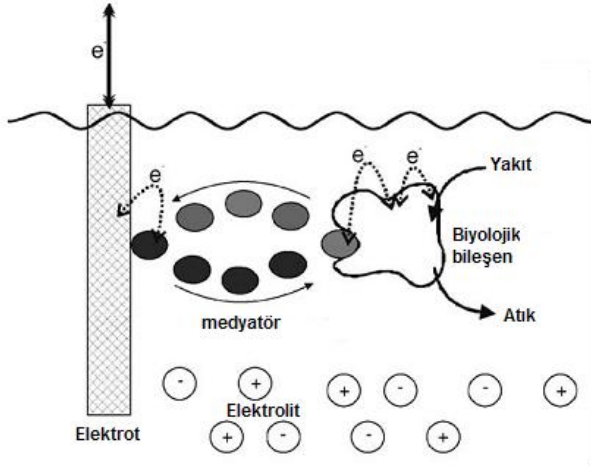
Enzim tabanlı yakıt pilleri, yenilenebilir katalizöre sahip olma, yakıt çeşitliliği, oda sıcaklığı ve basıncı gibi normal koşullarda çalışabilir olma ve benzeri özellikleriyle enerji dönüşümü için çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Buna rağmen, bu tip yakıt pilleri kısıtlı ömür, düşük güç yoğunlukları ve daha az etkili yakıt oksidasyonu gibi kısıtlamalara da sahiptir. Bilim ve teknolojinin biyoyakıt pili alanında üzerinde yoğunlaştığı çalışmalar bu tip kısıtlamaları ortadan kaldırmaya yöneliktir ve hedef daha uzun ömürlü, daha yüksek güç yoğunluklu biyoyakıt pilleridir (Minteer et al., 2007).

### **2.3.2. Biyoyakıt Pili Çalışma Prensipleri**

Biyolojik yakıt pilleri aktivitelerinin bir bölümünü biyolojik katalizleme ile sağlayan yakıt pilleri olarak düşünülebilir (Palmore and Whitesides, 1994). Başka bir deyişle biyoyakıt pilleri biyokimyasal etkileşimler içeren elektrokimyasal tepkimelerle

kimyasal enerjiyi doğrudan elektrik enerjisine çeviren cihazlar olarak tanımlanır (Bullen et al., 2006).

Bir biyoyakıt pilinde, yakıt biyolojik bileşen üzerinde yükseltgenir (oksidasyon) ve açığa çıkan elektronlar direk olarak ya da “medyator” denilen aracı katman yardımıyla elektroda transfer olur. Şekil 2.5’de medyatorlu bir biyoyakıt pilinde gerçekleşen elektron transferini anlatan şematik gösterim mevcuttur.



Şekil 2.5. Biyoyakıt pili yarı hücresinin şematik gösterimi (Bullen et al., 2006).

### 2.3.3. Biyoyakıt Pili Türleri

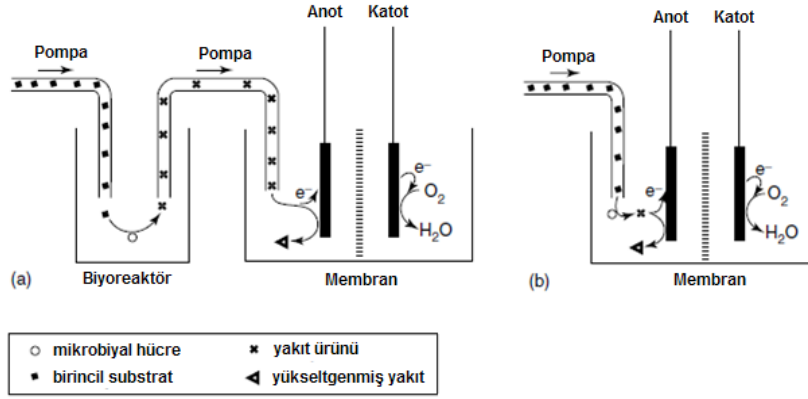
Biyoyakıt pilleri temelde ikiye ayrılır: “Mikrobiyal yakıt pilleri” ve “Enzimatik yakıt pilleri”. Mikroorganizmaların katalizlediği tepkimeler sonucu enerji üreten piller mikrobiyal yakıt pilleridir; öte yandan enzimatik yakıt pillerinde ise enerji üretimi enzimlerin katalizlediği tepkimeler sonucu gerçekleşmektedir. Bir yakıt pilinde biyokatalizörün esas işlevi organik bir substratın (örneğin glukoz) yükseltgenme tepkimesini katalizlemektir. Bir biyoyakıt pilinde kullanılan katalizör ekmeq mayası gibi basit bir organizma ya da daha gelişmiş *Rhodospirillum rubrum* benzeri mikrobiyal bir tür olabildiği gibi saf proteinden elde edilmiş oksidaz ya da peroksidaz türevleri bir enzim de olabilir (Gunawardena, 2008).

#### 2.3.3.1. Mikrobiyal Biyoyakıt Pili

Mikrobiyal yakıt pilleri katalizör olarak mikroorganizmaların kullanıldığı tepkimeler sonucu enerji üreten pillerdir.

Mikrobiyal yakıt pillerinde kullanılan mikroorganizmalar bünyesinde birden çok enzim ve substrat sistemi barındırdığından, bu organizmaların bir yakıt pilinde mikro-reaktörler olarak kullanımı, enzimlerin tek başına yakıt pili sistemlerinde işleyişine oranla daha yüksek bir verim sağlamaktadır; çünkü tek başlarına kullanımlarında enzimlerin ihtiyaç duyulan yalıtım problemi ortadan kalkmaktadır ve organizmaların bünyesinde bu biyoaktif materyaller kendi doğal ortamlarında ve optimum koşullarda çalışmaktadırlar (Katz et al., 2003; Bullen et al., 2006).

Mikroorganizmalar metabolik reaksiyonları sırasında çıkan ara ürünler ya da anaerobik solunum sonunda çıkan ürünler gibi elektrokimyasal aktif maddeler üretebilmektedirler. Bu elektrokimyasal aktif maddeler enerji üretimi amacıyla bir biyoyakıt pili için yakıt olarak kullanılabilir (Şekil 2.6).

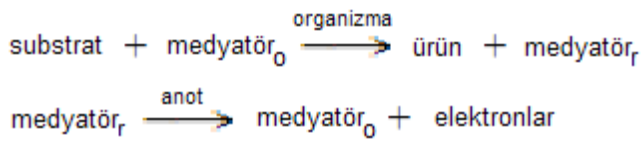


Şekil 2.6. Bir mikrobiyal yakıt pilinin şematik gösterimi. (a) elektrokimyasal hücrenin anodik kısmından ayrı bir yerde yakıt sağlayan mikrobiyal biyoreaktörlü sistem. (b) elektrokimyasal hücrenin anodik kısmında yakıt sağlayan mikrobiyal biyoreaktörlü sistem (Katz et al., 2003).

Enerji üretimi amacıyla bu yakıt ürünlerinin bir yerde üretilip bir biyoyakıt piline yakıt olarak taşınımı Şekil 2.6.a.'da gösterilmiştir; bu sistemde biyokatalitik mikrobiyal reaktör biyoyakıt pilinin biyolojik kısmını oluştururken, sistemin elektrokimyasal kısmıyla direk olarak bağlı değildir. Bu düzen elektrokimyasal kısmın, sistemin biyolojik kısmıyla uyumlu olmayan koşullarda çalışabilmesine olanak sağlar ve iki bölümde birbirinden bağımsız zamanlarda ayrı ayrı çalışabilir. Bu tip çalışan biyoyakıt pili için verilebilecek en yaygın örnek, hidrojenin yakıt olarak kullanıldığı biyoreaktörle kombine çalışan yüksek verimli bir H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> yakıt pilidir.

Diğer bir yaklaşıma göreyse, mikrobiyal fermantasyon prosesi bir yakıt pilinin anodik kısmında yürürken, anot için gerekli yakıt aynı anda ve ortamda gerçekleşen bu fermantasyon ürününün direk olarak elektroda verilmesiyle sağlanır. Şekil 2.6.b.'de de görülen durumda, anodik taraftaki işletim koşulları biyolojik sistem tarafından belirlenir. Bu sistem, konvansiyonel bir yakıt piliyle kombine bir biyolojik reaktör olarak değil, gerçek bir biyoyakıt piline daha yakındır. Bu yapılandırma da yine hidrojen gazının biyolojik olarak üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır; ancak H<sub>2</sub>'nin elektrokimyasal yükseltgenmesi biyolojik bileşen varlığında ve normal koşullar altında yürütülür. Diğer metabolik ürünler de (örneğin format, H<sub>2</sub>S...) böyle bir sistem için yakıt olarak kullanılabilir.

Üçüncü bir yaklaşım, mikrobiyal biyokatalitik sistemle elektrot arasındaki elektron aktarımını gerçekleştiren yapay elektron transfer rölelerin uygulamasını içermektedir. “Medyatör” denilen bu elektron transfer molekülleri elektronları mikroorganizmaların biyolojik elektron transfer zincirinden alır ve biyoyakıt pilinin anoduna aktarır. (Şekil 2.7) Bu durumda, mikroorganizmalar üzerinden gerçekleşen biyokatalitik süreç kendiliğinden gerçekleşenden farklıdır, çünkü elektron akışı doğal bir elektron alıcısı yerine anoda doğru gerçekleşmektedir. Doğal elektron alıcıları genellikle daha etkili olduğundan, tanımlanan bu sistemle yarışa girer ve bu sebeple genellikle sistemden uzaklaştırılırlar. Birçok durumda mikrobiyolojik sistem anaerobik koşullar altında (O<sub>2</sub> sistemden uzaklaştırıldığında) elektron transferinin yapay elektron transfer rölesi üzerinden anoda doğru geçişiyle çalışır (Katz et al., 2003).



Şekil 2.7. Mikrobiyal yakıt pillerinde medyatörlü elektron aktarımının şematik gösterimi (Bullen et al., 2006).

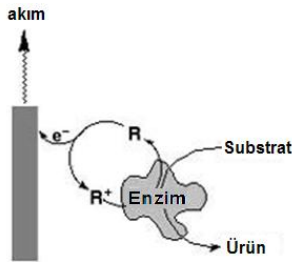
Fotomikrobiyal yakıt pilleri ise; birçok ortak özelliğe sahip olsa da, elektrik enerjisine dönüştürülen enerjinin bir yakıt substrattan değil bir ışık kaynağından sağlanması ve kullanılan medyatörün ışık kararlılığı olması gerekliliği gibi özellikleriyle diğer mikrobiyal yakıt pillerinden ayrılmaktadır. Bu çeşit yakıt pillerinde iki tip çalışma şekli bahsedilebilir: Birincisinde ışığa sırasında enerji



üretir ve aynı hücrede depolanıp sonrasında serbest kalarak fotosentetik olmayan bir yakıt piliyle işleme devam ediyormuş gibi proses devam eder. İkinci şekilde ise; enerji, ışımaya sırasında elektronları aktaran bir medyatör tarafından ekstrakte edilir. Fotomikrobiyal bir yakıt pili bu çalışma şekillerinden bir ya da aynı anda ikisiyle birlikte çalışabilir. Seon ve grubu, Yagishita ve grubu, Tsujimura ve grubu (Yagishita et al.,1999; Seon et al.,1993; Tsujimura et al., 2001) yaptıkları çalışmalarla bu alanda son örnekleri vermişlerdir (Bullen et al., 2006).

### 2.3.3.2. Enzimatik Biyoyakıt Pili

Metal bazlı birtakım inorganik katalizörlerin yerine mikroorganizma ve/veya enzim gibi biyolojik katalizörlerin kullanıldığı biyoyakıt pillerinde, biyoaktif materyal olarak enzim kullanımı hücrede gerçekleşen tepkimelerin daha tanımlanmış ve spesifik olması ihtiyacından ortaya çıkmıştır (Bullen et al., 2006; Davis and Higson, 2007). Enzimatik katalizleme ile gerçekleşen tepkime sonucu açığa çıkan elektron elektroda aktarılır (Şekil 2.8).

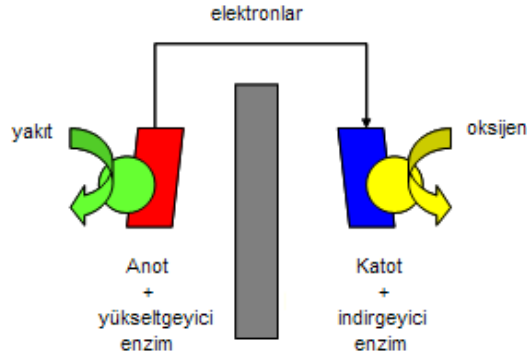


Şekil 2.8. Elektrot üzerinde gerçekleşen enzimatik tepkimenin şematik gösterimi (Katz et al., 2003).

Yakıt pillerinde kullanılan mikroorganizmalar bünyesinde birden çok enzim ve substrat sistemi barındırmaktadır; öte yandan bir enzimin tek başına katalizeyeceği hedef substrat (ya da yakıt) için spesifik olarak seçilebilmesi yakıt pili sistemlerinde membran ihtiyacını kaldırabilmesi ve çeşitli durumlarda daha yüksek verimlere ulaşılabilmesi gibi avantajlar sağlamaktadır (Katz et al., 2003).

Enzimatik bir biyoyakıt pilinde, yakıt enzimlerin katalizlediği bir tepkime ile anot üzerinde yükseltgenirken proton ve elektronları oluşturur. Protonlar elektrolit boyunca, elektronlar da dış devre üzerinden katoda doğru ilerlerler. Bu esnada katot üzerinde yükseltgen olarak görev yapan bileşen (genellikle oksijen ya da peroksidaz enzimleri) bu elektron ve protonlar ile reaksiyona girer ve su oluştururlar. Elektronların harici devreden geçişi sırasında elektriksel enerji elde

edilmiş olur. Şekil 2.9'da enzim tabanlı bir biyoyakıt pilinin şematik gösterimi mevcuttur.



Şekil 2.9. Enzim tabanlı bir biyoyakıt pilinin şematik gösterimi (Kim et al., 2006).

Bir yakıt pilinin geliştirilmesi aşamasında biyokatalizör ve elektrot arasındaki elektron iletimi en kritik noktalardan biridir (Kim et al, 2006). Bu aktarım için genel olarak iki yaklaşımdan söz edilebilir. Mikrobiyal yakıt pillerinde de olduğu gibi, biyokatalitik sistemle elektrot arasındaki elektron aktarımını gerçekleştiren elektron transfer molekülleri yani medyatör varlığında aktarım ilk yaklaşımdır. Medyatörler enzimatik tepkime sonucu açığa çıkan elektronları alarak indirgenir ve yeniden yükseltgenirken elektronları biyoyakıt pilinin anoduna aktarır. Diğer yaklaşım ise son yıllarda özellikle araştırmaların üzerinde yoğunlaştığı ve medyatör gereksinimi ile yine medyatör kaynaklı olumsuzlukları önlemek üzere geliştirilmeye çalışılan direk elektron aktarım mekanizmasıdır.

Enzimatik biyoyakıt pillerinde enzimlerin kısa süreli aktivitelerinden kaynaklanan sınırlı pil ömrü ve düşük güç yoğunlukları bu tip yakıt pillerinde karşılaşılan en temel iki problemdir. Dünyada son dönemde hızlı bir gelişme sürecine giren enzim tabanlı biyoyakıt pili teknolojisi özellikle bahsedilen bu iki kritik parametre açısından geliştirilmeye muhtaçtır. Bu alanda yapılan araştırmalar, kullanım süresi ve verimlilik problemlerine çözüm bulmaya odaklanmıştır.

#### 2.3.4. Biyoyakıt Pilinin Uygulama Alanları

Alternatif güç kaynağı olarak biyoyakıt pillerinin geliştirilmesi üzerinde artan yoğun çalışmalar, ilerleyen bilim ve teknolojiyle beraber biyolojik yakıt pillerinin de kullanım alanları bulmasını sağlamaktadır. Farklı açılardan öne çıkan bazı avantajları biyoyakıt pillerinin kullanım alanlarını da farklılaştırmakta ve

genişletmektedir. Uygulamalar, ulaşım, taşıma, implant edilebilen gücü kaynakları, atık su arıtımı, robotlar ve daha değişik birtakım alanları da kapsayan geniş bir yelpazeyi içermektedir.

Günümüzde dünyanın önde gelen enerji kaynağı olan fosil yakıtların kullanımı ile meydana gelen evre sorunları ve bu kaynakların sınırlı olması sonucu ulaşım, taşıma ve haberleşme gibi alanlarda da biyoyakıt kullanımı gündeme gelmiştir. Gücü kaynağı olarak karbonhidratlı biyoyakıt pilleri geliştirildiği takdirde bu alanlarda bahsedilen problemlerin bazılarını en aza indirecektir. 1 litre derişik karbonhidrat zeltisinin bir arabaya 25-30 km gidebilecek kadar gücü sağlayabileceği hesaplanmıştır (Shukla et al., 1999). Bu alanda biyoyakıt pili kullanımı sadece çevresel problemleri ortadan kaldırmakla kalmaz, aynı zamanda trafik kazaları sonucu oluşan yangın riski ve uçucu, yanıcı büyük miktarlarda yakıtın taşınımından doğan riski de azaltmış olur.

Biyoyakıt pilleri, işletimi için gerekli yakıt ve oksijenin yakın çevrelerinden sağlanabildiği canlı sistemlerde potansiyel olarak kullanılabilir ve bu olası bazı implant edilebilen medikal aletlerde gücü kaynağı olarak büyük potansiyel sağlar. Örneğin, glukoz tayini için bir biyosensör, glukoz oksidaz bazlı bir anot ve bir sitokrom c katottan elektrik akımı üretmek üzere geliştirilmiştir. Bu proses 1-80 mM aralığında glukoz konsantrasyonunun ölümü için biyosensör olarak kullanılabilir. Laktat için benzer sensör geliştirilmiştir (Katz et al., 2001). Minyatür, implant edilebilen yakıt pilleri için diğer potansiyel kullanımlar, bu amaç doğrultusunda yeteri kadar küçük olan biyoyakıt pilleri ile entegre ilaç salım sistemlerini kapsamaktadır (Mano et al., 2003; Moore, 2005).

Birçok yakıt pilinin atık su akımlarında bulunan maddelerin oksidasyonu ile enerji ürettiği gösterilmiştir. İki faydalı amaç bu prosedür ile gerçekleştirilebilir: atık akımdan organik maddelerin uzaklaştırılması ve elektriksel gücü retimi. Konu ile ilgili yapılan bir hesaba göre 150000 kişilik bir kasabanın atık suyu, potansiyel olarak %100 verimlilik varsayımı ile 2.3 MW'a kadar gücü üretmek üzere kullanılabilir. Atık suyun kimyasal oksijen ihtiyacının %80 kadarı bir mikrobiyal yakıt pilinde arıtım ile uzaklaştırılabilir ve bu şekilde üretilen elektriğin ileriki atık su arıtımına gücü sağlama da kullanılabilmesi olasıdır. Yapılan ekonomik analiz, bu

sistemin lokal güç maliyetlerine dayalı olmasına karşın bu uygulama için potansiyel olduğunu göstermektedir (Logan, 2005).

Gücünü biyoyakıt hücresinden sağlayan ve çeşitli zorlukları aşarak insanların yaşayamadığı yerlerde kullanılabilen robot düşüncesi daha önceleri tartışılmaktaydı. İlk örnek, Slugbot isimli robot için üretilmiş bir biyoyakıt pildir. Adından da anlaşılacağı gibi salyangoz avlayan Slugbot, avladığı böcekleri depolama tankında biriktirerek bataryası tükendiği anda mikrobiyal bir yakıt pili gibi davranıp organizmaları sindirerek bataryasını doldurmak üzere kendi enerjisini kendisi üretebilmiştir (Kelly, 2003). Bir diğeri "Chew-Chew" olarak isimlendirilen besini tüketerek hareket edebilmesi için kendi enerjisini üreten bir robottur (Davis and Higson, 2007).

### **2.3.5. Biyoyakıt Pilinin Avantajları ve Dezavantajları**

Enzimlerin yüksek biyo-katalizleme hızlarıyla bağlantılı olarak, enzim tabanlı yakıt hücrelerinin yüksek dönüşüm hızlarına sahip olması son dönemlerde araştırmaların bu yönde artmasına sebep olmuştur. Enzimatik yakıt hücreleri daha küçük uygulamalara olanak verecek, bu sayede küçük cihazlarda kullanılacak ve gündelik yaşama daha kolay adapte edilebilecektir. Spesifik olma özelliğinden dolayı geleneksel yakıt pillerindeki membran gereksinimi ortadan kalkmaktadır. Mikroorganizmaların kullanıldığı yakıt pillerindeki çeşitli sıhhi tehlikeler önlenmektedir ve substrat ile doğrudan etkileşim söz konusudur. Öte yandan düşük güç yoğunlukları, sınırlı enzim ömrü ve aktivitesi bu tip yakıt pillerinin geliştirilmesi gereken yönlerindedir.

### **2.4. Enzim Elektrotları**

Enzim modifiye edilmiş elektrotlar amperometrik biosensörlerin ve biyoyakıt hücrelerinin temel bileşenleridir (Sarma et al., 2008).

Enzim elektrodu, elektrokimyasal bir süreci enzim aktivitesi ile birleştirerek çalışan minyatür bir kimyasal dönüştürücüdür (Updike and Hicks, 1967).

Enzim, elektron aktarım medyatörleri, bağlama ve tutuklama için kullanılan moleküller, iletken destek ortamı ve elektrot yapısındaki katı destek materyali gibi maddelerin uygun kombinasyonlarının seçilmesi enzim modifiye elektrotların

yapımında elektron transfer kinetiği, kütle transferi, kararlılık ve yeniden üretilebilirlik gibi parametreler açısından verimliliğini denetlemeye yardımcı olur.

Enzim elektrodu, elektrokimyasal bir probun elektrot bünyesine tutuklanmış ince enzim tabakası ile kombinasyonudur. Bu cihazlarda enzimin fonksiyonu biyolojik tabanlı tek bir substrat molekülüne olan ilgi sayesinde seçicilik sağlamaktır.

Tipik olarak, enzim reaksiyonunun kinetiği, ürünlerin oluşum hızıyla ya da girdilerin tüketim hızıyla belirlenebilir. Eğer ürün ya da reaktant elektrokimyasal olarak aktif ise tepkimenin gelişimi amperometrik yöntemler ile takip edilebilir. Böylelikle benzer elektrokimyasal tepkimeler amperometrik biyosensörler ve biyoyakıt hücreleri geliştirilmesi için kullanılabilir (Sarma et al., 2008).

Yaklaşık yarım yüzyıl önce, ilk enzim elektrodunun keşfinden beri bu alanda yapılan araştırmalar yoğunlaşmış ve oldukça geniş bir literatür oluşturmuştur (Clark and Lyons, 1962; Charlton et al., 1963; Updike and Hicks, 1967).

Enzim elektrotlarının en temel iki unsuru enzim ve elektrot materyalidir.

Elektrot materyali seçiminde öncelikli değerlendirilecek iki kıstas malzemenin elektriksel iletkenliği ve sertliğidir. Bu yüzden genellikle elektrotlar yaprak ya da çubuk şeklinde; altın, platin, karbon (metalik karbon, camı karbon, karbon fiber, nanotüp filmleri, vb.) gibi katı destek materyallerinden oluşturulmaktadır.

Enzim elektrodunda kullanılacak enzimin seçimi ise kullanılacak analit ve gerçekleşecek tepkime dikkate alınarak belirlenir. Redoks enzimleri (oksidoredüktaz enzimler) amperometrik bir enzim elektrodu tasarımında yaygın olarak kullanılan enzimlerdir. Alkol dehidrogenaz, aldehid dehidrogenaz, glukoz oksidaz (GOx), glutaminaz, peroksidaz, katalaz, üreaz, bilirubin oksidaz ve laktat oksidaz bu redoks enzimlerinden bazılarıdır. Tüm bu enzimler arasında glukoz oksidaz (GOx) kanda şeker tayini için önemli olduğundan en yaygın olarak kullanılanlardandır. Bunların yanında, lipaz ve esteraz gibi hidrolitik enzim olarak bilinen enzimler de enzim elektrodu tasarımlarında kullanılmaktadırlar.

Enzimleri elektrot yüzeyine tutturma işlemi bir enzim elektrodunun verimliliğini etkileyen en kritik adımlardan biri sayılmaktadır. Glutaraldehit ya da başka bir bifonksiyonel ajanlarla çapraz bağlama (Babu et al., 2007; Noss et al., 2008),

antijen-antibodi etkileşimleri (örneğin avidin-biotin üzerinden bağlama) (De Palma et al., 2007; Barhoumi et al., 2008), manyetik etkileşimler (De la Rica et al., 2007; Gao et al., 2008), polimer içine tutuklama ya da kapsülleme (Cosnier, 2007) gibi farklı kimyasal, biyokimyasal ya da fiziksel yöntemler enzimleri elektrot yüzeyine tutturmak için uygulanmaktadır.

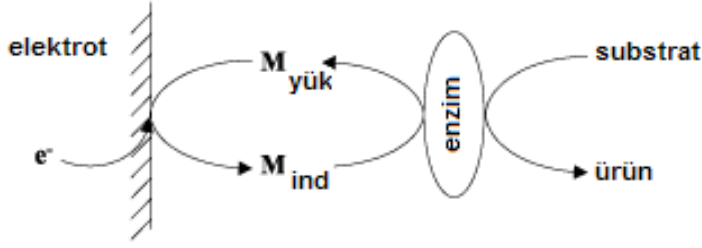
Tüm bu yöntemler içinde araştırmacıların en çok dikkatini çeken polimerik materyalleridir. Polipirol, polianilin, polifenol, politiyofen, poli-1,3-fenilendiamin, polivinilpiridin, polivinil alkol, polikarbonat, nafyon, kitosan ve naylon enzim elektrotlarında kullanılan polimerik materyaller arasında en yaygın olanlarıdır. Polimerik materyaller kullanılarak yine polimer adsorpsiyonu, çapraz bağlı adsorpsiyon, kovalent bağlama, çapraz bağlama, tutuklama ve kapsülleme yöntemleri enzim tutturmak için kullanılabilir.

Bir enzim elektrodunun ömrü, enzimatik redoks tepkimesi ile elektrot arasındaki elektron aktarım hızı ve enzim elektrodunun küçük hacimlere indirilebilmesi disiplinler arası araştırmaların merkezindeki kritik noktalardan bazılarıdır. Nanoteknoloji ve malzeme alanlarında gerçekleşen gelişmeler enzim elektrotlarının bu konularda ilerlemesine yardımcı olacaktır (Sarma et al., 2008).

#### **2.4.1. Medyatörlü Elektron Aktarımı (MET)**

Enzim elektrotlarında yaşanan en temel sorun oksijen ve hidrojen peroksit gibi yan substratların varlığıdır. Elektronların olası yan substratlarla etkileşime girmeden biyolojik elektron transfer zincirinden alınıp direk olarak elektroda aktarımını sağlayacak moleküller, enzim elektrodunun verimliliğini düşüren bu problemin üstesinden gelebilmiştir.

Bir enzim elektrodunda enzimin aktif kısmından aldığı elektronları elektron yüzeyine aktaran moleküllere medyatör denilmektedir. Sentetik ya da biyolojik olarak aktif yüklü taşıyıcılar olan ve enzim redoks merkezi ile elektrot arasında bir aracı gibi davranan medyatörler, enzimatik tepkime sonucu açığa çıkan elektronları alarak indirgenir ve yeniden yükseltgenirken elektronları biyoyakıt pilinin anoduna aktarır (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Medyatörlü elektron aktarımının şematik gösterimi (Kano and Ikeda, 2003).

Medyatörlü elektron aktarımı (MET) enzim ile elektrot arasındaki elektron transferini hızlandırarak yakıt pilindeki verimliliği ve güç yoğunluğunu artırmaktadır (Pas, 2007).

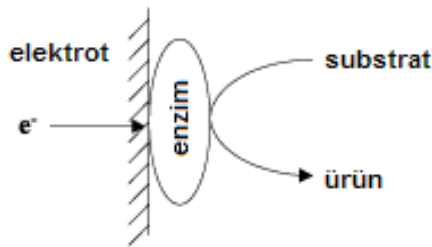
Medyatörlü elektron aktarımı (MET) gerçekleştiren hücreler geliştirilirken göz önünde bulundurulması gereken kilit nokta, uygun yakıt, enzim, medyatör ve elektrot kombinasyonunu sağlamaktır. Yakıt seçimindeki önemli etkenler yükseltgenme potansiyeli, erişilebilirlik ve maliyettir. Genellikle araştırmalar glukoz, etanol, metanol ve hatta üzüm suyu gibi yakıtlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Uygun bir medyatör hızlı elektrokimyasal kinetik, enzimle girişim yapmayacak yükseltgenme seviyesi ve kimyasal kararlılık gibi özellikleri barındırmalıdır. Ayrıca yakıtın potansiyeline yakın bir potansiyele sahip medyatör seçimi alınacak güç yoğunluğunu artıracaktır (Liu and Dong, 2007). Literatür incelendiğinde ferrosen ve kinon türevlerinin yaygın olarak kullanılan medyatörler olduğu görülmektedir (Willner and Katz, 2000; Yu and Sundmacher, 2007; Harper et al., 2008). Osmium kompleksleri, organik boyalar, bazı metal kompleksleri ve geçiş metal oksitleri gibi türler de çalışılmış diğer medyatörlerdendir. Kullanılan elektrotlar ise genellikle grafit ya da camı karbon elektrotlardır (Pas, 2007).

Medyatör kullanımı bir elektrotta yakıtın yükseltgenmesinden elektron çıkışına kadar işleyen zincir reaksiyonlara bir adım daha eklemesine rağmen, bu yöntemle genellikle daha yüksek verimlere ulaşılabilmektedir. Medyatörlü elektron aktarımındaki en temel sorun, bir biyoyakıt piline yakıtın sürekli beslenmesi gerekliliğinde aracı görevi görececek bileşenin de sürekliliğini sağlamaktadır (Kim et al., 2006).

#### 2.4.2. Direk Elektron Aktarımı (DET)

Yakıt pili teknolojisindeki en güncel gelişmelerden biri, direk elektron aktarımı (DET) uygulamalarıdır. Direk elektron aktarımının gerçekleştiği hücrelerde elektrodun yüzeyi arttırılır ve enzim içindeki redoks merkezi ile elektrot arasındaki mesafe azaltılır. Bu metot karşılaştırılabilir güç yoğunluğunu sürdürürken medyatör kullanımını ortadan kaldırılır (Pas, 2007).

Direk elektron aktarımında enzim, elektrodun hemen yanında substratın redoks tepkimesini katalizler ve elektronlar elektrot ile enzim aktif merkezi arasında direk olarak alınıp verilir (Şekil 2.11). Çalışmalar elektrotla direk olarak elektron aktarımı yapabilme özelliğine sahip bazı enzimlerin olduğunu göstermiştir (Allen, 1987).



Şekil 2.11. Direk elektron aktarımının şematik gösterimi (Kano and Ikeda, 2003).

Direk elektron aktarımında mekanizma MET'teki medyatörlü elektron iletimindekinin aynısıdır fakat bu yöntemde medyatör varlığı yerine enzimdeki redoks merkezinden elektroda giden elektron yolunun azaltabilecek materyallerin kullanımı söz konusudur. Medyatör kullanımının ortadan kalkması biyoyakıt pili maliyetini de azaltmış ve tasarımlarını kolaylaştırmıştır.

Enzim ve elektrot arasındaki direk elektron aktarım mekanizması sitokrom c, lakkaz, hidrogenaz ve mikroperoksidazları da içeren bazı peroksidazlar gibi yalnızca birtakım enzimlerde gözlenebilmektedir (Kim et al., 2006). Örneğin karbon nanotüpler ve alt birim olarak sitokrom c kullanan glukoz dehidrogenaz enzimi, medyatörsüz elektron aktarımını gerçekleştirdiği bir biyoyakıt pili geliştirilmesinde kullanılmıştır (Pas, 2007).

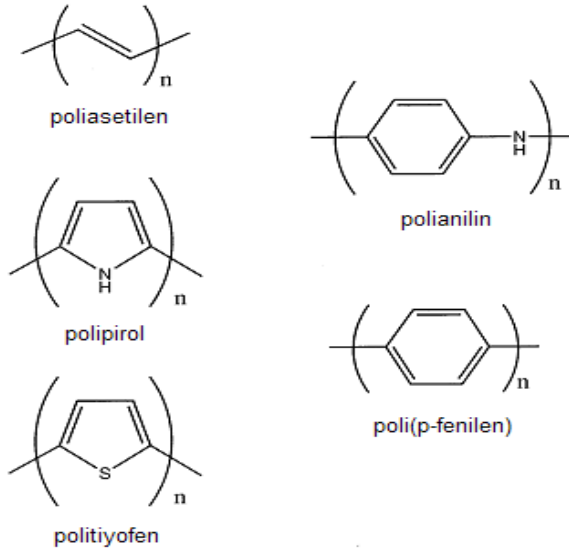
Elektrodun yüzeyi ile enzimin aktif bölgesinin birbirine yakın teması direk elektron iletimi için kritiktir (Varfolomeev et al., 1996; Ghindilis et al., 1997; Schuhmann, 2002; Freire et al., 2003).



## 2.5. İletken Polimerler

Redoks enzimlerinin elektro-aktif bir tabaka ile fonksiyonellik kazandırılmış bir elektrot yüzeyine tutturulması, yapısal dizilim ve en uygun redoks medyatörü seçimiyle birlikte enzim aktif merkezi ve iletken elektrot yüzeyi arasında etkili bir elektron aktarımını sağlar. Redoks enzimlerinin elektrot yüzeyine tutturulması için çarpıcı niteliklere sahip olan iletken polimerler biyosensör ve biyoyakıt pillerinde bazı elektriksel bağlantılarda kullanılmaktadırlar (Inamuddin et al., 2009).

Önceleri yalıtkan malzeme olarak kullanılan polimerler, 1973 yılında poliasetilen filminin bazı maddelerle katkılanarak metalik özellik gösterdiğinin belirlenmesi ile iletken malzeme olarak da kullanılabilceği düşünülmüştür. "Sentetik metal" olarak da adlandırılan iletken polimerlerin, inorganik yarı-iletken maddelere göre daha hafif, elektrokimyasal davranışlarının farklı (elektrokimyasal olarak tersinir) olması, bilim ve teknoloji alanındaki hızlı gelişmelere paralel olarak yeni malzemelere ihtiyaç duyulması bu polimerlerle ilgili çalışmaların artmasında itici bir güç olmuştur. Bazı iletken polimerlerin yapısı şekilde görülmektedir (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Bazı iletken polimerlerin yapısı (Cosnier, 1999).

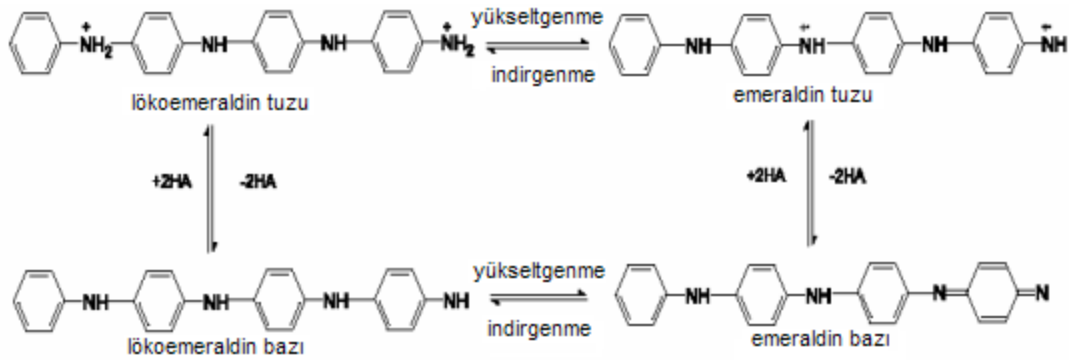
Elektronların taşınması, redoks polimerleri üzerlerinde yer alan birbirine komşu redoks bölgeleri arasında elektron alışverişi şeklinde gerçekleşirken iletken polimerler olarak adlandırılan (polianilin, polipirol gibi) yapılarda konjuge sistemler arasında delocalize elektronların hareketi ile sağlanır (Başbilen, 2006).

Polimerler genellikle yalıtkan veya düşük iletkenliğe sahiptirler. Şekil 2.13'de verilen polimerlerde olduğu gibi polimer zinciri boyunca konjugasyon varsa, bu konjugasyonun etkisi ile polimerler iletken özellik kazanmaktadır. Konjuge polimerler yasak enerji aralıkları (1.5 eV) bakımından yarı iletken özellik gösterirler. Yarı iletken özellikteki bu konjuge polimerlerin iletkenlikleri kimyasal veya elektrokimyasal yolla değiştirilebilmektedir. Yükseltgenme yada indirgenme yoluyla gerçekleştirilen bu işleme, inorganik yarı-iletkenlerdeki katkılama (doping) işlemine benzemesi nedeniyle aynı isim verilmektedir. Örneğin, katkılanmamış (nötral) poliasetilenin iletkenlik değeri, yarı iletkenlerin mertebesinde iken  $AsF_5$  molekülü ile katkılandığında bu değer yaklaşık 100 kat artarak metalik iletkenlerin düzeyine çıkarmıştır (Yakar, 2006).

Elektropolimerizasyonun kinetiği ve mekanizması özellikle polianilin ve polipirol için birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır. Çalışılan bileşiklerin çok çeşitli olması nedeniyle genel bir şema verilememektedir. Bununla birlikte, hemen hepsi için ilk basamak bir katyon radikalinin oluşmasıdır. Oldukça reaktif olan bu radikallerin davranışları, çalışma koşullarına, sıcaklığa, potansiyel değişim hızına, akım yoğunluğuna, elektrodun cinsine ve yüzeyin yapısına bağlı olarak değişir. Radikal oluşumundan sonra; iki radikal iyonun birleşmesi ya da bir katyon radikali ile nötral bir monomerin birleşmesi üzerinden polimer zinciri oluşmaya başlar. Bu aşamada, farklı ürünlere ya da bozuk yapıda zincir oluşmasına neden olan paralel dimerizasyon reaksiyonları da gerçekleşir. Çözeltideki inaktif iyonlar radikal iyonların stabilizasyonu için önemli rol oynarlar. Elektrot çevresinde katyon radikali konsantrasyonunun her an yüksek olması sağlanmalıdır. Radikal katyon ve dimerler elektrot yüzeyinden difüzyon yoluyla uzaklaşabilirler. Genellikle şiddetli karıştırma yapmak polimer üretimi verimini düşürür. Radikal katyonlar elektrot ile ya da çözücü molekülleri gibi nükleofilik moleküllerle yan reaksiyonlar vererek de verimliliğinin düşmesine yol açabilir. Genellikle monomerin oksidasyonu tersinmez bir proses olup polimerin tersinir redoks reaksiyonlarının gerçekleştiği potansiyellerden çok daha pozitif (anodik) potansiyellerde meydana gelir (Başbilen, 2006).

Polianilin (PAn) en yaygın olarak kullanılan iletken polimerlerden biridir. İletken polimer olarak polianilinin içerdiği avantajlar; monomerin ucuz fiyatı, kolay

sentezlenmesi, protonik asitlerle basit ve redoks olmayan katkılama girmesi ve nem, oksijen ve artan sıcaklığa karşı kararlı olmasıdır. Polianilin sentezinde geniş aralıklı reaksiyon şartları kullanılmaktadır. Sonuçta polimerin yapısında ve karakterize edilmesinde ortaya çıkan farklılıklar birçok değişik mekanizma tasarlanmasına katkı da bulunmuştur. Çoğunlukla tasarlanan mekanizmalar anilinin katyon radikaline oksidasyonu ile başlar. Katyon radikal oluşum basamağı tepkimenin yavaş basamağıdır. Polimerin büyümesi; büyüyen polimerin oksitlenmesi, aniline kapling ve deprotonasyonun tekrarlanan çevrimi ile sürer. Üç benzenoid halkalı Emeraldin baz ve dört benzenoid halkalı lökoemeraldin baz (LB) arasındaki iç dönüşümler Şekil 2.13.'de verilmiştir. Ayrıca aynı şekil baz ve iletken tuz arasındaki iç dönüşümleri de göstermektedir (Yakar, 2006).

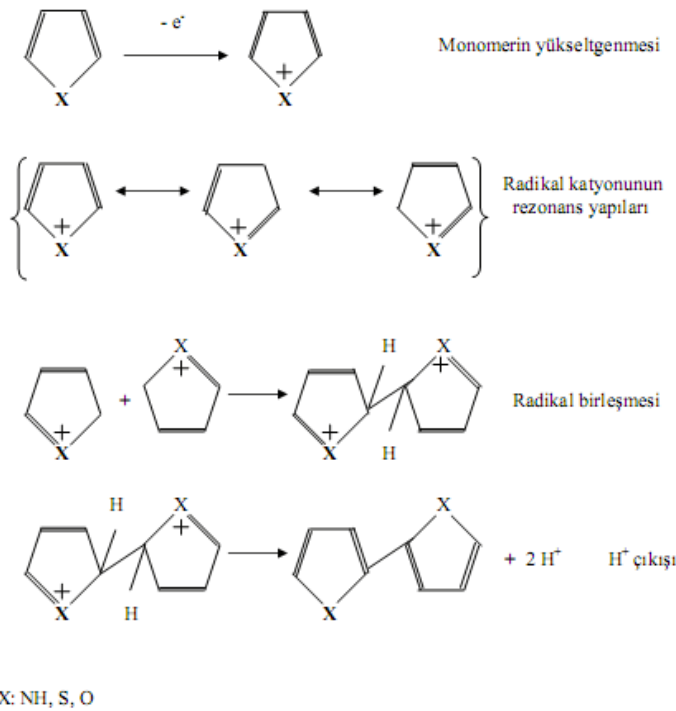


Şekil 2.13. Polianilin için yükseltgenme mekanizması (Yakar, 2006).

Polipirol (PPy) teknolojik uygulamalar için kullanışlı optik ve elektriksel özellikleri, oksitlenmiş haldeki kararlılığı, sentezinin kolaylığı gibi bir takım sebeplerden dolayı en çok çalışılan iletken polimerlerden birisidir (Sönmez ve Saraç, 2002). Polipirol iletken fonksiyonel yüzey oluşumunda biyo uyumlu olması, elektrotların üzerinde elektro-aktif anyon gibi girişim yaratacak bileşiklerin birikimini önlemesi ve bazı durumlarda redoks medyatörü gibi davranarak enzimden elektroda elektron aktarımını gerçekleştirebilmesi avantajlarına sahiptir. Genellikle galvanostatik (sabit akım yoğunluğu uygulanarak) yöntemle gerçekleştirilen polipirol (PPy) sentezi sırasında akım yoğunluğu çok önemlidir ve düşük akım yoğunluklarında iki boyutlu mikroskobik yapılar meydana gelir. Polimerin yapısı iletkenliğe etki eder, iki boyutlu yapının iletkenliği daha yüksektir ve sıcaklık değişimlerinden pek etkilenmez. İletkenliğin sıcaklıktan etkilenmemesi özellikle pratik amaçlı uygulamalarda istenilen bir özelliktir. Bu yapı üzerine yapılan ayrıntılı çalışmalar

göstermiştir ki, iletken iki boyutlu yapının odacıkları kısa ve tek boyutlu zincirler ile birbirlerine bağlanmışlardır (Başbilen, 2006).

Pirolün elektropolimerizasyonu ile polipirol oluşturma reaksiyonunda, anodik oksidasyon polimerizasyonu Şekil 2.14'den de görüldüğü gibi üç aşamada gerçekleşir. Öncelikle dimer oluşturmak için başka bir radikal katyonla etkileşen veya monomere elektrofilik olarak saldıran radikal oluşma reaksiyonudur. Bu reaksiyon kendiliğinden gerçekleşir. İkinci olarak polimer oluşumu boyunca tüketilen akım zamanla doğrusaldır ve bu da elektrokimyasal reaksiyonun elektrot yüzeyinde olduğunu doğrular. Üçüncü olarak da elektrot yüzeyinde dimer, trimer ve son olarak da polimer pirol monomerinden düşük potansiyelde yükseltgenir. Böylece polimerizasyon boyunca yükseltgenmiş halde bulunurlar. Polimer üzerinde oluşan pozitif yükler elektrolit çözeltisindeki anyonlarla karşılanır (Yakar, 2006).



Şekil 2.14. Pirol için yükseltgenme mekanizması (Yakar, 2006).

Doldurulabilir piller, elektrokromik devreler, elektronik alet yapımı (diot, transistör), kimyasal sensörler (pH, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, alkol), elektrokatalizör, piezoelektrik üreticileri, hafıza elemanı ve fotovoltajik devreler iletken polimerlerin uygulama alanları kapsamındadır (Yakar, 2006).

## **2.6. Yüzey Modifikasyonu**

Enzim tutuklanması için uygun taşıyıcı yüzeyler yaratmak amacıyla elektrot yüzeylerinde modifikasyon çalışmaları yapılır. Sunduğumuz çalışma kapsamında uygulanan plazma polimerizasyon yöntemi ile elektrokimyasal polimerizasyon yöntemlerine ait teoriler bu bölüm kapsamında anlatılmıştır.

### **2.6.1. Plazma Polimerizasyonu**

Plazma, maddenin dördüncü hali olarak tanımlanır. Plazma genelde yüksek sıcaklıkta kuvvetli elektrik veya manyetik alanların etkisi ile oluşur. Plazma ortamında enerji kazanan serbest elektronlar, ortamdaki diğer atomlar ve moleküllere çarparak enerjilerini transfer ederler. Bunların da birbirleriyle reaksiyona girmeleri sonucu ortamda çok değişik tür ve sayıda yeni moleküller, atomlar, radikaller, iyonlar, vb. oluşur (Akman, 1993; Tusek et al., 2001).

Plazma ortamına konan bir materyal yüzeyinde kopma (etching) veya birikme (deposition) oluşur. Plazma koşullarının ayarlanmasıyla bu iki prosesten birinin etkin olması söz konusudur. Bu durumda plazma ile çeşitli yüzeylerde istenilen değişiklikleri yapabilme olanağı sağlar.

Plazma polimerizasyon tekniği, her türlü materyalin yüzey özelliklerinin değiştirilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Radyo frekansı yük boşalımı, mikrodalga, atmosferik basınç, düşük basınç, düşük sıcaklık vb. farklı sistemler ile plazma modifikasyonu gerçekleştirilmektedir. Plazma modifikasyonu ile, bozulma ve aşınma, oksidasyon, çapraz bağlanma gibi yüzeyin çok ince bir tabakasında oluşan yapısal değişimler sonucunda, modifiye edilmemiş yüzeylerden tamamen farklı özelliklere sahip yeni yüzeyler elde edilmektedir (Yasuda, 1984; Kaminska et al., 2002).

Plazma polimerizasyonunda özellikleri değiştirilecek materyal yüzeyinde oluşan polimerin kimyasal yapısı, birikim miktarı (kalınlığı) ve bunların homojenitesini etkileyen birçok parametre vardır. Plazma polimerizasyonuna etki eden ve kontrol edilebilen parametreler monomerin yapısı, reaktör geometrisi, monomer akış hızı, basınç, boşalım gücü, plazma süresi, frekans, elektrot açıklığı vb. makro parametrelerdir (Kaminska et al., 2002).

Plazma polimerizasyonu ile bir ön koşul aranmaksızın tüm organik bileşikler kullanılarak materyal yüzeylerinin değiştirilmesi yöntemin en önemli avantajıdır. Diğer kaplama yöntemleriyle karşılaştırıldığında, çok ince ve çok daha homojen kalınlıkta kaplama sağlanabilmektedir. (Yasuda, 1984; Flosch et al., 1992). Bu nedenle plazma polimerizasyonu uygulanmış yüzeyler birçok pratik uygulamada kullanım alanı bulabilmektedirler. Proses son derece temizdir, bir başka ifadeyle klasik proseslerde kullanılan çözücüler, başlatıcılar, stabilizörlere, vb. burada gerek olmadığından ürün çok saftır. Kaplama diğer yöntemlerde birçok basamakta ve uzun sürede başlatılırken, yük boşalım tekniği ile gerçekleştirilen modifikasyon işleminde pre-polimer sentezi, kaplama solüsyonun hazırlanması, kaplama prosesi, kurutma gibi prosesler tek basamakta gerçekleştirildiğinden plazma polimerizasyon tekniği ile sonuca çok kısa zamanda ulaşılmaktadır (Mutlu et al., 1997). Ayrıca düşük sıcaklık plazma polimerizasyonu yönteminin en önemli avantajlarından biri de substratların sadece en dışta bulunan tabakalarının modifikasyondan etkilenmesidir. Böylece, modifiye edilen substratların yığın özellikleri değişmediğinden dolayı yüzey özellikleri kontrollü bir şekilde modifiye edilebilmektedir (Çökeliler, 2006).

### **2.6.2. Elektrokimyasal Polimerizasyon**

Elektrokimyasal polimerizasyon iletken polimerin sentezinde kullanılan en yaygın yöntemlerden biridir.

Basit ve genellikle tek basamakta uygulanabilen elektropolimerizasyon yöntemiyle oluşturulan film kalınlığı, morfolojisi, iletkenliği ve seçilen iyonların daha kontrollü birleştirilmesi söz konusudur. Bunların yanında tepkimenin oda sıcaklığında gerçekleştirilebilmesi, potansiyel ve akımı değiştirerek film kalınlığının değiştirilebilmesi, elektrot yüzeyinde polimer filmlerin oluşturulabilmesi, homojen film elde edilebilmesi, polimer katkılanmasının film oluşumu ile aynı zamanda gerçekleştirilebilmesi, kopolimerlerin elde edilebilmesi yöntemin diğer avantajları olarak sıralanabilir (Karayünlü, 2002).

Elektrokimyasal tepkimenin başında monomer istenen anyonik katkılama tuzlarını içeren uygun bir çözücü içinde çözülür ve anodik potansiyel uygulanarak elektrot yüzeyi üzerinde yükseltgenir. Yükseltgenme prosesi sırasında monomerden ayrılan serbest radikaller elektrot yüzeyine adsorplanır ve polimer zincirini oluşturacak çeşitli reaksiyonlara girerler. Yani monomerlerden oluşan radikal

katyonlar çözültide yer alan diğer monomerler ile tepkimeye girerek oligomerik ürünleri ve sonuçta polimeri oluştururlar (Sezgin, 2007).

Elektropolimerizasyon polimer kimyasına iki önemli katkı sağlamıştır. Birincisi, başlama ve sonlanma basamaklarının kontrol edilebilmesi; ikincisi ise polimerleşme hızının incelenebilmesidir. Bir elektrokimyasal polimerleşme sistemi elektroliz hücresi, elektrotlar, elektrolit, monomer ve çözücüden oluşur. Üç elektrot sistemi ile çalışır. Yani sistemde karşıt elektrot, karşılaştırma elektrodu ve çalışma elektrodu vardır. Elektropolimerizasyonda polimer potansiyostatik, galvanostatik veya döngülü potansiyel taraması ile çöktürülebilir (Yakar, 2006).

Elektrokimyasal polimerizasyonda düzenli ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edebilmek için proses parametreleri optimize edilmelidir. Elektrot, elektrolit, monomer konsantrasyonunu, çözücü, sıcaklık, pH, uygulanan gerilim, tarama hızı, ve akım yoğunluğu gibi parametrele sentezlenen polimerin iletkenliğini ve morfolojisini belirleyen etmenlerdir (Yakar, 2006; Sezgin, 2007).

## **2.7. Enzim Tutuklanması**

Enzimler, biyolojik sistemlerdeki reaksiyonların canlılığa zarar vermeyecek ılımlı koşullarda gerçekleşmesini sağlayan ve bunları düzenleyen, suda çözünür spesifik biyokatalizörlerdir (Coşkun, 2007).

Tutuklanmış (immobilize) enzimler, katalitik aktivitelerini koruyarak, sınırları belli bir bölgeye fiziksel olarak hapsedilmiş, tekrarlı ve sürekli kullanılabilen enzimler olarak tanımlanabilir (Worsfold, 1995). Tutuklanmış enzimler serbest enzimlerin dezavantajlarını ortadan kaldırarak daha kararlı yapıda olmalarına ve katalizlediği reaksiyon ürünlerinden kolayca ayrılarak geri kazanımlarına olanak sağlar (Buchholz et al., 2005).

Diğer fiziksel ve kimyasal proseslerde olduğu gibi, enzim tutuklama hızı ve verimi özellikle taşıyıcının cinsine, tutuklama yöntemine, konsantrasyona, pH'a, sıcaklığa ve reaksiyon süresine bağlıdır (Taşdelen, 2006).

### **2.7.1. Enzim Tutuklama Metotları**

Enzimlerin tutuklama işleminden sonra istenilen aktiviteyi ve karakteristikleri gösterebilmeleri için enzime uygun bir taşıyıcının ve tutuklama yönteminin

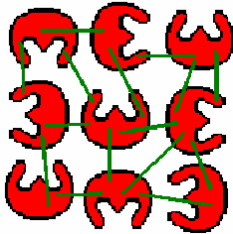
seçilmesi gereklidir. Enzimlerin tutuklanma yöntemleri aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır:

### **2.7.1.1. Taşıyıcı İçine Tutuklama Yöntemi**

Enzimler, kimyasal olarak reaktif gruplar, iyonik gruplar ya da hidrofobik gruplar içeren amino asit yan zincirlerine sahiptir. Bu amino asit yan zincirleri ve hidrofobik gruplar enzimlerin kovalent bağlanma, iyonik bağlanma, çapraz bağlanma ya da fiziksel adsorpsiyonla bağlanmalarında rol oynarlar. Suda çözünmeyen çok sayıda taşıyıcı uygun modifikasyon ve aktivasyon işlemlerinden sonra tutuklanmada kullanılır. Taşıyıcı içine tutuklama yöntemi kendi içerisinde çapraz bağlanma ve taşıyıcıya bağlanma şeklinde iki alt gruba ayrılır (Rao et al., 1998) .

#### **Çapraz bağlanma**

Enzimlerin tutuklanması diğer protein moleküllerine ya da çözünmez bir taşıyıcı üzerindeki fonksiyonel gruplara olabildiği gibi proteinin moleküller arası çaprazlanmasıyla da sağlanabilir. Bu yöntem çapraz bağlanma yöntemi denir. Çapraz bağlanma yönteminin temsili çizimi Şekil 2.15'de gösterilmektedir.



Şekil 2.15. Çapraz bağlanma yönteminin şematik görünümü.

#### **Taşıyıcıya bağlanma**

Enzimlerin suda çözünmeyen taşıyıcılara bağlanması esasına dayanan tutuklama yöntemi taşıyıcıya bağlanma yöntemi olarak anılır. Bu metotta bir miktar enzim taşıyıcıya bağlanır ve tutuklamadan sonraki enzim aktivitesi, taşıyıcının özelliklerine bağlıdır. Taşıyıcı seçimi enzimin kendi özelliklerine ve taşıyıcının partikül boyutu, yüzey alanı, hidrofilik grupların hidrofobik gruplara molar oranı, kimyasal bileşim gibi özelliklerine göre yapılır. Genellikle, hidrofilik grupların oranındaki ve bağlanmış enzimlerin konsantrasyonundaki artış, immobilize enzimlerin aktivitelerinin yükselmesine neden olur (Taşdelen, 2006).



▪ **Fiziksel adsorpsiyon:** Bu tutuklama metodu, enzimin suda çözünmeyen bir taşıyıcı yüzeyine bağlanması esasına dayanmaktadır. Fiziksel adsorpsiyon yönteminin şematik çizimi Şekil 2.16'da gösterilmektedir.



Şekil 2.16. Fiziksel adsorpsiyon ile enzim tutuklama şematik gösterimi.

Enzim, taşıyıcıya hidrojen bağları, hidrofobik etkileşim ve Van der Waal's kuvvetleri veya bunların tümünün birleşimi gibi fiziksel etkileşimlerle bağlanır. Bu kuvvetler çok zayıftır fakat kayda değer bir bağlanmanın gerçekleşebilmesi için yeterli sayıdadır (Bickerstaff, 1997; Taşdelen, 2006).

▪ **İyonik bağlanma:** İyonik bağlanma metodu, enzimin iyon değiştirici ajanlar içeren ve suda çözünmeyen bir taşıyıcıya iyonik olarak bağlanması esasına dayanır. Genellikle iyon-değiştirici merkezlere sahip olan polisakkaritler ve sentetik polimerler taşıyıcı olarak kullanılır. Enzimin taşıyıcıya bağlanması kolaylıkla gerçekleştirilebilir ve enzimin konformasyonel yapısı ile aktif bölgelerinde çok az değişiklik gözlenir. Bu yüzden immobilize olmuş enzimin aktivitesi çoğu durumda yüksektir. İyonik bağlanma metodunda kullanılan taşıyıcılar yenilenebilirlerdir (Bickerstaff, 1997; Taşdelen, 2006).

▪ **Kovalent bağlanma:** Kovalent bağlanma metodu enzimlerin suda çözünmeyen taşıyıcılara kovalent bağlarla bağlanması esasına dayanır. Enzimin katalitik aktiviteyi ve substrat bağlanmasını sağlayacak aktif bölgelerinin dışında kalan amino asit yan zincirleri ile taşıyıcının fonksiyonel grupları arasında Şekil 2.17'de gösterildiği gibi kovalent bağlar oluşur (Rao et al., 1998).



Şekil 2.17. Kovalent bağlanma ile enzim tutuklama şematik gösterimi.

Kovalent bağlanma metodu genellikle çapraz bağlanmayla birlikte uygulanır. Böylece enzim ile taşıyıcı arasında oluşmuş kovalent bağlar çapraz bağlanma sonucunda daha kararlı hale gelir. Bu amaçla ilk olarak taşıyıcı üzerindeki

fonksiyonel gruplar daha önce bahsedilen bir bağ ajanı kullanılarak aktive edilir. İkinci olarak ise enzimin bu aktive olmuş taşıyıcıyla birleştirilmesiyle tutuklama işlemi gerçekleştirilir. Aktivasyon işlemi taşıyıcı üzerindeki fonksiyonel grupların elektrofilik hale gelmesi için yapılır. Daha sonra tutuklanma reaksiyonunda, bu gruplar enzim yüzeyindeki belli aminoasitlerin amino ( $\text{NH}_2^+$ ) fonksiyonel gruplarıyla kovalent bağ oluşturur (Bickerstaff, 1997).

▪ **Kompleks bağlanma:** Protein moleküllerinin metal iyonlarıyla kovalent olmayan bağlarla bağlanması yöntemine kompleks bağlanma denir. DNA moleküllerinin metal kompleksleriyle etkileşimleri son yıllarda çok ilgi çekmektedir. Bağlanma yolları metal komplekslerinin boyutlarına ve stereokimyasal özelliklerine bağlıdır (Vijayalakshmi et al., 2006).

#### **2.7.1.2. Hapsetme Yöntemi**

Hapsetme ile tutuklama, enzimin, polimer bir matrise ya da membrana lokasyonuna dayanır. Bu yöntemde adsorpsiyon ve kovalent bağlanmadan farklı olarak çözelti içerisinde serbest bulunan enzim molekülleri, taşıyıcının mikro yapısı içerisinde hareketsiz olarak yer almaktadır (Bickerstaff, 1997; Taşdelen, 2006).

#### **Mikrokapsülleme**

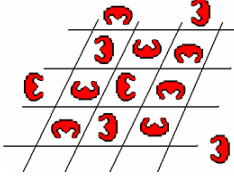
Mikrokapsülleme enzimlerin çeşitli şekillerdeki yarı geçirgen membranlar içerisine konularak kaplanmalarıyla gerçekleştirilir (Bickerstaff, 1997). Mikrokapsülleme yönteminin temsili gösterimi Şekil 2.18'de görülmektedir.



Şekil 2.18. Mikrokapsülleme yöntemi ile enzim tutuklama şematik gösterimi.

#### **Fiber tutuklama**

Enzimlerin boşluklu fiber membran kullanılarak tutuklanması, boşluklu fiber membranların tutuklama için ideal bir geometri gibi farklı özelliklerinden dolayı çok çekicidir. Enzim suda çözünmez bir taşıyıcı matrisin yapısı içerisine Şekil 2.19'da gösterildiği gibi tutuklanmaktadır.



Şekil 2.19. Fiber tutuklama yöntemi ile enzim tutuklama şematik gösterimi.

## 2.8. Elektrokimyasal Ölçümler

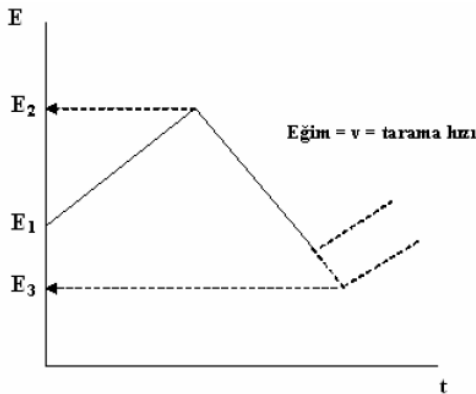
Elektrot yüzeylerinde gerçekleştirilen iletken polimer ve medyatör modifikasyonu ile biyoloji molekül tutuklanması işlemlerinden sonra elektrokimyasal yöntemlerle yüzeylerin performansı değerlendirilebilir.

### 2.8.1. Voltametri

Voltametri yöntemi ile hücre alanı çok küçük olan mikro çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasına uygulanan ve değeri zamanla değiştirilen gerilime karşı, hücrede çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasındaki akım ölçülür.

#### 2.8.1.1. Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri, elektriksel olarak aktif bir madde bulunan stabil bir çözeltideki mikro elektroda doğrusal olarak belli bir gerilim değerine kadar artan, daha sonra ise doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilen bir gerilim taraması uygulanması ile elde edilen yöntemdir. Dönüşümlü voltamogramların incelenmesi ile sistemin hangi gerilimlerde ve kaç adımda indirgenip yükseltgendiğini, elektrokimyasal açıdan tersinir olup olmadığını, elektrot tepkimesinin bir çözelti tepkimesi ile yürüyüp yürüyemeyeceğini, indirgenme ya da yükseltgenme ürünlerinin kararlı olup olmadığını, elektrot tepkimesinde rol alan maddelerin yüzeye tutunup tutunmadıklarını anlamak mümkündür (Yakar, 2006). Şekil 2.20'de gösterilen potansiyel-zaman grafiği tipik bir dönüşümlü voltamogramdır.



Şekil 2.20. Tipik bir potansiyel-zaman grafiği (Yakar, 2006).

### **2.8.1.2. Kronoamperometri**

Kronoamperometri çözelti içindeki çalışma elektrodu potansiyelinin ani olarak değiştirilmesi ile durgun ortamda akım–zaman ilişkisinin gözlenmesine dayanan voltametrik bir yöntemdir. Tepkimelerin kinetiği ve mekanizmalarının anlaşılması ile difüzyon katsayılarının belirlenmesi için uygun bir yöntemdir (Çekirdek, 2005).

### **2.8.1.3. Kronopotansiyometri**

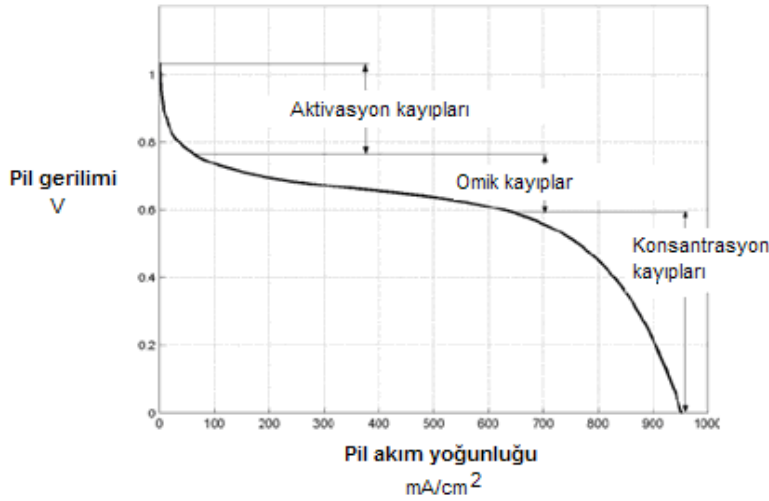
Kronopotansiyometri potansiyeli zamanın fonksiyonu olarak ölçen bir yöntemdir. Galvanostatik metot olarak da adlandırılan yöntemde geçen zaman süresince sabit bir akım uygulanmaktadır ve potansiyel farkın zamanla değişimindeki doğrusallıktan kaplamanın yapısal düzenliliği ile ilgili fikir edinilir (Sezgin, 2007).

## **2.9. Biyoyakıt Pili Performansı**

Teorik olarak, yakıt pilleri kendisine yakıt ve oksitleyici temin edildiği sürece işletimine devam eder ve elektriksel enerji üretir. Öte yandan pratik uygulamalara geçildiğinde yakıt pilinin işletim ömrü tanımlıdır; elektrot, elektrolit ve biyoyakıt pilinde de ek olarak biyolojik bileşenin yaşına bağlı olarak pil performansı bir süre sonra azalacaktır (Ünveren, 2008).

### **2.9.1. Polarizasyon Eğrisi**

Genel olarak yakıt pillerinde pilin verimliliği yakıttan ne kadar güç elde edildiğine bağlıdır. Daha fazla güç eldesi daha fazla akım çekmek anlamına gelir ki bu da o yakıt hücresindeki kayıpları artırarak verimin düşmesine yol açar. Kayıplar genelde hücrede voltaj düşüşü olarak kendini gösterir. Hücre potansiyelindeki düşüş verimle ilişkilendirilebildiğinden, yakıt pili polarizasyon eğrileri hücre verimliliği hakkında önemli göstergelerdir. Tipik bir yakıt pili polarizasyon eğrisi aşağıda sunulmuştur. (Şekil 2.21)



Şekil 2.21. Yakıt pili polarizasyon eğrisi.

Yakıt pillerinin teorikte hesaplanan çalışma voltajı değeri, pratikteki değerden oldukça farklıdır. Yakıt pili çalıştığında elde edilen voltajın, teorikteki değerden epeyce küçük olduğu görülür. Yakıt pilinin karakteristik voltaj-akım (V-I) grafiğindeki akım arttıkça voltaj düşüşüne neden olan kayıplar Şekil 2.21'den görülmektedir.

**Aktivasyon kayıpları:** Bu kayıplar elektrot yüzeyindeki reaksiyonların yavaş gerçekleşmesinden kaynaklanmaktadır. Üretilen voltajın bir kısmı elektronların elektrotlara veya elektrotlardan dışarı transferini sağlayan elektrokimyasal reaksiyonları gerçekleştirmek için kullanılmaktadır.

**Yakıt geçişi ve içsel akımlar:** Bu kayıplarda elektrolitten katot tarafına geçen yakıt katot tarafında elektrokimyasal reaksiyona girerek bölgesel kısa devre oluşturmasından ve ideal olarak sadece iyon geçirmesi gereken elektrolitin aynı zamanda bir miktarda elektron geçirmesinden kaynaklanmaktadır.

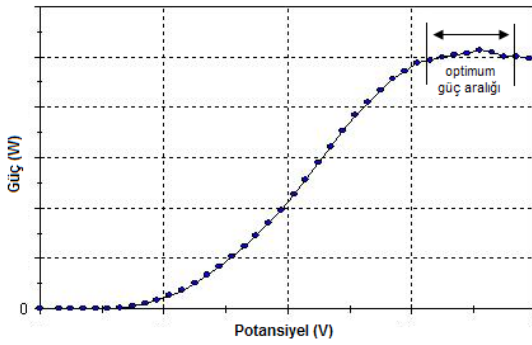
**Ohmik kayıplar:** Bu kayıplar elektrot malzemelerinin, akım toplayıcı vb malzemelerin elektron geçişine ve elektrolitin iyon geçişine olan direncinden kaynaklanmaktadır. Ohmik kayıplar akım yoğunluğu ile doğru orantılıdır.

**Kütle taşınımı ya da konsantrasyon kayıpları:** Bu kayıplar elektrot yüzeyinde yakıt ve oksijen konsantrasyonunun değişmesinden (azalmasından) kaynaklanmaktadır. Özellikler yüksek akım yoğunluklarında katalitik yüzeyde reaksiyon çok hızlı olduğu için gözenekli elektrot yapısından dolayı katalizör yüzeyine yeterince malzeme taşınmamaktadır. Bu nedenle reaksiyon için

gerekenden daha az yakıt veya oksijen olması gerektiği kadar voltaj üretilmemesine neden olmaktadır (Kurtcephe, 2006).

### 2.9.2. Güç Yoğunluğu

Bir yakıt pilinden elde edilen elektriksel güç voltaj ve akımın çarpımına eşittir. ( $P = V_{\text{hücre}} \times I$ ) Yakıt pili polarizasyon eğrisi bütün işletme koşullarında potansiyel ve akım arasındaki ilişkiyi verdiği için bu eğriler güç eğrisi türetmek için kullanılabilir (Şekil 2.22). Polarizasyon eğrisinin altında kalan alan anlık güç değerini verir.



Şekil 2.22. Yakıt pili güç eğrisi.

### 2.10. Yüzey Karakterizasyonu

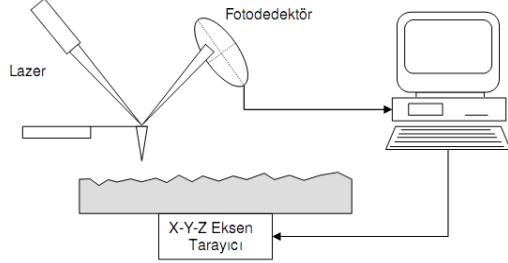
Elektron aktarımı gerçekleştiren elektro-aktif ve biyolojik katalizleme yapabilecek biyo-aktif yapıyı kazandırmak üzere elektrot yüzeylerine uygulanan modifikasyon işlemleri sonrasında elde edilen enzim elektrotlarının yüzey özellikleri karakterize edilmelidir.

Sunduğumuz çalışma kapsamında yüzey analizleri gerçekleştirilirken sırasıyla Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM), Fourier Transform İnfared Spektroskopisi (FTIR) yöntemleri kullanılarak topografik ve kimyasal olarak işlem görmüş karbon elektrot yüzeyleri tanımlanmıştır.

#### 2.10.1. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)

Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM), Taramalı Prob Mikroskopisi grubu altında yer alan en tanınmış yüzey inceleme tekniklerinden biridir. Sistem temel olarak, bir kaç atomdan oluşan bir iğnenin piezo elektrik kontrol elemanları aracılığı ile yüzeye çok yakın olarak, incelenen yüzey üzerinde üç boyutta hareket ettirilmesine dayanır.

İğnenin konumundaki bozulmalar bir lazer ışığı tarafından algılanılarak büyütülür. Böylece ince tipin yüzeydeki itme ve çekme kuvvetler ile şeklinin bozulması ile yüzey topografyası çıkarılmış olur. AFM yardımıyla yüzey topografyası nanometre seviyesinde belirlenmiş olur (Meyer et al., 1993).



Şekil 2. 23. AFM yüzey analizinin şematik gösterimi (Çökeliler, 2006).

### 2.10.2. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR)

Infrared (IR) spektroskopisi moleküllerdeki çeşitli bağların titreşim frekanslarını ölçer ve moleküldeki fonksiyonel gruplar hakkında bilgi verir. Düşük enerjili IR bölgedeki ışınların kullanıldığı bir absorpsiyon spektroskopisi yöntemidir. Belirli şartlara sahip moleküller IR ışığını absorplayarak molekül içi titreşim enerji düzeyleri arasında geçişlere sebep olur. Moleküllerdeki titreşim frekanslarına uyan infrared fotonlarının dalga sayıları  $4000-650 \text{ cm}^{-1}$  arasında, yani yaklaşık  $15 \mu\text{m}$  ile  $2.5 \mu\text{m}$  dalga boyu aralığında değişmektedir. Monokromotörler yardımıyla dalga boylarını seçerek ölçümün yapıldığı spektrofotometrelerde herhangi bir anda sadece seçilen dalga boyundaki spektroskopik bilgi toplanır. Ancak bazı spektrofotometrelerde özel yöntemler kullanılarak tüm frekanslardaki bilgileri aynı anda elde etmek mümkündür. Bu tür spektrofotometrelerde monokromotör bulunmaz ve spektrumları frekans ölçeğinde değil zaman ölçeğinde elde edilir. İnterferogram denilen spektrumları absorpsiyon spektrumunun Fourier dönüşümüdür. Elde edilen veri bilgisayar aracılığı ile matematiksel bir metot uygulanarak frekans ölçeğindeki bilgilere dönüştürülür. Ters Fourier dönüşümü adı verilen bu yöntemle veri zaman alanından frekans alanına aktarılır ve değişik frekanslarda oluşan absorpsiyonlar grafiğe dökülür. Bu şekilde gerçekleştirilen IR uygulaması Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) adını alır (Yıldız, 1993; Çökeliler, 2006).

### **3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR**

Bu tez kapsamında amaçlanan enzimatik biyoyakıt pili bileşenlerinden elektrot tasarımı gerçekleştirilmiş, elektrodun ve bu elektrot ile oluşturulan biyoyakıt pilinin performansı elektrokimyasal ölçümlerle değerlendirilmiş; ayrıca elektrot yüzeyi fiziksel ve kimyasal yöntemlerle karakterize edilmiştir. Bu doğrultuda gerçekleştirilen çalışmalar dört temel konu başlığı altında toplanmaktadır. Çalışmanın ilk kısmında iletken polimer ve medyatör modifikasyonu sonrasında biyolojik molekül tutuklanması ile enzim elektrotları hazırlanmış; ikinci kısmında hazırlanan elektrotların akım-voltaj ölçümleri ile performans çalışmaları yapılmış ve sonrasında belirlenen en verimli elektrot tasarımı ile biyoyakıt hücresi kurularak performansı incelenmiştir. Son olarak da elektro-aktif ve biyo-aktif özellikleri kazandırmak üzere uygulanan modifikasyon işlemleriyle elde edilen hedef elektrot yüzeyi AFM ve FTIR teknikleri ile topografik ve kimyasal olarak karakterize edilmiştir.

#### **3.1. Kullanılan Malzemeler**

Enzimatik biyoyakıt pili elektrodu olarak karbon çubuklar kullanılmıştır. Tezin ilk aşamasında elektrot yüzey modifikasyonları ve elektrot performans testlerini kapsayan çalışma parametrelerinin incelendiği deneyler, çubuk şeklinde (10x1.8x0.9 mm) karbon eskiz kalem uçları ile gerçekleştirilmiştir. Saptanan optimum çalışma koşullarında hazırlanan hedef biyoyakıt pili elektrodu için elektrot sistemlerinde kullanım amacıyla ticari olarak üretilen %99.99 saflıkta 3.06 mm çapındaki (Alfa Aesar, USA) grafit elektrotlar kullanılmıştır.

Çalışma kapsamında kullanılan kimyasallar ve deney sistemleri de aşağıda sıralanmıştır.

##### **3.1.1. Kimyasal Maddeler**

Karbon elektrotların üzerine enzim tutuklanmasına uygun yüzey oluşturulması için ilk basamakta elektron transferine elverişli iletken redoks polimeri hazırlanmasında amin foksionel gruplu anilin (An) monomeri ve yine yaygın olarak iletken polimer filmi oluşturmak için kullanılan pirol (Py) monomeri kullanılmıştır. Anilin monomeri ve anilin ile kopolimer oluşturan Ortanilik asit (o-amino benzen sülfonik asit) Merck



(Almanya) firmasından; kullanılan diğer monomer olan Pirool ise ISOLab (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

Polimerizasyon sonrasında amin gruplarının aktivasyonu için çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan glutaraldehit (GA), biyoanot tasarımında kullanılan enzim Glukoz oksidaz (GOD) (*Aspergillus niger* kökenli ,200 U/mg) ve yakıt olarak kullanılan  $\alpha$ -D(+) glukoz ISOLab (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Biyokatot tasarımında kullanılan enzim Lakkaz (*Trametes versicolor* kökenli, 22.4 U/mg) ise Fluka (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

Enzim elektrodu yapısında elektron aktarım mekanizmasını tamamlamak üzere kullanılan medyatörler dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) ve 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiozidin-6-sulfonik asit) (ABTS) ISOLab (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

Deneysel çalışmalarda kullanılan diğer kimyasal maddeler, elektrokimyasal deneylerde tampon çözelti olarak kullanılan (PBS) potasyum hidrojen fosfat, potasyum hidrojen sülfat tuzları, destek elektrolit olarak sodyum sülfat, sodyum klorür, potasyum klorür ve potasyum ferrosiyaniür ISOLab (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

### **3.1.2. Deney Sistemleri**

Karbon elektrot yüzeyinin iletken redoks polimeri ile modifikasyonu, iki farklı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Uygulanan tekniklerden biri olan plazma polimerizasyonu çalışmaları, Radyo Frekanslı (RF) Plazma Sisteminde (Diener PICO, Almanya) yürütülmüştür. Kullanılan ikinci teknikse elektrokimyasal polimerizasyon tekniğidir. Elektropolimerizasyon yönteminin uygulanması ve elektrot performans çalışmalarında izlenen akım-voltaj karakteristiğinin takibi, Elektrokimyasal Potansiyostat - Galvanostat Cihazı (Iviumstat, Hollanda) ile gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmalara paralel olarak enzim elektrolarının elektro-aktif özellikleri ve biyoyakıt pili performansı bir dijital multimetre (Fluke 289 (FVF),USA) ile tamamlanan devrede incelenmiştir. Elektrokimyasal deneylerde kullanılan Iviumstat cihazına entegre edilen hücre standı (C3 cell stand, BASi; USA) bir hücre ve üçlü elektrot sistemini kapsamaktadır. Deneylerde bu hücre içinde

çalışma elektrodu olarak yüzeyinde modifikasyon gerçekleştirilmiş karbon çubuk, referans elektrodu olarak gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) ve karşıt elektrot olarak da platin (Pt) elektrottan oluşan üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır.

Yüzey karakterizasyonu için Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM, Ambios Universal SPM, USA) cihazı ile yüzey topografyası görüntülenmiştir. Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopi (FTIR, Vertex, 80, Bruker, Almanya) cihazı ile yüzey modifikasyon işlemleri sonucunda yüzeyde elde edilen kimyasal bağ yapıları tespit edilmiştir.

### **3.2. Enzim Elektrodu Hazırlanması**

Biyoyakıt pili uygulamalarında enerji üretimine giden elektrokimyasal süreci enzim aktivitesi ile birleştiren kimyasal dönüştürücüler enzim elektrotlarıdır. Enzim elektrodu tasarımı için seçilen materyal yüzeyine iletken polimerle modifikasyon ve enzim tutuklama işlemleri uygulanmıştır. Enzim, elektron aktarım medyatörleri, enzimi bağlama veya hapsetme için kullanılan moleküller, iletken destek ortamı ve elektrot yapısındaki katı destek materyali gibi maddelerin uygun kombinasyonlarının seçilmesi hazırlanan enzim elektrotların performansını belirleyen parametrelerdir.

#### **3.2.1. Elektrot Seçimi**

Enzimatik elektrot hazırlanmasında, yüzeyin iletken polimer ve medyatör ile modifiye edilmesi ve üzerine enzim tutuklanması işlemleri için elektrot malzemesinde tercih edilen iki özellik elektriksel iletkenlik ve sertliktir. Bu amaçla, yapılan literatür araştırması sonucu karbon çubukların elektrot materyali olarak kullanılması planlanmıştır. Karbonun elektrot materyali olarak sağladığı avantajlar “Deneysel Sonuçlar ve Tartışılması” bölümünde detaylı olarak sunulmuştur.

Elektrot malzemesi seçimine dayanarak, ilk aşama çalışmalarında karbon, saptanan çalışma koşullarında yürütülen deneylerde ise grafit elektrotlar kullanılmıştır.

#### **3.2.2. Elektrot Yüzey Modifikasyonu**

Biyoyakıt pili uygulaması için hazırlanan enzim elektrodunun tasarımına uygun elektrot malzemesinin karbon ve karbon türevli elektrotlar olduğu belirlendikten

sonra, seçilen bu yalın elektrot üzerinde enzimlerin tutunabileceği fonksiyonel gruplu bileşikler oluşturmak amacıyla yüzey modifikasyonu çalışmaları yapılmıştır.

Redoks enzimlerinin elektro-aktif bir tabaka ile fonksiyonellik kazandırılmış bir elektrot yüzeyine tutuklanması, yapısal dizilim ve en uygun redoks medyatörü seçimiyle birlikte enzim aktif merkezi ve iletken elektrot yüzeyi arasında etkili bir elektron aktarımını sağlar. Polimerik yüzey modifikasyonunda anilin (An) ve pirol (Py) monomerleri “Deneysel Sonuçlar ve Tartışılması” kısmında da ayrıntılı anlatılan sebeplerden dolayı iletken polimer oluşturmak üzere kullanılmışlardır.

Medyatör olarak da yaygın olarak kullanılan ferrosen ve kinon türevlerinden dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) bileşiği yapıya elektron transferi için gerekli mekanizmayı tamamlayan “arabulucu” bir ajan olarak (medyatör) eklenmiştir.

Yüzey modifikasyonu çalışmaları “plazma polimerizasyonu” ve “elektrokimyasal polimerizasyon” yöntemleri uygulanarak yürütülmüştür.

### **3.2.2.1. Plazma Polimerizasyonu**

Enzim tutuklama için fonksiyonel grup yaratmak amacıyla elektrot yüzeylerinin modifiye edilmesinde plazma polimerizasyonu yöntemi denenmiştir. Yüksek sıcaklıkta kuvvetli elektrik veya manyetik alanların etkisinde oluşturulan plazma ortamında enerji kazanan serbest elektronlar, ortamdaki diğer atom ve moleküllere çarparak enerjilerini transfer ederler bunun sonucunda yeni moleküller, atomlar, radikaller, iyonlar oluşur. Bahsedilen bu plazma ortamında istenen fonksiyonel grupları oluşturmak amacıyla yüzeyler kullanılan organik bileşiklerle modifiye edilir.

“Plazma Destekli Biyomühendislik ve Biyoteknoloji” PABB araştırma grubu laboratuvarındaki Radyo Frekanslı Plazma Sistemi (Diener PICO, Almanya) (Şekil 3.1) kullanılarak yalın karbon çubuklar üzerinde yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Plazma Sistemi. (Diener PICO, Almanya)

Plazma polimerizasyonu öncesinde modifikasyon için en uygun ortamı yaratabilmek amacıyla gaz uzaklaştırma yapılarak vakum istenilen şekilde sağlanmış; ardından soygaz ve monomer beslemesi yapılarak ortamdaki istenmeyen türler uzaklaştırılmıştır. Polimerizasyon sonrası da karbon çubuklar hemen reaktörden alınmayıp sistem açılmadan içeri kararlı bir gaz beslemesi yapılarak kalan monomerlerin uzaklaşması sağlanmış ve biraz daha vakumda bekletildikten sonra modifiye olmuş karbon çubuklar sistemden alınmıştır.

Plazma polimerizasyonu ile iletken polimer tabakası oluşturmak için öncelikle Anilin (An) monomerinin karbon çubuk yüzeylerine tatbiki çalışılmıştır. PAn film tabakası oluşumu için plazma polimerizasyon yönteminde 13.6 MHz radyo frekansında, 20 W güçte ve 5 dakika yük polimerizasyon süresi optimum çalışma parametreleri olarak belirlenmiştir.

Enzim elektrodunda elektron aktarım mekanizmasını tamamlayacak medyatör olarak seçilen dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) yapısının plazma polimerizasyonu ile karbon çubuk yüzeylerinde oluşturulması çalışılmış; yine 13.6 MHz radyo frekansı 50 W gücü ve 5 dakika polimerizasyon süresi çalışma parametreleri olarak belirlenmiştir.

Sonraki çalışmalar iletken polimer tabakası oluşturmak için Anilin (An) monomeri ve enzim elektrodunda elektron aktarım mekanizmasını tamamlayacak medyatör olarak seçilen dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) yapısının bir arada karbon elektrot yüzeyinde modifikasyonunu kapsamaktadır. Yalnızca An ve yalnızca DMAMFc ile yapılan çalışmalar sonucu belirlenen optimum koşullar bu iki yapının kombine polimerizasyonu için uygulanmıştır.

Polimerizasyon aşamasında ise iletken polimer oluşturmak için An ve medyatör olarak kullanılan DMAMFc iki farklı yöntemle reaktöre gönderilmiştir. Çizelge 3.1’de iki farklı metodu gösteren plazma polimerizasyon koşulları mevcuttur.

Çizelge 3.1. Plazma polimerizasyon koşulları (iki farklı metot)

	monomer	Güç (W)	Süre (dk)
a	An+DMAMFc	DMAMFc :50 An :20	15 5
b	An+DMAMFc	30	20

Yukarıda parametreleri belirtilen iki farklı yöntem An ve DMAMFc yapılarının kombine polimerizasyonu için uygulamıştır. Birinci yöntemde göre bu iki tür en uygun koşullarında sırayla sisteme beslenmiştir (Çizelge 3.1.a). İkinci yöntemde ise bu iki monomer aynı anda reaktöre beslenerek polimerizasyon gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.1.b).

Plazma polimerizasyonu ile iletken polimer tabakası oluşturmak için sonrasında diğer monomer olan pirol (Py)’ün karbon yüzeylerinde plazma polimerizasyon yöntemiyle iletken polimer film oluşturması çalışılmıştır. Karbon elektrot yüzeyleri plazma polimerizasyon yöntemiyle 13.6 MHz radyo frekansında, 20 W yük güçle ve 30 dakika süresinde Py monomeri kullanılarak modifiye edilmiştir.

### 3.2.2.2. Elektrokimyasal Polimerizasyon

Enzim tutuklaması için fonksiyonel grup yaratmak amacıyla elektrot yüzeylerinin modifiye edilmesinde elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi uygulanmıştır. Elektropolimerizasyon da polimer potansiyostatik, galvanostatik veya döngülü potansiyel taraması ile çöktürülebilir. Bu yöntem tepkimenin oda sıcaklığında gerçekleştirilebilmesi, potansiyel ve akım ayarlamasıyla elektrot yüzeyinde daha kontrollü film kalınlığı, morfolojisi ve iletkenliğin sağlanabilmesi, seçilen iyonların daha kontrollü birleştirilebilmesi, homojen film elde edilebilmesi, polimer katkılanmasının film oluşumu ile aynı zamanda gerçekleştirilebilmesi, kopolimerlerin elde edilebilmesi gibi avantajlara sahiptir.

Elektrokimyasal Potansiyostat - Galvanostat Cihazı (Iviumstat, Hollanda) kullanılarak yalın karbon çubuklar üzerinde yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Elektrokimyasal Potansiyostat-Galvanostat Cihazı. (Iviumstat, Hollanda) Elektrokimyasal polimerizasyon ile iletken polimer tabakası oluşturmak için öncelikle Anilin (An) monomerinin karbon çubuk yüzeylerine tatbiki çalışılmıştır. Elektrokimyasal polimerleşme sisteminde monomer, destek elektrolit ve katkılama (doping) ajanı kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Elektrokimyasal polimerleşme sisteminde kullanılan elektrolit ortam

Monomer	0.1 M An
Doping Ajanı	0.5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Destek elektrolit	0.1 M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>

An elektropolimerizasyonu elektrokimyasal potansiyostat galvanostat cihazında belirtilen elektrolit ortamlar içerisinde üç aşamada gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. An elektropolimerizasyonu için uygulanan basamaklar

	elektrolit	Potansiyel aralığı (V)	Tarama hızı (V/s)	Döngü sayısı
1. aşama	0.5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-0.3 / 0.8	0.005	8
2. aşama	0.1 M An + 0.5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 0.1 M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-0.3 / 0.8	0.002	2
3. aşama	0.1 M An + 0.5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 0.1 M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-0.3 / 0.9	0.05	35

Sonraki çalışmalar iletken polimer tabakası oluşturmak için Anilin (An) monomeri ve enzim elektrodunda elektron aktarım mekanizmasını tamamlayacak medyatör olarak seçilen dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) yapısının bir arada karbon elektrot yüzeyinde modifikasyonunu kapsamaktadır. An-DMAMFc elektropolimerizasyonu için uygulanacak işlem basamakları An elektropolimerizasyonunda takip edilenle aynıdır; yalnızca elektrokimyasal polimerleşme sisteminde kullanılan monomer (An), ve katkılama ajanı (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) yanına bir de medyatör (0.005 M DMAMFc) eklenmiştir.

Takip eden çalışma An monomerin istenilen herhangi bir pH değerinde çalışmasına olanak sağlayacak ortanilik asit (o-ASA) bileşeninin yapıya eklenmesini kapsamaktadır. An ile kopolimer oluşturacak şekilde yapıya katılan o-amino benzen sülfonik asit (ortanilik asit) polimerleşme aşamasından sonra redoks tabakasının daha yüksek pH değerlerinde çalışmasına olanak sağlamaktadır (Şahin, 2003). An elektropolimerizasyonu prosedürü (An-o-ASA)-DMAMFc modifikasyonu için de takip edilmiş; yalnızca elektropolimerizasyon çözeltisine An ile aynı derişimde ortanilik asit (o-amino benzen sülfonik asit) eklenmiştir.

Elektrokimyasal polimerizasyon ile iletken polimer tabakası oluşturmak için sonrasında diğer monomer olan Piro (Py) monomerinin karbon çubuk yüzeylerine uygulanması çalışılmıştır. Piro monomerinin polimerleşmesi Anilin aksine pH duyarlı olmadığı için herhangi bir katkılama işlemi uygulanmaksızın enzim tutuklanması da dahil tek basamakta gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal polimerleşme sisteminde monomer, destek elektrolit ve biyolojik ajan kullanılmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Elektrokimyasal polimerleşme sisteminde kullanılan elektrolit ortam

Monomer	0.1 M Py
Destek elektrolit	0.1 M PBS tampon çözeltisi (pH 5.5)
Biyolojik molekül	1mg/mL GOx

Pirol elektropolimerizasyonu elektrokimyasal potansiyostat galvanostat cihazında “mixed mode” denilen bir yöntemin uygulanmasıyla gerçekleştirilmiştir ve bu teknikte kronopotansiyometri ve kronoamperometri yöntemlerinin bir arada kullanımı gerçekleştirilmiştir. Sistemimizde var olan bu kombine yöntem (mixed mode) ile pirol kaplama çözeltisi içinde kaplanacak karbon elektroda 0.9 V sabit potansiyel üzerinden 25 mc yük geçene kadar uygulanmıştır.

Sonraki çalışmalar iletken polimer tabakası oluşturmak için Pirol (Py) monomeri ve enzim elektrodunda elektron aktarım mekanizmasını tamamlayacak medyatör olarak seçilen dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) yapısının bir arada karbon elektrot yüzeyinde modifikasyonunu kapsamaktadır. Py monomerinin elektropolimerizasyonu gerçekleştirilirken izlenen prosedür uygulanmış; kaplama çözeltisi içine eklenen 0.005 M DMAMFc medyatörü ile birlikte uygulanan 0.9 V sabit potansiyel altında üzerinden 25 mc yük geçene kadar polimerleştirilmiştir.

### **3.2.3. Enzim Tutuklanması**

Elektrokimyasal polimerizasyon ile modifiye edilmiş karbon çubuklar fonksiyonel gruplar içeren yüzeylerine enzim tutuklama gerçekleştirilerek enzim elektrotlarına dönüştürülmüştür. Biyoyakıt pilinde kullanılan yakıt olan glukozun katalizi için uygun enzim glukoz oksidaz (GOx) modifiye karbon yüzeylere tutuklanmıştır.

Anilin monomeri ile modifiye edilmiş karbon elektrot yüzeylerine enzim tutuklama üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Kaplanmış karbon çubuklar ilk aşamada enzim çözeltisi içinde anodik taramaya tabi tutulmuştur. 1 mg/mL GOx çözeltisinde -0.3 V ile 0.8 V potansiyel aralığında 0.002 V/s tarama hızıyla 2 çevrim uygulanmıştır. Anodik tarama sonrasında kronoamperometri yöntemiyle enzim çözeltisi içinde çalışma elektroduna -0.45 V sabit potansiyel değerinde 600 s gerilim uygulanmıştır ve son aşamada karbon elektrotlar hacimce % 0.2 (v/v) glutraldehit (GA) çözeltisinde 4 saat bekletilmiştir.

Pirol monomeri ile modifiye edilmiş karbon elektrot yüzeylerinde ise enzim tutuklama tek aşamada elektropolimerizasyon sırasında hapsetme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Enzim tutuklanan elektrotlar performansları değerlendirilmek üzere elektroliz hücresine yerleştirilmiştir.



### 3.3. Elektrot Performans Çalışmaları

Yalın karbon elektrotlar üzerinde fonksiyonel gruplu bileşikler oluşturularak enzimlerin tutuklandığı enzim elektrotlarıyla öncelikle bir hücre kurulumu gerçekleştirilmiş, sonrasında da kurulan bu elektroliz hücresinde enzim elektrodunun performansının değerlendirildiği elektrokimyasal ölçümler yapılmıştır.

#### 3.3.1. Enzim Elektroduyla Elektrolitik Hücre Kurulumu

Enzim elektrodunun tasarımı sırasında kullanılan ve sonrasında da performansının incelendiği elektrokimyasal çalışma istasyonu elektroliz hücresi ve elektrotları muhafaza eden hücre standı ile entegre çalışmaktadır. Deneyler üçlü elektrot sistemi ile yürütülmüştür. Oluşturulan enzim elektrodu yani modifiye edilmiş karbon elektrot sisteme çalışma elektrodu olarak bağlanmış; referans elektrodu olarak gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot ve karşıt elektrot olarak da platin (Pt) elektrot kullanılmıştır. Şekil 3.3'de elektrokimyasal çalışma istasyonu bağlı elektroliz hücresi (üçlü elektrot sistemi) görülmektedir.



Şekil 3.3. Elektrokimyasal çalışma istasyonuna bağlı üçlü elektrot sistemi.

#### 3.3.2. Elektrokimyasal Ölçümler

Enzim elektrodunun performansının değerlendirildiği elektrokimyasal ölçümler elektrokimyasal potansiyostat – galvanostat cihazında uygulanan dönüşümlü voltametri deneylerini kapsamaktadır.

Dönüşümlü voltametri (CV, cyclic voltammetry) yöntemiyle çalışma elektrodu ile referans elektrot arasına uygulanan ve belli bir değere kadar artıp sonrasında doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilen bir gerilim taraması uygulanır ve bu gerilime karşı, hücrede çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasındaki akım ölçülür.

Tasarlanan enzim elektrotlarının performansları kurulan üçlü elektrot sisteminde dönüşümlü voltametri yöntemiyle incelenmiştir. Aynı elektrolit ortamlarında (elektrokimyasal karakteristiği belirli potasyum ferrosiyanür çözeltisi ve farklı pH değerlerindeki tampon çözeltiler) modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramları çekilmiş; oluşturulan kaplamanın elektrokimyasal davranışları akım-voltaj sonuçları ile “Deneysel Sonuçlar ve Tartışılması” kısmında ayrıntılı olarak incelenmiştir.

İletken polimer ve medyatör modifikasyonu sonrasındaki aşamada ise biyolojik molekül tutuklanması ile hazırlanan enzim elektrotları üçlü elektrot sistemine çalışma elektrodu olarak bağlanmış ve uygulanan dönüşümlü voltametri yöntemiyle anodik çalışma performansları değerlendirilmiştir.

Elektrotların anodik çalışma performansları, elektrokimyasal hücreye beslenen farklı derişimlerdeki glukoz çözeltileri içerisinde dönüşümlü voltamogramları (CV) çekilerek incelenmiştir. Bu şekilde çalışma elektrodu ile referans elektrot arasına uygulanan gerilim taramasına karşı çalışma elektrodu ve karşıt elektrot arasındaki akım değerleri grafiğe aktarılmış; tasarlanan enzim elektrotlarının yakıtı yükseltgeme verimi değerlendirilmiştir.

(An-o-ASA)-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun ve PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun anodik çalışma performanslarının ve yüzeylerindeki enzim verimliliğinin değerlendirilmesi amacıyla farklı derişimlerdeki glukoz çözeltileri içerisinde dönüşümlü voltamogramları çekilmiştir. Sonuçlar “Deneysel Sonuçlar ve Tartışılması” kısmında ayrıntılı olarak incelenmiştir.

### **3.4. Enzimatik Biyoyakıt Pili Çalışmaları**

Yalın karbon elektrotlar üzerinde fonksiyonel gruplu bileşikler oluşturularak enzimlerin tutuklandığı enzim elektrotlarıyla bir pil devresi kurulumu gerçekleştirilmiş; dijital multimetre ile alınan açık devre potansiyelleri, maksimum akım yoğunlukları ve güç çıktı değerleri ile performansı incelenmiştir.

### **3.4.1. Biyoyakıt Pili Kurulumu**

Biyooanot ve biyokatot olarak tasarlanan modifiye grafit elektrotlar kullanılarak biyoyakıt pili kurulumu gerçekleştirilmiştir. Biyooanot tasarımı, biyokatot tasarımı ve hücresinin kurulumu aşağıda anlatılmıştır.

#### **3.4.1.1. Biyooanot Tasarımı**

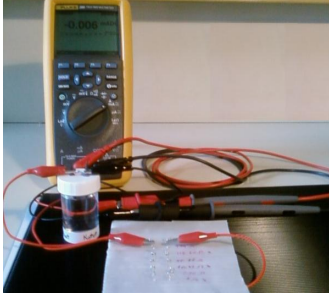
İletken redoks polimeri ve medyatör ajanı ile gerçekleştirilen modifikasyon sonrasında biyolojik molekül tutuklanması ile tasarlanan enzim elektrotlarının “Deneysel Sonuçlar ve Tartışılması” kısmında ayrıntılı olarak tartışılan performansları değerlendirilmeleri sonucu, ulaşılan veri doğrultusunda biyoyakıt pili kurulum aşamasına gelindiğinde PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot biyooanot olarak sistemde kullanılmıştır.

#### **3.4.1.2. Biyokatot Tasarımı**

Biyoyakıt pilinde yükseltgenme işlemi sonucu açığa çıkan elektron tasarlanan biyooanot üzerinden taşınırken diğer tarafta oksijeni katalizleyerek elektron çekecek bir biyokatot tasarlanmıştır. Tasarlanan bu biyoyakıt pili katodunda grafit elektrot üzerine iletken polimer olarak yine polipirol (PPy) ile medyatör olarak 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiozdin-6-sulfonik asit) (ABTS) modifikasyonu ve biyolojik katalizleme ile indirgeme işlemi yapan lakkaz enzimi tutuklanması yapılmıştır. Grafit elektrot pirol monomeri, medyatör (ABTS) ve lakkaz enzimini içeren kaplama çözeltisi içinde üzerinden 25 mc yük geçene kadar uygulanan 0.9 V sabit potansiyel altında modifiye edilmiştir (Brunel et al., 2007). Bu yöntemle biyoyakıt pilinde yükseltgenme sonucu çıkan elektronları alarak oksijeni indirgeyecek PPy-ABTS-Lakkaz kaplı grafit elektrot biyokatot olarak tasarlanmıştır.

#### **3.4.1.3. Biyoyakıt Hücresi Tasarımı**

Biyooanot olarak tasarlanan PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot ve biyokatot olarak tasarlanan PPy-ABTS-Lakkaz kaplı grafit elektrot bir hücre içerisine yerleştirilerek ölçümlerin yapıldığı harici bir multimetreye bağlanmış; Şekil 3.4’de görüldüğu gibi devre tamamlanarak biyoyakıt hücresi oluşturulmuştur.



Şekil 3.4. Hazırlanan biyoanot ve biyokatot ile kurulan devre, biyoyakıt pili.

### 3.4.2. Biyoyakıt Pili Performansının Değerlendirilmesi

Kurulan biyolojik yakıt hücresinde açık devre potansiyelleri, kısa devre akım yoğunluğu ve farklı direnç değerlerinde verdikleri güç çıktı değerleri dijital multimetreye harici direnç kullanılarak kurulan devrede ölçülmüştür. Bu değerler ile çizilen polarizasyon eğrileri ve akım-potansiyel grafikleriyle performans değerlendirmeleri yapılmıştır.

### 3.5. Elektrot Yüzeylerinin Karakterizasyonu

Elektrot yüzeylerinin modifikasyonu ve enzim tutuklaması ile hazırlanan biyokatalizli elektrotlar değişen fiziksel ve kimyasal yapılarının incelenmesi amacıyla FTIR (Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi) ve AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) analizlerine tabi tutulmuştur.

#### 3.5.1. FTIR (Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi) Analizi

Elektrokimyasal polimerizasyonla ve plazma polimerizasyonla yüzeyleri fonksiyonelleştirilen karbon elektrotların modifikasyondan önceki ve sonraki kimyasal yapılarının tayini için Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR, Vertex, 80, Bruker, Almanya) kullanılmıştır. PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot yüzeyleri üzerinden  $500-4000\text{ cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında analiz yapılmıştır.

#### 3.5.2. AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) Analizleri

Elektrokimyasal polimerizasyonla ve plazma polimerizasyonla yüzeyleri fonksiyonelleştirilen karbon elektrotların modifikasyondan önceki ve sonraki fiziksel yapılarının tayini için AFM Atomik Kuvvet Mikroskobu (Ambios, USA) cihazı ile görüntüleme yapılmıştır. Yüzeylerinde hiç modifikasyon gerçekleştirilmemiş grafit elektrotlar ile PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot yüzeylerine ait morfolojiler incelenmiştir.

## 4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞILMASI

Enzim tabanlı biyoyakıt pili uygulamalarına yönelik enzim elektrodu tasarımı için gerçekleştirilen çalışmalar ve oluşturulan bu biyo-katalitik elektrotların performans değerlendirmeleri ile karakterizasyonu için yapılan deneylere ait sonuçlar bu bölümde sunulmuş, elde edilen bulgular üzerine tartışmalar yapılmıştır.

Sonuçlar enzim elektrodu hazırlanması, elektrot performans çalışmaları, enzimatik biyoyakıt pili çalışmaları ve elektrot yüzeyinin karakterizasyonu şeklinde ana başlıklar altında verilmiştir.

### 4.1. Enzim Elektrodu Hazırlanması

Enzim elektrodu tasarımı için seçilen materyal yüzeyine uygulanan iletken polimer modifikasyonu ve enzim tutuklama işlemlerine ait sonuçlar bu bölümde sunulmuştur.

#### 4.1.1. Enzim Elektrodu Olarak Tasarlanan Karbon ve Grafit Elektrotlar

Enzim elektrodu tasarımında elektrot materyali olarak karbon seçilmiştir.

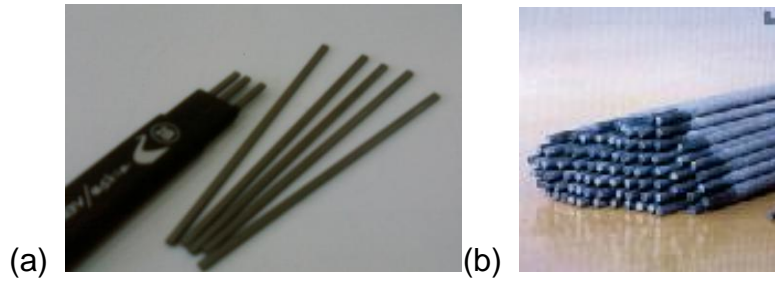
Karbon;

- düşük yoğunluğu,
- iyi elektrik iletkenliği
- geniş potansiyel aralığı
- kabul edilebilir korozyon direnci
- yüksek saflıkta elde edilebilirlik
- düşük maliyet
- yüksek ısı iletkenlik
- boyutsal ve mekanik kararlılık
- çeşitli fiziksel yapıda elde edilebilirlik
- kompozit yapılara fabrikasyonda kolaylık

gibi özelliklerine bağlı olarak redoks proteinlerinin elektron transfer reaksiyonlarını yükseltgemesinden dolayı pil sistemlerinde en çok kullanılan malzemedir (Tarasevic, 1987).

Karbon elektrotlar, iletken polimer modifikasyonu ve enzim tutuklama işlemlerine tabii tutularak enzim elektroduna dönüştürülen temel yapıyı oluşturmuştur.

Enzim elektrotu oluşturmak üzere yapılan deneylerin ilk aşamalarında çubuk şeklinde (10x1.8x0.9 mm) karbon eskiz kalem uçları kullanılmıştır. (Şekil 4.1.a) Saptanan optimum çalışma koşullarında hazırlanan hedef biyoyakıt pili elektrodu için ise %99.99 saflıkta 3.06 mm çapındaki grafit elektrotlar kullanılmıştır. (Şekil 4.1.b) kullanılan elektrotların hücre içinde aktif olarak görev yapan yüzey alanı 0.673 cm<sup>2</sup> olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.1. Kullanılan karbon elektrotların görünümü. (a) karbon eskiz kalem uçları (b) saf grafit elektrotlar.

#### 4.1.2. Elektrot Yüzey Modifikasyonu

Enzim tutuklanması için uygun taşıyıcı yüzeyler yaratmak amacıyla elektrot yüzeyleri uygun fonksiyonel gruplu bileşikler ile modifiye edilir.

Sunulan tez kapsamında elektrot yüzey modifikasyonunda iletken polimer tabakası oluşturmak üzere anilin (An) ve pirol (Py) monomerleri kullanılmıştır.

Polianilin (PAn) en yaygın olarak kullanılan iletken polimerlerden biridir. Polianilin'in iletken polimer olarak içerdiği avantajlar; anilinin ucuz fiyatı, kolay sentezlenmesi, protonik asitlerle basit ve redoks olmayan katkılama girmesi, nem, oksijen ve artan sıcaklığa karşı kararlı olmasıdır. Ayrıca sentezinde geniş aralıklı reaksiyon şartları kullanılan polimerin yapısında ve karakterize edilmesinde ortaya çıkan farklılıklar birçok değişik mekanizma tasarlanmasına katkıda bulunmuştur. Polipirol ise iletken fonksiyonel yüzey oluşumunda biyo uyumlu olması, elektrotların üzerinde elektro-aktif anyon gibi girişim yaratacak bileşiklerin birikimini önlemesi ve bazı durumlarda redoks medyatörü gibi davranarak enzimden elektroda elektron aktarımını gerçekleştirebilmesi avantajlarını sunmuştur.

Elektrot ile enzimin aktif merkezi arasında elektron transferini gerçekleştirmek üzere “arabulucu” bir ajan kullanımı gerekmektedir. Medyatör denilen bu yapılardan kararlılığı, tersine çevrilebilir redoks özellikleri, enzim aktif merkezinin redoks potansiyelinden yüksek redoks potansiyeli olması ve termodinamik açıdan kendiliğinden ilerleyen bir reaksiyona olanak sağlaması avantajlarıyla ferrosenler grubundan dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) bileşiği çalışmalarımızda medyatör olarak kullanılmıştır.

Yüzeyde iletken bir redoks tabakası ile elektron aktarımın sağlayacak arabulucu ajan oluşturmak amacıyla uygulanan plazma polimerizasyonu ve elektrokimyasal polimerizasyon işlemleri sonrası ulaşılan bulgular aşağıda sıralanmıştır.

#### **4.1.2.1. Plazma Polimerizasyonu**

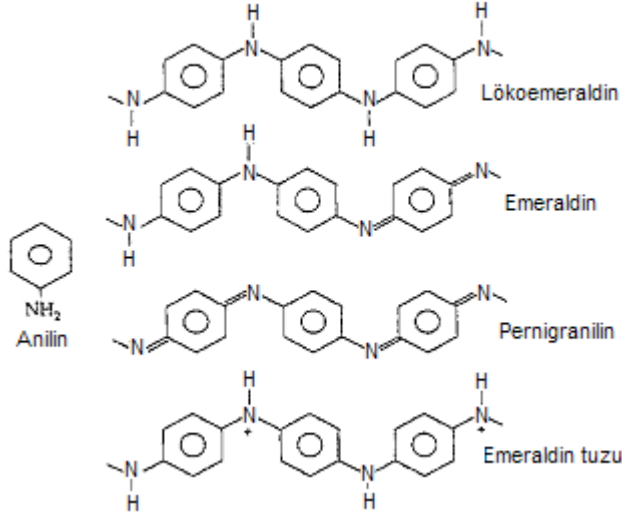
Yüzeylerinde iletken redoks polimeri (PAn ya da PPy) ve medyatör tabakası (DMAMFc) oluşturmak amacıyla karbon elektrotlara plazma polimerizasyonu yöntemi uygulanmıştır.

An monomerinin öncelikle tek başına plazma polimerizasyonu yapılarak PAn kaplamasının karbon yüzeylerdeki etkisine bakılmış, sonrasında medyatör olarak kullanılan DMAMFc bileşiği de monomer çözeltisine eklenerek plazma polimerizasyonu gerçekleştirilmiş ve dönüşümlü voltametri metoduyla kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların uygulanan gerilime verdiği cevaplar karşılaştırılmıştır. Pirol monomerinin plazma polimerizasyonu da son olarak yüzeyde yine iletken PPy tabakası oluşturmak üzere uygulanmış ve karbon elektrotlar üzerindeki etkinliği değerlendirilmiştir.

#### **An plazma polimerizasyonu**

An monomerinin bir redoks polimer tabakası oluşturması için gerçekleştirdiği mekanizmaların çoğu anilin kation radikaline oksidasyonu ile başlar. Kation radikal oluşum basamağı reaksiyonun yavaş basamağıdır. Radikal oluşumundan sonra; iki radikal iyonun birleşmesi ya da bir kation radikali ile nötral bir monomerin birleşmesi üzerinden polimer zinciri oluşmaya başlar.

An monomerinin polimerleşmesiyle oluşan polianilin zincirinin dört oksidasyon basamağı vardır. Lökoemeraldin, emeraldin, pernigranilin ve emeraldin tuzundan oluşan PAn polimerinin bu dört formu şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Polianilin geçiş formları (Cruz et al., 1997).

Polianilin'in bu yapıları elektriksel davranışları açısından farklılık göstermektedir. Emeraldin tuzu kısmi yükseltgenmiş ve protonlanmış olup elektriksel iletkenlik bakımından en iyi özellikleri gösteren formdur. Lökoemeraldin ise aromatik halkada ve N-H grupları arasında hiç çift bağ bulundurmadığından tamamen indirgenmiş tür olup yalıtkan bir karakteristiğe sahiptir. Emeraldin bazı da ana zincirde N-H grubu içeren ve kısmi olarak yükseltgenmiş bir formdur ve yalıtkan özelliği protonik asitlerle katkılanarak önlenip iletken forma dönüştürülebilir. Pernigranilin ise tamamen yükseltgenmiş form olup, ana zincirde hiç N-H grubu içermez ve iletken bir özellik de gösteremez (Cruz et al., 1997). Polianilin'in bu formları arasındaki geçiş elektriksel özellikler ve iletkenlik bakımından ciddi değişikliklere yol açmaktadır.

Karbon elektrot yüzeyleri plazma polimerizasyon yöntemiyle 13.6 MHz radyo frekansında, 20 W ve 5 dakikada An monomeri kullanılarak modifiye edilmiştir.

Yüzeyde oluşturulan PAn tabakasının etkinliği kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların uygulanan potansiyele verdiği cevaplar karşılaştırılarak incelenmiştir.



## Plazma polimerizasyonu ile oluşturulmuş PAn tabakasının elektrokimyasal davranışı:

Elektrokimyasal ölçümlerde belirli redoks potansiyeline sahip olduğundan yaygın olarak kullanılan potasyum ferrosiyanür çözeltisinde An ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır. Aynı kaplama etkinliği bir de PAn tabakasının redoks özellikleri bakımından daha etkin olduğu düşük pH değerlerini sağlayan KHSO<sub>4</sub> çözeltisinde incelenmiştir.

### ▪ Elektrolitik ortam: Potasyum ferrosiyanür çözeltisi

Potasyum ferrosiyanür belirli redoks özelliklerine sahip olduğu için elektrokimyasal ölçüm ve deneylerde yaygın olarak kullanılan bileşiklerdendir. İlk olarak 1966 yılında Farsang ve Tomesanyi, K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] ve K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] bileşiklerinin 1 M KCl çözeltisi içinde polarografik redoks dalgalanmasını çalışmışlardır. Yine aynı ekip çalışmaları sırasında bu bileşiklerin normal redoks potansiyellerinin anyonların doğası ve derişimiyle değiştiği gibi ortamdaki potasyum iyon derişimiyle de değiştiğini gözlemlemişlerdir (Farsang and Tomesanyi, 1966).

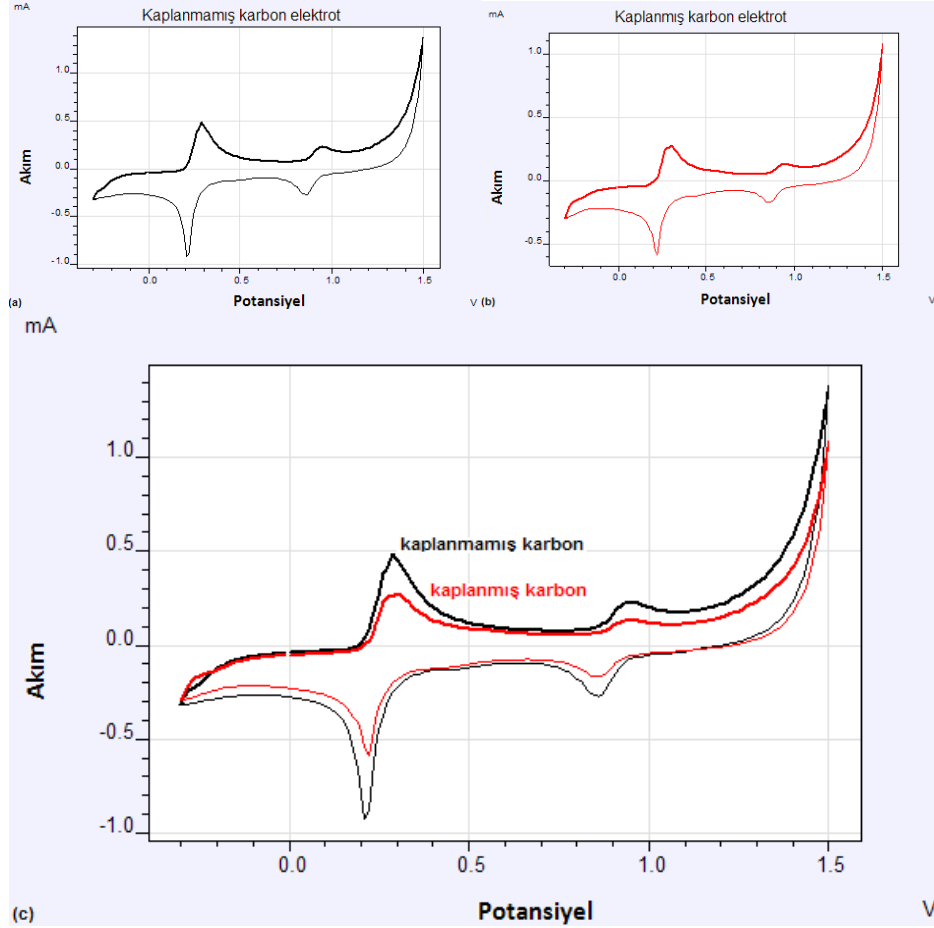


Yükseltgenip indirgenme mekanizması verilen ferrosiyanür bileşiğinin pH 7 ortamında standart potansiyeli 430 mV civarındadır. Kuvvetli asidik ortamdan bazik ortama geçildikçe bu potansiyel değerleri de değişmektedir (Rao et al., 1978).

Polimer filmin elektronik iletkenliğe sahip olduğu potansiyel aralığında çıplak metale göre bir tepkimeyi daha hızlı katalizlemesine sayısız örnek verilebilir. Örneğin, oksijen indirgenmesi, Fe<sup>+2</sup>/Fe<sup>+3</sup>, I<sup>-1</sup>, Br<sup>-1</sup>, ferrosiyanür, hidrazin ve hidrokinonun PAn üzerinde yükseltgenmeleri aynı türlerin çıplak metal üzerindeki tepkimelerinden daha hızlı gerçekleşmektedir (Başbilen, 2006).

Aynı davranışın PAn kaplanmış karbon elektrotlar üzerinde de gerçekleşeceği; PAn'in iletken formunda kaplı olan karbon elektrotlar üzerinde ferrosiyanür bileşiğinin çıplak karbon elektrotların üzerinde yükseltgendiğinden daha efektif yükseltgeneceği düşünülmüştür.

Bu yüzden içinde destek elektrolit olarak 1 M potasyum nitrat ( $\text{KNO}_3$ ) olan, 2 mM potasyum ferrosiyanyür ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) çözeltisi içinde An ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. 2 mM Potasyum Ferrosiyanyür + 1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAN kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAN kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

Anilin plazma polimerizasyonu ile elde edilen polianilin kaplanan yüzeylerdeki varlığını ve elektro-aktivitesini gözlemlemek için bir temel oluşturmak amacıyla modifiye edilmemiş karbon elektrodun (Şekil 4.3.a) ve plazma polimerizasyon yöntemiyle polianilin kaplanmış karbon elektrodun (Şekil 4.3.b) 2 mM Potasyum Ferrosiyanyür + 1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içerisinde 0.01 V/s tarama hızıyla potansiyel taramaları gerçekleştirilmiştir. Karbon çubuklar üzerinde elde edilen polianilin kaplamasının etkisi, kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.3.c).

Bu iki yüzeyin karşılaştırılmış voltamogramları incelendiğinde An ile modifiye edilmiş yüzeydeki potansiyel taraması sırasında elektrot üzerinden geçen akımın daha düşük seviyelerde olduğu görülmektedir. Bu durum kaplanmış yüzeyin redoks aktivitesinin polimerleşme öncesi modifiye edilmemiş karbon yüzeyden daha az olduğu şeklinde yorumlanabilir. Potasyum ferrosiyanür bileşiğinin yükseltgenme ve indirgenmesi hem yalın karbon elektrot üzerinde hem de An ile modifiye edilmiş karbon elektrot üzerinde gerçekleşmiştir; öte yandan beklenenin tersine kaplı elektrot üzerinde bu dönüşüm daha az etkinlik göstermiş ve daha küçük pikler elde edilmiştir. Ayrıca polianiline ait yapısal iç dönüşümlerin görüldüğü karakteristik pikler de kaplanmış karbon elektrotla çekilen dönüşümlü voltamogramda gözlemlenmemektedir. Plazma polimerizasyonu sırasında PAn geçiş formlarının kontrolü zor olduğundan, iletken olmayan bir formunda polimerleşme sonlandırılmış ya da yapıdaki konjugasyon bozulmuş olabilir. Bir diğer açıdan da bu durum ortamın pH değerinin PAn redoks özellikleri açısından uygun olmadığıyla açıklanabilir.

▪ Elektrolitik ortam: Potasyum hidrojen sülfat çözeltisi

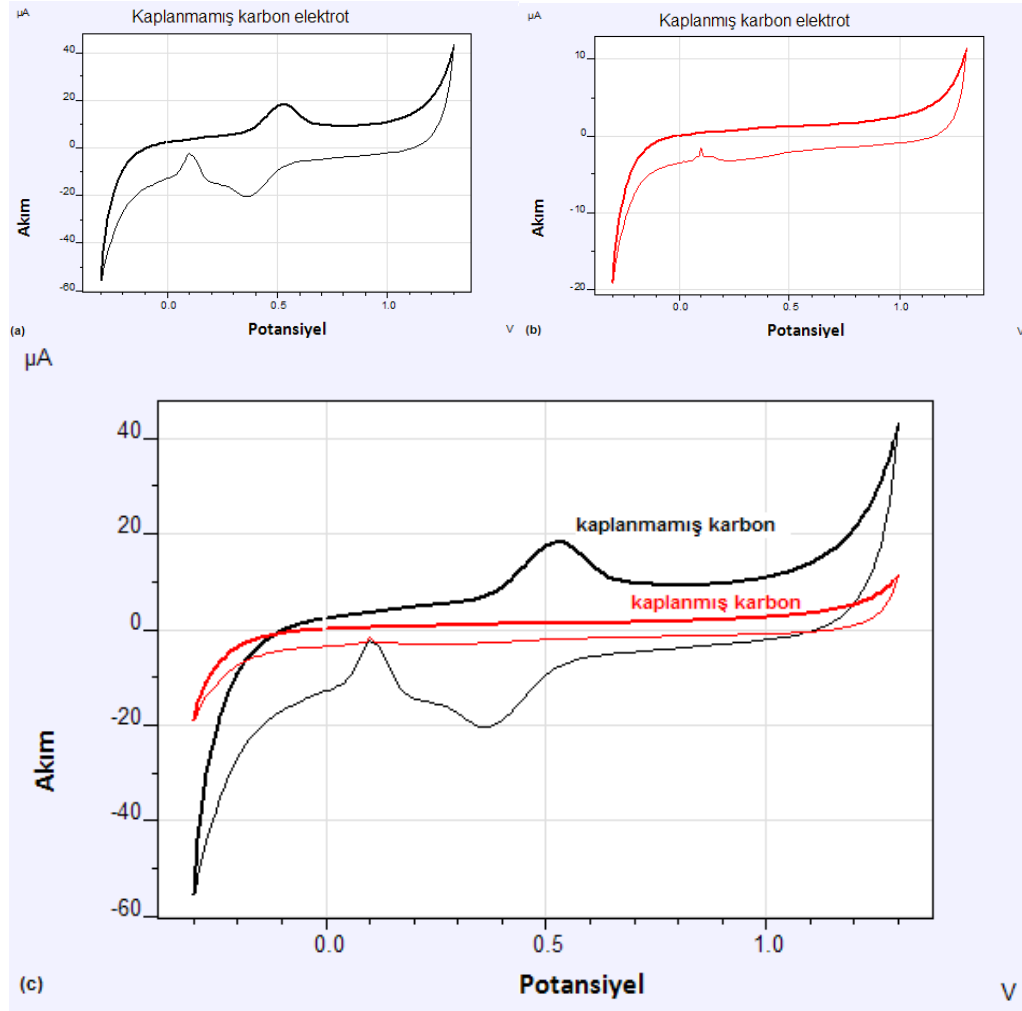
An plazma polimerizasyonu ile yüzeyinde PAn iletken tabakası oluşturulmuş karbon elektrotların potasyum ferrosiyanür çözeltisi içinde çekilen dönüşümlü voltamogramlarından kaplamanın elektrokimyasal olarak aktiflik gösteremediği anlaşılmıştır. Anilin monomerinin polimerleşmesiyle elde edilen polianilinin yüksek pH değerlerinde düşük elektrokimyasal aktivite gösterdiği sonucuna ulaşılmış ve polianilinin dört formunun içerisinde iletken olan emeraldin tuzunun sadece asidik koşullarda elde edilebildiği literatürden de desteklenmiştir (Shan and Mu, 2001).

Bu sebeple PAn tabakasının redoks özelliklerinin daha etkin olduğu düşük pH değerlerinde bir elektrolit ortamında yeniden dönüşümlü voltamogramlar çekilmesi uygun bulunmuştur.

Elektrolit ortam, polianilin yapısının yüksek pH değerlerinde iletkenliğini kaybetmesiyle sonuçlandığından, 0.1 M KHSO<sub>4</sub> tampon çözeltisi kullanımıyla pH=2.0 olarak asidik bir şekilde ayarlanmıştır.

0.1 M potasyum hidrojen sülfat (KHSO<sub>4</sub>) çözeltisi içinde An ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.4).

Anilin plazma polimerizasyonu ile elde edilen polianilin kaplanan yüzeylerdeki varlığını ve elektrokimyasal aktivitesini gözlemlmek için bir referans teşkil etmesi amacıyla modifiye edilmemiş karbon elektrot (Şekil 4.4.a) ve polianilin kaplanmış karbon elektrodun (Şekil 4.4.b) 0.1 M KHSO<sub>4</sub> çözeltisi içerisinde dönüşümlü voltamogramları çekilmiştir. Karbon çubuklar üzerinde anilin plazma polimerizasyonu ile elde edilen polianilin kaplamasının etkisi, kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.4.c).



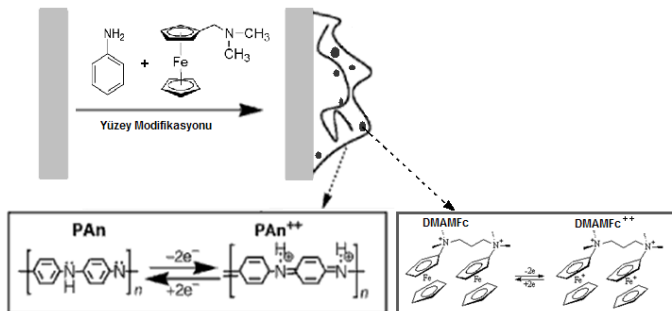
Şekil 4.4. 0.1 M KHSO<sub>4</sub> (pH=2.0) çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

Bu iki yüzeyin karşılaştırılmış voltamogramları incelendiğinde An ile modifiye edilmiş karbon elektrodun potansiyel taraması sırasında elektrot üzerinden geçen akımın modifiye edilmemiş olana oranla daha düşük seviyelerde olduğu görülmektedir. Bunun yanında, PAn tabakasının daha etkin elektrokimyasal özellik gösterdiği düşük pH değerlerinde çalışılmış olmasına rağmen aniline ait karakteristik piklerin kaplanmış karbon elektrodun dönüşümlü voltamogramında hala gözlemlenemediği saptanmıştır. Dört farklı forma sahip PAn redoks polimerinin bu formlar arasından iletkenliğini koruyamadığı form olan pernigranilin formunda polimerleşmenin sonlanmış olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

### An-DMAMFc plazma polimerizasyonu

Medyatör kullanımı bir elektrotta yakıtın yükseltgenmesinden elektron çıkışına kadar işleyen zincir reaksiyonlara bir adım daha eklemesine rağmen, bu yöntemle genellikle daha yüksek verimlere ulaşılabilmektedir (Kim et al., 2006). Çünkü doğal elektron alıcı olarak oksijenin kullanılması durumundaki hidrojen peroksit oluşumunu engelleyerek bunun sonucunda peroksitten olumsuz etkilenip aktivitesini kaybetme potansiyeli bulunan enzimin (glukoz oksidaz) ömrünü uzatacaktır. Ayrıca elektrottaki çalışma potansiyeli medyatörün redoks potansiyeline yakın bir değerde olacağından elde edilebilecek pil gerilimini arttıracak ve membrana gerek duyulmayan substrat-spesifik bir pil sisteminin tasarımına olanak sağlayacaktır.

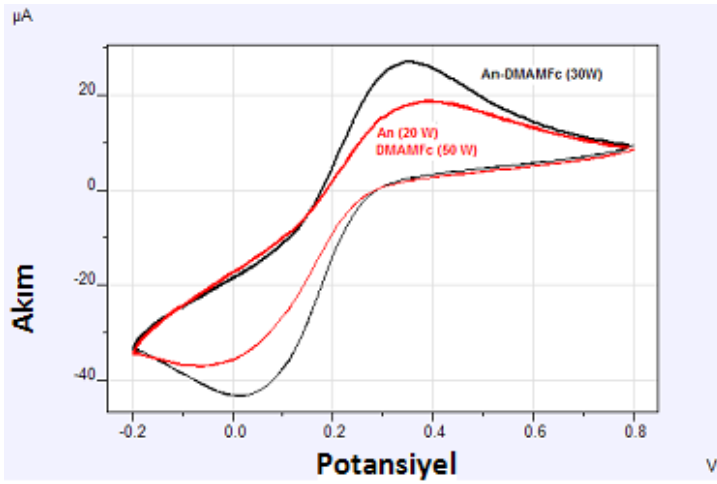
Karbon yüzeylerin modifikasyonunda iletken polimer tabakası oluşturmak için kullanılan anilin (An) monomerinin yanında yapıya dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) bileşiği elektron transferinde rol alan medyatör ajanı olarak eklenmiştir. (Şekil 4.5)



Şekil 4.5. Elektrot yüzeyinde PAn-DMAMFc modifikasyonu ve elektron aktarım mekanizmalarının şematik gösterimi.

Plazma polimerizasyonu ile yüzey modifikasyonu çalışmalarında iletken polimer anilin (An) ve medyatör dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) iki farklı yöntemle reaktöre gönderilmiştir. Yalnızca An ve yalnızca DMAMFc ile yapılan çalışmalar sonucu belirlenen optimum koşullar bu iki türün kombine polimerizasyonu için uygulanmıştır.

“Deneysel Çalışmalar” bölümünde de ayrıntılı olarak anlatılan yöntemlerden ilkinde göre bu kimyasallar en uygun koşullarında sırayla (önce An 20 W ve 5 dakikada An polimerizasyonu, sonra 50 W ve 15 dakikada DMAMFc polimerizasyonu) sisteme beslenmiştir. İkinci yöntemde ise bu iki monomer aynı anda (An ve DMAMFc 30 W, 20 dakika) reaktöre beslenerek polimerizasyon gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.6. İki farklı plazma polimerizasyonu yöntemiyle An-DMAMFc kaplanmış karbon elektrodun 2 mM Potasyum Ferrosiyaniür+ 1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içinde çekilen voltamogramları.

Şekil 4.6’da verilen çakıştırılmış potansiyel taramalarına göre An ve DMAMFc modifikasyonu için uygulanan iki farklı yöntem karşılaştırıldığında, 30W yük boşalım gücüyle ve 20 dakika yük boşalım süresinde aynı anda monomer beslemesiyle gerçekleştirilen polimerizasyonun daha etkin karbon elektrotlar oluşturduğu anlaşılmaktadır.

#### **Plazma polimerizasyonu ile oluşturulmuş PAn-DMAMFc tabakasının elektrokimyasal davranışı:**

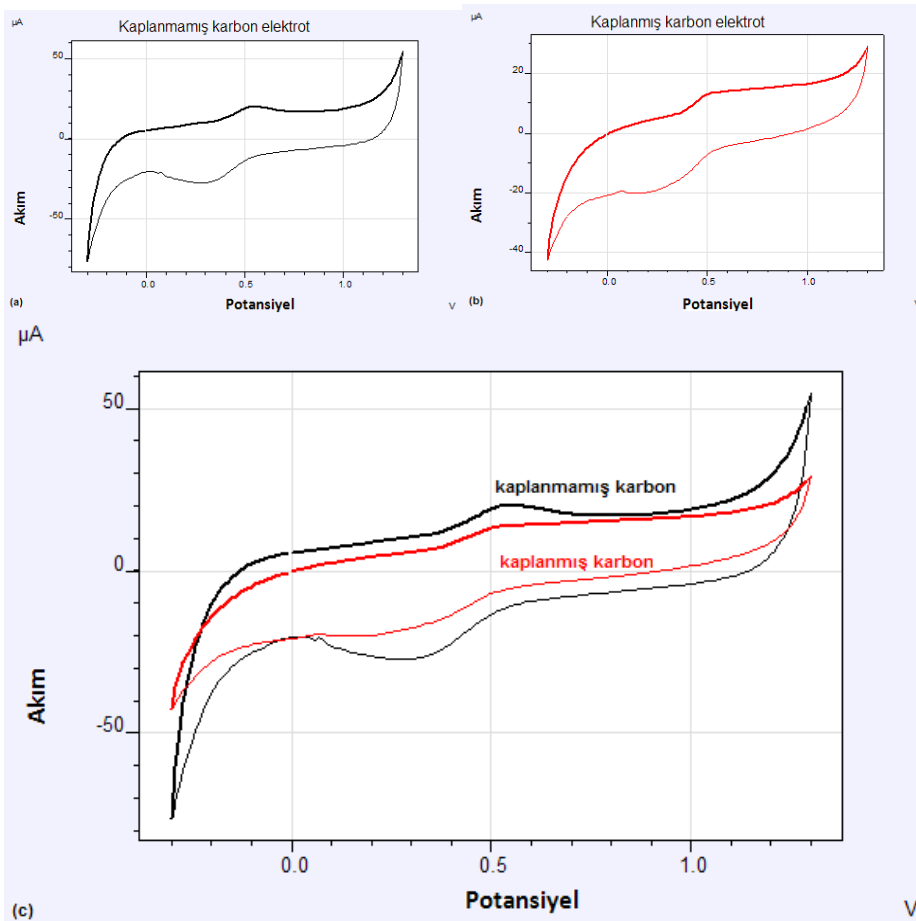
Karbon elektrot yüzeylerinde 30 W gücünde ve 20 dakika polimerizasyon süresinde aynı anda monomer beslemesiyle oluşturulan PAn-DMAMFc

tabakasının etkinliği, kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların potasyum hidrojen sülfat tampon çözeltisi içinde uygulanan potansiyele verdiği cevaplar karşılaştırılarak incelenmiştir.

▪ Elektrolitik ortam: Potasyum hidrojen sülfat çözeltisi

Anilin monomerinin polimerleşmesiyle elde edilen polianilinın düşük pH değerlerinde daha etkin elektrokimyasal aktivite gösterdiği sonucuna ulaşıldığından, karbon yüzeylerdeki PAn-DMAMFc iletken tabakasının etkinliği de yine asidik bir elektrolit ortamda incelenmiştir.

0.1 M potasyum hidrojen sülfat (KHSO<sub>4</sub>) çözeltisi içinde An ve DMAMFc ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. 0.1 M KHSO<sub>4</sub> (pH=2.0) çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAn-DMAMFc kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PAn-DMAMFc kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

An-DMAMFc monomer karışımının plazma polimerizasyonu ile elde edilen PAN film içine tutuklandığı düşünülen DMAMFc'in düşünöldüğü gibi yapıya girdiğini ve aktif bir şekilde çalıştığını gözlemek için referans oluşturması amacıyla modifiye edilmemiş karbon elektrodun 0.1 M KHSO<sub>4</sub> çözeltisi içerisinde dönüştümlü voltamogramı çekilmiştir (Şekil 4.7.a). Sonrasında plazma polimerizasyon yöntemiyle yüzeyinde PAN-DMAMFc tabakası oluşturulmuş karbon elektrodun da aynı çözeltisi içerisinde dönüştümlü voltamogramı çekilmiştir (Şekil 4.7.b). Karbon çubuklar üzerinde An-DMAMFc plazma polimerizasyonu ile elde edilen kaplamasının etkisi, kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüştümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.7.c).

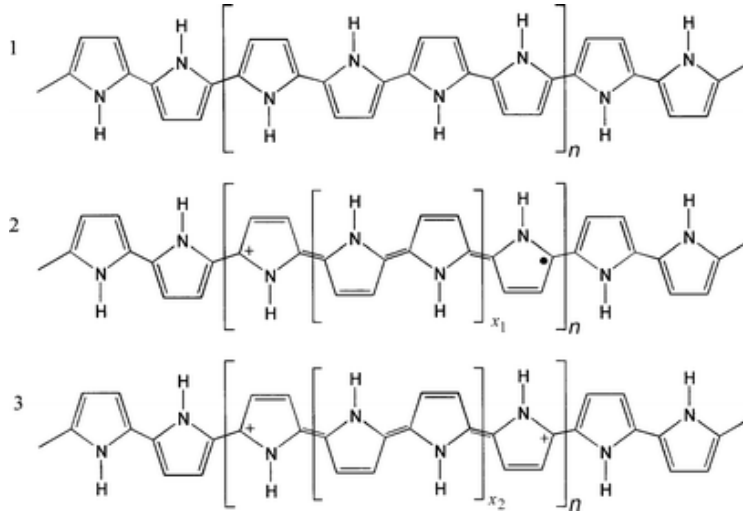
Ortamın pH değeri yine 0.1 M KHSO<sub>4</sub> tampon çözeltisi kullanımıyla yaklaşık pH=2.0 olarak asidik bir şekilde ayarlanmasına ve elektron aktarım medyatörü olan DMAMFc bileşiminin de yapı içine girmesine karşı kaplanmış karbon yüzeyi, üzerinde An polimerleşmesi gerçekleştikten sonraki haliyle daha düşük bir elektroaktif özellik göstermiştir.

### **Pirol plazma polimerizasyonu**

Pirol iletken redoks polimeri oluşumunda yaygın şekilde kullanılan monomerlerden biridir çünkü üretilmesi nispeten kolaydır ve kimyasal olarak daha karardır. Polipirol çoğunlukla ince film yapımında kullanılan tek aşamalı bir elektrooksidasyon işlemi, plazma polimerizasyonu veya daha az tercih edilen bir kimyasal polimerizasyon yöntemi ile hazırlanmaktadır.

Pirol monomerinin baştaki oksidasyonu son derece reaktif özellikteki radikal katyon türünü oluşturur. Anyon filme negatif potansiyel uygulandığında polimer filminden çıkar ve böylece indirgeme nötral duruma kadar devam eder. Oksitlenmiş nötral film anyonlarına pozitif potansiyel uygulandığında yüklenir (Kalaoğlu, 2007). Bunun sonucunda oluşan PPy geçiş durumları Şekil 4.8'de yer almaktadır.





Şekil 4.8. Polipirol'ün geçiş formları (Cabala, 2000).

Karbon elektrot yüzeyleri plazma polimerizasyon yöntemiyle 13.6 MHz radyo frekansı boşalımı, 20 W ve 30 dakikada Py monomeri kullanılarak modifiye edilmiştir. Yüzeyde oluşturulan PPy tabakasının etkinliği kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların uygulanan potansiyele verdiği cevaplar karşılaştırılarak incelenmiştir.

### **Plazma polimerizasyonu ile oluşturulmuş PPy tabakasının elektrokimyasal davranışı:**

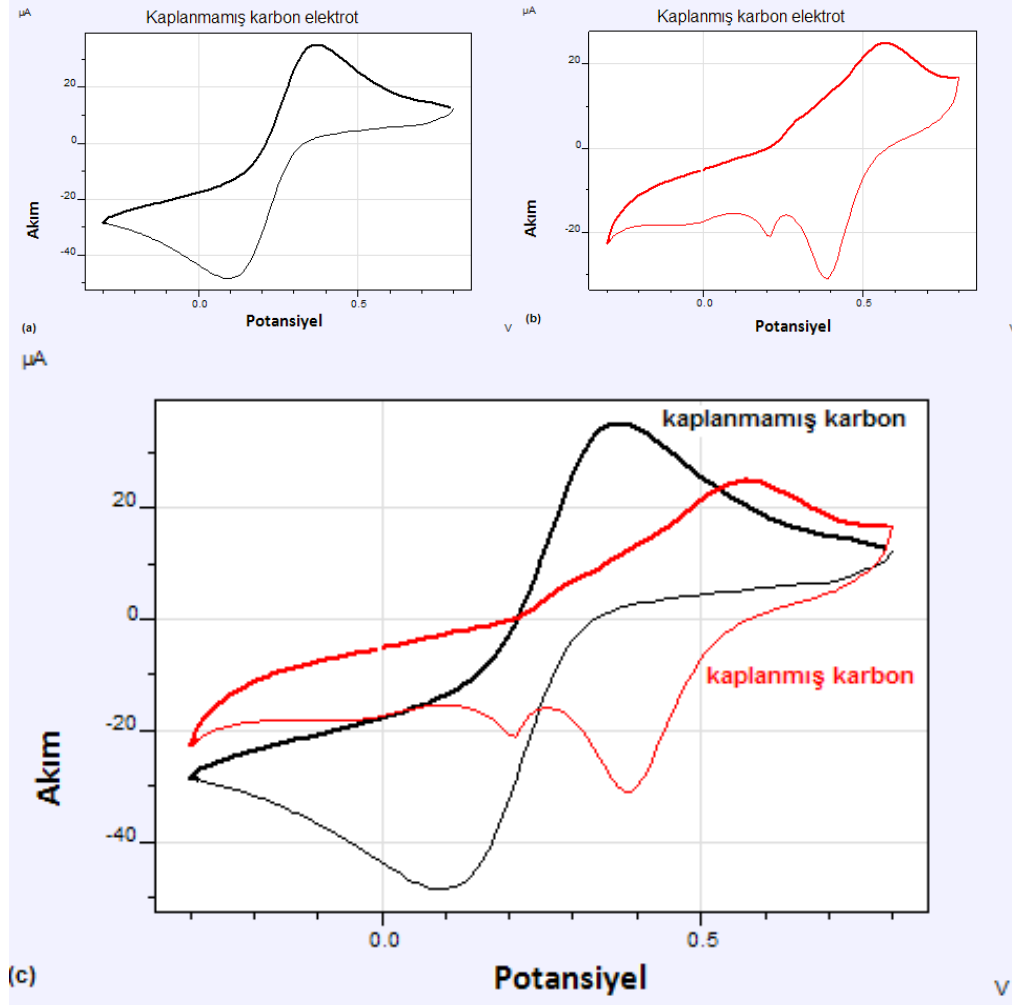
An monomeriyle yapılan kaplamaların incelenmesinde olduğu gibi öncelikle yine elektrokimyasal karakteristiği belirli potasyum ferrosiyandır çözeltisi içinde Py ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır. Aynı iletken PPy redoks polimerinin elektrokimyasal davranışı bir de daha düşük pH değerlerini sağlayan  $\text{KHSO}_4$  çözeltisinde incelenmiştir.

- Elektrolitik ortam: Potasyum ferrosiyandır çözeltisi

2 mM potasyum ferrosiyandır ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) (1 M Potasyum Nitrat destek elektrolit) çözeltisi içinde pirol monomeri ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.9).

Py monomerinin plazma polimerizasyonu ile elde edilen PPy iletken redoks polimerinin elektrokimyasal olarak aktif olup olmadığının testi için kaplanmamış

karbon elektrodun (Şekil 4.9.a) ve yüzeyinde PPy tabakası oluşturulmuş karbon elektrodun (Şekil 4.9.b) ferrosiyanür çözeltisi içerisinde potansiyel taramaları yapılmıştır. Karbon çubuklar üzerinde Py plazma polimerizasyonu ile elde edilen PPy kaplamasının etkisi, kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.9.c).



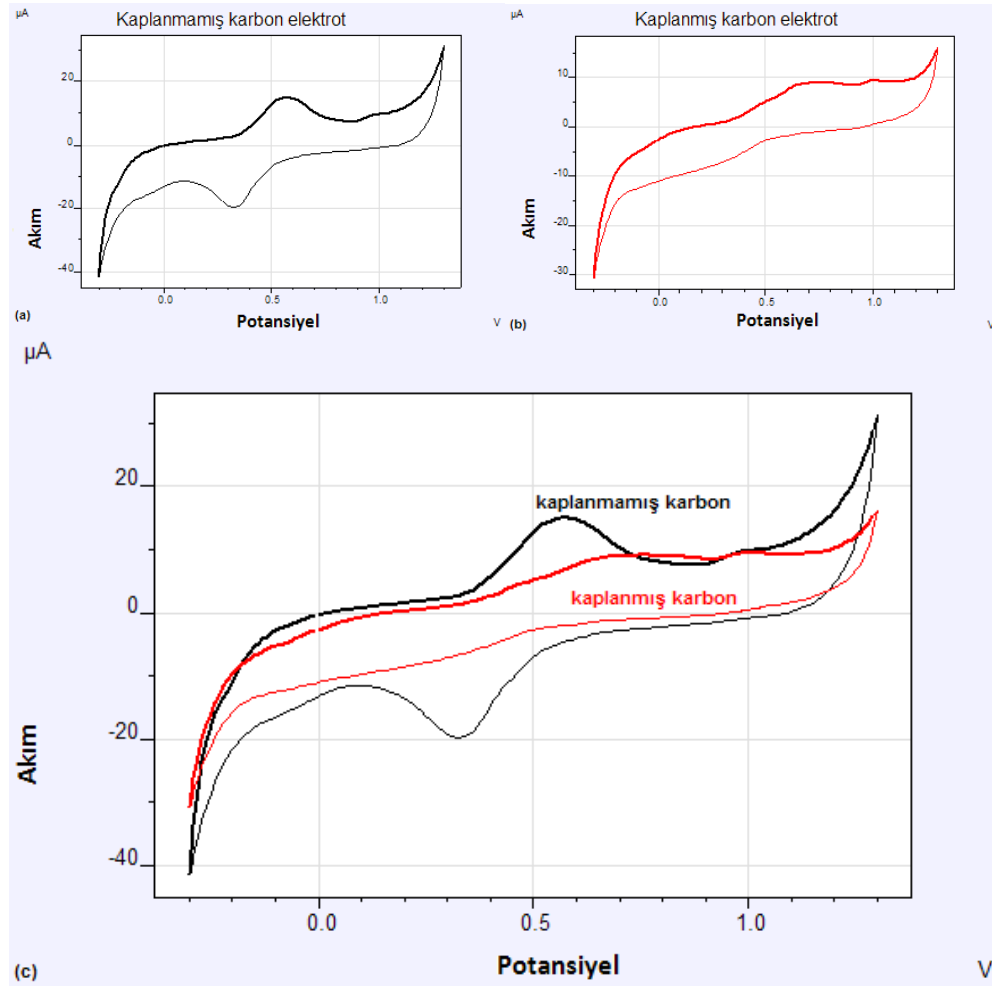
Şekil 4.9. 2 mM Potasyum Ferrosiyanür+1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

Şekil 4.9.c incelendiğinde Py ile modifiye edilmiş yüzeydeki potansiyel taraması sırasında elektrot üzerinden geçen akımın daha düşük seviyelerde olduğu ve bunun yanı sıra yalın karbon çubuk üzerinde ferrosiyanüre ait yükseltgenme-indirgenme piklerin çok net tersinir bir şekilde belirli potansiyellerde görülmesine karşın pirol kaplı elektrodun voltamogramında bu piklerin farklı potansiyellerde

daha yayılmış olarak çıktığı gözlemlenmektedir. Ayrıca normalde ferrosiyanür bileşiği yalın karbon üzerinde yaklaşık 0.3 V gibi bir potansiyelde yükseltgenirken PPy kaplı elektrodun voltamogramında gözlenen yükseltgenme reaksiyonuna ait pikin daha yüksek potansiyelerde gerçekleşmesi (yaklaşık 0.6 V civarında) polimer tabakanın bu noktadan sonra iletken forma geçtiğini göstermektedir.

▪ Elektrolitik ortam: Potasyum hidrojen sülfat çözeltisi

Karbon elektrot yüzeylerinde plazma polimerizasyonu ile oluşturulan PPy tabakasının etkinliğine bir de daha düşük pH değeri (pH=2.0) sağlayan 0.1 M potasyum hidrojen sülfat (KHSO<sub>4</sub>) çözeltisi içinde bakılmıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. 0.1 M KHSO<sub>4</sub> (pH=2.0) çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Plazma polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

Py monomerinin plazma polimerizasyonu ile elde edilen iletken redoks polimer tabakasının elektrokimyasal olarak aktif bir şekilde çalıştığını gözlemlemek için modifiye edilmemiş karbon elektrodun (Şekil 4.10.a) ve üzerinde PPy tabakası olan karbon elektrodun (Şekil 4.10.b) 0.1 M KHSO<sub>4</sub> çözeltisi içerisindeki davranışlarına bakılmıştır. Karbon çubuklar üzerinde Py plazma polimerizasyonu ile elde edilen kaplamanın etkisi, kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.10.c).

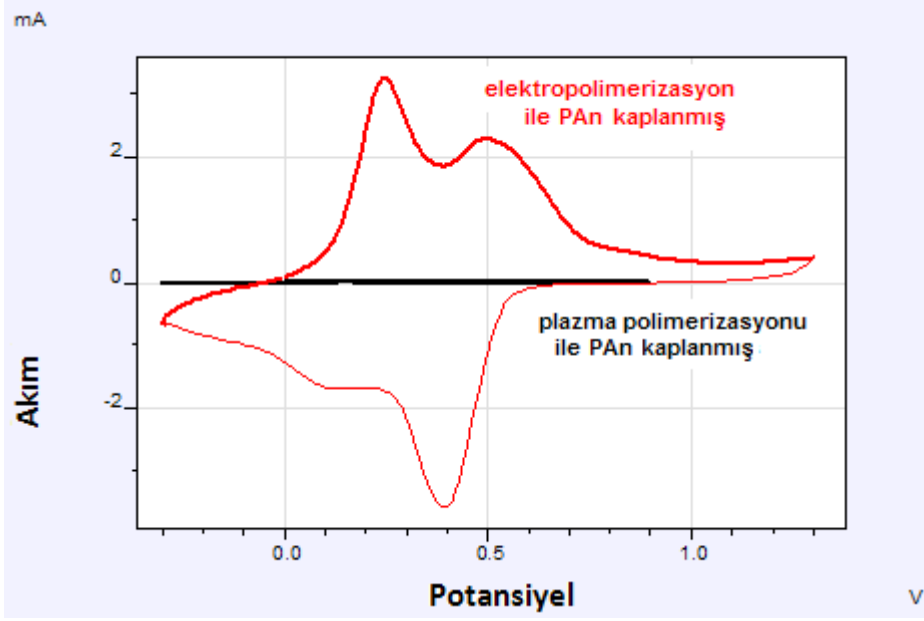
Düşük pH değerlerindeki elektrolit ortamında PPy tabakasının karbon yüzeyi üzerinde etkisi incelendiğinde, potansiyel taraması sırasında elektrot üzerinden geçen akımın kaplanmamış karbonda daha yüksek değerlerde olduğu görülmektedir. Ortam asitliğinin artırılması PPy kaplamasında elektrokimyasal olarak aktifliği artırmamıştır. Aslında pH hassas bir polimer olmaması PPy iletken polimerinin nötral pH değerlerinde çalışıldığı durumda bir avantaj teşkil etmektedir.

#### **Plazma polimerizasyonu yönteminin değerlendirilmesi;**

Yüzey modifikasyonu için uygulanan plazma polimerizasyon yöntemiyle elektrokimyasal özellikleri bakımından çok etkin karbon çubuklar oluşturulamamış; literatürden de iletken polimer yüzeyi oluşturmak için elektrokimyasal polimerizasyon yönteminin çeşitli üstünlüklere sahip olduğu bilgisine ulaşılmıştır (Guimard et al., 2007).

Biyoyakıt pili uygulamaları için tasarlanan elektrodun yüzeyine yüklenecek enzim miktarı ne kadar fazla olursa, katalizleyeceği yakıt ve dolaylı olarak da pilin verimi artacağından; yüzeye daha çok enzim tutuklayabilmek önemlidir. Plazma polimerizasyonu yönteminde elde edilen tek katman film kalınlığı ve yapısı sebebiyle biyoyakıt elektrotları için çok da avantajlı yüzeyler oluşturamamaktadır. Ayrıca elektropolimerizasyon yönteminde olduğu gibi kontrollü polimerizasyon gerçekleştirilememektedir.

Bu yüzden, aynı monomer (An) iki farklı yöntemle karbon çubuk üzerinde polimerleştirilmiş ve dönüşümlü voltamogramları (pH=2.0 0.1 M KHSO<sub>4</sub> çözeltisinde) incelenerek uygulanan potansiyele verdikleri cevaplar karşılaştırılmıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Plazma polimerizasyon yöntemiyle ve elektropolimerizasyon yöntemiyle oluşturulan PAn tabakalarının etkinliğinin 0.1 M KHSO<sub>4</sub> çözeltisinde karşılaştırılması.

Bu iki metodun karşılaştırılmış voltamogramları incelendiğinde elektrokimyasal polimerizasyon ile PAn kaplanmış yüzeydeki potansiyel taraması sırasında elektrot üzerinden geçen akımın çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum plazma polimerizasyonu sırasında karbon yüzeyinde elektropolimerizasyon ile elde edilen yüzeyde olduğu kadar düzgün konjuge yapıda bir redoks tabakasının oluşmadığıyla açıklanabilir ve karbon yüzeyinde elektro-aktif özelliğin azalmasıyla sonuçlanmıştır.

Enzim elektrodu hazırlanması için gerçekleştirilen karbon yüzeylerinin modifikasyonu çalışmalarına bu noktadan sonra elektropolimerizasyon ile devam edilmiştir. Elektropolimerizasyon yöntemi ve bu yöntemle oluşturulan elektrotlardan alınan cevaplar aşağıda incelenmiş ve tartışılmıştır.

#### 4.1.2.2. Elektrokimyasal Polimerizasyon

Yüzeylerinde iletken redoks polimeri (PAn ya da PPy) ve medyatör tabakası (DMAMFc) oluşturmak amacıyla karbon elektrotlara elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi uygulanmıştır.

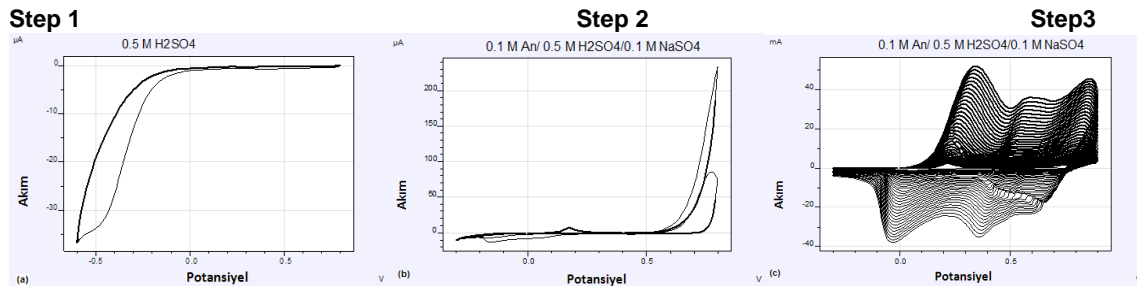
An monomeri öncelikle tek başına elektropolimerizasyon yöntemiyle karbon yüzeylerde polimerleştirilmiş ve oluşturulan PAn tabakasının yüzeylerdeki etkisine

bakılmıştır. Ardından medyatör olarak kullanılan DMAMFc bileşiği de polimerizasyon çözeltisine eklenerek polimerizasyon yapılmış ve dönüşümlü voltametri metoduyla kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların uygulanan gerilime verdiği cevaplar karşılaştırılmıştır. PAn tabakasının etkin olarak çalıştığı düşük pH değerlerindeki elektrolitik ortamların bir sonraki aşamada uygulanacak biyomolekül tutuklanması için uygun olmadığı düşünülerek, An monomerin istenilen herhangi bir pH değerinde çalışmasına olanak sağlayacak ortanilik asit yapıya eklenmiş An ile kopolimer oluşturacak şekilde (An-o-ASA)-DMAMFc kaplaması oluşturulmuştur.

Pirol monomerinin elektrokimyasal polimerizasyonu da yüzeyde yine iletken PPy tabakası oluşturmak üzere uygulanmış ve karbon elektrotlar üzerindeki etkinliği incelenmiştir. Ardından medyatör olarak kullanılan DMAMFc bileşiği de polimerizasyon çözeltisine eklenerek polimerizasyon yapılmış ve PPy-DMAMFc kaplamasının karbon elektrot yüzeylerinde gösterdiği performans dönüşümlü voltametri metoduyla değerlendirilmiştir.

### **An elektropolimerizasyonu**

Anilin elektropolimerizasyonu elektrokimyasal potansiyostat galvanostat cihazında üç aşamada gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Üç aşamada gerçekleştirilen An elektropolimerizasyonu (a) 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> katkılanması (b) 0.1 M An + 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kaplama çözeltisinde elektropolimerizasyon öncesi potansiyel taraması (katyon oluşturma basamağı) (c) An elektropolimerizasyon basamağına ait dönüşümlü voltamogram.

An elektropolimerizasyonunun ilk aşamasında 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinde yüzeye katkılanma (doping) yapılmıştır (Şekil 4.12.a); sonrasında 0.1 M An + 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kaplama çözeltisinde elektropolimerizasyon öncesi potansiyel taraması (Şekil 4.12.b) yapılarak yüzeyde katyon oluşturma işlemi gerçekleştirilmiştir. Son kısımda ise 35 döngü ile yapılan taramada karbon

yüzeyinde An polimerleşmesi (Şekil 4.12.c) gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.12.c polimerleşme basamağındaki döngüleri gösterirken, polianiline ait karakteristik formların verdiği indirgenme yükseltgenme piklerini de içermektedir. Bu formlara ait daha geniş bilgi aşağıda polianilin tabakasının redoks özelliklerinin daha aktif olduğu potasyum hidrojen sülfat (pH 2.0) tampon çözeltisinde incelenmesi sırasında açıklanmıştır.

Yüzeyde oluşturulan PAn tabakasının etkinliği kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların uygulanan potansiyele verdiği cevaplar karşılaştırılarak incelenmiştir.

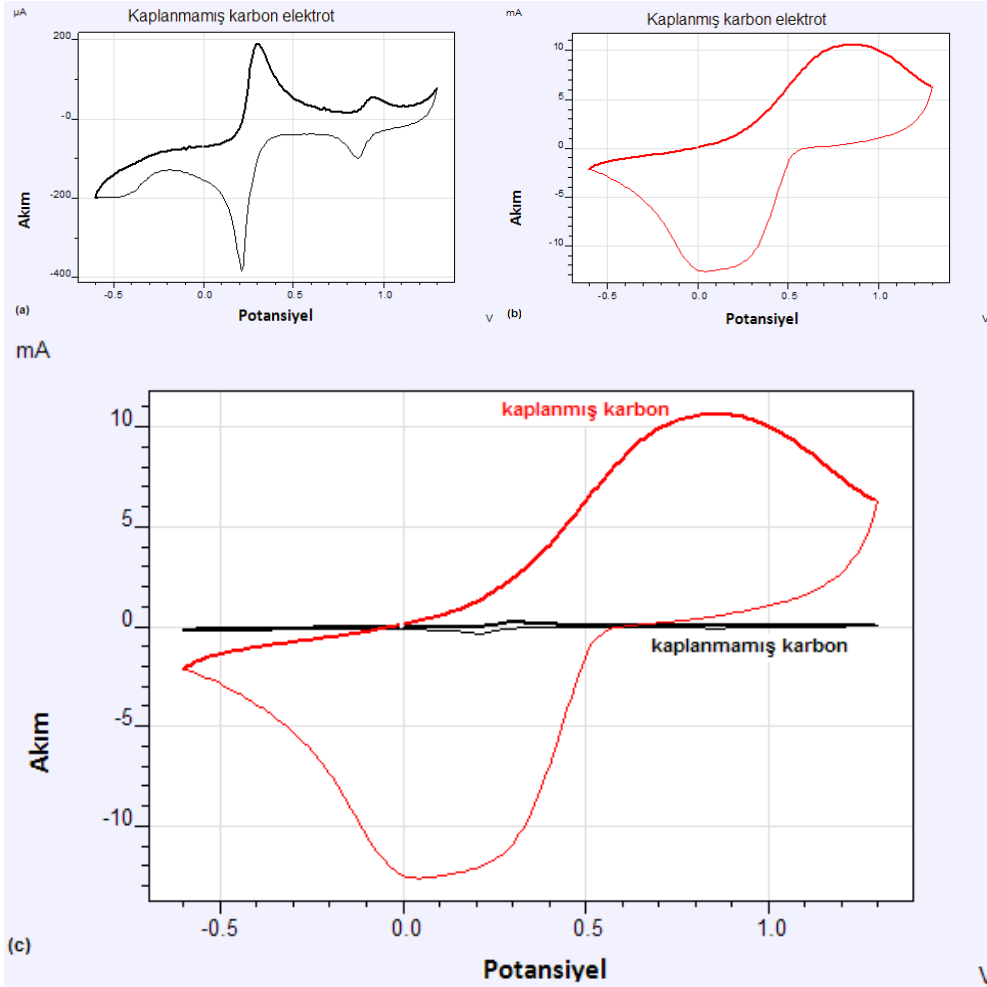
### **Elektropolimerizasyon ile oluşturulmuş PAn tabakasının elektrokimyasal davranışı:**

Öncelikle yine redoks davranışı belli potasyum ferrosiyanür çözeltisi, sonra da PAn'ın daha etkin elektrokimyasal aktivite gösterdiği potasyum hidrojen sülfat çözeltisi kullanılarak An ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır.

#### ▪ Elektrolitik ortam: Potasyum ferrosiyanür çözeltisi

Plazma polimerizasyonu ile modifikasyonu yapılan elektrotların testinde olduğu gibi An elektropolimerizasyonu ile yapılan PAn kaplaması yine öncelikle elektrokimyasal karakteristiği belirli potasyum ferrosiyanür çözeltisi içinde bakılmıştır. 2 mM potasyum ferrosiyanür ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ) (ve 1 M Potasyum Nitrat destek elektrolit) çözeltisi içinde An ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.13).

Anilin elektropolimerizasyonu ile elde edilen polianilin tabakasının yüzeylerdeki varlığını ve elektro-aktivitesini gözlemek için referans olması amacıyla modifiye edilmemiş karbon elektrodun (Şekil 4.13.a) ve elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle polianilin kaplanmış karbon elektrodun (Şekil 4.13.b) 2 mM Potasyum Ferrosiyanür + 1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içerisinde 0.005 V/s tarama hızıyla potansiyel taramaları gerçekleştirilmiştir. Karbon çubuklar üzerinde anilin elektropolimerizasyonu ile elde edilen PAn kaplamasının etkisi, kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.13.c).



Şekil 4.13. 2mM Potasyum Ferrosiyandır + 1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAN kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAN kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

Kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde elektropolimerizasyon yöntemiyle PAN kaplanmış yüzeyde yapılan potansiyel taraması sırasında elektrot üzerinden geçen akımın hiç modifikasyona uğramamış karbon elektrodun üzerinden geçen akıma oranla oldukça fazla olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra ferrosiyanüre ait yükseltgenme-indirgenme pikleri An kaplı elektrodun voltamogramında çok büyük ve daha yayılmış olarak çıktığı gözlemlenmektedir. Oldukça düzgün konjuge yapıda bir An tabakasının elektropolimerizasyon ile elde edildiği ve böylelikle yüzeydeki iletkenliğin de artarak ferrosiyanürün redoks tepkimesine ait piklerin büyük çıktığı anlaşılmaktadır. Ayrıca yine bu piklerin büyük olması iletken tabakanın kendi karakteristik piklerini de kapatmıştır.

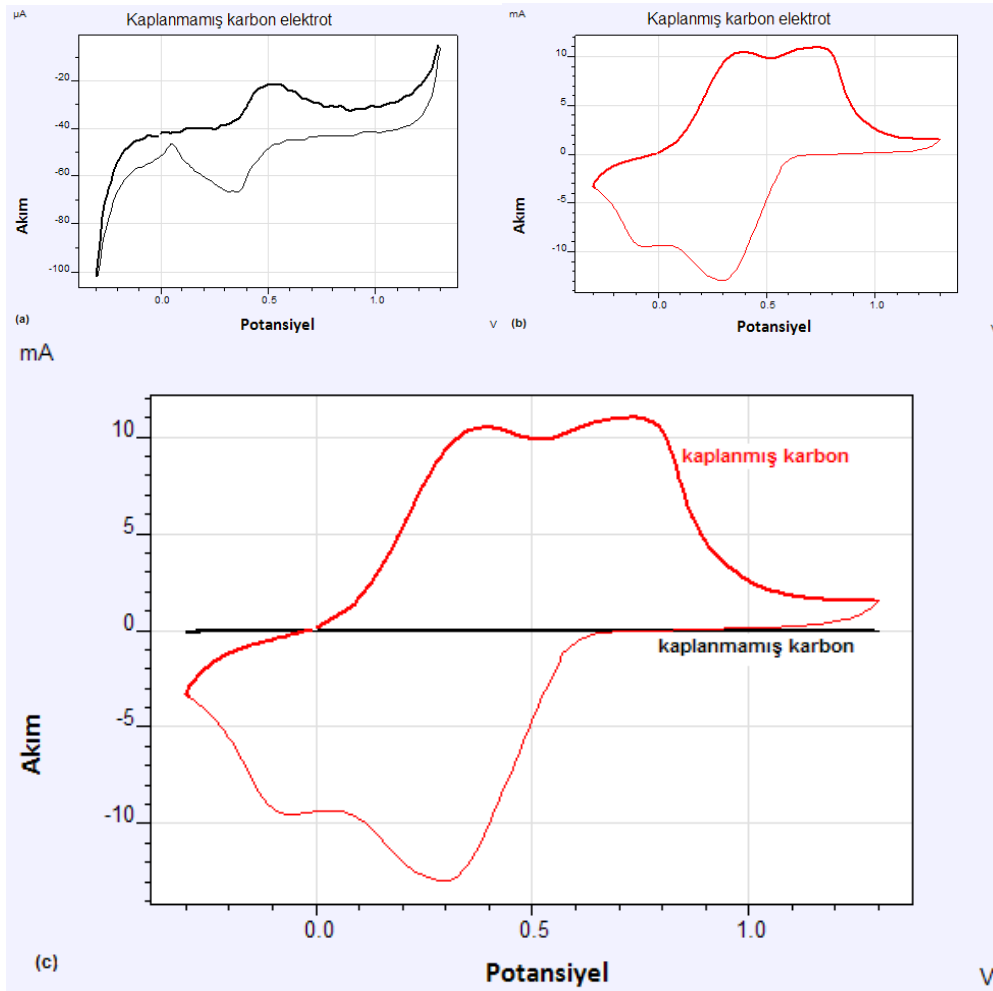


▪ Elektrolitik ortam: Potasyum hidrojen sülfat çözeltisi

PAn tabakasının redoks özelliklerinin düşük pH değerlerinde daha iyi olması sebebiyle An elektropolimerizasyonu ile hazırlanan karbon elektrotlar asidik bir elektrolit ortam içinde test edilmiştir.

Elektrolit ortam, polianilin yapısının yüksek pH değerlerinde iletkenliğini kaybetmesiyle sonuçlandığından, 0.1 M KHSO<sub>4</sub> tampon çözeltisi kullanımıyla pH=2.0 olarak asidik bir şekilde ayarlanmıştır.

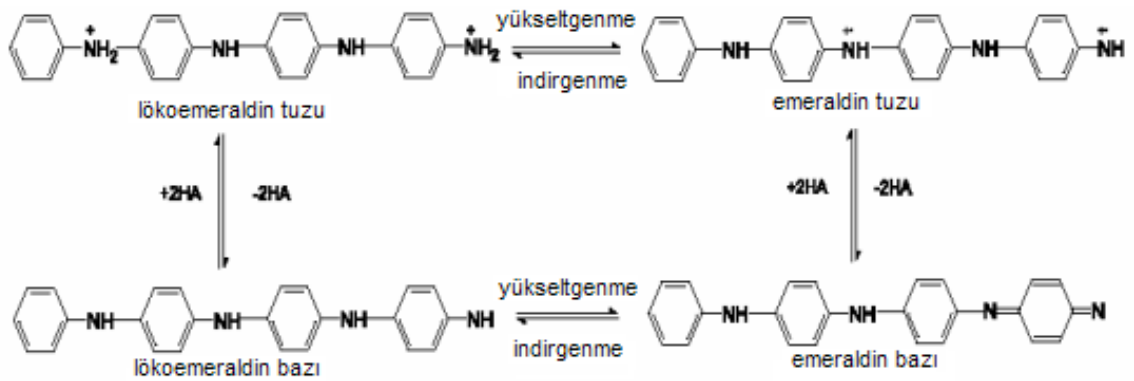
0.1 M potasyum hidrojen sülfat (KHSO<sub>4</sub>) çözeltisi içinde An ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. 0.1 M KHSO<sub>4</sub> (pH=2.0) çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

Anilin monomerinin bir uyarıcı ajan (doping) varlığında (0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> elektropolimerizasyonu ile elde edilen polianilin, kaplanan yüzeylerdeki varlığını ve elektrokimyasal aktivitesini gözlemlemek için bir referans teşkil etmesi amacıyla modifiye edilmemiş karbon elektrodun (Şekil 4.14.a) ve polianilin kaplanmış karbon elektrodun (Şekil 4.14.b) KHSO<sub>4</sub> çözeltisi içerisinde dönüşümlü voltamogramları çekilmiştir. Karbon çubuklar üzerinde anilin elektropolimerizasyonu ile elde edilen polianilin kaplamasının etkisi, kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.14.c).

Polianilin sentezinde geniş aralıklı reaksiyon şartları kullanılmaktadır. Sonuçta polimerin yapısında ve karakterize edilmesinde ortaya çıkan farklılıklar birçok değişik mekanizma tasarlanmasına katkıda bulunmuştur. Çoğunlukla tasarlanan mekanizmalar anilin kation radikale oksidasyonu ile başlar. Kation radikal oluşum basamağı reaksiyonun yavaş basamağıdır. Polimerin büyümesi; büyüyen polimerin oksitlenmesi, aniline kapling ve deprotonasyonun tekrarlanan çevrimi ile sürer. Üç benzenoid halkalı emeraldin baz ve dört benzenoid halkalı lökoemeraldin baz (LB) arasındaki iç dönüşümler Şekil 4.15’de verilmiştir.



Şekil 4.15. Emeraldin ve lökoemeraldin formları arasında polianilin yükseltgenme mekanizması (Yakar, 2006).

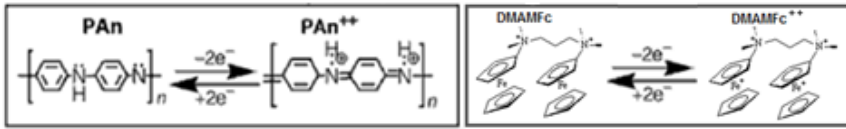
Elektropolimerizasyon yöntemiyle polianilin kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (Şekil 4.14.b) incelendiğinde görülmektedir ki 0.280 V’teki anodik pik polianilin filmin, protoemeraldin veya lökoemeraldin (tamamen indirgenmiş form) formundan elektriksel iletkenlik ve kararlılık bakımından en faydalı form olan emeraldin bazı formuna geçişini göstermektedir. 0.730 V’teki anodik pik ise polianilin son yükseltgenme basamağı olan emeraldin bazından pernigranilin

(tamamen yükseltgenmiş form) geçişi göstermektedir. Bu formda polianilin film iletkenlik özelliğini yitirmiştir.

Kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramlar (Şekil 4.14.c) incelendiğinde elektropolimerizasyon yöntemiyle PAn kaplanmış yüzeyde yapılan potansiyel taraması sırasında elektrot üzerinden geçen akımın hiç modifikasyona uğramamış karbon elektrodun üzerinden geçen akıma oranla oldukça fazla olduğu görülmektedir. Bu da oluşturulan film tabakasının konjugasyonunu koruyarak iletkenliğini sürdürdüğünü göstermektedir.

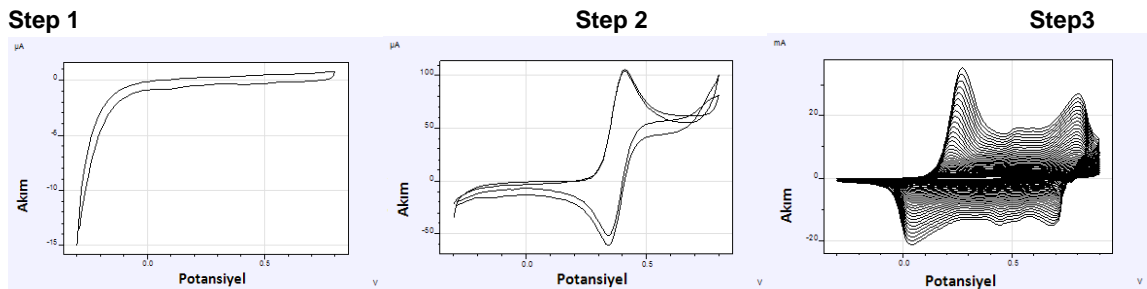
### An-DMAMFc elektropolimerizasyonu

Karbon yüzeylerin modifikasyonunda iletken polimer tabakası oluşturmak için kullanılan anilin (An) monomerinin yanında dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) bileşiği de yapıya elektron transferinde rol alan medyatör ajanı olarak eklenmiştir.



Şekil 4.16. PAn ve DMAMFc redoks tepkimeleri.

Anilin elektropolimerizasyonu elektrokimyasal potansiyostat galvanostat cihazında üç aşamada gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Üç aşamada gerçekleştirilen An-DMAMFc elektropolimerizasyonu (a) 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> katkılması (b) 0.1 M An + 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.5 M DMAMFc kaplama çözeltisinde elektropolimerizasyon öncesi potansiyel taraması (kation oluşturma basamağı) (c) An elektropolimerizasyon basamağına ait dönüşümlü voltamogram.

An-DMAMFc elektropolimerizasyonunun ilk aşamada 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinde yüzeye katılma (doping) yapılmıştır (Şekil 4.17.a); sonrasında 0.1 M An + 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kaplama çözeltisinde elektropolimerizasyon öncesi potansiyel taraması (Şekil 4.17.b) yapılarak yüzeyde kation oluşturma işlemi

gerçekleştirilmiştir. Son kısımda ise 35 döngü ile yapılan taramada karbon yüzeyinde An polimerleşmesi (Şekil 4.17.c) gerçekleştirilmiştir.

### **Elektropolimerizasyon ile oluşturulmuş PAn-DMAMFc tabakasının elektrokimyasal davranışı:**

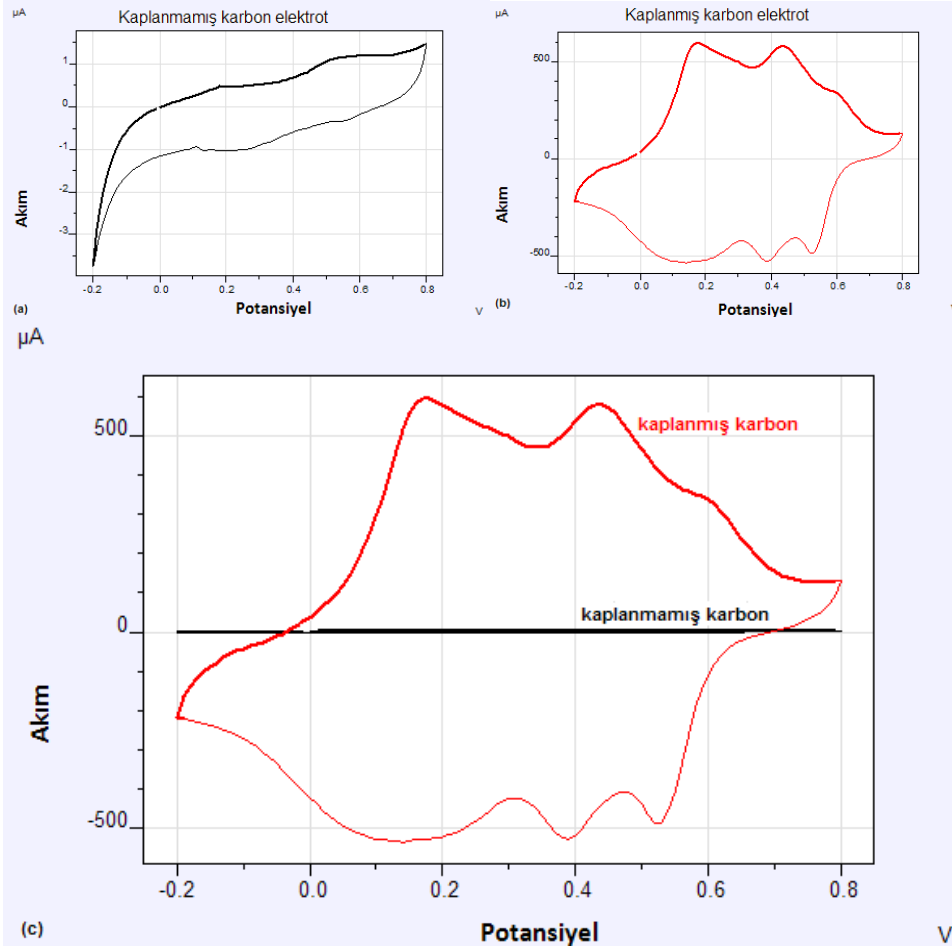
Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle karbon elektrot yüzeylerinde oluşturulan PAn-DMAMFc tabakasının etkinliği, kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların pH 2.0 potasyum hidrojen sülfat tampon çözeltisi içinde uygulanan potansiyele verdiği cevaplar karşılaştırılarak incelenmiştir.

#### ▪ Elektrolitik ortam: Potasyum hidrojen sülfat çözeltisi

Anilin monomerinin polimerleşmesiyle elde edilen polianilin düşük pH değerlerinde daha etkin elektrokimyasal aktivite göstermesi sebebiyle karbon yüzeylerdeki PAn-DMAMFc iletken tabakasının etkinliği de yine asidik bir elektrolit ortamda incelenmiştir.

0.1 M potasyum hidrojen sülfat ( $\text{KHSO}_4$ ) çözeltisi içinde An ve DMAMFc ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.18).

An-DMAMFc monomer karışımının elektrokimyasal polimerizasyonu ile elde edilen polimer tabaka içine hapsedildiği varsayılan DMAMFc'in düşünüldüğü gibi yapıya girdiğini ve aktif bir şekilde çalıştığını gözlemlemek için referans oluşturması amacıyla modifiye edilmemiş karbon elektrodun 0.1 M  $\text{KHSO}_4$  çözeltisi içerisinde dönüşümlü voltamogramı çekilmiştir (Şekil 4.18.a). Sonrasında elektropolimerizasyon yöntemiyle yüzeyinde PAn-DMAMFc tabakası oluşturulmuş karbon elektrodun da 0.1 M  $\text{KHSO}_4$  çözeltisi içerisinde dönüşümlü voltamogramı çekilmiştir (Şekil 4.18.b). Karbon çubuklar üzerinde An-DMAMFc polimerizasyonu ile elde edilen kaplamanın etkisi, kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.18.c).



Şekil 4.18. 0.1 M  $\text{KHSO}_4$  (pH=2.0) çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAN-DMAMFc kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektropolimerizasyon yöntemiyle PAN-DMAMFc kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

Kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramlar (Şekil 4.18.c) incelenip potansiyele karşı akım verileri değerlendirildiğinde görülmektedir ki, elektropolimerizasyon yöntemiyle PAN-DMAMFc kaplanmış yüzeyli elektrotta anodik ve katodik akım değerleri kaplanmamış elektroda kıyasla oldukça yüksektir yani yapılan potansiyel taraması sırasında elektrot üzerinden geçen akım hiç modifikasyona uğramamış karbon elektrodun üzerinden geçen akıma oranla oldukça fazladır.

Yüzeyinde elektropolimerizasyonla PAN içinde tutuklanmış DMAMFC bulunan modifiye karbon elektrotların 0.1 M  $\text{KHSO}_4$  çözeltisi içerisinde dönüşümlü voltametri ile analizi sonucunda anodik taramada sadece polianilin ile kaplanmış elektrotlardan farklı olarak 0.220 V, 0.480 V ve 0.680 V gibi 3 potansiyel değerinde

pikler gözlenmiştir. (Şekil 4.18.b) Bunlardan 0.220 V daki yükseltgenme piki emeraldin bazına yükseltgenmeyi, 0.680 V'daki pik ise ikinci oksidasyon formu olan emeraldin bazından pernigranilin formuna geçişi göstermektedir. 0.480 V'daki pikin ise DMAMFc bileşiğinin yükseltgenmesine ait pik olduğu düşünülmektedir. Aynı şekilde katodik taramada da sadece polianilin kaplı elektrotlardan farklı olarak 3 ayrı potansiyelde indirgenme potansiyellerine ait pikler gözlemlenmiştir. Elektropolimerizasyonla sadece polianilin ve polianilin içine tutuklanmış DMAMFc film karbon elektrotların verdikleri pik sayısındaki değişimden DMAMFc'in polimer film içerisinde tutuklandığı sonucuna varılmıştır.

### **(An-Ortanilik asit)-DMAMFc elektropolimerizasyonu**

Anilin monomerinin polimerleşmesiyle elde edilen polianilin pH hassas bir polimerdir. Polianilin yapılarından iletken olan emeraldin tuzunun sadece asidik koşullarda (pH= 2.0 ~ 3.0) elde edilebildiği yani redoks özelliklerinin düşük pH değerlerinde daha etkin olduğu bilinmektedir ve bu durum yapılan çalışmalarla desteklenmiştir.

Öte yandan PAN'in nötral pH değerlerinde redoks özelliklerini yitirmesi enzimler gibi nötral yada hafif asidik çözeltilerde optimum aktivite gösteren biyolojik yapılarla birlikte kullanılmasında sorunlar ortaya çıkarır. İletken polimer tabakası PAN ve medyatör ajanı DMAMFc ile kaplanmış karbon yüzeylere biyo-katalizleme için tutuklanacak enzim olan glukoz oksidaz asitliği yüksek elektrolit ortamlarında denatürasyona uğramaktadır.

Bir sonraki aşamada uygulanacak biyomolekül tutuklanması (GOx) için uygun olan çalışma pH aralığında (pH= 5.0 ~ 7.0) elektrokatalitik özelliğini yitirdiği deneylerle doğrulanan polianilin yerine çalışmalara anilin türevi olan aniline-2-sülfonik asit (ortanilik asit) ile devam edilmiştir.

Sülfolanmış polianilin ilk rapor edilen kendiliğinden katkılanmış iletken polimerdir ve başta nötral sulu çözeltiler olmak üzere çok çeşitli çözeltilerde benzersiz redoks özellikleri göstermektedir. Polimerin elektriksel iletkenliği polianilin aksine çözelti ortamdaki proton konsantrasyonundan bağımsız olduğu için geniş pH aralığında aktifliğini korumaktadır. An ile kopolimer oluşturacak şekilde yapıya katılan o-amino benzen sülfonik asit (ortanilik asit) polimerleşme aşamasından sonra

redoks tabakasının daha yüksek pH değerlerinde çalışmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca fenil halkalarına bağlanmış durumda bulunan  $-\text{SO}_3^-$  gruplarının varlığı yapının çevresel kararlılığını da arttırmaktadır (Şahin, 2003).

An elektropolimerizasyonu prosedürü (An-o-ASA)-DMAMFc modifikasyonu için de takip edilmiş; yalnızca elektropolimerizasyon çözeltisine An ile aynı derişimde ortanilik asit (o-amino benzen sülfonik asit) eklenmiştir. İlk aşamada 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  çözeltisi ile yine yüzeyde katılama (doping) yapılmıştır. Sonraki aşamada 0.1 M An + 0.1 M o-ASA+ 0.1 M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  + 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  kaplama çözeltisinde elektropolimerizasyon öncesi potansiyel taraması yapılarak yüzeyde katyon oluşturma işlemi yapılmış ve ardından 35 döngü ile karbon yüzeyinde (An-o-ASA)-DMAMFc polimerleşmesi gerçekleştirilmiştir.

Yüzeyde oluşturulan poli(An-o-ASA)-DMAMFc tabakasının etkinliği aynı şekilde, kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların uygulanan potansiyele verdiği cevaplar karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

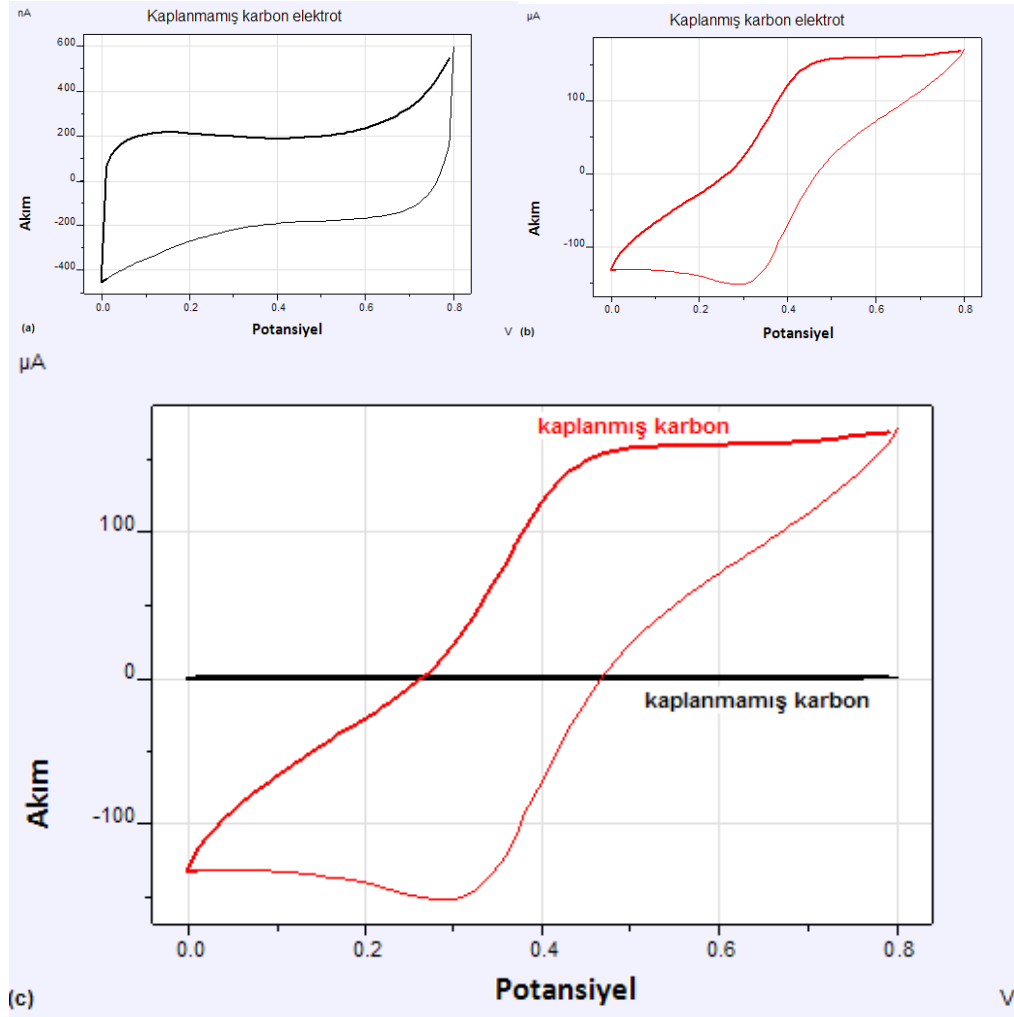
### **Elektropolimerizasyon ile oluşturulmuş poli(An-o-ASA)-DMAMFc tabakasının elektrokimyasal davranışı:**

Elektropolimerizasyon ile oluşturulmuş poli(An-o-ASA)-DMAMFc tabakasının elektrokimyasal davranışı incelenirken bu sefer PAN'in daha etkin elektrokimyasal aktivite gösterdiği potasyum hidrojen sülfat çözeltisi yerine artık bir sonraki aşama olan GOx tutuklanması için de uygun olan daha yüksek pH değerinde bir tampon çözelti kullanılmıştır. Yüzeyleri (An-o-ASA)-DMAMFc ile modifiye edilmiş ve edilmemiş elektrotların elektrokimyasal davranışları pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi içinde çekilen dönüşümlü voltamogramları karşılaştırmalı olarak incelenerek değerlendirilmiştir.

#### ▪ Elektrolitik ortam: pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi

An monomerin istenilen herhangi bir pH değerinde çalışmasına olanak sağlayacak ortanilik asit (o-ASA) yapıya eklendikten sonra; An, o-ASA ve DMAMFc ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi içinde dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.19).

Poli(An-o-ASA)-DMAMFc kaplamasının etkinliği incelenirken, bir referans oluşturması amacıyla modifiye edilmemiş karbon elektrodun pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi içinde dönüşümlü voltamogramı çekilmiştir (Şekil 4.19.a). Sonrasında elektropolimerizasyon yöntemiyle yüzeyinde poli(An-o-ASA)-DMAMFc tabakası oluşturulmuş karbon elektrodun aynı tampon çözeltisi içerisinde dönüşümlü voltamogramı çekilmiştir (Şekil 4.19.b). Karbon çubuklar üzerinde oluşturulmuş kaplamasının etkisi, modifiye edilmiş ve edilmemiş yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.19.c).



Şekil 4.19. pH 5.5 PBS çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle (An-Ortanilik asit)-DMAMFc kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle poli(An-o-ASA)-DMAMFc kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

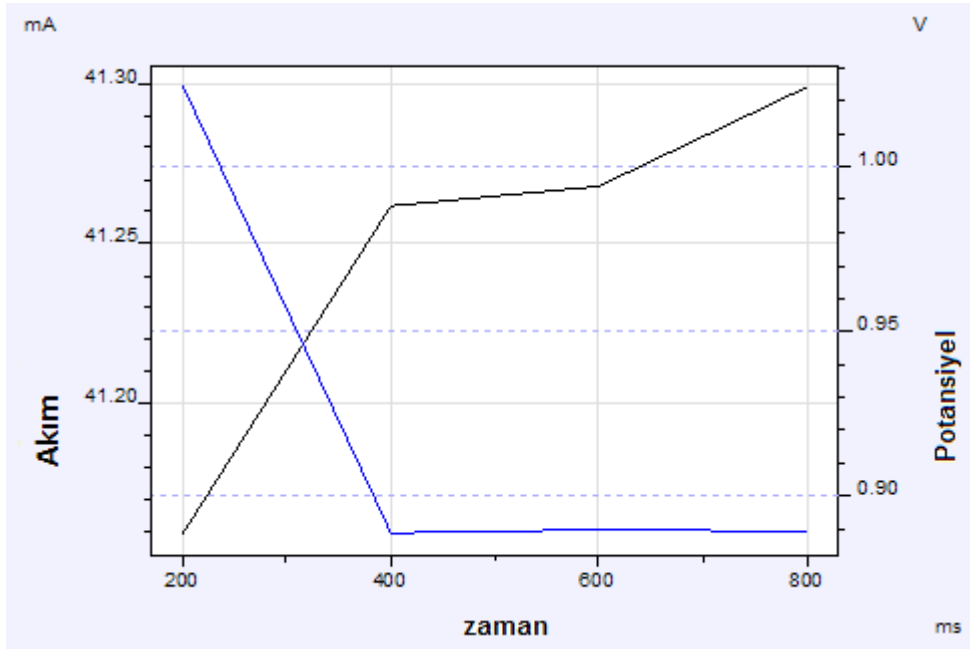
Kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde elektropolimerizasyon yöntemiyle poli(An-o-ASA)-DMAMFc



kaplanmış yüzeyli elektrotta anodik ve katodik akım değerlerinin kaplanmamış elektrodla kıyasla oldukça yüksek olduğu görülmektedir; yapılan potansiyel taraması sırasında elektrot üzerinden geçen akım hiç modifikasyona uğramamış karbon elektrodun üzerinden geçen akıma oranla oldukça fazladır. Sadece asidik koşullarda emeraldin iletken formunda iyi bir elektrokimyasal aktivite gösterebilmesine rağmen An modifiye karbon elektrodun pH 5.5 elektrolitik ortamda alınan dönüşümlü voltamogramı kaplamanın çok net bir redoks aktivitesi gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu da yapıya kopolimer oluşturacak şekilde katılan ortanilik asitin, polimerleşme aşamasından sonra karbon çubuk üzerinde oluşturulan redoks tabakasına istenilen pH aralığında çalışma olanağı sağladığını göstermektedir.

### **Py elektropolimerizasyonu**

Pirol elektropolimerizasyonu elektrokimyasal potansiyostat galvanostat cihazında “mixed mode” denilen bir yöntemin uygulanmasıyla gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.20).

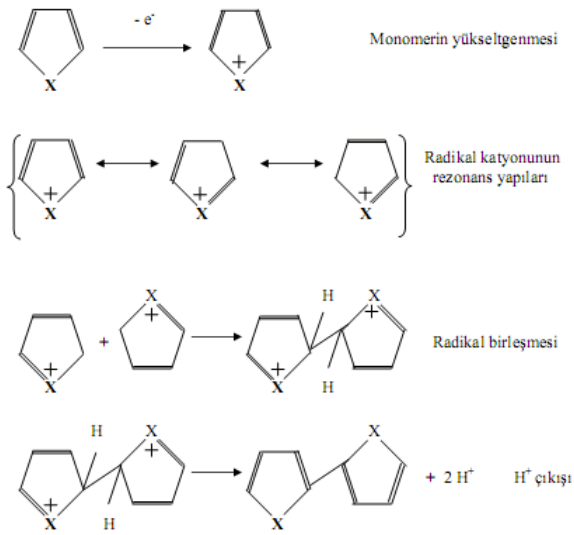


Şekil 4.20. Pirol elektropolimerizasyonuna ait zamana karşı potansiyel-akım grafiği.

“Deneysel Çalışmalar” kısmında detaylı olarak anlatılan pirol monomerinin elektropolimerizasyonu, kronopotansiyometri ve kronoamperometri yöntemlerinin bir arada kullanımıyla gerçekleştirilmiştir. Sistemimizde var olan bu kombine

yöntem (mixed mode) ile pirol kaplama çözeltisi içinde kaplanacak karbon elektroda 0.9 V sabit potansiyel üzerinde 25 mc yük geçene kadar uygulanmıştır.

Pirolün elektropolimerizasyonu polipirol oluşturma reaksiyonunda, anodik oksidasyon polimerizasyonu üç aşamada gerçekleşir. Öncelikle gerçekleşen tepkime dimer oluşturmak için başka bir radikal katyonla etkileşen veya monomere elektrofilik olarak saldıran radikal oluşumudur. Sonrasında gerçekleşen polimerizasyon boyunca akım zamanla doğrusaldır ve bu da elektrokimyasal reaksiyonun elektrot yüzeyinde olduğunu doğrular. Üçüncü olarak da elektrot yüzeyinde dimer, trimer ve polimer pirol monomerinden düşük potansiyelde yükseltgenir. Böylece polimerizasyon boyunca yükseltgenmiş halde bulunurlar. Polimer üzerinde oluşan pozitif yükler elektrolit çözeltisindeki anyonlarla karşılanır (Şekil 4.21).



X: NH, S, O

Şekil 4.21. Pirol için yükseltgenme mekanizması (Yakar, 2006).

Yüzeyde oluşturulan PPy tabakasının etkinliği yüzeyi kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların uygulanan potansiyele verdiği cevaplar karşılaştırılarak incelenmiştir.

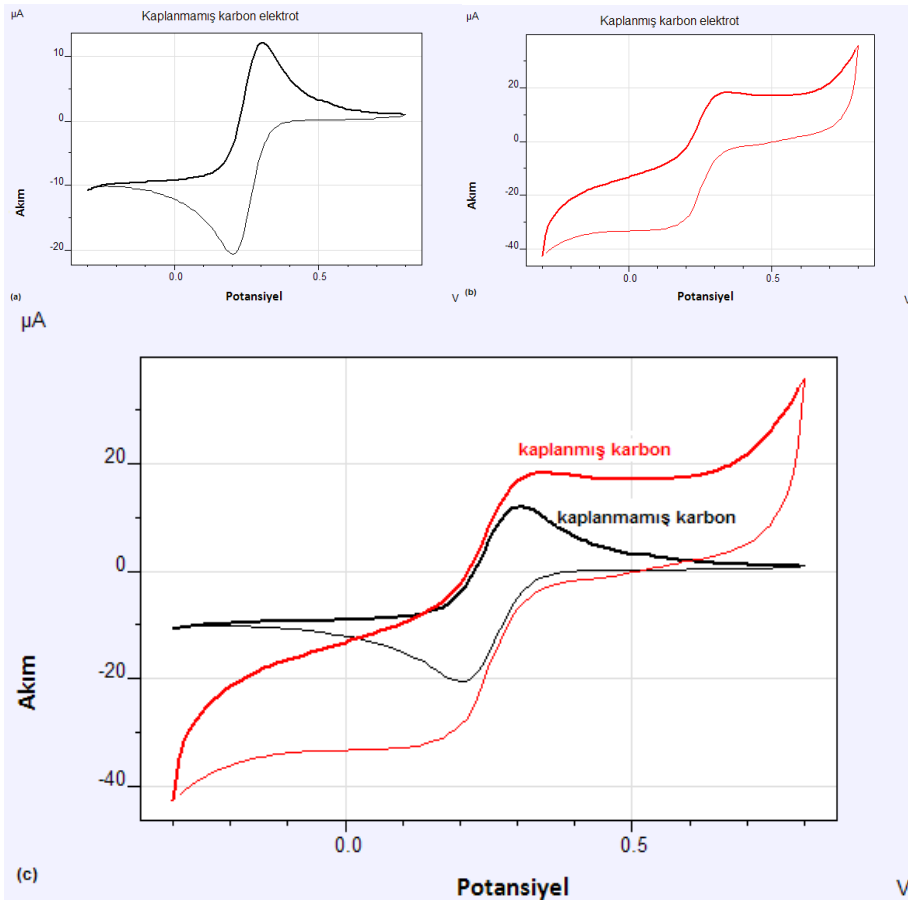
### Elektropolimerizasyon ile oluşturulmuş PPy tabakasının elektrokimyasal davranışı:

Öncelikle belirli redoks davranışlarına sahip potasyum ferrosiyanür çözeltisi sonra da enzimin tutuklanması ve aktif olarak çalışması için uygun olan pH 5.5 fosfat

tampon çözeltisi içinde modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır.

- Elektrolitik ortam: Potasyum ferrosiyandır çözeltisi

Pirol elektropolimerizasyonu yöntemi uygulanarak yapılan karbon elektrot üzerinde oluşturulan PPy kaplamasının elektrokimyasal etkinliğine yine öncelikle redoks davranışı belirli potasyum ferrosiyandır çözeltisi içinde bakılmıştır. 2 mM potasyum ferrosiyandır ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ) (1 M Potasyum Nitrat destek elektrolit ile) çözeltisi içinde Py ile modifiye edilmiş karbon elektrotların dönüşümlü voltamogramları ile hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. 2 mM Potasyum Ferrosiyandır + 1 M Potasyum Nitrat çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

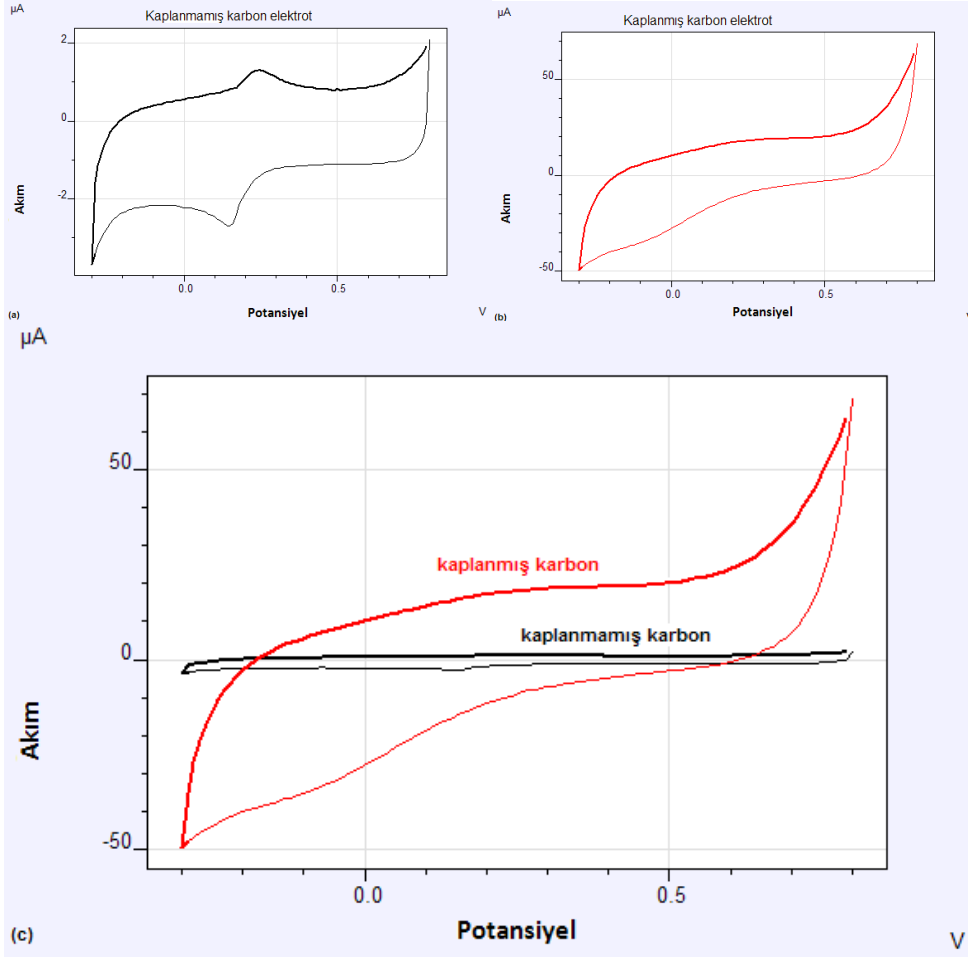
Elektropolimerizasyon sonrası elde edilen PPy tabakasının yüzeylerdeki varlığını ve elektro-aktivitesini gözlemlemek için modifiye edilmemiş karbon elektrodun (Şekil 4.22.a) ve elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış karbon elektrodun (Şekil 4.22.b) 2 mM Potasyum Ferrosiyandır çözeltisi içerisinde 0.005 V/s tarama hızıyla potansiyel taramaları gerçekleştirilmiştir. Karbon çubuklar üzerinde bu kaplamanın etkisi, modifiye edilmiş ve edilmemiş yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.22.c).

Şekil 4.22.c ile gösterilen dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde PPy kaplanmış elektrot yüzeyi üzerinden geçen akımın hiç modifikasyona uğramamış karbon üzerinden geçen akıma göre daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca ferrosiyandıre ait redoks davranışı da PPy kaplı elektrodun voltamogramında da gözlemlenebilmektedir. Daha önce ki sonuçlarda plazma polimerizasyonu ile elde edilen PPy tabakası incelenirken belirtildiği gibi, yalnız karbon elektrodun ferrosiyandırü yüksek potansiyellerden yüksek bir potansiyel değerinde kaplama iletken forma ulaşmıştır; öte yandan elektropolimerizasyon ile elde edilen PPy tabakası yukarıdaki voltamogramlara bakılarak değerlendirildiğinde, daha düşük potansiyellerde (yaklaşık 0.3 V) iletken forma ulaşıldığı saptanmıştır.

- Elektrolitik ortam: pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi

PPy ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalnız karbon çubukların biyomolekül tutuklanmasına uygun bir pH değerindeki fosfat tampon çözeltisi içinde dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.23).

Elektropolimerizasyon sonrası elde edilen PPy tabakasının karbon çubuklar üzerindeki etkisini gözlemlemek için modifiye edilmemiş karbon elektrodun dönüşümlü voltamogramı çekilmiştir (Şekil 4.23.a). Sonrasında elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış karbon elektrodun (Şekil 4.23.b) pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi içerisinde 0.005 V/s tarama hızıyla potansiyel taraması gerçekleştirilmiştir. Karbon çubuklar üzerinde oluşturulan bu redoks polimer kaplamanın etkisi, modifiye edilmiş ve edilmemiş yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.23.c).



Şekil 4.23. pH 5.5 PBS çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

Kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotlar kullanılarak çekilen dönüşümlü voltamogramlara bakıldığında PPy kaplanmış yüzey üzerinden geçen akımın hiç modifikasyona uğramamış karbon elektrodun üzerinden geçen akıma göre daha fazla olduğu görülmektedir. Piyrol ile oluşturulan iletken polimer tabakasının daha yüksek çalışma pH'larında da elektro-aktif bir özellik gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

### Py-DMAMFc elektropolimerizasyonu

Karbon yüzeylerin modifikasyonunda iletken polimer tabakası oluşturmak için kullanılan pirol (Py) monomerinin yanında dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) bileşiği de yapıya elektron transferinde rol alan medyatör ajanı olarak eklenmiştir.

Pirol monomerinin elektropolimerizasyonunda olduğu gibi PPy-DMAMFc kaplaması oluşturmak için de aynı prosedür izlenmiş; kronopotansiyometri ve kronoamperometri yöntemlerinin bir arada kullanımı olan kombine yöntem uygulanmıştır. Pirol ve kaplama çözeltisine eklenen dimetilaminometil ferrosen medyatörü uygulanan 0.9 V sabit potansiyel altında üzerinden 25 mc yük geçene kadar polimerleştirilmiştir.

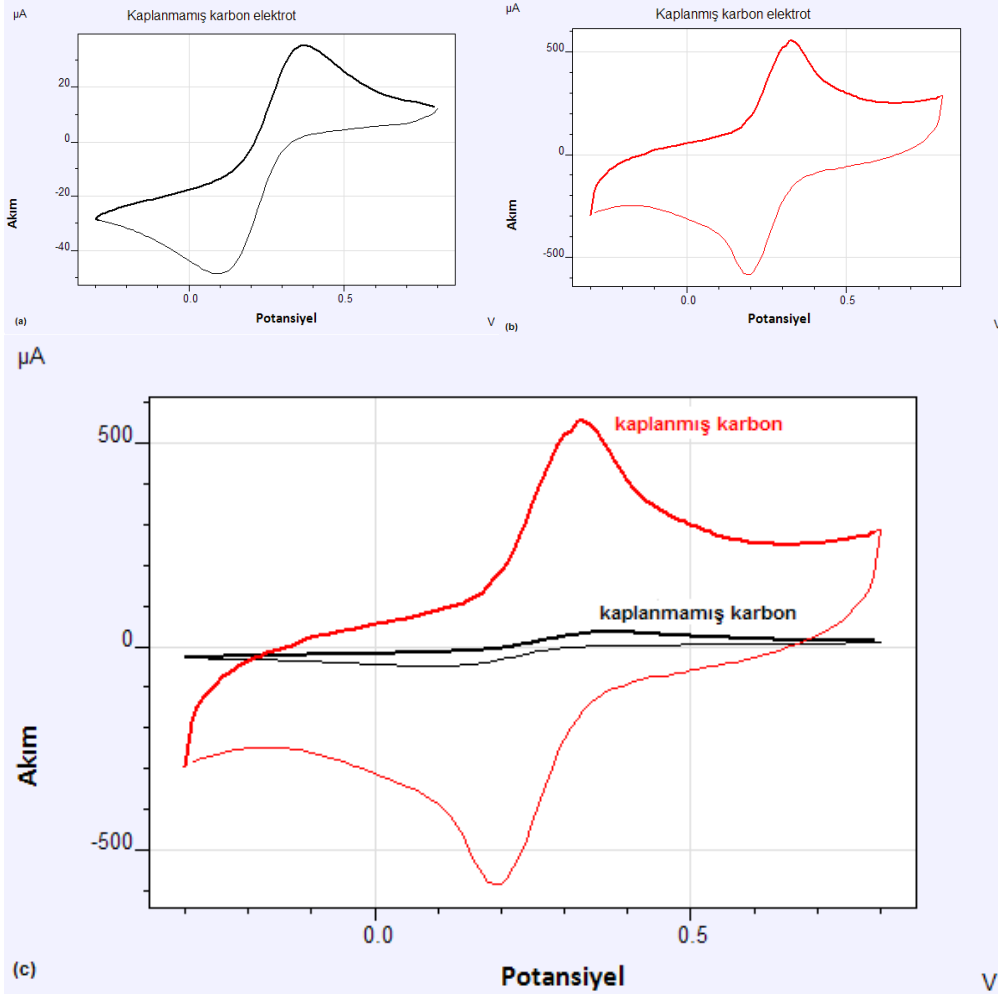
### **Elektropolimerizasyon ile oluşturulmuş PPy-DMAMFc tabakasının elektrokimyasal davranışı:**

Öncelikle potasyum ferrosiyaniür çözeltisi içinde sonra da enzimin tutuklanması ve aktif olarak çalışması için uygun olan pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi içinde modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır.

#### ▪ Elektrolitik ortam: Potasyum ferrosiyaniür çözeltisi

Pirol elektropolimerizasyonu yöntemi uygulanarak yapılan karbon elektrot üzerinde oluşturulan PPy-DMAMFc kaplamasının elektrokimyasal etkinliğine yine öncelikle redoks davranışı belirli potasyum ferrosiyaniür çözeltisi içinde bakılmıştır. 2 mM potasyum ferrosiyaniür ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ) çözeltisi (1 M potasyum nitrat destek elektrolit ile) içinde Py ile modifiye edilmiş karbon elektrotların dönüşümlü voltamogramları ile hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.24).

Elektropolimerizasyon sonrası elde edilen PPy-DMAMFc tabakasının yüzeylerdeki varlığını ve elektro-aktivitesini gözlemlemek için modifiye edilmemiş karbon elektrodun (Şekil 4.24.a) ve elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış karbon elektrodun (Şekil 4.24.b) 2mM Potasyum Ferrosiyaniür çözeltisi içerisinde 0.005 V/s tarama hızıyla potansiyel taramaları gerçekleştirilmiştir. Karbon çubuklar üzerinde bu kaplamanın etkisi, modifiye edilmiş ve edilmemiş yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.24.c).



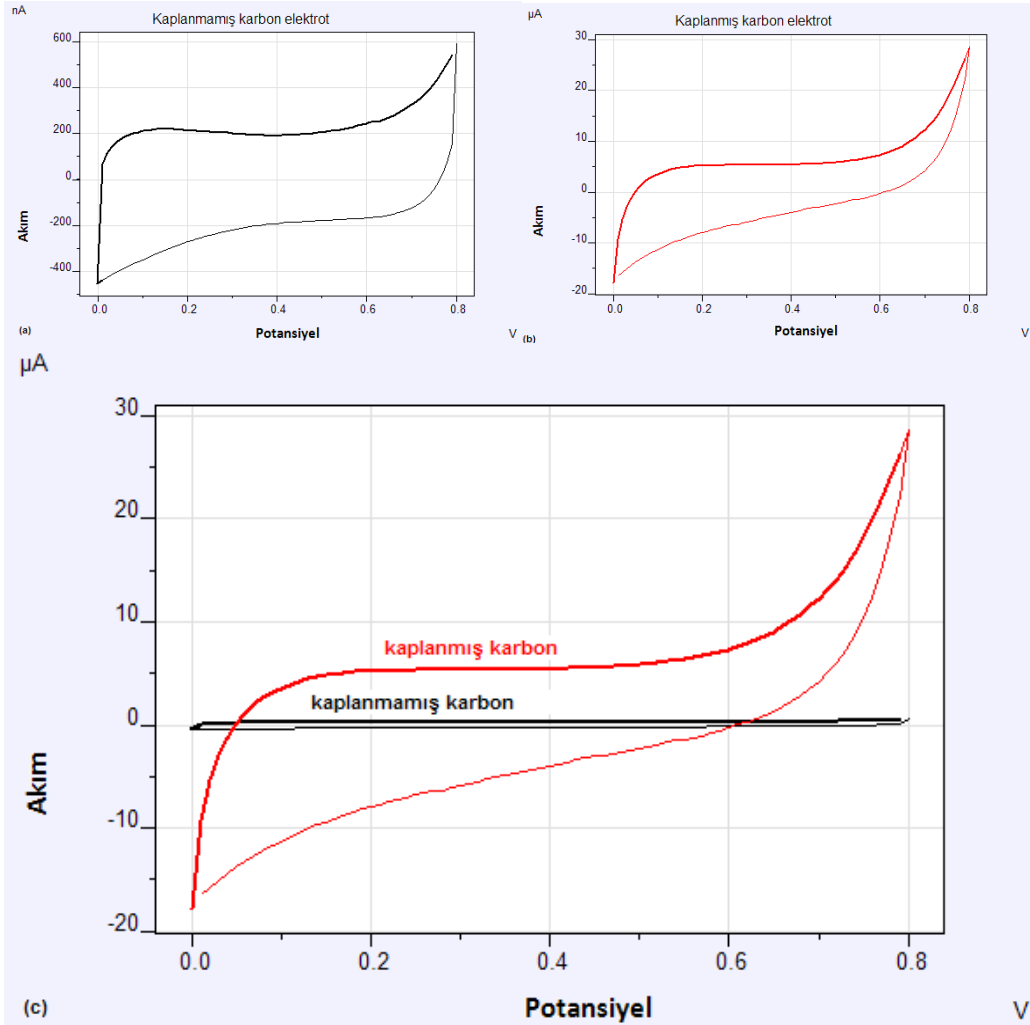
Şekil 4.24. 2mM Potasyum Ferrosiyandır çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

Kaplanmış ve kaplanmamış yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde elektropolimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış yüzeyde yapılan potansiyel taraması sırasında elektrot üzerinden geçen akımın hiç modifikasyona uğramamış karbon elektrodun üzerinden geçen akıma oranla oldukça fazla olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra ferrosiyanüre ait yükseltgenme-indirgenme pikleri PPy-DMAMFc kaplı elektrodun voltamogramında çok net olarak çıktığı gözlemlenmektedir. Yapıya elektron aktarımını kolaylaştıracak medyatör eklenmesi ve bu bileşiğin iletken polimer tabakası içine hapsedildiğinde aktif redoks özellikleri göstermesi enzim elektrodu tasarımında önemli bir basamaktır. Ulaşılan bu sonuçla medyatör olarak yapıya eklenen

DMAMFc'in elektron aktarım zincirinde etkin bir şekilde çalışabileceği ortaya konmuştur.

▪ Elektrolitik ortam: pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi

PPy-DMAMFc ile modifiye edilmiş karbon elektrot ve hiç modifikasyona uğramamış yalın karbon çubukların pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi içinde dönüşümlü voltamogramlarına bakılmıştır (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. pH 5.5 PBS çözeltisi içinde (a) Kaplanmamış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış karbon elektrot dönüşümlü voltamogramı (c) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların karşılaştırılması.

Elektropolimerizasyon sonrası elde edilen PPy-DMAMFc tabakasının yüzeylerdeki etkinliğini incelemek için modifiye edilmemiş karbon elektrodun (Şekil 4.25.a) ve elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc kaplanmış karbon



elektrodun (Şekil 4.25.b) pH 5.5 fosfat tamponu içerisinde 0.005 V/s tarama hızıyla potansiyel taramaları gerçekleştirilmiştir. PPy-DMAMFc iletken polimer ve medyatör tabakasının karbon çubuklara kazandırdığı elektrokimyasal özellikler ise modifiye edilmiş ve edilmemiş yüzeylerde çekilen dönüşümlü voltamogramların karşılaştırılmasıyla incelenmiştir (Şekil 4.25.c).

Polipirol kaplamasında olduğu gibi, kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotlar kullanılarak çekilen dönüşümlü voltamogramlara bakıldığında DMAMFc medyatörü yapıya eklendiğinde de yine kaplanmış yüzey üzerinden geçen akımın hiç modifikasyona uğramamış karbon elektrodun üzerinden geçen akıma göre daha fazla olduğu görülmektedir. Enzim tutuklama basamağında çalışılacak pH değerinde elektrot performansı değerlendirildiğinde iletken polimer tabakası olan PPy'nin ve içine hapsedilmiş olan DMAMFc medyatörünün etkin bir şekilde çalıştığı görülmektedir.

#### **4.1.3. Enzim Tutuklama**

Biyoyakıt pilinde yakıt olarak kullanılan glukozun katalizi için uygun enzim olan glukoz oksidaz (GOx) modifiye karbon yüzeylere tutuklanmıştır.

Yapılan literatür taramasında, tez çalışmasının biyoanot tasarımı kısmında kullanılan GOx enziminin oldukça geniş molekülünün protein kılıfı içerisinde derine gömülmüş bulunan flavin tipi aktif merkezi (monomer yüzeyi ile flavin arasındaki minimum uzaklık 13 Å) olduğu tespit edilmiştir (Barrière et al., 2006). Elektrot ile flavin koenzim merkezi (FAD/FADH<sub>2</sub>) arasında elektron transferini gerçekleştirmek üzere flavin merkezin redoks potansiyelinden (glukoz oksidaz için  $E_0 = -0.320$  V) yüksek redoks potansiyeli sayesinde termodinamik açıdan kendiliğinden ilerleyen bir reaksiyona olanak sağlayan DMAMFc çalışmalarımızda medyatör olarak kullanılmıştır.

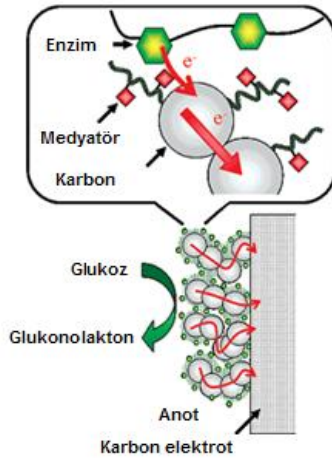
Enzim tutuklama prosesinde iletken polimer (PPy ya da PAn) ve medyatör (DMAMFc) ile modifiye edilmiş karbon yüzeyi taşıyıcı yüzeyi teşkil etmektedir. Bu taşıyıcı yüzeye GOx tutuklanması için "Deneysel Çalışmalar" kısmında da ayrıntılı olarak anlatılan fiziksel adsorpsiyon işlemi uygulanmıştır.

Uygulanan bu yöntemle enzim, taşıyıcıya hidrojen bağları, hidrofobik etkileşim ve van der Waal's kuvvetleri veya bunların tümünün birleşimi gibi fiziksel etkileşimlerle bağlanmıştır (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Fiziksel adsorpsiyon ile enzim tutuklanmasının şematik gösterimi.

Adsorpsiyonun en büyük avantajı genellikle hemen hemen hiç bağ ajanına ihtiyaç duymaması ve aktivasyon basamaklarının minimum olmasıdır. Bağlanma fiziksel kuvvetlerle olduğu için enzimin konformasyonel yapısında daha az değişikliğe neden olur. Eğer uygun bir taşıyıcı bulunursa, bu metot basit ve ucuz bir şekilde uygulanabilir. Çok sayıda sentetik reçine ve doğal materyaller taşıyıcı olarak kullanılabilir ve bu yöntemde kullanılan taşıyıcı yenilenebilir özelliğine sahiptir (Bickerstaff, 1997). Enzim elektrodunda elektron aktarım mekanizmasının şematik bir gösterimi Şekil 4.27'de yer almaktadır.



Şekil 4.27. Enzim elektrodunda elektron aktarım mekanizmasının şematik gösterimi.

Tez kapsamında, enzim tutuklanan elektrotların performansları ve enzimlerin aktifliği substratı katalizleme verimiyle ölçülmüştür. Bunun için enzim tutuklanan elektrotlar elektrokimyasal hücreye yerleştirilerek glukoz varlığında verdikleri tepkiler incelenmiştir. Enzim tutuklama basamağının değerlendirilmesi hücre kurulumundan sonra elektrot performansının değerlendirilmesiyle paralel olarak yürütülmüş ve bir sonraki bölümde incelenmiştir.

## 4.2. Elektrot Performans Çalışmaları

Enzim elektrodunun performansının değerlendirildiği elektrokimyasal ölçümler potansiyostat – galvanostat cihazına entegre edilerek kurulan elektrolitik yarı hücrede gerçekleştirilmiştir.

### 4.2.1. Enzim Elektrodu ile Elektrolitik Hücre Kurulumu

Enzim elektrodunun tasarımı sırasında kullanılan ve sonrasında da performansının incelendiği elektrokimyasal çalışma istasyonu elektroliz hücresi ve elektrotları muhafaza eden hücre standı ile entegre çalışmaktadır. Deneyler üçlü elektrot sistemi ile yürütülmüştür. Oluşturulan enzim elektrodu yani modifiye edilmiş karbon elektrot sisteme çalışma elektrodu olarak bağlanmış; referans elektrodu olarak gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot ve karşıt elektrot olarak da platin (Pt) elektrot kullanılmıştır (Şekil 4.28).



Şekil 4.28. Hazırlanan enzim elektrodunun performansının bakıldığı yarı hücre (üçlü elektrot sistemi)

### 4.2.2. Elektrokimyasal Ölçümler

Enzim elektrodunun performansının değerlendirildiği elektrokimyasal ölçümler kapsamında elektrokimyasal potansiyostat-galvanostat cihazında uygulanan dönüşümlü voltametri yöntemiyle ulaşılan sonuçlar ve dijital multimetre ile alınan açık devre potansiyelleri, farklı direnç değerlerinde verdikleri güç çıktı değerleri sunulmuştur.

İletken polimer ve medyatör modifikasyonu sonrasında biyolojik molekül tutuklanması ile tasarlanan enzim elektrotları üçlü elektrot sistemine çalışma

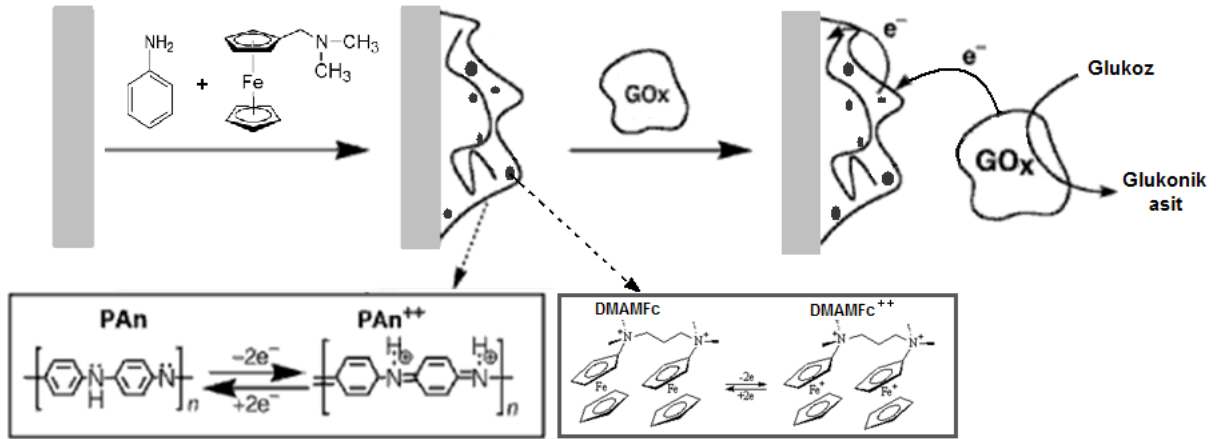
elektrodu olarak bağlanmış ve uygulanan dönüşümlü voltametri yöntemiyle anodik çalışma performansları değerlendirilmiştir.

Elektrotların anodik çalışma performansları, elektrokimyasal hücreye beslenen farklı derişimlerdeki glukoz çözeltileri içerisinde dönüşümlü voltamogramları (CV) çekilerek incelenmiştir. Bu şekilde çalışma elektrodu ile referans elektrot arasına uygulanan gerilim taramasına karşı çalışma elektrodu ve karşıt elektrot arasındaki akım değerleri grafiğe aktarılmış; tasarlanan enzim elektrotlarının yakıt yükseltgeme verimi değerlendirilmiştir.

### **(An-o-ASA)-DMAMFc-GOx kaplı elektrodun anodik çalışma performansı**

Anilin-ortanilik asit-dimetilaminometil ferrosen modifikasyonu ve glukoz oksidaz tutuklanması ile tasarlanan enzim elektrodu üçlü elektrot sistemine çalışma elektrodu olarak bağlanmış ve uygulanan dönüşümlü voltametri yöntemiyle anodik çalışma performansı incelenmiştir.

(An-o-ASA)-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun sistemde anot olarak çalışma prensibi yani glukozu glukonik aside yükseltgeyerek elektron aktarımını gerçekleştirmesine ait şematik gösterim Şekil 4.29'da yer almaktadır.

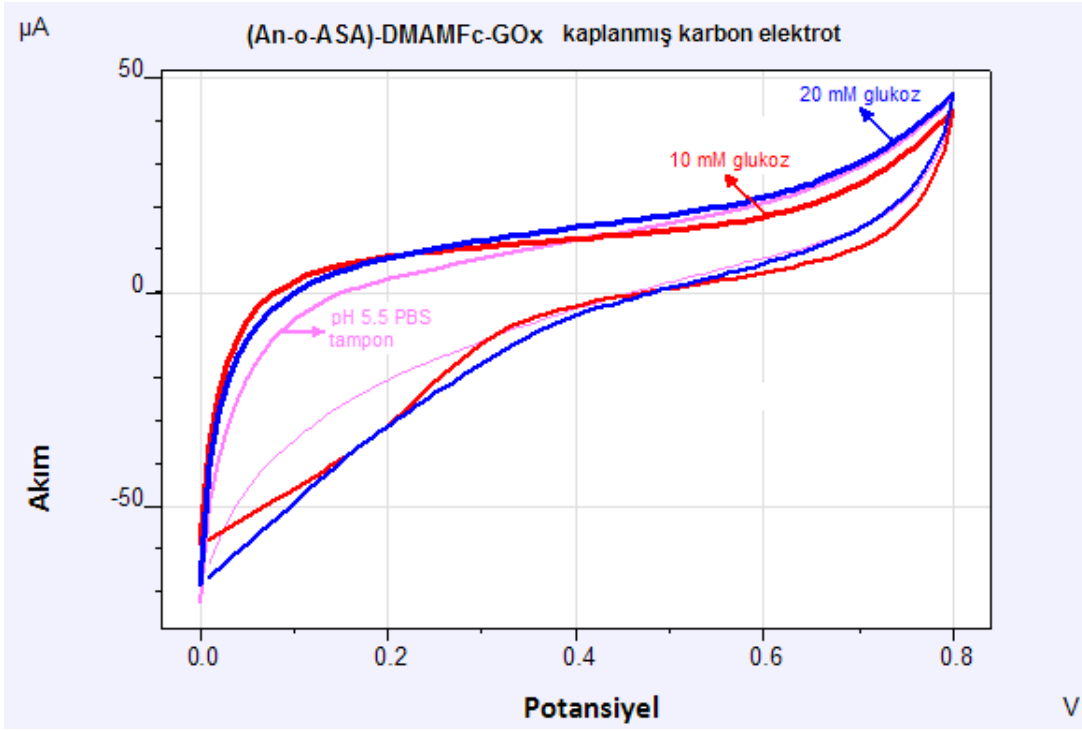


Şekil 4.29. Elektrot yüzeyinde (An-o-ASA)-DMAMFc-GOx modifikasyonu ve elektron aktarım mekanizmalarının şematik gösterimi.

Hazırlanan elektrot ile kurulan elektrokimyasal hücreye elektrolit olarak öncelikle pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi koyulmuş; kaplanan elektrodun yakıt olmaksızın çalışma matrisi içinde cevabı bir referans teşkil etmesi amacıyla kaydedilmiştir.

Ardından yakıt olarak kullanılan glukoz çözeltiye eklenerek uygulanan potansiyelde gerçekleşen akım değerlerindeki değişiklikler gözlenmiştir.

(An-o-ASA)-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi ve farklı konsantrasyonlarda beslenen glukoz çözeltilerinde çekilen dönüşümlü voltamogramları Şekil 4.30'da gösterilmektedir.



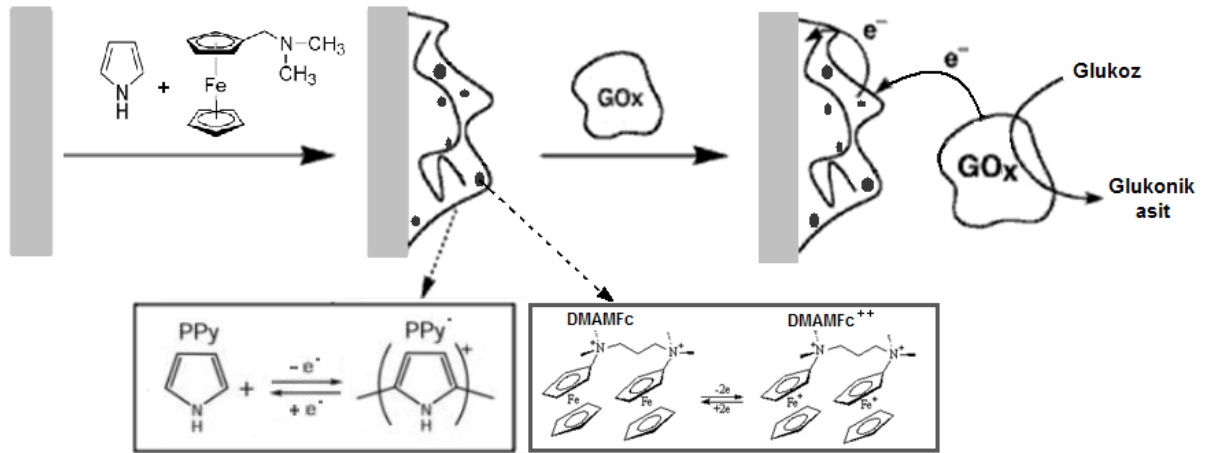
Şekil 4.30. (An-o-ASA)-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun pH 5.5 PBS tampon çözeltisi ve farklı derişimlerdeki glukoz çözeltilerinde çekilen dönüşümlü voltamogramı.

(An-o-ASA)-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektroda ait Şekil 4.30'de yer alan dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde görülmektedir ki; glukoz çözeltileri içinde yapılan anodik tarama sırasında elektrot üzerinden geçen akım değerleri pH 5.5 fosfat tampon çözeltisinde olana göre daha yüksektir. Bu da karbon elektrot yüzeyine fiziksel adsorpsiyon ile tutturulmuş GOx'in glukozu yükseltgediği anlamına gelmektedir. Öte yandan 10 mM ve 20 mM derişimlerindeki çözeltiler içinde çekilen taramalar karşılaştırıldığında, derişim artışının akımda çok fazla bir değişikliğe yol açmadığı görülmektedir. Buradan da enzim aktivitesinin belli bir değere kadar korunduğu sonucuna ulaşılmıştır.

### PPy-DMAMFc-GOx kaplı elektrodun anodik çalışma performansı

Pirol- dimetilaminometil ferrosen modifikasyonu ve glukoz oksidaz tutuklanması ile tasarlanan enzim elektrodu üçlü elektrot sistemine çalışma elektrodu olarak bağlanmış ve uygulanan dönüşümlü voltametri yöntemiyle anodik çalışma performansı incelenmiştir.

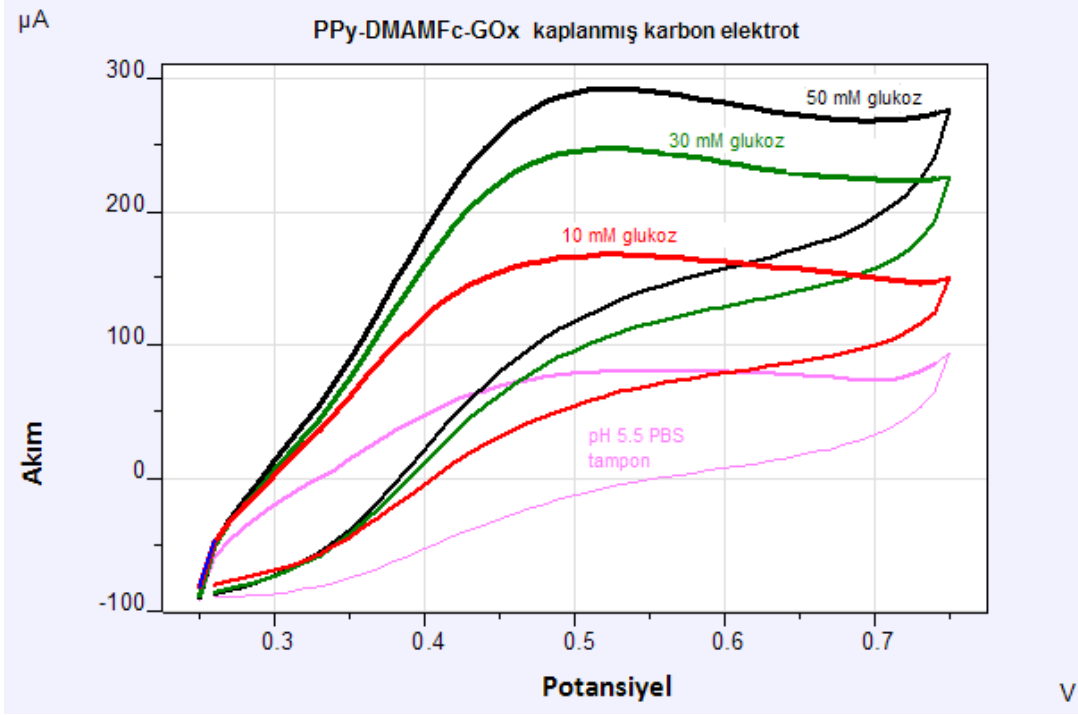
PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun sistemde anot olarak çalışma prensibi yani glukozu glukonik aside yükseltgeyerek elektron aktarımını gerçekleştirmesine ait şematik gösterim Şekil 4.31'de yer almaktadır.



Şekil 4.31. Elektrot yüzeyinde Py-DMAMFc-GOx modifikasyonu ve elektron aktarım mekanizmalarının şematik gösterimi.

Aynı bir önceki çalışmada olduğu gibi, kaplanmış elektroda öncelikle pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi içinde bakılmış; ardından yakıt olarak kullanılan glukoz çözeltiye eklenerek uygulanan potansiyelde gerçekleşen akım değerlerindeki değişiklikler gözlenmiştir.

PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi ve farklı konsantrasyonlarda beslenen glukoz çözeltilerinde çekilen dönüşümlü voltamogramları Şekil 4.32'de gösterilmektedir.



Şekil 4.32. PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun pH 5.5 PBS tampon çözeltisi ve farklı derişimlerdeki glukoz çözeltilerinde çekilen dönüşümlü voltamogramı.

PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrodun pH 5.5 fosfat tampon çözeltisi ve 10 mM, 30 mM, 50 mM konsantrasyonlarındaki glukoz çözeltilerinde çekilen dönüşümlü voltamogramlarının karşılaştırılmış halleri incelendiğinde görülmektedir ki; glukoz çözeltileri içinde yapılan anodik tarama sırasında elektrot üzerinden geçen akım değerleri pH 5.5 fosfat tampon çözeltisinde yapılan tarama sonucu alınan değerlere göre daha yüksektir. Bu da karbon elektrot yüzeyine fiziksel adsorpsiyon ile tutturulmuş GOx'in glukozu yükseltgediği ve aktif olarak çalıştığı anlamına gelmektedir. Aynı zamanda 10 mM, 30 mM, 50 mM konsantrasyonlarındaki glukoz çözeltilerinde çekilen dönüşümlü voltamogramlara bakıldığında da artan glukoz derişimlerinin yine akım değerlerinde artışa yol açtığı saptanmıştır.

İletken polimer ve medyatör modifikasyonu sonrasında biyolojik molekül tutuklanması ile tasarlanan enzim elektrotlarının, tüm bu kaplama çalışmaları sırasında yapılan değerlendirmeleri ile sonrasında yapılan anodik çalışma performans değerlendirilmeleri göz önünde bulundurulduğunda biyoyakıt pili kurulumu için en uygun kaplamanın PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrot olduğu sonucuna varılmıştır.

### **4.3. Enzimatik Biyoyakıt Pili Çalışmaları**

Enzimatik biyoyakıt pili çalışmaları bu aşamaya kadar elektrot tasarımına yönelik gerçekleştirilen deneyler sonucu belirlenen hedef elektrotlar ile pilin kurulumunu ve bu pilin performans değerlendirilmelerini kapsamaktadır.

#### **4.3.1. Biyoyakıt Pili Kurulumu**

Biyoanot ve biyokatot olarak tasarlanan modifiye grafit elektrotlar kullanılarak biyoyakıt pili kurulumu gerçekleştirilmiştir. Biyoanot tasarımı, biyokatot tasarımı ve hücrenin kurulumu aşağıda anlatılmıştır.

##### **4.3.1.1. Biyoanot Tasarımı**

İletken redoks polimeri ve medyatör ajanı ile gerçekleştirilen modifikasyon sonrasında biyolojik molekül tutuklanması ile tasarlanan enzim elektrotlarının performansları değerlendirildiğinde sistemde biyolojik olarak yükseltgenme işlemini en iyi gerçekleştiren kaplamanın PPy-DMAMFc-GOx olduğu belirtilmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda ulaşılan bu veri doğrultusunda biyoyakıt pili kurulum aşamasına gelindiğinde PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot biyoanot olarak tasarlanmıştır.

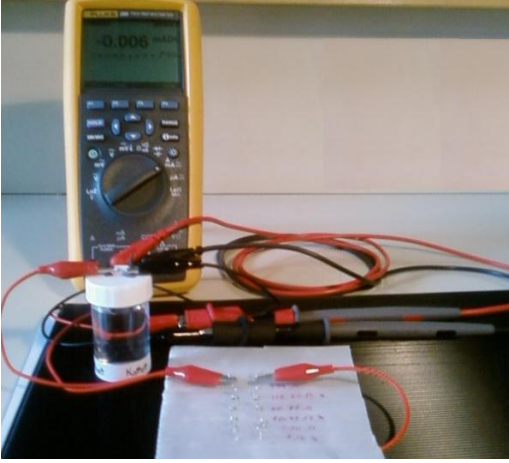
##### **4.3.1.2. Biyokatot Tasarımı**

“Deneysel Çalışmalar” kısmında tasarımı detaylı olarak anlatılan biyoyakıt pili katodu ise iletken polimer olarak yine polipirol (PPy), medyatör olarak ise 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazidin-6-sulfonik asit) (ABTS) ve biyolojik katalizleme ile indirgeme işlemi yapan lakkaz enziminin kullanıldığı grafit elektrottan yapılmıştır (Brunel et al., 2007). Biyoyakıt pilinde yükseltgenme sonucu çıkan elektronları alarak oksijeni indirgeyecek PPy-ABTS-Lakkaz kaplı grafit elektrot biyokatot olarak tasarlanmıştır.

##### **4.3.1.3. Biyoyakıt Hücresi Tasarımı**

Biyoanot olarak tasarlanan PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot ve biyokatot olarak tasarlanan PPy-ABTS-Lakkaz kaplı grafit elektrot Şekil 4.33'da görüldüğü gibi bir hücre içerisine yerleştirilerek ölçümlerin yapıldığı harici bir multimetreye bağlanarak devre tamamlanmıştır.





Şekil 4.33. Hazırlanan biyoanot ve biyokatot ile kurulan devre, biyoyakıt pili.

### 4.3.2. Biyoyakıt Pili Performans Çalışmaları

Kurulan biyolojik yakıt hücresinin bağlandığı dijital multimetre ile alınan açık devre potansiyeli, kısa devre akım yoğunluğu ve farklı direnç değerlerinde verdikleri güç çıktı değerleri polarizasyon eğrileri ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

#### 4.3.2.1. Açık Devre Potansiyeli

Açık devre potansiyeli (OCP) devreden hiç akım geçmezken ölçülen potansiyel değeridir. Denge potansiyeli de denen açık devre potansiyeli yakıt pillerinin karakterize edildiği başlıca parametrelerden biridir.

Biyoanot olarak tasarlanan PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot ve biyokatot olarak tasarlanan PPy-ABTS-Lakkaz kaplı grafit elektrot ile kurulan biyolojik yakıt hücresinin açık devre potansiyeli (OCP) 538 mV olarak dijital multimetreden okunmuştur.

Literatürde yapılan benzer çalışmalara bakıldığında 0.1 V'dan 1.0 V değerine kadar geniş bir aralıkta açık devre potansiyelleri ile karşılaşılmaktadır ve tez kapsamında yapılan çalışmada bu aralığın içinde kalan bir açık devre potansiyeli elde edilmiştir.

#### 4.3.2.2. Kısa Devre Akım Yoğunluğu

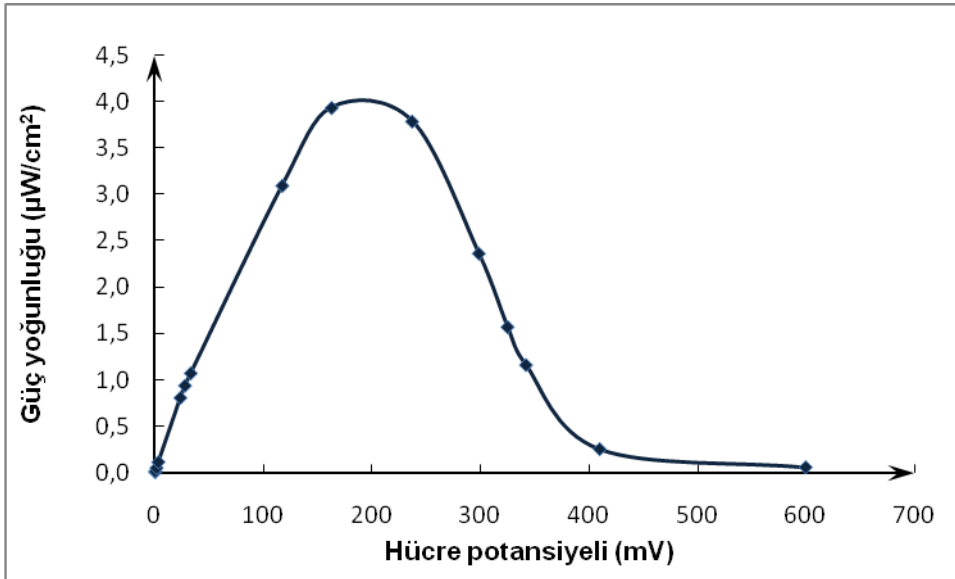
Biyoyakıt pillerinin karakterize edildiği bir diğer parametre olan kısa devre akım yoğunluğu çalışmamızda tasarlanan elektrotlarla kurulan hücrede  $37.67 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  ( $0.85 \Omega$  direnç altında) olarak bulunmuştur.

#### 4.3.2.3. Güç Yoğunluğu

Güç Yoğunluğu bir pilin istendiğinde sağlayabileceği gücü tanımlaması açısından önemli bir parametredir. Yakıt pili elektrotlarının birim yüzey alanından sağladığı güç miktarı güç yoğunluğu olarak tanımlanmaktadır. Bir yakıt pilinden elde edilen elektriksel güç voltaj ve akımın çarpımına eşittir. ( $P = V_{\text{hücre}} \times I$ ) Voltaj da akım ve direnç çarpımı olarak tanımlandığından ( $V_{\text{hücre}} = I \times R$ ), bir pilin performansını değerlendirmek üzere hesaplanan güç yoğunluğu değerleri direnç ve akımın karesinin çarpımının ( $P = I^2 \times R$ ) elektrot yüzey alanına bölünmesiyle bulunmaktadır.

Biyoot olarak tasarlanan PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot ve biyokatot olarak tasarlanan PPy-ABTS-Lakkaz kaplı grafit elektrot ile kurulan biyolojik yakıt hücrenin bağlandığı dijital multimetre ile devreye seri bağlanan farklı direnç değerlerinde verdikleri akım değerleri alınmıştır.

1  $\Omega$  değerinde bir dirençle başlayıp 10 M $\Omega$  değerindeki bir dirence kadar çeşitli aralıklardaki dirençler devreye seri olarak bağlanarak bu değerlerde multimetreden okunan akım değerlerinden hücre potansiyelleri ve güç yoğunlukları yukarıda anlatıldığı şekilde hesaplanmıştır. Hesaplanan güç yoğunluğu değerleri değişen hücre potansiyeline karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.34).



Şekil 4.34. Kurulan biyoyakıt hücrenin güç yoğunluğu grafiği.

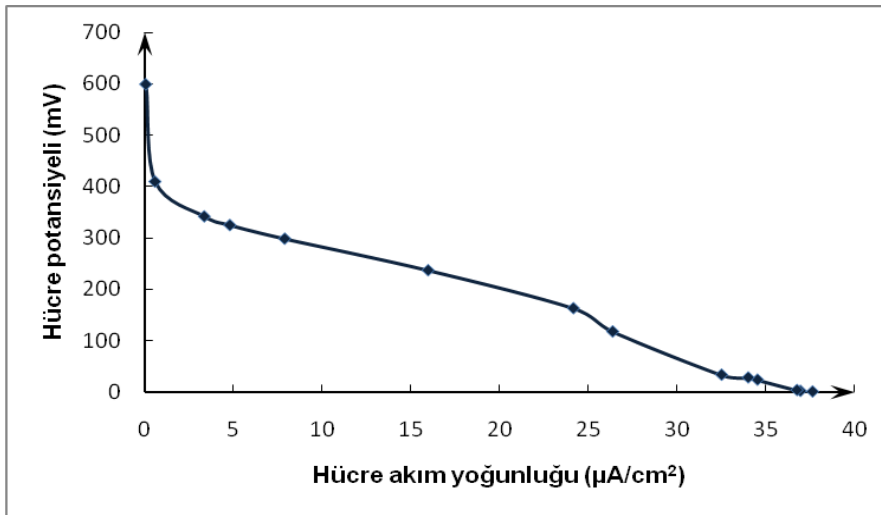
Tasarlanan enzim elektrotları ile kurulan biyoyakıt pili hücresinde 50 mM glukoz çözeltisi içinde farklı dirençlerdeki oluşan hücre potansiyeline karşı o potansiyellerdeki güç yoğunluğunu değişimi incelenmiştir. Artan hücre potansiyeli ile pil güç yoğunluğunun ilk başta arttığı, yaklaşık 170 mV'a karşılık gelen bir akım değerinden sonra azalmaya başladığını görülmektedir. Buradan da kurulan pil düzeneğinin bu potansiyellerde maksimum güç yoğunluğu verdiği anlaşılmaktadır.

Tez kapsamında oluşturulan tek hücreli enzimatik biyoyakıt pilinin maksimum güç yoğunluğu  $3.94 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  değerindedir.

#### 4.3.2.4. Polarizasyon Eğrisi

Bir yakıt pilinin karakteristik performans eğrisi, pil uçlarındaki doğru akım gerilimi ile toplam akım yoğunluğunun yüzey alanına bölümü ile verilir. Kutuplaşma ya da polarizasyon eğrisi denilen bu eğrilerde pil performansı ve performans kayıpları değerlendirilir.

Biyokatalizleme yoluyla glukozun yükseltgenmesini gerçekleştiren biyoanot (PPy-DMAMFc-GOx) ve diğer tarafta oksijeni indirgeyerek pil devresini tamamlayan biyokatot (PPy-ABTS-Lakkaz) ile kurulan tek hücreli bir pilin performansı Şekil 4.35'de gösterilmektedir.



Şekil 4.35. Kurulan biyoyakıt hücresinin polarizasyon eğrisi.

Kurulan biyoyakıt piline ait verilen polarizasyon eğrisi incelendiğinde şu noktalar göz önüne alınmalıdır: Açık devre potansiyeli hücre akım yoğunluğunun sıfır olduğu noktadan kolayca gözlemlenebilmektedir. Bu potansiyel değerinden sonra

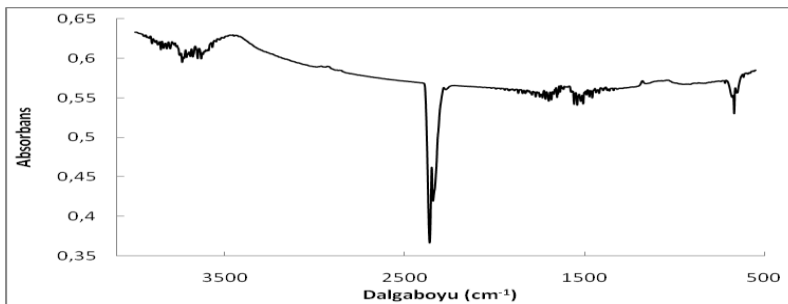
artan akım yoğunluğu ile voltajda hızlı bir düşüş olmaktadır. Buna aktivasyon kayıpları neden olmaktadır. Elektrot yüzeyindeki tepkimelerin yavaş gerçekleşmesinden kaynaklanan aktivasyon kayıplarında üretilen voltajın bir kısmı elektronların aktarımını sağlayan elektrokimyasal reaksiyonları gerçekleştirmek için kullanılmaktadır. Daha sonra voltaj daha doğrusal ve daha yavaş bir şekilde düşer ki bu durum da ohmik kayıplarla açıklanabilir. Bu kayıplar elektrot malzemelerinin, akım toplayıcı vb malzemelerin elektron geçişine ve elektrolitin iyon geçişine olan direncinden kaynaklanmaktadır. Sonraki akım yoğunluklarında ise voltaj düşüşü kütle taşınımı ya da konsantrasyon kayıplarından kaynaklanır. Bu kayıplar elektrot yüzeyinde yakıt ve oksijen konsantrasyonunun azalmasından kaynaklanmaktadır. Özellikle yüksek akım yoğunluklarında katalitik yüzeyde reaksiyon çok hızlı olduğu için gözenekli elektrot yapısından dolayı katalizör yüzeyine yeterince malzeme taşınamamaktadır. Bu nedenle reaksiyon için gerekenden daha az yakıt veya oksijen olması gerektiği kadar voltaj üretilmemesine neden olmaktadır. (Kurtcephe, 2006)

#### 4.4. Elektrot Yüzeylerinin Karakterizasyonu

Karbon elektrot yüzeylerinin Py ve DMAMFc ile modifikasyonu ardından GOx tutuklanması ile hazırlanan biyo-anodun fiziksel ve kimyasal yapılarının incelenmesi amacıyla çekilen FTIR spektrumları ve yapıların morfolojisini veren AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) görüntüleri aşağıda sunulmuştur.

##### 4.4.1. FTIR (Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi) Analizi

Yüzey modifikasyonu sonrası elde edilen PPy-DMAMFc-GOx tabakasının yüzeylerdeki varlığı incelemek için elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc-GOx kaplanmış karbon elektrodun (Şekil 4.36) FTIR analizi yapılmıştır.

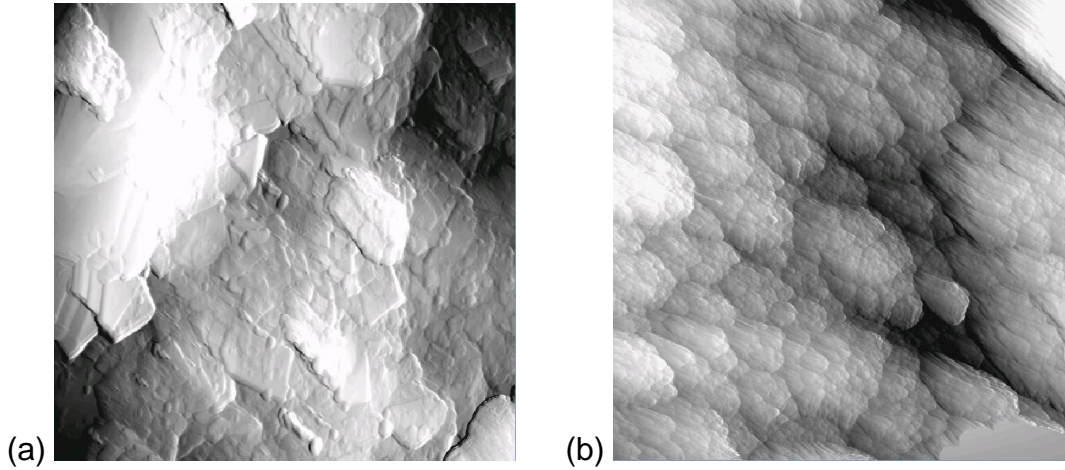


Şekil 4.36. PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrot yüzeyine ait FTIR spektrumu.

Yapılan FTIR analizinin, PPy-DMAMFc-GOx elektroduna ait yüzeydeki kaplamanın ince olması ve karmaşık bir yapıya sahip olması sebepleriyle çok sağlıklı sonuçlar vermediği belirlenmiştir. Alınan spektrumu genel anlamda incelendiğinde şu genel yorumlara ulaşılmıştır: 3800-3500  $\text{cm}^{-1}$  dalga boylarında görülen N-H gerilme bağlarına ait piklerin PPy yapısından kaynaklı olduğu ve 3130-3120  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında görülen zayıf C-H bağlarının da yapıda bağıl olarak daha az oranda bulunan DMAMFc grubuna ait olduğu düşünülmüştür. 2500-2300  $\text{cm}^{-1}$  dalga boylarında PPy ve/veya enzimatik moleküle ait olduğu düşünülen hidrojen bağlı N-H grupları pik vermiştir. Ayrıca 1800-1390  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında gözlenen halka gerilim bandı PPy ve DMAMFc bileşiklerinde bulunan aromatik yapıların varlığını doğrular niteliktedir. Son olarak parmak izi bölgesinde 680  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu civarında görülen pikin ise iki aromatik halka arasındaki bağ ilişkisine ait metal-karbon gerilimine ait pik olduğu şeklinde yorumlanmıştır (Enlaw et al., 2008).

#### 4.4.2. AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) Analizleri

Yüzey modifikasyonu sonrası elde edilen PPy-DMAMFc-GOx tabakasının yüzey topografyasının incelenmesi amacıyla çekilen AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) görüntüleri verilmiştir (Şekil 4.37).

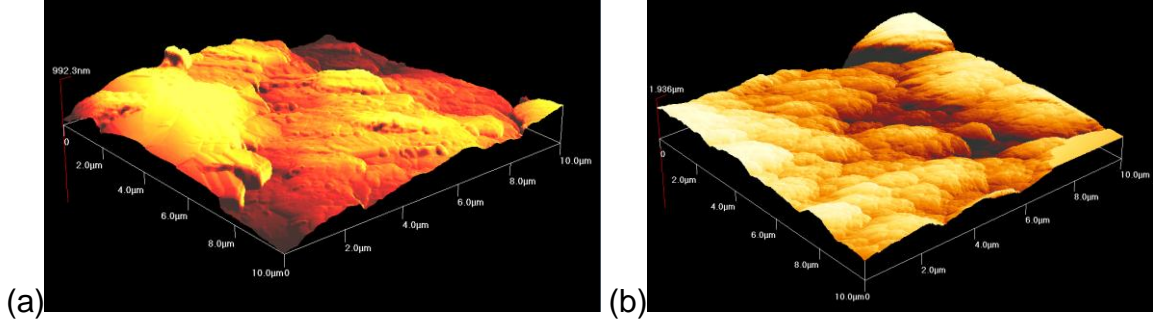


Şekil 4.37. Elektrot yüzeylerinin AFM görüntüleri (a) kaplanmamış karbon elektrot yüzey morfolojisi (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc-GOx kaplanmış karbon elektrot yüzey morfolojisi

PPy-DMAMFc-GOx kaplanmış ve kaplanmamış karbon elektrotların yüzey morfolojileri, sırasıyla Şekil 4.37.a ve 4.37.b'de verilmiştir. Kaplanmış elektrot yüzeyindeki PPy-DMAMFc-GOx filmi homojen ve yığın halinde kümeleşmiş bir

yapı göstermektedir. Bu yapı kaplanmamış karbon elektrot yüzeyiyle karşılaştırıldığında Şekil 4.37.b'deki yüzeydeki kaplamaya ait oluşum açıkça görülmektedir.

Karbon elektrotların 3 boyutlu AFM görüntüleri de Şekil 4.38'de sunulmuştur.



Şekil 4.38. Elektrot yüzeylerinin 3 boyutlu AFM görüntüleri (a) kaplanmamış karbon elektrot yüzey morfolojisi (b) Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle PPy-DMAMFc-GOx kaplanmış karbon elektrot yüzey morfolojisi

Karbon elektrotların 3 boyutlu AFM görüntülerinden ise kaplanmamış karbon elektrot yüzeyinin 992.3 nm, kaplanmış karbon elektrot yüzeyinin ise 1.936 µm kalınlığında olduğu saptanmıştır.

## 5. GENEL SONUÇLAR

Tez kapsamında, enzim tabanlı biyoyakıt pili uygulamalarına yönelik enzim elektrodu tasarım çalışmaları, enzimatik biyoyakıt pili kurulumu ve performans değerlendirmeleri ile elektrot yüzeylerinin karakterizasyonu sunulmuştur. Çalışma kapsamında elde edilen önemli sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- İyi elektriksel ve ısı iletkenlik, düşük maliyet ve kolay işlenebilirlik gibi avantajlarından dolayı karbon elektrotlar, iletken polimer modifikasyonu ve enzim tutuklama işlemlerine tabii tutularak enzim elektroduna dönüştürülen temel yapıyı oluşturmuştur.
- Karbon yüzeylerinde iletken redoks polimeri oluşturmak üzere anilin (An) ve pirol (Py) monomerleri kullanılmıştır.
- Anilin monomerinin polimerleşmesiyle elde edilen polianilin (PAn), protonik asitlerle basit ve redoks olmayan katkılama girmesi, sentezinde geniş aralıklı reaksiyon şartları kullanımı sonucu yapısal farklılıklar ortaya çıkması ve böylece birçok değişik mekanizma tasarlanmasına olanak sağlaması yanında kolay sentezi, nem, oksijen ve artan sıcaklığa karşı kararlı olması gibi avantajları vardır.
- Pirol monomerinin polimerleşmesiyle elde edilen polipirol (PPy) ise iletken fonksiyonel yüzey oluşumunda biyo uyumlu olması, elektrotların üzerinde elektroaktif anyon gibi girişim yaratacak bileşiklerin birikimini önlemesi ve bazı durumlarda redoks medyatörü gibi davranarak enzimden elektroda elektron aktarımını gerçekleştirebilmesi avantajlarını sunmuştur.
- Elektrot ile enzimatik tepkimenin gerçekleştiği enzim aktif merkezi arasındaki elektron taşınımını sağlayacak medyatör denilen araçlardan elektrottaki çalışma potansiyeli medyatörün redoks potansiyeline yakın bir değerde olacağından elde edilebilecek pil gerilimini arttıracak ve membrana gerek duyulmayan substrat-spesifik bir pil sisteminin tasarımına olanak sağlayacak ferrosen türevi olan dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) bileşiği yapıya eklenmiştir.

- Yüzeyde iletken bir redoks tabakası ile elektron aktarımın sağlayacak arabulucu ajan oluşturmak amacıyla uygulanan plazma polimerizasyonu ve elektrokimyasal polimerizasyon işlemleri uygulanmıştır.
- Plazma polimerizasyonu ile karbon elektrot yüzeylerinde oluşturulan iletken polimer tabakalarının elektrokimyasal davranışları modifiye edilmiş ve edilmemiş karbon elektrotlara ait dönüşümlü voltamogramlar karşılaştırılarak incelenmiştir.
- Plazma polimerizasyon yöntemiyle elektrokimyasal özellikleri bakımından çok etkin karbon çubuklar oluşturulamamış; literatürden iletken polimer yüzeyi oluşturmak için elektrokimyasal polimerizasyon yönteminin çeşitli üstünlüklere sahip olduğu bilgisine ulaşılmış ve bu bilgi yapılan deneylerle desteklenmiştir.
- Elektrokimyasal polimerizasyon ile yine karbon elektrot yüzeylerinde iletken redoks polimer tabakaları oluşturulmuş, elektrokimyasal davranışları incelenmiştir.
- PAn tabakasının etkin olarak çalıştığı düşük pH değerlerindeki elektrolitik ortamların bir sonraki aşamada uygulanacak biyomolekül immobilizasyonu için uygun olmadığı düşünülerek, An monomerin istenilen herhangi bir pH değerinde çalışmasına olanak sağlayacak ortanilik asit yapıya eklenmiş An ile kopolimer oluşturacak şekilde (An-o-ASA)-DMAMFc kaplaması oluşturulmuştur.
- Py monomerinin elektrokimyasal polimerizasyonu PAn polimerizasyonunda olduğu gibi herhangi bir katkılamaya gereksinim duymadığından tek basamakta gerçekleştirilmiş, oluşturulan PPy-DMAMFc kaplamasının karbon elektrot yüzeylerinde gösterdiği performans dönüşümlü voltametri metoduyla değerlendirilmiştir.
- Biyoyakıt pilinde yakıt olarak kullanılan glukozun katalizi için uygun enzim olan glukoz oksidaz (GOx) modifiye karbon yüzeylere tutuklanmıştır. Enzim tutuklama prosesinde iletken polimer (PPy ya da PAn) ve medyatör (DMAMFc) ile modifiye edilmiş karbon yüzeyi taşıyıcı yüzeyi teşkil etmektedir. Bu taşıyıcı yüzeye GOx tutuklanması için fiziksel adsorpsiyon işlemi uygulanmıştır.



- Enzim elektrotlarının performanslarının değerlendirildiği elektrokimyasal ölçümler sonucu (An-o-ASA)-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrot ile PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrot enzimatik katalizleme verimlerinin karşılaştırılacağı iki farklı elektrot tasarımı olarak belirlenmiştir.
- Belirlenen iki enzim elektrodu tasarımı, (An-o-ASA)-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrot ile PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrot, anodik çalışma performansları açısından elektrokimyasal hücreye beslenen farklı derişimlerdeki glukoz çözeltileri içerisinde dönüşümlü voltamogramları çekilerek karşılaştırılmıştır. Bu deney sonucu PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrot yüzeyine tutuklanmış GOx'in daha aktif olarak glukozu yükseltgediği, artan glukoz derişimlerinin akım değerlerinde artışa yol açtığı ve katalitik performansının daha iyi olduğu saptanmıştır.
- İletken polimer ve medyatör modifikasyonu sonrasında biyolojik molekül tutuklanması ile tasarlanan enzim elektrotlarının anodik performans değerlendirilmeleri göz önünde bulundurulduğunda biyoyakıt pili kurulumu için en uygun kaplamanın PPy-DMAMFc-GOx kaplı karbon elektrot olduğu sonucuna varılmıştır.
- Değerlendirmeler sonucunda ulaşılan veri doğrultusunda biyoyakıt pili kurulum aşamasına gelindiğinde PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot biyoanot olarak tasarlanmıştır.
- Biyoyakıt pili katodu iletken polimer olarak yine polipirol (PPy), medyatör olarak ise 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiozidin-6-sulfonik asit) (ABTS) ve biyolojik katalizleme ile indirgeme işlemi yapan lakkaz enziminin kullanıldığı grafit elektrottan yapılmıştır.
- Biyoanot olarak tasarlanan PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot ve biyokatot olarak tasarlanan PPy-ABTS-Lakkaz kaplı grafit elektrot bir hücre içerisine yerleştirilmiş ve ölçümlerin yapıldığı harici bir multimetreye bağlanarak biyoyakıt pili devresi tamamlanmıştır.
- Biyoanot olarak tasarlanan PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot ve biyokatot olarak tasarlanan PPy-ABTS-Lakkaz kaplı grafit elektrot ile kurulan

biyolojik yakıt hücresinin açık devre potansiyeli (OCP) 538 mV olarak dijital multimetreden okunmuştur.

- Biyoyakıt pillerinin karakterize edildiği bir diğer parametre olan kısa devre akım yoğunluğu çalışmamızda tasarlanan elektrotlarla kurulan hücrede  $37.67 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  ( $0.85 \Omega$  direnç altında) olarak bulunmuştur.
- Tez kapsamında oluşturulan tek hücreli enzimatik biyoyakıt pilinin maksimum güç yoğunluğu  $3.94 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  değerindedir.
- Tasarlanan PPy-DMAMFc-GOx kaplı grafit elektrot yüzeyinin kimyasal yapısı FTIR tekniğiyle ve topografyası da AFM görüntüleme tekniği ile karakterize edilmiştir.

Tez kapsamında sunulan çalışma ile dünyada son dönemde hızlı bir gelişme sürecine giren enzim tabanlı biyoyakıt pili teknolojisinin bir uygulaması gerçekleştirilmiştir. TÜBİTAK Araştırma Destek Programları Başkanlığı, Mühendislik Araştırma Grubu (MAG), 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı bünyesinde yürütülen proje kapsamında enzim tabanlı biyoyakıt pili çalışmaları devam etmektedir. Kullanılan malzeme ve yöntemlerin optimizasyonu sonucu ulaşılabilecek farklı enzim elektrodu tasarımları ile kullanım süresi ve verimlilik açısından performans parametrelerinin geliştirildiği enzimatik biyoyakıt pilleri devam eden çalışmaların gelecekteki hedefini oluşturmaktadır.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akers, N.L., Moore, C.M., Minteer, S.D., 2005, Development of alcohol/O<sub>2</sub> biofuel cells using salt-extracted tetrabutylammonium bromide/Nafion membranes to immobilize dehydrogenase enzymes, *Electrochimica Acta* 50, pp. 2521-2525.
- Akman, M.A., 1993, Mechanical Properties of Plasma Surface Modified Calcium Carbonate/PP Composites, Master's Thesis, The Graduate School of Natural and Applied Science, Middle East Technical University, Ankara.
- Allen, H., Hill, O., 1987, Bio-electrochemistry, *Pure and Applied Chemistry* 59, 6, pp. 743-748.
- Appleby, A.J., Foulkes, F.R., 2004, Fuel cell handbook, (7<sup>th</sup> Ed.), EG&G Technical Services, Inc., U.S. Department of Energy Office of Fossil Energy National Energy Technology Laboratory, New York.
- Aston, W.J., Turner, A.P.F., 1984, Applied aspects of bioelectrochemistry: Fuel cells, sensors, and bioorganic synthesis *Biotechnology & Genetic Engineering Reviews* 1, pp. 89–120.
- Babu, V.R.S., Patra, S., Karanth, N.G., Kumar, M.A., Thakur, M.S., 2007, Development of a biosensor for caffeine, *Analytica Chimica Acta* 582, pp. 329-334.
- Barhoumi, H., Maaref, A., Cosnier, S., Martelet, C., Tafrezic-Renault, N., 2008, Urease immobilization on biotinylated polypyrrole coated ChemFEC devices for urea biosensor development, *ITBM-RBM* 29, 2-3, pp. 192-201.
- Barrière, F., Kavanagh, P., Leech, D., 2006, A laccase-glucose oxidase biofuel cell prototype operating in a physiological buffer, *Electrochimica Acta* 5, 24, pp. 5187-5192.
- Başbilen, B., 2006, Yüzeyi polianilinle kaplanmış pirincin klorürlü ortamdaki elektrokimyasal davranışı, Yüksek lisans tezi, Kimya anabilim dalı Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Bickerstaff, G.F., 1997, Immobilization of Enzymes and Cells, Humana Press, Totowa, New Jersey.
- Bıyıkoğlu, A., 2003, Yakıt Hücrelerinin Tarihsel Gelişimi, Çalışma Prensipleri ve Bugünkü Durumu, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* :16, pp. 523-542.
- Brunel, L., Denele, J., Servat, K., Kokoh, K.B., Jolival, C., Innocent, C., Cretin, M., Tingry, S., 2007, Oxygen transport through laccase biocathodes for a membrane-less glucose/O<sub>2</sub> biofuel cell, *Electrochemistry Communications* 9, 2, pp. 331-336.
- Buchholz, K., Kasche, V., Bornscheuer, U.T., 2005, Biocatalysts and Enzyme Technology, Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, USA.

- Bullen, R.A., Arnot, T.C., Lakeman, J.B., Walsh, F.C., 2006, Biofuel cells and their development, *Biosensors and Bioelectronics*, 21, pp. 2015–2045.
- Čabala, R., Škarda, J., Potje-Kamloth, K., 2000, Spectroscopic investigation of thermal treatment of doped polypyrrole, *Physical Chemistry Chemical Physics* 2, 14, pp. 3283-3291.
- Çamcı, Ö., 2005, Yakıt Pili Motorlu Taşıtlarda Uygulanması, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Çavuşoğlu, A., 2006, Yakıt Pilleri Ve Kullanım Alanları, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Çekirdek, P., 2005, Voltametrik metotlarla ditiyofosfonat Anyonlarının elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
- Çetinkaya, M., Karaosmanoğlu, F., 2003, Yakıt Pilleri, TMMOB Makina Mühendisleri Odası, Cumartesi Söyleşileri Yayınları, <http://www.mmoistanbul.org/yayin/cumartesisoylesileri/17/index.html>
- Charlton, G., Read, D., Read, J., 1963, Continuous Intra-Arterial Po<sub>2</sub> In Normal Man Using A Flexible Microelectrode, *Journal of applied physiology*, 18, pp.1247-1251.
- Clark, L.C., Lyons, C., 1962, Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery, *Annals of the New York Academy of Sciences* 102, pp. 29-45.
- Cohen, B., 1931, The bacterial culture as an electrical half-cell, *The Journal of Bacteriology*, 21, pp. 18-19.
- Coşkun, G., 2007, Glutatiyon transferaz enziminin farklı taşıyıcılarda immobilizasyonu ve bazı özelliklerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir.
- Cosnier, S., 1999, Biomolecule immobilization on electrode surfaces by entrapment or attachment to electrochemically polymerized films. A review, *Biosensors and Bioelectronics* 14,5, pp. 443-456.
- Cosnier, S., 2007, Recent advances in biological sensors based on electrogenerated polymers: a review, *Analytical Letters* 40, pp. 1260-1279.
- Cruz, G.J., Morales, J., Castillo-Ortega, M.M., Olayo, R., 1997, Synthesis of polyaniline films by plasma polymerization, *Synthetic Metals* 88, pp. 213-218.
- Davis, F., Higson, S.P.J., 2007, Biofuel cells - Recent advances and applications, *Biosensors and Bioelectronics* 22, 7, pp. 1224-1235.

- De la Rica, R., Baldi, A., Fernandez-Sanchez, C., 2007, Local detection of enzymatic ion generation with polycrystalline silicon interdigitated electrodes and its application to biosensing, *Applied Physics Letters* 90, 7, art. no. 074102.
- De Palma, R., Liu, C., Barbagini, F., Reekmans, G., Bonroy, K., Laureyn, W., Borghs, G., Maes, G., 2007, Magnetic particles as labels in bioassays: Interactions between a biotinylated gold substrate and streptavidin magnetic particles, *Journal of Physical Chemistry C*, 111, pp. 12227-12235.
- Duma, R., Minteer, S.D., 2006, Development of bilirubin oxidase cathodes for ethanol/ oxygen biofuel cells, *Polymeric Materials: Science and Engineering*, 94, pp. 592-593.
- Durusoy, T., Gümüşderelioğlu, M., 2004, *Basic Chemical Process Industries*, ISBN: 975-270-432-8, Ankara.
- Energy Information Administration, 2008, *International Energy Outlook 2008*, DOE/EIA-0484, [http://www.eia.doe.gov/oiaf/ieo/world\\_reference\\_notes.html](http://www.eia.doe.gov/oiaf/ieo/world_reference_notes.html)
- Enlow, J.O., Jiang, H., Grant, J.T., Eyink, K., Su, W., Bunning, T.J., 2008, Plasma polymerized ferrocene films, *Polymer* 49, 19, pp. 4042-4045.
- Farsang, G., Tomesanyi, L , 1966, the effect of the concentration of the potassium ion on ferro-ferricyanide system at the carbon-paste and saturated electrode, *Magyar Kémiai Folyóirat* 72, 3, pp.136-139.
- Flosch, D., Clarotti, G., Geckeler, K. E., Schue, F., Gopel, W., 1992, Characterization of plasma-treated poly (hydroxybutyrate) membrane surfaces by ESCA and contact angle measurements, *Journal of Membrane Science*, 73, 163-172.
- Freire, R.S., Pessoa, C.A., Mello, L.D., Kubota, L.T., 2003, Direct electron transfer: an approach for electrochemical biosensors with higher selectivity and sensitivity, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 14, pp. 230-243.
- Galvani, L., 1791, *De bononiensi scientiarum et artium instituto atque academia Comentarum* 7, pp. 363–418
- Gao, X., Ge, S., Cai, Q., Zeng, K., Grimes, C.A., 2008, Kinetic study on the interaction between tannin and bovine serum albumin with a wireless magnetoelastic biosensor, *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 129, pp. 929-933.
- Ghindilis, A.L., Atanasov, P., Wilkins, E., 1997, Enzyme-catalyzed direct electron transfer: fundamentals and analytical applications, *Electroanalysis*, 9, pp. 661- 674.
- Guimard, N.K., Gomez, N., Schmidt, C.E., 2007, Conducting polymers in biomedical engineering, *Progress in Polymer Science* 32, pp. 876-921.

- Gunawardena, D.A., 2008, A Study On Biological Fuel Cells For Micro Level Applications, Thesis for the degree of master of science, Department of Agricultural and Biological Engineering, Faculty of Mississippi State University in Partial Fulfillment of the Requirements, Mississippi.
- Habermuller, L., Mosbach, M., Schuhmann, W., 2000, Electron-transfer mechanisms in amperometric biosensors, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 366, 6-7, pp. 560-568.
- Harper, J.C., Polsky, R., Wheeler, D.R., Brozik, S.M., 2008, Maleimide-activated aryl diazonium salts for electrode surface functionalization with biological and redox-active molecules, *Langmuir* 24, 220, pp.6–2211.
- Heller, A., 2004, Miniature biofuel cells, *Physical Chemistry Chemical Physics* 6, 2, pp. 209-216.
- Ikeda, T., Kano, K., 2003, Bioelectrocatalysis-based application of quinoproteins and quinoprotein-containing bacterial cells in biosensors and biofuel cells, *Biochimica et Biophysica Acta* 1647, pp. 121-126.
- Inamuddin, Shin K. M., Kim S.I., So I., Kim S.J., 2009, A Conducting Polymer/Ferritin Anode for Biofuel Cell Applications, *Electrochimica Acta* 54, 16, pp. 3979-3983.
- Ivnitski, D., Branch, B., Atanassov, P., Apblett, C., 2006, Glucose oxidase anode for biofuel cell based on direct electron transfer, *Electrochemistry Communications*, 8, pp.1204-1210.
- Kalaoğlu, F., Karakaş, H.C., Ünlü, B., Soybilge, P., Demir, E., 2007, Elektriksel iletken malzemeler, II. İstanbul Teknik Tekstilleri & Nonwoven Fuarı, İstanbul.
- Kaminska, A., Kaczmarek, H., Kowalonek, J., 2002, The influence of side groups and polarity of polymers on the kind and effectiveness of their surface modification by air plasma action, *European Polymer Journal*, 38, pp. 1915-1919.
- Kano, K., Ikeda, T., 2000, Fundamentals and practices of mediated bioelectrocatalysis, *Analytical Sciences* 16, 10, pp. 1013-1021.
- Kano, K., Ikeda, T., 2003, Bioelectrocatalysis, powerful means of connecting electrochemistry to biochemistry and biotechnology, *Electrochemistry* 71, 2, pp. 86-99.
- Katz, E., Buchmann, A.F., Willner, I., 2001, Self-powered enzyme-based biosensors [8], *Journal of the American Chemical Society* 123, 43, pp. 10752-10753.
- Katz, E., Shipway, A.N., Willner, I., 2003, Biochemical fuel cells, In: Vielstich, W., Gasteiger, H.A., Lamm, A. (Eds.), *Handbook of Fuel Cells—Fundamentals, Technology and Applications, Fundamentals and Survey of Systems*, vol. 1. John Wiley & Sons, Ltd., Newyork, pp. 355-381.

- Katz, E., Willner I., Kotlyar, A.B., 1999, A non-compartmentalized glucose/O<sub>2</sub> biofuel cell, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 479, 64.
- Kelly, I., 2003, The design of a robotic predator: The SlugBot, *Robotica* 21, 4, pp. 399-406.
- Kim, J., Jia, H., Wang, P., 2006, Challenges in biocatalysis for enzyme-based biofuel cells, *Biotechnology Advances* 24, 3, pp. 296-308.
- Kurtcephe, B, 2006, Tek hücreli doğrudan metanol yakıt pili geliştirilmesi ve deneysel incelenmesi, Yüksek lisans tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Makina Mühendisliği Anabilim Dalı, Niğde.
- Linden, D., 1984, *Handbook of Batteries and Fuel Cells*, Mc-Graw Hill Publishing Company, New York.
- Liu, Y., Dong, S.J., 2007, A biofuel cell with enhanced power output by grape juice, *Electrochemistry Communications*, 9, pp.1423-1427.
- Logan, B.E., 2005, Simultaneous wastewater treatment and biological electricity generation, *Water Science and Technology* 52, 1-2, pp. 31-37.
- Mano, N., Mao, F., Heller, A., 2003, Oxygen Is Electroreduced to Water on a "Wired" Enzyme Electrode at a Lesser Overpotential than on Platinum, *Journal of the American Chemical Society* 125, 50, pp. 15290-1529.
- Meyer, G., Amer, N.M., 1998, Novel optical approach to atomic force microscopy, *Applied Physics Letters*, 53, 12, pp. 1045-1047.
- Minteer, S.D., Liaw, B.Y., Cooney, M.J., 2007, Enzyme-based biofuel cells, *Current Opinion in Biotechnology*, 18, pp.228-234.
- Moore, C.M., Akers, N.L., Hill, A.D., Johnson Z.C., Minteer S.D., 2004, Improving the environment for immobilized dehydrogenase enzymes by modifying Nafion with tetraalkylammonium bromides, *Biomacromolecules* 5, pp. 1241-1247.
- Mousty, C., Cosnier, S., Shan, D., Mu, S., 2001, Trienzymatic biosensor for the determination of inorganic phosphate, *Analytica Chimica Acta*, 443, pp. 1-8.
- Mutlu, M., Mutlu, S., Alp, B., Boyacı, I.H., Piskin, E., 1997, Preparation of a single layer enzyme electrode by plasma polymerization technique, *Plasma Processing of Polymers*, NATO ASI Series, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 477-485.
- Noss, K.R., Vaughan, A .D., Byrne, M.E., 2008, Tailored binding and transport parameters of molecularly imprinted films via macromolecular structure: The rational design of recognitive polymers, *Journal of Applied Polymer Science* 107, pp. 3435-3441.

- Oğuz, A. E., 2006, Hidrojen Yakıt Pilleri ve PEM Yakıt Pilinin Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Palmore, G.T.R., Whitesides, G.M., 1994, Microbial and enzymatic biofuel cells. In: Himmel, E. (Ed.), *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*, vol. 566. American Chemical Society, pp. 271–290.
- Pas L.M., 2007, *Alternative Energy: Enzyme-based Biofuel Cells*, MMG 445 Basic Biotechnology e-Journal 20073, pp. 93-97.
- Rao, M.B., Tanksale, A.M., Ghatge, M.S., Deshpande, V.V., 1998, Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases, *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62, 3, pp. 597-635.
- Rao, S.P., Singh, S.R., Bandakavi S.R., 1978, Formal redox potentials of ferricyanide ferrocyanide couple in certain non-aqueous water mixtures, *Proceedings of INSA A Physical Sciences* 44 A, 6, pp. 333-335.
- Şahin, Y., Pekmez, K., Yıldız, A., 2003, Electrochemical Preparation of Soluble Sulfonated Polymers and Aniline Copolymers of Aniline Sulfonic Acids in Dimethylsulfoxide, *Journal of Applied Polymer Science*, 90, pp. 2163–2169.
- Sarma, A.K., Vatsyayan, P., Goswami, P., Minteer, S.D., 2009, Recent advances in material science for developing enzyme electrodes, *Biosensors and Bioelectronics*, 24, pp. 2313-2322.
- Schuhmann, W., 2002, Amperometric enzyme biosensors based on optimized electron-transfer pathways and non-manual immobilization procedures, *Reviews in Molecular Biotechnology*, 82, pp. 425- 441.
- Seon, Y.H., Lee, C.G., Park, D.H., Hwang, K.Y., Joe, Y.I., 1993, Hydrogen production by immobilized cells in the nozzle loop bioreactor, *Biotechnology Letters* 15, 12, pp. 1275-1280.
- Service, R.F., 2002, Biofuel Cells, *Science magazine*, 296, 5571, pp. 1189-1352, <http://www.sciencemag.org/content/vol296/issue5571.html>.
- Sezgin, S., 2007, Electropolymerization of n-pyrrole, n-phenylpyrrole, 1-(4-methoxyphenyl)-1h-pyrrole on carbon fiber micro electrodes, characterizations and biosensor applications, Master's Thesis, Istanbul Technical University Institute Of Science And Technology, İstanbul.
- Shukla, A.K., Avery, N.R., Muddle, B.C., 1999, Future cars: The electric option, *Current Science* 77, 9, pp. 1141-1146.
- Shukla, A.K., Suresh, P., Berchmans, S., Rajendran, A., 2004, Biological fuel cells and their applications, *Current Science* 87, 4, pp. 455-468.
- Sönmez, G., Saraç, A.S., 2002, Akrilamid varlığında pirol oligomerlerinin spektroeletrokimyası, *İTÜ Dergisi/C Fen Bilimleri* 1, 1, pp. 23-31.



- Tarasevic, M.R., Bogdanovskay, V.A., 1987, The Surface-modified Carbon Materials for Electrocatalysis, Russian Chemical Reviews, 56.
- Taşdelen, Ç., 2006, Proteaz enziminin fiziksel adsorpsiyon, kovalent ve iyonik bağlanma metotları ile immobilizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Topcagic, S., Treu, B.L., Minteer, S.D., 2004, Characterization/optimization of oxygen biocathodes for membraneless biofuel cells, In Proceedings of the Electrochemical Society 18, pp. 230-242.
- Tsujimura, S., Wadano, A., Kano, K., Ikeda, T., 2001, Photosynthetic bioelectrochemical cell utilizing cyanobacteria and water-generating oxidase Enzyme and Microbial Technology 29, 4-5, pp. 225-231.
- Tusek, L., Nitschke, M., Werner, C., Stana-Kleinschek, K., Ribitsch, V., 2001, Surface characterisation of NH<sub>3</sub> plasma treated polyamide 6 foils, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 195, pp. 81-95.
- Ünveren, E., 2008, Proton iletkenliği yüksek yeni bir polimer elektrolit membran geliştirilmesi ve uygulanması, Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Updike, S.J., Hicks, G.P., 1967, The enzyme electrode , Nature 214, 5092, pp. 986-988.
- Van Dijk, C., Laane, C., Veeger, C., 1985, Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas-Journal of the Royal Netherlands Chemical Society 104, 10, pp. 245–252.
- Varfolomeev, S.D., Kurochkin, I.N., Yaropolov, A.I., 1996, Direct electron transfer effect biosensors. Biosensors and Bioelectronics, 11, pp. 863-871.
- Vijayalakshmi, R., Kanthimathi, M., Parthasarathi, R., Nair, B.U., 2006, Interaction of Chromium(III) Complex of Chiral Binaphthyl Tetradentate Ligand with DNA, Bioorganic&Medicinal Chemistry, 14, pp. 3300-3306.
- Willner, I., Arad, G., Katz, E., 1998, A biofuel cell based on pyrroloquinoline quinone and MP-11 monolayer-functionalized electrodes, Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 44, 2, pp. 209-214.
- Willner, I., Katz, E., 2000, Integration of layered redox proteins and conductive supports for bioelectronic applications, Angewandte Chemie - International Edition, 39, pp. 1181-1218.
- Wingard, L.B., Shaw, C.H., Castner, J.F., 1982, Bioelectrochemical Fuel Cells, Enzyme and Microbial Technology 4,3, pp. 137–142.
- Wong, T., Schwaneberg, U., 2003, Protein engineering in bioelectrocatalysis, Current Opinion in Biotechnology 14, 6, pp. 590-596.

- Worsfold, P.J., 1995, Classification and Chemical Characteristics of Immobilized Enzymes, Pure and Applied Chemistry, 67,4, pp. 597-600
- Yagishita, T., Sawayama, S., Tsukahara, K., Ogi, T., 1999, Effects of glucose addition and light on current outputs in photosynthetic electrochemical cells using *Synechocystis* sp. PCC6714, Journal of Bioscience and Bioengineering 88, 2, pp. 210-214.
- Yakar, E., 2006, Elektropolimerizasyon Yöntemiyle Polipirol ve Polianilin ile Kaplanmış Alüminyumun Asidik Korozyonunun Önlenmesinde Farklı Anyonların Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli.
- Yan, Y., Zhen, W., Su, L., Mao, L., 2006, Carbon-nanotube-based glucose / O<sub>2</sub> biofuel cells, Advanced Materials, 18, pp. 2639-2643.
- Yasuda, H., 1984, Plasma polymerization for protective coatings and composite membranes, Journal of Membrane Science, 18, pp. 273-284.
- Yasuda, H., 1985, Plasma Polymerization, Institute for Film Processing Material, University of Missouri Rulla Academic Press Inc., pp. 344-355.
- Yıldız, A., Genç, Ö., 1993, Enstrümental Analiz Teknikleri, H. Ü. yayınları A-46, Ankara, 480s.
- Yıldızbilir, F., 2006, Yakıt Pili İle Elektrik Enerjisi Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Yu, E.H., Sundmacher, K., 2007, Enzyme Electrodes for Glucose Oxidation Prepared by Electropolymerization of Pyrrole, Process Safety and Environmental Protection 85, pp. 489-493.
- Zheng, W., Li, Q., Su, L., Ya, Y., Zhang, J., Mao, L., 2006, Direct electrochemistry of multi-copper oxidases at carbon nanotubes noncovalently functionalized with cellulose derivatives, Journal of Electroanalytical Chemistry, 18, pp. 587-594.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Ceyda Büyüknohutçu

**Doğum Yeri** : ISPARTA

**Doğum Yılı** : 1984

**Medeni Hali** : Bekâr

### Eğitim ve Akademik Durumu:

**Lise**                    **2000-2002:** İzmir 60. Yıl Anadolu Lisesi; İzmir, Türkiye

**Lisans**                **2002-2006:** Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye  
Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

**Yabancı Dil:** İngilizce

### İş Tecrübesi:

**Haziran 2006 - Aralık 2006:** Araştırmacı Asistanlığı, TÜBİTAK Ankara Test ve Analiz Laboratuvarı, Ankara.

**Aralık 2006** - : Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Ankara.