

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Tuğba BAYCAN

**MİKROBİYAL ELEKTROLİZ MEKANİZMASININ İNCELENMESİ VE
ORGANİK İÇERİĞİ ZENGİN ATIK SULARA UYGULANARAK
HİDROJEN GAZI ÜRETİMİ**

KİMYA ANABİLİM DALI

ADANA, 2013

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİKROBİYAL ELEKTROLİZ MEKANİZMASININ İNCELENMESİ VE
ORGANİK İÇERİĞİ ZENGİN ATIK SULARA UYGULANARAK
HİDROJEN GAZI ÜRETİMİ**

Tuğba BAYCAN

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez 04/04/2012 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Doç. Dr. Sibel IRMAK
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Oktay ERBATUR
ÜYE

.....
Doç. Dr. Fatih MATYAR
ÜYE

.....
Doç. Dr. Tunç TÜKEN
ÜYE

.....
Doç. Dr. Belgin GÖZMEN
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Kimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç.Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FEF2009DL16**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

MİKROBİYAL ELEKTROLİZ MEKANİZMASININ İNCELENMESİ VE ORGANİK İÇERİĞİ ZENGİN ATIK SULARA UYGULANARAK HİDROJEN GAZI ÜRETİMİ

Tuğba BAYCAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Sibel IRMAK

Yıl: 2013, Sayfa: 167

Jüri : Doç. Dr. Sibel IRMAK

: Prof. Dr. Oktay ERBATUR

: Prof. Dr. Tunç TÜKEN

: Doç. Dr. Fatih MATYAR

: Doç. Dr. Belgin GÖZMEN

Bu çalışmada *Shewanella oneidensis* MR-1 ve *Geobacter metallireducens* ekzoelektrojenik bakterileri ile kenar yüzeyli prolize grafit elektrotta (EPPG) mikrobiyal elektroliz yöntemiyle atık sulardan hidrojen gazı üretimi gerçekleştirilmiştir. Öncelikle model bir substrat, glukoz kullanılarak farklı potansiyelerde (0,5; 0,7 ve 1,0 V) standart bir elektrolitte elektroliz deneyleri yapılmış ve mikrobiyal elektroliz optimum potansiyeli belirlenmiştir. Buna göre, *S. oneidensis* MR-1 için 0,7 V ve *G. metallireducens* için 1,0 V optimum potansiyel olarak belirlenmiştir ve melas atık suyu ile yapılan çalışmalarda bu potansiyeller kullanılmıştır.

Bakterilerin hidrojen üretim mekanizması döner disk elektrot sistemi ve dönüşümlü voltametre tekniği ile aydınlatılmaya çalışılmıştır. Voltametrik ölçümler sonucunda, EPPG elektrotta hidrojen oluşumunun yüksek potansiyelerde gerçekleştiği, ancak hidrojen oluşum reaksiyonunu sağlamak için gerekli aktivasyon enerjisinin bakteri varlığında oldukça düştüğü sonucuna varılmıştır. Kullanılan bakterilerden *G. metallireducens*' in hidrojen gaz oluşturma etkinliğinin daha iyi olduğu görülmüştür. Döner disk elektrot sistemi ile yapılan çalışmalarda *S. oneidensis* MR-1' e kıyasla, *G. metallireducens* elektrot yüzeyinde indirgenerek akımı arttırmakta ve bu sayede elektrot/çözelti arasındaki elektron transferini daha hızlı gerçekleştirebilmektedir. Artan katodik akımla elektron aktarımının yanı sıra proton aktarımı da hızlanmakta ve hidrojen oluşumunu daha etkin hale getirebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hidrojen, mikrobiyal elektroliz, *Shewanella oneidensis* MR-1, *Geobacter metallireducens*, pirolize grafit.

ABSTRACT

PhD THESIS

RESEARCHING OF MICROBIAL ELECTROLYSIS MECHANISM OF ORGANIC RICH MATERIAL CONTAINING WASTEWATER FOR HYDROGEN PRODUCTION

Tuğba BAYCAN

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

Supervisor : Assoc. Prof. Sibel IRMAK
Year: 2013, Pages: 167
Jury : Assoc. Prof. Sibel IRMAK
: Prof. Dr. Oktay ERBATUR
: Prof. Dr. Tunç TÜKEN
: Assoc. Prof. Fatih MATYAR
: Assoc. Prof. Belgin GÖZMEN

In this study, hydrogen production via microbial electrolysis of wastewater was carried out on edge plane pyrolytic graphite electrode (EPPG) using *Shewanella oneidensis* MR-1 and *Geobacter metallireducens* exoelectrogenic bacteria. To determine optimum potential condition of the system, microbial electrolysis was performed with glucose in supporting electrolyte solution as a carbon source at various potential applications (0.5, 0.7 and 1.0 V). The optimum potential was found to be 0.7 V for *S. oneidensis* MR-1 and 1.0 V for *G. metallireducens*. Those potentials were used for microbial electrolysis of wastewater samples.

Hydrogen evolution mechanism of the bacteria was researched using rotating disc electrode system and cyclic voltammetry technique. The results showed that higher over potential was required for hydrogen evolution on EPPG electrode. However, the presence of bacteria in the solution decreased the activation energy required to ensure hydrogen evolution reaction. Hydrogen evolution efficiency of *G. metallireducens* was better compared to *S. oneidensis* MR-1. Current increased while *G. metallireducens* was present on electrode surface. Therefore, electron transfer between electrode/solution carried out faster. Not only electron transfer but also proton transfer accelerated by increasing cathodic current and hydrogen evolution. These results showed that the mass-transport processes was more effective with *G. metallireducens*.

Keywords: Hydrogen, microbial electrolysis, *Shewanella oneidensis* MR-1, *Geobacter metallireducens*, pyrolytic graphite.

TEŞEKKÜR

Öncelikle, pek çok konuda olduğu gibi akademik çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen, her zaman anlayış gösteren, yapmış olduğum araştırmalarda beni yönlendiren danışmanım Sayın Doç. Dr. Sibel IRMAK' a teşekkürlerimi sunarım.

Hazırladığı projelerde çalışma imkanı sağlayan ve her zaman yenilikçi düşünceleriyle bana ışık tutan ve bir bilim insanı olmayı öğreten Doktora Tez İzleme Komitesi üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. Oktay ERBATUR' a teşekkür ederim. Doktora tezi jüri üyelerinden Sayın Prof. Dr. Tunç TÜKEN ve Sayın Doç. Dr. Fatih MATYAR' a yapıcı ve yönlendirici fikirleriyle katkıda bulundukları için teşekkürlerimi sunarım. Araştırmalarımnda fikirleri ile bana destek veren Prof. Dr. Mehmet ERBİL, Doç. Dr. Arif HASANOĞLU ve Doç. Dr. Osman GÜLNAZ' a da çok teşekkür ederim.

Laboratuarda huzurlu bir şekilde çalışma ortamı sağlayan, iyi günde kötü günde hep birlikte olduğumuz ve bundan sonra da olacağımız sevgili Analitik Kimya grubu üyeleri Ayşe BİLEN, Açelya SEÇER ATEŞ, Bahar MERYEMOĞLU, Burçak KAYA, Ezgi CANBOLAT, Evren ERİKLİ ve Fatih ÖZTÜRK' e de çok teşekkür ederim. Yardımlarından dolayı Fizikokimya grubuna da çok teşekkür ederim.

Beni dünyaya getiren, iyi bir eğitim imkanı sağlayarak maddi ve manevi hep destek olan annem Fatma, babam Sebahattin BALIN' a çok teşekkür ederim. Doktora çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen, sabır gösteren hayat arkadaşım Oğuzhan BAYCAN' a ve bu süre zarfında dünyaya getirdiğimiz ve annesine hiç zorluk çıkarmayan güzel kızım Elif BAYCAN' a çok teşekkür ederim. Ayrıca eşimin ailesine de eğitim ve öğretim hayatım boyunca bana maddi, manevi destek oldukları ve her zaman güvendikleri için çok teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarım esnasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Ç.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölüm Başkanlığı' na, maddi destek veren Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi' ne (Proje no: FEF2009DL16), Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TUBİTAK)' na (Proje no: 110M450) ve UNIDO-ICHET' e içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XXII
1. GİRİŞ	1
1.1. Biyokütleden Hidrojenin Biyoteknolojik Üretimi.....	2
1.1.1. Neden Hidrojen Üretimi?	4
1.2. Mikrobiyal Yakıt Hücresi.....	4
1.3. Yüksek Verimle Hidrojen Gazı Üretimi: Mikrobiyal Elektroliz Hücreleri	7
1.4. Mikrobiyal Elektroliz Hücresi Sistemleri.....	10
1.4.1. Elektrokimyasal Aktif Mikroorganizmalar	10
1.4.1.1. <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	12
1.4.1.2. <i>Geobacter metallireducens</i>	12
1.4.2. Elektrokimyasal Aktif Mikroorganizmalar Tarafından Hücre Dışı Elektron Transferi	13
1.4.3. Mikrobiyal Elektrolizin Termodinamiği ve Elektrokimyasal Sınırlamalar	15
1.4.4. Mikrobiyal Elektroliz Sisteminde Enerji Kayıpları	18
1.4.4.1. Ohmik Kayıplar	19
1.4.4.2. Elektrot Aşırı Gerilimleri	19
1.4.5. Materyaller	
1.4.5.1. Anot.....	20
1.4.5.2. Katot.....	20
1.4.5.3. Membran	21
1.4.5.4. Borular ve Gaz Toplama Sistemleri.....	22
1.6. MEC Yapımı	22

1.7. Atık Suyu İşlemek için Mikrobiyal Elektroliz Hücreleri	24
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	27
3. MATERYAL VE METOD	35
3.1. Materyal.....	35
3.1.1. Mikroorganizmalar.....	35
3.1.2. Elektrotlar.....	35
3.1.3. Mikrobiyal Elektroliz Hücresi.....	36
3.2. Metod	37
3.2.1. Mikroorganizmaların Geliştirilmesi.....	37
3.2.1.1. <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1.....	37
3.2.1.2. <i>Geobacter metallireducens</i>	37
3.2.2. Mikroorganizmaların Karakterizasyonu	39
3.2.3. Bakterilerin Gelişim Sürecinin İncelenmesi	39
3.2.4. Bakterilerin Saklanması	40
3.2.5. Elektrotların Hazırlanması	41
3.2.6. EPPG/Ekzoelektrojenik Bakteri Kombine Elektrotlarının ve Model Substratın Kullanıldığı Mikrobiyal Elektroliz Deneyleri	42
3.2.6.1. Standart Elektroliz Çözeltisinin Hazırlanması.....	42
3.2.6.2. Mikrobiyal Elektrolize Substrat Miktarının Etkisi	43
3.2.6.3. Gaz Analizleri	44
3.2.6.4. Analitik Boyutta HPLC Analizleri.....	44
3.2.6.5. EPPG Elektrotlar ile Mikrobiyal Elektroliz Çalışma Koşullarının Belirlenmesi	45
3.2.6.6. Atık Su ile Mikrobiyal Elektroliz Deneyleri.....	46
3.2.7. Mikrobiyal Elektroliz Mekanizmasının İncelenmesi	46
3.2.7.1. Destek Elektrolit Çözeltisi	46
3.2.7.2. Destek Elektrolitte Platin ve EPPG Çalışma Elektrotları ile Dönüşümlü Voltametre Çalışmaları	47
3.2.7.2.(1). Ayrışma Potansiyeli ve Aşırı Gerilimi Belirleme Çalışmaları.....	47

3.2.7.3. Destek Elektrolitte Glukoz Varlığında Dönüşümlü	
Voltametre ve Kronoamperometre Çalışmaları.....	48
3.2.7.4. Platin ve EPPG Elektrotlarda Bakteri Varlığında	
Dönüşümlü Voltametre Çalışmaları	49
3.2.7.4.(1). Destek Elektrolitte Bakteri Varlığında	
Dönüşümlü ve Doğrusal Taramalı Voltametre	
Çalışmaları.....	49
3.2.7.5. Platin ve EPPG Elektrotların Yüzeyinde Biyofilm	
Oluşturma ve Karakterizasyon Çalışmaları.....	50
3.2.7.6. Platin ve EPPG Elektrotlarının Farklı Sıcaklıklarda	
Bakterisiz ve Bakterili Destek Elektrolitte Katodik Yönde	
Davranışlarının İncelenmesi	51
3.2.7.7. Impedans Çalışmaları	51
3.2.7.8. Döner Disk Elektrot Sistemi ile Yapılan Çalışmalar	52
3.2.7.8.(1). Substratsız Destek Elektrolitte Yapılan	
Elektrokimyasal Ölçümler.....	52
3.2.7.8.(1).a. PGE yüzeyinde biyofilm	
oluşturulması	53
3.2.7.8.(2). Substratsız Fosfat Tamponunda Yapılan	
Elektrokimyasal Ölçümler.....	54
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	57
4.1. Mikroorganizmaların Karakterizasyonu.....	57
4.2. Bakterilerin Gelişim Sürecinin İzlenmesi	59
4.3. Mikrobiyal Elektroliz Mekanizmasının İncelenmesi	60
4.3.1. Platin ve EPPG Elektrotların Karakterizasyonu	60
4.3.1.1. Ayrışma Potansiyeli ve Aşırı Gerilimlerin Belirlenmesi	65
4.3.2. Platin ve EPPG Elektrotlarda Glukozun Elektrokimyasal	
Davranışının İncelenmesi.....	67
4.3.2.1. Platin ve EPPG Elektrotlar Üzerinde Glukoz Derişimindeki	
Değişimin Etkisi	69

4.3.2.2. Platin ve EPPG Elektrotlarda Glukozun Oksidasyonu ve Kronoamperometrik Çalışma	71
4.3.3. Platin Elektrotta <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1' in Karakterizasyonu.....	75
4.3.3.1. Ayrışma Potansiyeli ve Aşırı Gerilimin Belirlenmesi.....	77
4.3.4. Platin ve EPPG Elektrotlar Üzerinde Farklı Saf Bakteri Kültürlerinin Destek Elektrolitte Karakterizasyonu.....	78
4.3.4.1. <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	78
4.3.4.1.(1). Ayrışma Potansiyeli ve Aşırı Geriliminin Belirlenmesi.....	83
4.3.4.2. <i>Geobacter metallireducens</i>	83
4.3.4.2.(1). Ayrışma Potansiyeli ve Aşırı Gerilimin Belirlenmesi.....	89
4.3.5. Platin ve EPPG Elektrotlar Üzerinde Oluşturulan Biyofilmin..... Karakterizasyonu ve Kararlılığı	91
4.3.5.1. <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	91
4.3.5.2. <i>Geobacter metallireducens</i>	93
4.3.6. EIS Sonuçları	95
4.3.6.1. <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	96
4.3.6.2. <i>Geobacter metallireducens</i>	98
4.3.7. Destek Elektrolitte Bakteri Yokluğunda ve Varlığında Pt ve EPPG Elektrotlarda Hidrojen Gazı Oluşumuna Sıcaklığın Etkisi	99
4.3.7.1. <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	99
4.3.7.2. <i>Geobacter metallireducens</i>	101
4.3.8. Döner Disk Elektrot Sistemi ile Pirolyze Grafit Yüzeyde Elektrokimyasal Uygulamalar.....	103
4.3.8.1. <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	104
4.3.8.2. <i>Geobacter metallireducens</i>	112
4.3.9. Elektrokimyasal H ₂ Üretimi için Katalizör Olarak <i>Shewanella</i> <i>oneidensis</i> MR-1 ve <i>Geobacter metallireducens</i>	118
4.3.9.1. <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	118

4.3.9.2. <i>Geobacter metallireducens</i>	123
4.4. EPPG/Ekzoelektrojenik Bakteri Kombine Elektrotlarının ve Model	
Substratın Kullanıldığı Mikrobiyal Elektroliz Deneyleri	127
4.4.1. Mikrobiyal Elektrolize Substrat Miktarının Etkisi.....	127
4.4.2. Mikrobiyal Elektrolizde Farklı Bakteri Kùltürleri İçin Optimum	
Elektroliz Potansiyelinin Belirlenmesi.....	130
4.4.2.1. <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	130
4.4.2.2. <i>Geobacter metallireducens</i>	133
4.4.3. Optimum Koşullarda Melas Atık Suyu ile Mikrobiyal Elektroliz	136
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	137
KAYNAKLAR	143
ÖZGEÇMİŞ	159
EKLER.....	160

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Kültür ortamı bileşimi.....	37
Çizelge 3.2. Eser element çözeltisi bileşimi.....	38
Çizelge 3.3. Vitamin çözeltisi bileşimi	38
Çizelge 4.1. Platin ve EPPG elektrotların oda koşullarında ve N ₂ atmosferinde hesaplanan deneysel ayrışma potansiyelleri ve aşırı gerilimler	66
Çizelge 4.2. Destek elektrolitte <i>S. oneidensis</i> MR-1 varlığında Pt ve EPPG elektrotlarda H ₂ ve O ₂ gazlarının oluşum potansiyelleri ve aşırı gerilimler	83
Çizelge 4.3. Destek elektrolitte <i>G. metallireducens</i> varlığında Pt ve EPPG elektrotlarda H ₂ ve O ₂ gazlarının oluşum potansiyelleri ve aşırı gerilimler.....	90
Çizelge 4.4. <i>S. oneidensis</i> MR-1 için farklı potansiyellerde ve açık devre için kapasitans değerleri	97
Çizelge 4.5. <i>G. metallireducens</i> için farklı potansiyellerde ve açık devre için kapasitans değerleri	98
Çizelge 4.6. Destek elektrolitte ve <i>S. oneidensis</i> MR-1 içeren destek elektrolitte çalışma ve/veya karşı elektrot olarak Pt ve EPPG elektrotlarda hidrojen oluşum reaksiyonu için hesaplanan aktivasyon enerjileri	101
Çizelge 4.7. <i>G. metallireducens</i> içeren destek elektrolitte çalışma ve/veya karşı elektrot olarak Pt ve EPPG elektrotlarda hidrojen oluşum reaksiyonu için hesaplanan aktivasyon enerjileri.....	102
Çizelge 4.8. Glukoz miktarına bağlı olarak elde edilen toplam gaz hacmi ve gaz bileşimi, H ₂ ' e dönüşüm yüzdesi ve H ₂ verimi	128
Çizelge 4.9. Glukozun mikrobiyal elektrolizi sonrasında çözeltide kalan ara ürünlerin analizi	129
Çizelge 4.10. <i>S. oneidensis</i> MR-1 ile yapılan elektroliz deneylerinde uygulanan potansiyele bağlı olarak elde edilen toplam gaz hacmi, gaz bileşimi, glukozun H ₂ ve CO ₂ ' e dönüşüm yüzdeleri ve H ₂ verimi	131

Çizelge 4.11. <i>S. oneidensis</i> MR-1 ile farklı potansiyellerinde yapılan elektroliz sonucunda analiz edilen sulu çözelti bileşimi (2,0 g/L glukoz kullanıldığında)	131
Çizelge 4.12. <i>G. metallireducens</i> ile yapılan elektroliz deneylerinde uygulanan potansiyele bağlı olarak elde edilen toplam gaz hacmi, bileşimdeki gaz hacimleri, H ₂ ' e dönüüm yüzdesi ve H ₂ verimi	134
Çizelge 4.13. <i>G. metallireducens</i> ile farklı potansiyellerinde yapılan elektroliz sonucunda analiz edilen sulu çözelti bileşimi (2,0 g/L glukoz kullanıldığında)	134

Şekil 1.1. Potansiyel hidrojen kaynakları.....	3
Şekil 1.2. Standart bir MFC konfigürasyonun şematik gösterimi.....	6
Şekil 1.3. (A) İki bölmeli, membranlı ve (B) tek bölmeli, membransız MEC sistemlerinin şematik gösterimi	9
Şekil 1.4. Çözünemeyen elektron alıcılarda hücre dışı elektron transfer mekanizması: (A) çözünebilir elektron taşıyıcılar (ET) ile hücre dışı elektron transferi ve (B) çözünemeyen elektron alıcılar ile doğrudan iletimle hücre dışı elektron transferi (aracısız elektron transferi). Y: yükseltgenme; İ: İndirgenme.....	14
Şekil 1.5. Farklı çalışmalarda kullanılan mikrobiyal elektroliz hücreleri: (A) membran ile ayrılmış iki şişeli MEC, (B ve D) anot ve katodun membranla ayrıldığı küp şeklinde MEC, (C) membransız, küp şeklinde tek bölmeli MEC, (E) disk şeklinlilde iki bölmeli MEC, (F) gaz difüzyon elektrotlu, disk şeklinde membran elektrot monteli MEC, (G) dikdörtgen şeklinde, kıvrımlı akış kanallarına sahip MEC.....	23
Şekil 3.1. Tek odalı ve membransız mikrobiyal elektroliz hücresi	36
Şekil 3.2. Pirolize grafit levhanın asıl (basal) ve kenar (edge) yüzey kesitleri ve teflon destek üzerine sabitlenmiş EPPG elektrot	41
Şekil 3.3. Asıl düzlem (basal plane) ve kenar düzlem (edge plane) pirolize grafit elektrodun şematik gösterimi	42
Şekil 3.4. Döner disk elektrot sistemi	52
Şekil 4.1. Sıvı kültür ortamında (A) ve katı besi yerinde geliştirilmiş (B) <i>S. oneidensis</i> MR-1	57
Şekil 4.2. <i>S. oneidensis</i> MR-1 saf bakteri kültürü için H ₂ S oluşumu testi. A: Hareketlilik testi; B: H ₂ S oluşumu.....	58
Şekil 4.3. Fe(III)sitrat-asetat ortamında geliştirilmiş <i>G. metallireducens</i>	59
Şekil 4.4. Bakteri yoğunluğunun zamana karşı değişimi	59
Şekil 4.5. Destek elektrolitte farklı tarama hızlarında Pt elektrodun (Pt' e karşı) dönüşümlü voltamogramları. (a) Oda koşulları (b) N ₂ atmosferi	60

Şekil 4.6. Destek elektrolitte farklı tarama hızlarında EPPG elektrodun (Pt' e karşı) dönüşümlü voltamogramlar. (a) Oda koşulları (b) N ₂ atmosferi ...	61
Şekil 4.7. Farklı tarama hızlarında katodik potansiyellerde Pt elektrot (Pt' e karşı) ile destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (a) Oda koşulları (b) N ₂ atmosferi.....	63
Şekil 4.8. Farklı tarama hızlarında anodik potansiyellerde Pt elektrot (Pt' e karşı) ile destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (a) Oda koşulları (b) N ₂ atmosferi.....	63
Şekil 4.9. Farklı tarama hızlarında katodik potansiyellerde EPPG elektrot (Pt' e karşı) ile destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (a) Oda koşulları (b) N ₂ atmosferi.....	63
Şekil 4.10. Farklı tarama hızlarında anodik potansiyellerde EPPG elektrot (Pt' e karşı) ile destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (a) Oda koşulları (b) N ₂ atmosferi.....	64
Şekil 4.11. EPPG-EPPG elektrot çiftinin 50 mV/s tarama hızında N ₂ atmosferinde destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramı	64
Şekil 4.12. 50 mV/s tarama hızında, N ₂ atmosferinde (a) katodik ve (b) anodik potansiyellerde EPPG-EPPG elektrot çifti ile destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar	65
Şekil 4.13. Destek elektrolitte Pt elektrodun glukozu karşı davranışı. (a) -0,8 ve +1,4 V (b) 0,0 ve -1,0 V. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 10 mM; T (K): 298; pH=7.....	68
Şekil 4.14. Destek elektrolitte EPPG elektrodun glukozu karşı davranışı. (a) -0,8 ve +1,4 V (b) 0,0 ve -2,5 V. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 10 mM; T (K): 298; pH=7.....	68
Şekil 4.15. (a) Destek elektrolitte farklı glukoz derişimlerinde Pt elektrodun dönüşümlü voltamogramları. (b) Katodik yönde glukoz varlığında (200 mM) platin elektrodun davranışı. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7	69

Şekil 4.16. (a) Destek elektrolitte farklı glukoz derişimlerinde EPPG elektrodun dönüşümlü voltamogramları. (b) Katodik yönde glukoz varlığında (200 mM) EPPG elektrodun davranışı. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7	70
Şekil 4.17. Destek elektrolitte 10, 150, 200 ve 500 mM glukoz varlığında EPPG elektrodun dönüşümlü voltamogramları. Karşı elektrot: Pt; tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7	70
Şekil 4.18. (a) Destek elektrolitte glukoz yokluğunda ve varlığında Pt elektrodun dönüşümlü voltamogramı. (b) Destek elektrolitte Pt elektrotta glukoz oksidasyonunu gösteren voltamogram. (c) Katodik yönde Pt elektrodun glukoz varlığındaki davranışı. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 11,1 mM; T (K): 298; pH=7.....	72
Şekil 4.19. +0,75 V potansiyelde destek elektrolite eklenen glukozun (11,1 mM) Pt elektrotta kronoamperometrik çalışma sonucunda elde edilen akım yoğunluğu-zaman grafiğı	73
Şekil 4.20. Destek elektrolitte hazırlanan glukozun elektroliz öncesi ve sonrasında (a) -0,8 ve +1,4 V ve (b) -0,2 ve +1,0 V potansiyel aralığında Pt elektrotta alınan dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 11,1 mM; T (K): 298; pH=7; E _{uygulama} : +0,75 V.....	73
Şekil 4.21. (a) Destek elektrolitte glukoz yokluğunda ve varlığında EPPG elektrodun dönüşümlü voltamogramı. (b) Destek elektrolitte EPPG elektrotta glukoz oksidasyonunu gösteren voltamogram. (c) Katodik yönde EPPG elektrodun glukoz varlığındaki davranışı. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 11,1 mM; T (K): 298; pH=7.....	74
Şekil 4.22. +0,75 V potansiyelde destek elektrolite eklenen glukozun (11,1 mM) EPPG elektrotta kronoamperometrik çalışma sonucunda elde edilen akım yoğunluğu-zaman grafiğı	75

Şekil 4.23. Destek elektrolitte hazırlanan glukozun elektroliz öncesi ve sonrasında (a) -0,8 ve +1,4 V ve (b) -0,2 ve +1,0 V potansiyel aralığında EPPG elektrotta alınan dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 11,1 mM; T (K): 298; pH=7; Euygulama: +0,75 V	75
Şekil 4.24. Destek elektrolitte (organik içerikli) bakteri yokluğunda ve varlığında platin elektrodun dönüşümlü voltamogramları. (a) -0,8 ve +1,4 V; (b) 0,0 ve -1,0 V; (c) 0,0 ve 1,8 V. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7	76
Şekil 4.25. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte <i>S. oneidensis</i> MR-1 yokluğunda ve varlığında kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7; Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG	79
Şekil 4.26. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte <i>S. oneidensis</i> MR-1 yokluğunda ve varlığında katodik yönde kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7 Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG	81
Şekil 4.27. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte <i>S. oneidensis</i> MR-1 yokluğunda ve varlığında anodik yönde kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7 Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG	82
Şekil 4.28. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte <i>G. metallireducens</i> yokluğunda ve varlığında kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7 Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG	85
Şekil 4.29. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte <i>G. metallireducens</i> yokluğunda ve varlığında katodik yönde kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7 Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG	87

Şekil 4.30. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte <i>G. metallireducens</i> yokluğunda ve varlığında anodik yönde kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (°K): 298; pH=7 Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG	89
Şekil 4.31. (a) <i>S. oneidensis</i> MR-1 içeren destek elektrolitte Pt elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış Pt elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramları (Pt' e karşı).....	91
Şekil 4.32. (a) <i>S. oneidensis</i> MR-1 içeren destek elektrolitte EPPG elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış EPPG elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramları (Pt' e karşı)	92
Şekil 4.33. (a) <i>S. oneidensis</i> MR-1 içeren destek elektrolitte EPPG elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış EPPG elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (EPPG' ye karşı).....	93
Şekil 4.34. (a) <i>G. metallireducens</i> destek elektrolitte Pt elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış Pt elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar	94
Şekil 4.35. a) <i>G. metallireducens</i> içeren destek elektrolitte EPPG elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış EPPG elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (Pt' e karşı)	95
Şekil 4.36. (a) <i>G. metallireducens</i> içeren destek elektrolitte EPPG elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış EPPG elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (EPPG' ye karşı).....	95
Şekil 4.37. <i>S. oneidensis</i> MR-1 yüklü EPPG örnekleri için 0,2; 0,5; 0,7 ve 1,0 V sabit anodik potansiyellerde EIS sonuçları	97
Şekil 4.38. <i>G. metallireducens</i> yüklü EPPG örnekleri için 0,2; 0,5; 0,7 ve 1,0 V sabit anodik potansiyellerde EIS sonuçları	99

Şekil 4. 39. Destek elektrolitte ve <i>S. oneidensis</i> MR-1 içeren destek elektrolitte çalışma ve/veya karşı elektrot olarak Pt ve EPPG elektrotların Arhenius eğrileri (a) Pt/Pt, bakterisiz; (b) Pt/Pt, bakterili; (c) EPPG/Pt, bakterisiz; (d) EPPG/Pt bakterili; (e) EPPG/EPPG, bakterisiz; (f) EPPG/EPPG, bakterili	100
Şekil 4.40. Destek elektrolitte ve <i>G. metallireducens</i> içeren destek elektrolitte çalışma ve/veya karşı elektrot olarak Pt ve EPPG elektrotların Arhenius eğrileri (a) Pt/Pt, (b) EPPG/Pt, (c) EPPG/EPPG	102
Şekil 4.41. PGE çalışma elektrodunun farklı dönme hızlarında, 50 mV/s tarama hızında, oda sıcaklığında destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramları. (a) Alümina (b) Kumlu zımpara (P1200) ile cilalama	104
Şekil 4.42. PGE çalışma elektrodunun taze destek elektrolitte ve <i>S. oneidensis</i> MR-1 (SOMR-1) aşılınmış destek elektrolitte, 50 mV/s tarama hızında, döndürme yapılmaksızın kaydedilen dönüşümlü voltamogramları. (a) Alümina (b) Kumlu zımpara (P1200) ile cilalama. Voltamogramlardaki ek grafikler benzer koşullarda alınan üst üste çakıştırılmış döngüleri göstermektedir.....	105
Şekil 4.43. PGE çalışma elektrodunun taze destek elektrolitte ve <i>S. oneidensis</i> MR-1 aşılınmış destek elektrolitte, 10 mV/s tarama hızında, döndürme yapılmaksızın, katodik yönde kaydedilen dönüşümlü voltamogramları. (a) Alümina (b) Kumlu zımpara (P1200) ile cilalama	106
Şekil 4.44. PGE yüzeyine adsorblanmış <i>S. oneidensis</i> MR-1' in bakterisiz taze destek elektrolitte elektrodu döndürmeksizin katodik yönde 10 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramları (a) Alümina (b) Kumlu zımpara (P1200) ile cilalama.....	106
Şekil 4.45. Bakteri yüklü PGE elektrodun farklı tarama hızlarında katodik yönde destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramları (a) Alümina (b) Kumlu zımpara (P1200) ile cilalama.....	107

Şekil 4.46. 6000 rpm dönme hızı ve 3 mV/s tarama hızında destek elektrolitte ve bakteri yüklü PGE elektrodun destek elektrolitte katodik yönde alınan dönüşümlü voltamogramlar (a) Alümina (b) P1200 ile cilalama	107
Şekil 4.47. Elektrot dönme hızına proton indirgeme akımının bağılılığı. (a) Akım/dönme hızı/zaman ilişkisi (b) Levich eğrisi, (c) Koutecky-Levich eğrisi (elektrot dönme hızının karekökünün tersine karşı akımın tersi). PGE alümina (düz çizgi ve ■) ve kumlu zımpara-P1200 (kesikli çizgi ve □) ile cilalanmıştır. Sonuçlar pH=7' de, N atmosferinde ve sabit bir katodik potansiyelde (-0,8 V Ag/AgCl' ye karşı) elde edilmiştir.....	110
Şekil 4.48. 1000 rpm' de bir saatlik yükleme sonunda PGE yüzeyinde oluşan <i>S. oneidensis</i> MR-1 biyofilminin destek elektrolitteki kararlılığı. Dönme hızı: 0 rpm, tarama hızı: 10 mV/s.....	111
Şekil 4.49. PGE çalışma elektrodunun taze destek elektrolitte ve <i>G. metallireducens</i> (GM) aşılınmış destek elektrolitte, döndürme yapılmaksızın kaydedilen dönüşümlü voltamogramları. (a) -0,8 ve +1,4 V potansiyel aralığı, 50 mV/s tarama hızı (b) +0,2 ve -0,8 V potansiyel aralığı, 10 mV/s tarama hızı. (a)' daki voltamogramda ek grafik benzer koşullarda alınan üst üste çakıştırılmış döngüleri göstermektedir.....	113
Şekil 4.50. PGE yüzeyine adsorblanmış <i>G. metallireducens</i> ' in taze destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramları. (a) -0,8 ve +1,4 V potansiyel aralığı, $v = 50$ mV/s, $\omega = 0$ rpm, (b) +0,2 ve -0,8 V potansiyel aralığı, $v = 10$ mV/s, $\omega = 0$ rpm, (c) Proton indirgeme, $v = 3$ mV/s, $\omega = 6000$ rpm (d) +0,1 V' tan -0,8 V' $\alpha = 10$ (-), 50 (+), 100 (o) mV/s, $\omega = 0$ rpm (e) +0,1 V' tan -1,2 V' $\alpha = 10$ (-), 50 (+), 100 (o) mV/s, $\omega = 0$ rpm.....	115

Şekil 4.51. Elektrot dönme hızına proton indirgeme akımının bağılılığı. (a) Akım/dönme hızı/zaman ilişkisi, (b) Levich eğrisi, (c) Koutecky-Levich eğrisi (elektrot dönme hızının karekökünün tersine karşı akımın tersi)	116
Şekil 4.52. 1000 rpm’ de bir saatlik yükleme sonunda PGE yüzeyinde oluşan <i>G. metallireducens</i> biyofilminin destek elektrolitteki kararlılığı. Dönme hızı: 0 rpm, tarama hızı: 10 mV/s	117
Şekil 4.53. (A) PGE elektrotta tekrarlı potansiyel taraması (+0,2 ve -0,8V) ile <i>S. oneidensis</i> MR-1’ in adsorpsiyonu. (B) Adsorblanan filmin taze tamponundaki voltamogramı (kırmızı çizgi). $v=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi, $\omega=0 \text{ rpm}$	119
Şekil 4.54. PGE elektrotta adsorblanmış <i>S. oneidensis</i> MR-1’ in (A) katalitik ve (B) ana çizginin (baseline) çıkarıldığı voltamogramları. 0,1 M fosfat tamponu (pH 7), $v=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi.....	120
Şekil 4.55. PGE elektrotta <i>S. oneidensis</i> MR-1 filminin artan negatif potansiyellerdeki dönüşümlü voltamogramları. 0,1 M fosfat tamponu (pH 7), $v=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi, $\omega=0 \text{ rpm}$	121
Şekil 4.56. PGE elektroda adsorblanmış <i>S. oneidensis</i> MR-1 filminin farklı tarama hızlarında, N_2 atmosferinde pH 7 fosfat tamponunda (0,1 M) kaydedilen voltamogramları. (A) 50, 100, 200 ve 500 mVs^{-1} ; (B) 10, 35 ve 50 mVs^{-1}	121
Şekil 4.57. PGE/ <i>S. oneidensis</i> MR-1 elektrot için N_2 atmosferinde, 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7) kaydedilen voltamogramlar. $v=100 \text{ mV s}^{-1}$, $\omega=000 \text{ rpm}$	122
Şekil 4.58. PGE elektroda adsorblanmış <i>S. oneidensis</i> MR-1 filminin farklı dönme hızlarında, 50 mVs^{-1} tarama hızında, N_2 ile doymuş 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7) kaydedilen voltamogramları. [0 rpm (siyah), 200 rpm (kırmızı), 500 (mavi), 1000 (yeşil), 2000 (turuncu), 4000 (mor) rpm].....	122

Şekil 4.59. (A) PGE elektrotta tekrarlı potansiyel taraması (+0,2 ve -0,8V) ile <i>G. metallireducens</i> ' in adsorpsiyonu. (B) Adsorblanan filmin taze tamponundaki voltamogramı (kırmızı çizgi). $v=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi, $\omega = 0 \text{ rpm}$	123
Şekil 4.60. PGE elektrotta adsorblanmış <i>G. metallireducens</i> ' in (A) katalitik ve (B) ana çizginin (baseline) çıkarıldığı voltamogramları. 0,1 M fosfat tamponu (pH 7), $v=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi.....	124
Şekil 4.61. PGE elektrotta <i>G. metallireducens</i> filminin artan negatif potansiyellerdeki dönüşümlü voltamogramları. 0,1 M fosfat tamponu (pH=7), $v=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi, $\omega=0 \text{ rpm}$	125
Şekil 4.62. PGE elektroda adsorblanmış <i>G. metallireducens</i> filminin farklı tarama hızlarında, N_2 atmosferinde pH 7 fosfat tamponunda (0,1 M) kaydedilen voltamogramları. (A) 50, 100, 200 ve 500 mVs^{-1} ; (B) 10, 35 ve 50 mVs^{-1}	125
Şekil 4.63. PGE/ <i>G. metallireducens</i> elektrot için N_2 atmosferinde, 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7) kaydedilen voltamogramlar. $v=100 \text{ mVs}^{-1}$, $\omega=2000 \text{ rpm}$	126
Şekil 4.64. PGE elektroda adsorblanmış <i>G. metallireducens</i> filminin farklı dönme hızlarında, 50 mVs^{-1} tarama hızında, N_2 ile doymuş 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7) kaydedilen voltamogramları. [0 rpm (siyah), 200 rpm (kırmızı), 500 (mavi), 1000 (yeşil), 2000 (turuncu), 4000 (mor) rpm]	126
Şekil 4.65. Glukoz miktarına bağlı olarak toplam gaz hacmi ile H_2 ve CO_2 gaz hacimlerindeki değişim	127
Şekil 4.66. Glukoz miktarına bağlı olarak, glukozun H_2 gazına dönüşüm yüzdesi ve H_2 verimi.....	127
Şekil 4.67. Farklı uygulama potansiyellerinde <i>S. oneidensis</i> MR-1 saf bakterii kültürü ile yapılan elektroliz çalışmaları sonucunda zamana karşı ölçülen anot (EA), katot (EK), hücre (EH) potansiyelleri ve akım yoğunluğu-zaman grafikleri	133

Şekil 4.68. Farklı uygulama potansiyellerinde <i>G. metallireducens</i> saf bakteri kültürü ile yapılan elektroliz çalışmaları sonucunda zamana karşı ölçülen anot (EA), katot (EK), hücre (EH) potansiyelleri ve akım yoğunluğu-zaman grafikleri	135
---	-----

SİMGELER VE KISALTMALAR

AD	: Anaerobic Digester (Anaerobik Parçalayıcı)
AS	: Activated Sludge, Aktif Çamur
BEC	: Biocatalyzed Electrolysis Cell (Biyolatalizli Elektroliz Hücresi)
BEAMR	: Bioelectrochemically Assisted Microbial Reactor (Biyoelektrokimyasal Olarak Uyumlu Mikrobiyal Reaktör)
COD	: Chemical Oxygen Demand (Kimyasal Oksijen İhtiyacı)
DSMZ	: The Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen German Collection of Microorganisms and Cell Cultures
EPPG	: Edge Plane Pyrolytic Graphite (Kenar Düzlemli Pirolize Grafit)
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
MEC	: Microbial Electrolysis Cell (Mikrobiyal Elektroliz Hücresi)
MFC	: Microbial Fuel Cell (Mikrobiyal Yakıt Hücresi)
PGE	: Pyrolytic Graphite Electrode (Pirolize Grafit Elektrot)
RDE	: Rotating Disc Electrode (Döner Disk Elektrot)
sp.	: Tür
spp.	: Türler
TOC	: Total Organic Carbon (Toplam Organik Karbon)
UEK	: Uzunluk /En /Kalınlık

1. GİRİŞ

Atık suların çoğu, karmaşık reaksiyonların kısmen endotermik doğasından dolayı şimdiye kadar biyolojik hidrojen üretimi için uygun niteliğe sahip değildi. Ancak, hidrojen üretimi için bu termodinamik engelin üstesinden gelebilen yeni bir teknoloji bulunmuş ve bu elektrokimyasal teknoloji biyokatalizli elektroliz, bir başka ifade ile mikrobiyal elektroliz olarak adlandırılmıştır.

Mikrobiyal elektroliz, az bir elektrik enerjisi girişi ve elektrokimyasal olarak aktif (ekzoelektrojenik) mikroorganizmalar aracılığıyla termodinamik engeli aşabilmektedir. Bu mikroorganizmalar organik maddenin oksidasyonu için elektron alıcısı olarak bir elektrodu kullanabilmektedir ve bu, elektrodu bir biyoanoda dönüştürmektedir. Mikrobiyal elektroliz, bir güç kaynağı vasıtasıyla bu biyoanodu konvansiyonel proton indirgeyici bir katotla birleştirir. Sonuçta, organik madde elektroliz edilir ve hidrojen gazı üretilir. Bu sayede, karanlık fermantasyon gibi bilinen teknolojilere kıyasla mikrobiyal elektroliz atık sulardan hidrojen üretimini önemli ölçüde arttırabilmektedir. Ayrıca, bu yenilikçi tasarım, daha önce hidrojen üretimi için uygun olandan daha geniş bir yelpazede atık suları çalışma imkanı sağlayabilmektedir. Bu nedenle, mikrobiyal elektroliz atık sulardan biyolojik hidrojen üretimi alanında yenilikçi bir teknoloji olarak dikkate alınabilir.

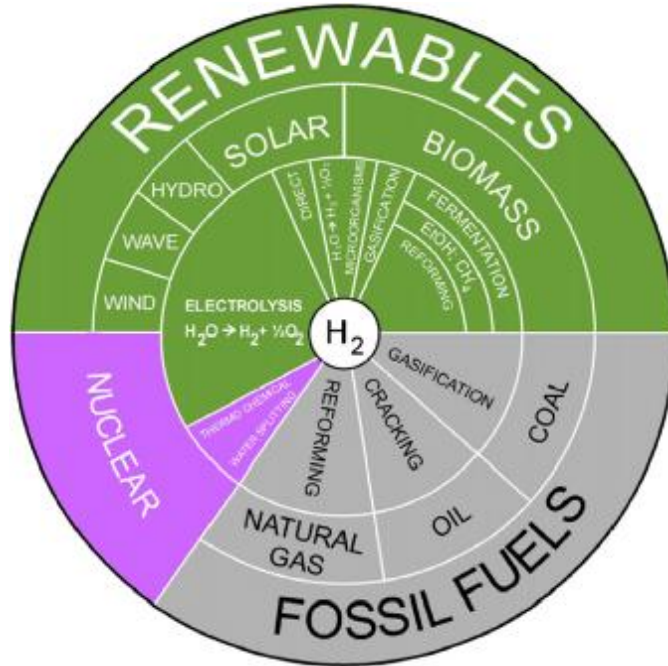
Bu çalışmanın amacı, organikçe zengin atık sulardan, yayınlanmış mevcut verilerle kıyaslandığında, daha verimli ve düşük maliyetli hidrojen gazını üretmek üzere mikrobiyal elektroliz teknolojisinin geliştirilmesidir. Ekzoelektrojenik bakteri olarak *Shewanella oneidensis* MR-1 ve *Geobacter metallireducens* mikroorganizmaları kullanılmıştır. Anot yüzeyine tutunan ekzoelektrojenik bakteri ile elektrot yüzeyi arasındaki elektron aktarım mekanizması dönüşümlü voltametre tekniği kullanılarak döner disk elektrot sistemi ile incelenmiştir. Mikrobiyal elektrolizde anot olarak yeni bir malzeme olan “ Kenar Düzlemli Pirolize Grafit: EPPG” ilk defa kullanılmıştır. Katot olarak da pahalı platin yerine EPPG tercih edilmiştir.

1.1. Biyokütleden Hidrojenin Biyoteknolojik Üretimi

1949’ dan beri dünyam enerji gereksinimi üç katına çıkmıştır. Çin ve Hindistan’ daki endüstriyel gelişimin yanı sıra, taşımacılık sektörünün de hızlı bir şekilde büyümesinden dolayı bu gereksinim hala artmaya devam etmektedir. Bugün dünya enerji tüketiminin %86’ ı ve taşıma sektöründe kullanılan enerjinin neredeyse %100’ ü fosil yakıtlar tarafından sağlanmaktadır (Dorian ve ark., 2006). İçinde bulunduğumuz yüzyılda, dünyanın ulaşılabilir petrol kaynakları git gide tükenmektedir ve bu nedenle azalan fosil yakıt üretiminin yerine geçebilen, yenilenebilir enerjiye uygun, uzun vadeli teknolojileri geliştirebilmek önem kazanmaktadır. Bunun yanı sıra, fosil yakıtlar atmosferdeki CO₂ konsantrasyonu üzerinde önemli bir etki oluşturmaktadır. CO₂’ in bu şekilde kontrolsüz salınımı çevre kirliliğine, küresel ısınma ile birlikte iklim değişikliklerine ve bunu takiben doğal dengenin bozulmasına neden olmaktadır.

Son zamanlarda, dünya çapında yenilenebilir enerji kaynaklarından elde edilebilen hidrojen üretimi ve kullanımına doğru yönelim artmaktadır. Hidrojen fosil yakıtlar, su ve biyokütleden üretilmektedir. En fazla hidrojen üretimi, doğal gazdan buharın reformlanması ile sağlanmaktadır (Turner, 2004). Ancak, hidrojen üretim teknolojilerini sürdürülebilir kılmak için yenilenebilir enerji kaynaklarını kullanmak gerekli olmaktadır. Bu bağlamda, en umut verici teknoloji güneş enerjisini kullanarak hidrojen ve oksijene suyun hidrolizidir (Turner, 2004). Bu teknolojilerin aksine, atık su ve biyoatıklardan biyolojik hidrojen üretimi de çok pahalı olmayan ve çok basit muhtemel bir metottur (Lyberatos ve ark., 2000).

Yenilenebilir kaynaklarla birlikte diğer potansiyel hidrojen kaynakları Şekil 1.1’ de özetlenmiştir.



Şekil 1.1. Potansiyel hidrojen kaynakları (Westermann ve ark., 2007)

Burada, önemli sorunlardan biri yenilenebilir kaynaklardan yeterli hidrojen üretimini sağlamak ve hidrojen üretim bedelini düşürmektir. Diğer problemler ise depolama, dağıtım ve hidrojenin kullanımıdır. Daha önce de belirtildiği gibi, maliyeti en uygun maliyetli olduğu için hidrojenin çoğu fosil yakıtlardan üretilmektedir (Penner, 2006). Ancak, diğer teknolojilerle birlikte yenilenebilir kaynaklardan hidrojen üretmek için pek çok yöntem vardır. Deniz suyu hidrojen kaynaklarından biridir. Deniz suyu, elektroliz ile ayrıştırılabilmektedir. Metal yüzeylerinde hidrojen ve oksijenden suyun ayrılması son zamanlardaki pek çok çalışmanın da odak noktasıdır (Filhol ve ark., 2006). Bunun için gerekli olan elektrik ise güneş, rüzgar ve jeotermal enerji gibi yenilenebilir kaynaklardan üretilmektedir (Turner, 2004). Biyokütle de hidrojen üretimi için bir kaynak olarak kullanılabilir (Das ve Veziroğlu, 2001). Zirai ve kentsel atıklar da enerji üretimi için tercih edilebilen biyokütle kaynaklarıdır. Ancak, nişasta ve şekerce zengin mısır ve şeker kamışı gibi mahsullerin dönüşümü ile karşılaştırıldığında bunun daha zor olduğu anlaşılmaktadır (Kapdan ve Kargi, 2006). Enerji kaynağı olarak atık kullanmak, hem CO₂ emisyonunu azaltmakta hem de farklı bir şekilde kullanılmamış ürünlerden yararlanma imkanı sağlamaktadır.

1.1.1. Neden Hidrojen Üretimi?

Hidrojen, yüksek spesifik yanma ısısına sahip olan (122 kJ/g), Greenhouse etkisine doğrudan katkıda bulunmayan (enerji oluşum prosesi sırasında), temiz ve yenilenebilir bir enerji taşıyıcısı gibi temel avantajlara sahiptir (Lyberatos ve ark., 2000; Belafi-Bako ve ark., 2006). Aksine, metanın enerji verimi 50,1 kJ/g iken, etanolün sadece 26,5 kJ/g'dır. Bununla beraber, hidrojen yakıt olarak doğrudan yakıt hücrelerinde kullanılabilir. Metan, metanol, etanol vs. de kullanılabilmesine rağmen, hidrojen şu anda en sık kullanılan yakıttır (Sammes ve ark., 2005). Çünkü yüksek reaktiviteye ve yüksek enerji yoğunluğuna sahiptir.

Hidrojen amonyak, alkoller ve aldehitlerin sentezini hatta petrolün hidrojenasyonunu da içeren pek çok endüstriyel uygulamada kullanılmaktadır. Aksine, metan, yakıt olarak hariç, daha az ticari öneme sahiptir (Li ve Fang, 2007).

Hidrojen pek çok doğal kaynaktan üretilbildiği için, gelecekte fiyat dalgalanmalarından bağımsız, sabit bir fiyatta ve tek kaynak olarak kullanılması umut edilmektedir.

1.2. Mikrobiyal Yakıt Hücresi

Yakıt hücre teknolojisi, 1839 yılında William Grove tarafından bir kimyasal hidrojen/oksijen yakıt hücresi olan "gaz galvanik pil"in bulunduğu zamana dayanmaktadır (Hoogers, 2003; Larminie ve Dick, 2000). 1911 yılından bu yana mikrobiyal elektrik üretimi ile ilgili kayıtlar bulunmasına rağmen, MFC son zamanlarda daha popüler hale gelmiştir (Potter, 1911). Yanma teknolojisine kıyasla, yakıt hücre teknolojisi elektrik üretimi için enerjinin ara ürün formu olarak ısıyı kullanmama avantajına sahiptir. Elektrik üretim prosesinde enerjinin ara ürün formu olarak ısı kullanıldığı zaman (örneğin fosil yakıtların yanması) proses Carnot kuramı ile sınırlandırılır. Bu kurama göre, ısının teorik maksimum dönüşüm etkinliği prosesin en yüksek mutlak sıcaklığı ($T_{yüksek}$, °K) (örneğin proses) ve en düşük mutlak sıcaklığı ($T_{düşük}$, °K) (örneğin çevre): $\eta_{ideal} = 1 - T_{düşük}/T_{yüksek}$ ile belirlenir. Yanma proseslerinde kullanılan malzemenin (örneğin fırınlar) ısı ve korozyon direnci

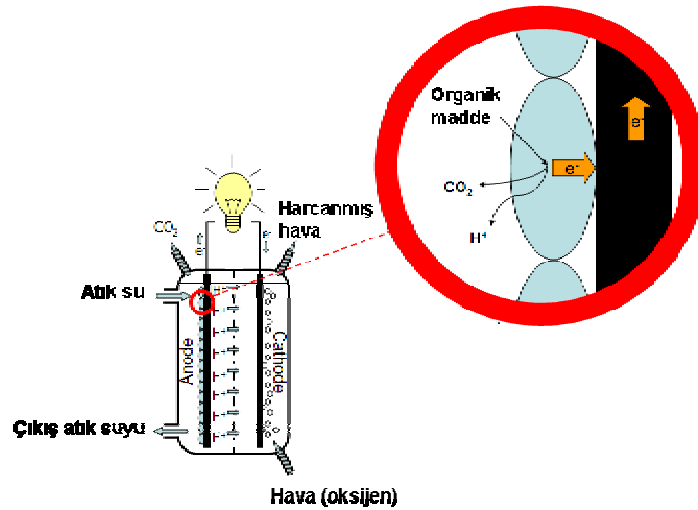
maksimum sıcaklıkla sınırlandırılır. Bu nedenle, yanma proseslerinin toplam verimi genellikle %35-45' den daha fazla olmaz. Ancak, Carnot kuramı ara bir ısı basamağı içermediği için, elektrokimyasal elektrik üretiminde uygulanmaz. Bunun için, maksimum etkinlik reaksiyonun Gibbs serbest enerjisinin entalpiye oranı ($\eta_{ideal} = \Delta G/\Delta H$) ile verilebilir. Bu, elektrokimyasal elektrik üretiminin teorik olarak etkinliğinin %100' ü şabıleceğı (örneğin reaksiyon sırasında ısı çevreden sağlanırsa) anlamını taşıır. Bu nedenle, MFC teknolojisi, geleneksel teknolojilerle (örneğin anaerobik çürüme) kıyaslandığında, teorik olarak atık sulardan elektrik üretim etkinliğini önemli ölçüde arttırabildiğı için atık sulardan elektrik üretimini araştırmada ilginç bir teknolojidir. MFC teknolojisi elektriğı tek bir proses basamağı ile üretebilme avantajı sağlar. Aksine, atık sulardan geleneksel elektrik üretimi en az üç proses basamağı içerir. Örneğın, (1) anaerobik biyolojik reaktörde biyogaz üretimi, (2) gaz temizleme (H_2S taşınımı) ve (3) bir gaz motorda biyogaz yanımı.

MFC teknolojisini geliştirmek, bir şekilde mikrobiyal metabolik dönüşüm yollarının bir elektroda elektriksel olarak bağlanması anlamına gelir. Mikrobiyal yakıt hücreleri ilk bulunduğunda bu elektriksel bağlanma çözünebilir elektron taşıyıcıların uygulaması ile gösterilmiştir. Ne yazık ki, atık sulardan geniş bir skalada elektrik üretimi için bu elektron taşıyıcıların uygulamasındaki sınırlamalar (örneğin fiyat, toksik özellik) bu tür MFC' lerin ticarileşmesini engellemiştir. Fakat, Kim ve çalışma arkadaşları (Kim ve ark., 1999; Kim ve ark., 2002) ve daha sonra diğer araştırmacılar (Bond ve ark., 2002; DeLong ve Chandler, 2002; Reimers ve ark., 2001; Tender ve ark., 2002; Bond ve Lovley, 2003) çözünebilir elektron taşıyıcılar olmadan da hücre dışı elektron transferinin olası olduğunu göstermişlerdir. Bu, 1999' dan bu yana MFC teknolojisinin yeniden ilgi odğı olmasına sebep olmuştur. Bu nedenle, çok sayıda araştırma grubu MFC teknolojisini çalışmaya başlamıştır. MFC teknolojisi henüz ticarileştirilmemesine rağmen son on yılda pek çok ilerleme kaydetmiş ve MFC teknolojisinin gelecekte atık sulardan elektrik üretim teknolojisi olarak düşünülmesi fikri önem kazanmıştır.

MFC, biyolojik anotta organik maddenin oksidasyonunu katotta bir elektron alıcının indirgenmesine bağlayan galvanik bir hücredir. Elektrik üretimini sağlamak için, bu elektron alıcının biyolojik anodunkinden daha büyük bir elektrot

potansiyelinde indirgenmesi gerekir. Atık sulardan sürdürülebilir elektrik üretimi için ideal elektron alıcısı havadaki oksijendir (Logan ve ark., 2006b; Zhao ve ark., 2006). Ancak, MFC' lerde oksijen indirgeyici katotlar hala geliştirildiği için ferrisiyanür sıklıkla elektron alıcı olarak kullanılmaktadır. Oksijen indirgeyici katotlu bir MFC' nin maksimum MFC potansiyeli (emf) teorik olarak 1,1 V' tur. Ama, MFC potansiyeli, çeşitli potansiyel kayıplardan dolayı, açık devre koşullarında 0,8 V' un ve çalışma koşullarında 0,6 V' un altındadır (Logan ve ark., 2006b). Elektrokimyasal oksijen reaksiyonları genellikle yavaş oldukları için bu potansiyel kayıplarının oksijen indirgeyici katotta olduğu varsayılır (Kinoshita, 1992).

Standart bir MFC konfigürasyonunda bir biyolojik anot bir de katodun olduğu iki bölüm bulunmaktadır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Standart bir MFC konfigürasyonunun şematik gösterimi (Rozendal, 2007)

Burada anot genellikle grafitten meydana gelir. Çünkü grafit grafit keçe, grafit kağıt, granül grafit ve grafit köpük gibi pek çok formda kullanılabilmektedir. Oksijen indirgeyen katot ise platin yüklü grafitir. Standart MFC konfigürasyonunda bir katyon değiştirici membran MFC' yi anot ve katot bölümleri olarak ikiye ayırır. Bu katyon değiştirici membran sistemdeki elektronötrallliği sağlamak için iyonların taşınımı (tercihen protonları) kolaylaştırırken elektronların taşınımına imkan vermemektedir. Bu nedenle, elektronlar katoda ulaşmak için bir elektrik devresi aracılığı ile taşınmalıdır. Şekil 1.2' de gösterilen şemaya göre, anotta atık sulardaki

çözünmüş organik bileşikler elektrokimyasal aktif mikroorganizmalar aracılığı ile yükseltgenmektedir. Bu mikroorganizmalar çözünmüş organik bileşiklerin oksidasyonundan sağlanan elektronları hücre dışı elektron transferi mekanizması vasıtasıyla anoda taşır. Daha sonra, elektronlar bir elektriksel devre ile katoda taşınır. Elektronötrallik sistemde katyon değiştirici membran vasıtasıyla anottan katoda katyon taşınımı (ideal olarak protonlar) ile sağlanır. Burada tüm reaksiyonun Gibbs serbest enerjisi negatiftir. Bu, elektrik enerjisinin elektrik devresinden sağlanabildiği anlamına gelmektedir.

Son yıllarda MFC araştırmalarının çoğunda iki konuya odaklanılmıştır. Biri hem materyal kullanımı hem de işleyişe göre MFC sisteminin fiyatını azaltmak, diğeri MFC sisteminin güç çıkışı geliştirmektir. Materyal fiyatını azaltmak için, katotta oksijenin indirgenmesi için katalizör olarak platin yerine alternatif katot materyallerinin bulunması amaçlanmıştır (Cheng ve ark., 2006; Ter Heijne ve ark., 2007; Ter Heijne ve ark., 2006; Zhao ve ark., 2005; Bergel ve ark., 2005). Bazı araştırmacılar katyon değiştirici membran bedelinden tasarruf etmek için MFC' nin membransız çalışma olasılığına bakmışlardır (Jang ve ark., 2004; Liu ve ark., 2004). Tek bölümlü MFC' de katot doğrudan havaya maruz bırakılmıştır. Bu sayede herhangi bir havalandırma için elektrik enerjisine ihtiyaç duyulmamıştır. Güç çıkışı iyileştirmek için ise sistemin ohmik direncini azaltmaya (örneğin elektrot uzaklığını azaltmak) ve daha iyi bir anot ve katot materyali seçmeye yönelik araştırmalar yapılmıştır.

1.3. Yüksek Verimle Hidrojen Gazı Üretimi: Mikrobiyal Elektroliz Hücreleri

Elektrokimyasal olarak aktif bakterilerin kullanımı ile organik maddeler parçalanarak yüksek verimde hidrojen gazı üretilir. Bu uygulama için mikrobiyal elektroliz hücreleri (MEC) tasarlanmıştır. Mikrobiyal elektroliz, sadece son birkaç yıldır ortaya çıkan araştırma konularından biridir. Ancak bu alandaki hızlı gelişmeler %100' e yaklaşan hidrojen verimi ile sonuçlanmaktadır.

Hidrojen gazı üretmede kullanılan MEC' ler, elektrik üreten mikrobiyal yakıt hücreleri (MFC) ile benzer dizayndadır. Ancak yapımında önemli farklılıklar vardır

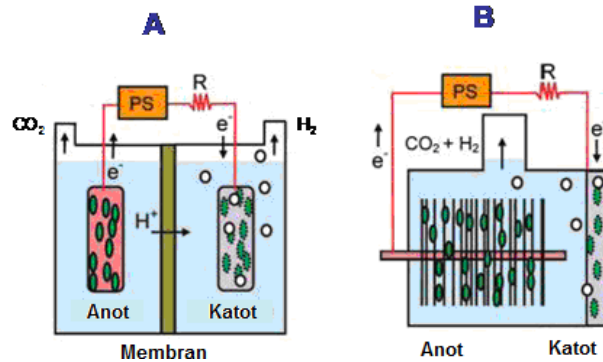
ve analitik metotlar performansını değerlendirmede kullanılmaktadır (Logan ve ark., 2008).

Bugün dünyada üretilen hidrojen gazının çoğu fosil yakıtlardan elde edilmektedir ve bu iklim değişikliklerine neden olan karbondioksitin kontrolsüz salınımı ile sonuçlanmaktadır. Yenilenebilir hidrojen üretimi rüzgar, güneş veya biyokütle gibi yenilenebilir kaynaklardan kazanılan enerji kullanılarak suyun elektrolizi ile olasıdır. Ama enerji ihtiyacı yüksektir ($5.6 \text{ kWsa/m}^3\text{H}_2$) ve elektrolizi gerçekleştirmek için enerji etkinliği sadece %56-73' tür (Ivy, 2004). Alg ve fotosentetik bakteriler, sudan ototropik olarak hidrojen gazı üretmek için güneş ışığını kullanabilirler. Fakat etkinlikleri düşüktür ve proses için büyük alanlara gereksinim olduğundan, pek çok uzman prosesin hiçbir zaman uygun olmadığına inanmaktadır (Hallenbeck ve Benemann, 2002).

Glukoz gibi karbohidratlar ve nişasta ve selüloz gibi polisakkaritler $2,5\text{-}4,3 \text{ m}^3/\text{m}^3\text{gün}$ ortalama hızlarda bakteriler tarafından hidrojen gazı oluşturmak üzere fermente edilebilmektedir. Ama hidrojen verimi sitokiyometrik olarak $12 \text{ mol H}_2/\text{mol}$ heksos olmasına rağmen, genellikle $0,57\text{-}2,2 \text{ mol H}_2/\text{mol}$ heksos aralığında değişir ve teorik en yüksek limiti $4 \text{ mol H}_2/\text{mol}$ heksos' dur (Hawkes ve ark., 2007). Fermantasyon sonucu çeşitli çözünebilir organik yan ürünler oluşur. Bu yan ürünlerin hidrojenin kullanışlı miktarlarına dönüşümü endotermik reaksiyonları gerektirir ve bu nedenle, bu moleküller dışarıdan bir enerji girişi olmadan hidrojene dönüştürülemeyebilirler. Bakteriler tarafından kullanılan metotlardan biri de güneş ışığına bağlıdır (Hallenbeck ve Benemann, 2002). Uçucu asitlerden fototropik hidrojen üretimi yaygın olarak araştırmacılar tarafından incelenmiştir (Fang ve ark., 2005). Ancak fototropik hidrojen üretiminin dezavantajları alg ve fotosentetik bakterilerde gözlenenlerle benzerdir. Düşük güneş enerjisi etkinliği ve geniş yüzey alanlarının gerekliliğinden dolayı yüksek fiyatlar bu dezavantajlar arasındadır.

Birkaç yıl önce birbirinden bağımsız olarak çalışan iki farklı araştırma grubu, bakterilerin mikrobiyal yakıt hücrelerine dayanan (MFC) bir elektroliz prosesinde hidrojen gazı oluşturmak için kullanıldığını bulmuşlardır (Liu ve ark., 2005b; Rozendal ve ark., 2006b; Rozendal ve Buisman, 2005). MFC' de, bakteri organik maddeyi yükseltger ve çözelti içinde karbondioksit ve protonlar serbest kalır.

Elektronlar ise elektroda (anot) gönderilir (Logan ve ark., 2006a). Elektronlar, elektriksel bir devre ile anottan oksijenin indirgendiği karşı elektroda (katot) doğru akar. Katotta oksijen bulunduğu zaman akım meydana gelir ama oksijensiz ortamda akım oluşumu kendiliğinden olmaz. Ancak anot ve katot arasında az bir potansiyel uygulanarak (pratikte $>0,2$ V) akım oluşumu sağlanır ve hidrojen gazı protonların indirgenmesi ile katotta oluşur (Şekil 1.3). Bu şemada bakteriler (yeşil renkli ovaler) anotta geliştirilmekte ve elektron vermektedir. Katotta ise biyokatalizör olarak işlev görmektedir (noktalı, yeşil renkli ovaler). İki bölmeli MEC' de CQ anottan H_2 ise katottan sağlanmaktadır. Tek odalı konfigürasyonda her iki gaz da aynı bölümden toplanmaktadır. Hücreye potansiyel uygulamak için bir güç kaynağı (power supply, PS), akımı tespit etmek için de bir dış direnç (Resistance, R) kullanılmıştır.



Şekil 1.3. (A) İki bölmeli, membranlı ve (B) tek bölmeli, membransız MEC sistemlerinin şematik gösterimi (Logan ve ark., 2008).

Bu proses için farklı terminolojiler, mikroorganizmalar ve reaktörler kullanılmıştır. Burada, kullanılan proses "elektrohidrojen oluşumu" (elektrohidrojeniz) veya "mikrobiyal elektroliz" olarak adlandırılmaktadır. Bu proseste kullanılan bakteriler "ekzoelektrojen" olarak isimlendirilir ve bu bakteriler proseste hidrojen yerine elektronları serbest bırakır. Kullanılan reaktör de "mikrobiyal elektroliz hücresi" (MEC) şeklinde ifade edilir (Rozendal ve ark., 2008b, Call ve Logan, 2008; Cheng ve Logan, 2007b). MEC, bir biyokatalizli elektroliz hücresi (BEC) veya biyoelektrokimyasal olarak uyumlu mikrobiyal reaktör (BEAMR) olarak da temsil edilir (Liu ve ark., 2005b; Rozendal ve ark., 2006b; Rozendal, 2007; Logan ve Grot, 2005; Ditzig ve ark., 2007; Logan, 2008).

MFC elektrik üreten bir **yakıt hücresi** iken, MEC hidrojen üreten bir **elektroliz** reaktörüdür (Logan, 2008). MEC yeni bir teknolojidir ve bu nedenle, pek çok araştırmacı bu reaktörlerin yapımına ve performansını etkileyen faktörlere yabancı olabilir. MEC' ler, MFC' lerle pek çok özelliği paylaşır. Çünkü anotların dizaynı ve elektrojenik reaksiyonların oluşumu benzerdir. MFC' ye kıyasla, MEC' de katotta hidrojen oluşumu dizayn ve işlem farklılıkları getirir. Örneğin, MEC' lerde havaya ihtiyaç yoktur. Bu da katot dizaynını kolaylaştırır. Ancak ürün elektrikten çok bir gaz olduğu için, yapısı bu gazı toplamak için modifiye edilmelidir. MFC' de, anottaki oksijen difüzyonu, akım olarak (Coulomb etkinliği, CE) substrattan elektronların geri kazanımını oldukça azaltırken, MEC' deki oksijen eksikliği ortalamanın üzerinde daha büyük elektron geri kazanımı ile sonuçlanır (Logan ve ark., 2006a; Logan, 2008). Oksijensiz MEC, anaerob bakterilerin gelişimine daha iyi imkan verir. Fakat oksijen varlığında mikroorganizmaların gelişimi azalırken, hidrojen geri kazanımını azaltabilen metan oluşumu olasılığını arttıracaktır (Rozendal ve ark., 2006b; Call ve Logan, 2008).

1.4. Mikrobiyal Elektroliz Hücresi Sistemleri

1.4.1. Elektrokimyasal Aktif Mikroorganizmalar

MEC' lerde mikrobiyal toplulukların bileşimi hakkında bilinenler azdır. Anotta bulunan ve en çok çalışılan mikrobiyal topluluklar *Pseudomonas* spp., *Shewanella* spp.' dir (Liu ve ark., 2008). MEC' de, mikroorganizmalar katoda bağlandığı gözlemlenmiştir, ama onların MEC' in fonksiyonunu ne ölçüde etkiledikleri açık değildir. Grafit keçe katot üzerinde zenginleştirilmiş mikroorganizmalar, bir Pt-katalizörlü katodunkine benzer hızlarda hidrojen oluşumunu sağlamış ama bu katodun mikrobiyal topluluğu açıklanamamıştır (Rozendal ve ark., 2008a). Hem MFC hem de MEC' lerde ekzoelektrojenik bakterilerin gelişimi artmaktadır. Ama MFC' lerde oksijen varlığı anaerobik mikroorganizmaların gelişimini engeller. MEC' ler çoğunlukla anaerobik koşullar altında çalışır ve bu, ekzoelektrojenik *Geobacter* spp. gibi anaerobik bakterilerin

gelişimini destekler. Bu nedenle, MEC' lerdeki mikrobiyal topluluklar MFC' lerden farklı olabilir.

Atık sular da yüksek derişimde bakterilere sahiptir ve pek çok çalışmada kullanılır (Liu ve ark., 2005b; Rozendal ve ark., 2006b; Ditzig ve ark., 2007). MEC' lerde bakteriyel bir toplulğu zenginleştirmek için yapılan yaygın bir uygulama, önce MFC çalışmak ve sonra bu bakterileri MEC' in anoduna transfer etmektir (Liu ve ark., 2005b; Call ve Logan, 2008). Bu prosedür anot üzerinde biyofilm oluşumunu sağlar.

MEC sistemlerinde ortaya çıkan problemlerden biri metan oluşumudur (Call ve Logan, 2008; Tartakovsky ve ark., 2008a). Yüksek konsantrasyonda hidrojen gazı, hidrojen gazı oluşumunu azaltan ve metan oluşumu ile gazın kirlenmesine neden olan metanojenlerin gelişmesine neden olur. Rozendal ve ark. (2008a), bir biyokatotta bikarbonat tamponu kullanıldığında karbon kaynağı olarak tamponu kullanan hidrojenotropik metanojenlerin gelişiminin arttığını bulmuşlardır. Bu tampon uzaklaştırıldığında katot üzerinde mikroplar tarafından hidrojenin metana dönüşümü büyük olasılıkla azaltılmıştır. Oksijene maruz bırakma, metanojenlerin oluşumunu engellemede kullanılan diğer bir metottur. Call ve Logan (2008), 0,6 V uygulama potansiyelinde membransız bir MEC' de, kesikli deneyler arasında elektrotları havaya maruz bırakmanın üretilen gazdaki metan derişimini <%1' in altına düşürdüğünü ve akım yoğunluğunu etkilemediğini göstermişlerdir. Düşük uygulama potansiyelinde (0,2 V gibi) uzun süreli deneyler de metan üretimini arttırmıştır (metan derişimi >%28). MEC' lerde metanojenlerin gelişimini kontrol etmek için farklı teknikler araştırılmaktadır. Bu tekniklerden bazıları pH' y düşürmek, atık sular gibi karışık kültürlerle ısı işlem uygulamak ve kısa periyotlarla çalışmaktır (Hawkes ve ark., 2007; Oh ve ark., 2003). Alternatif olarak, MEC, hem hidrojen hem de metanca zengin bir gaz ürünü elde etmek için, anaerobik bir parçalayıcı ile birleştirilebilir (Clauwaert ve ark., 2008).

1.4.1.1. *Shewanella oneidensis* MR-1

Shewanella oneidensis MR-1 gram-negatif, fakültatif ve genellikle oksijenli ve oksijensiz bölgeler arasındaki sedimentlerde ve toprakta bulunan, anaerobik, γ -Proteobacteria' dır (Brettar ve ark., 2001; Perry ve ark., 1993; Venter ve ark., 2004; Xu ve ark., 2005). Gelişim sıcaklığı yaklaşık 30°C' dir (Abboud ve ark., 2005). Bu mikroorganizma laktat, asetat, pirüvat, serin ve diğer amino asitler gibi pek çok substrattan yararlanabilir ve oksijenin yanı sıra Fe(III), Mn(IV), kükürt, nitrat ve fumarat gibi pek çok elektron alıcısını indirgeyebilir (Scott ve Nealson, 1994). *S. oneidensis* MR-1 elektron verici olarak L-laktat ile katı elektron alıcılarda (metal oksitler ve elektrotlar gibi) doğrudan ve dolaylı elektron transferi yapabildiği için biyoelektrokimyasal sistemlerin anot bölümünde elektron transfer prosesini çalışmada model bir mikroorganizmadır (Rosenbaum ve ark., 2009). Doğrudan elektron transferi sırasında dış membran sitokrom c proteinleri mikropların solunumunu (örneğin elektrotlar ile) kolaylaştırır (Kim ve ark., 1999). *S. oneidensis* elektron araçları olarak (ribo)flavinlerin yardımı ile dolaylı olarak da elektronları transfer edebilir (Marsili ve ark., 2008; Von Canstein ve ark., 2008).

1.4.1.2. *Geobacter metallireducens*

Geobacter metallireducens çubuk şeklinde, gram-negatif, anaerobik bir bakteridir. Bu organizma demir, mangan, uranyum ve diğer metallerin indirgenmesi ile enerji kazanımı sağlayabilmiştir. Elektron alıcısı olarak demir oksitler kullanarak organik bileşikler karbondioksit döndürebilen ilk organizma olarak bulunmuştur (Lovley ve Phillips, 1988). Aynı zamanda, yine elektron alıcı olarak demiri kullanarak kısa zincirli yağ asitlerini, alkoller ve toluen ve fenol gibi monoaromatik bileşikler oksitleyebilir (Lovley ve ark., 1993). *G. metallireducens*, karbon ve besin döngüsünde ve biyoremediasyonda çözünabilen zararlı atıkların metabolizmasını çözünürlüğü düşük, zararsız forma dönüştürmede de rol oynar. Son zamanlarda *Geobacter* türleri atık organik maddelerden elektrik üretmek için kullanılmaktadır (Bond ve ark., 2002; Holmes ve ark., 2004b; Lovley ve ark., 2000). *Geobacter*

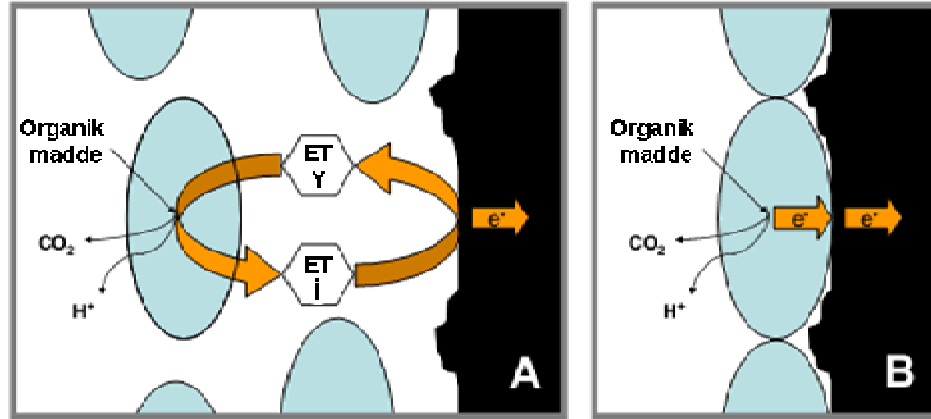
türleri, Fe(III) ve Mn(IV) oksitler (Lovley ve Phillips, 1988; Lovley ve ark.,1987), hümitik maddeler (Lovley ve ark., 1996), U(VI) (Lovley ve ark., 1991) ve grafit elektrotlar (Bond ve ark., 2002) gibi hücre dışı elektron alıcıların indirgenmesi ile anaerobik olarak asetatı karbondioksite oksitleyebilme yeteneğinden dolayı çevresel olarak önemlidirler.

1.4.2. Elektrokimyasal Aktif Mikroorganizmalar Tarafından Hücre Dışı Elektron Transferi

Mikrobiyal elektrolizin prensibini anlamak için, elektrokimyasal olarak aktif mikroorganizmalar tarafından hücre dışı elektron transferini anlamak gereklidir.

Hücre dışı elektron transferi, elektron vericiler fiziksel olarak elektron alıcılardan ayrıldığı zaman anaerobik mikrobiyal topluluklarda mikrobiyal metabolizmayı sürdürmek için önemli bir mekanizmadır (Stams ve ark., 2006). Bu durum yaygın olarak demir ve manganın oksitlenmiş formunu çok miktarda bulunduran çevrelerde meydana gelir. Ancak çok sayıda doğal çevrede (örneğin nötral pH koşullarında) çözünürlükleri oldukça zayıftır. Mikroorganizmalar, bu az çözünür elektron alıcılardan yararlanmak için, elektronları hücre dışı elektron alıcılara doğrudan yönlendirebildikleri birkaç mekanizma geliştirmişlerdir (Lovley ve ark., 2004). Bu, iki ana kategoriye bölünebilir: (i) çözünebilir elektron taşıyıcılar (redoks aracıları) ile hücre dışı elektron transferi, (ii) çözünemeyen elektron alıcılar ile doğrudan iletimle hücre dışı elektron transferi (aracısız elektron transferi) (Şekil 1.4). Bu kategorilerden ilkinde, örneğin çözünebilir bir elektron taşıyıcı ile hücre dışı elektron transferinde, mikroorganizmalar ve az çözünür elektron vericiler arasındaki elektron taşıyıcıların redoks döngüsünü kapsamaktadır. Bu döngü sırasında elektron taşıyıcılar sürekli olarak mikroorganizmalar tarafından indirgenir ve az çözünür elektron alıcılar tarafından yeniden yükseltgenir. Bu prosesteki elektron taşıyıcılar hümitik asit gibi redoks aktif organik bileşikler olabilir (Straub ve ark., 2001; Coates ve ark., 1998; Hernandez ve Newman, 2001). Ancak kinonlar gibi mikroorganizmalar tarafından kendi kendilerine de oluşturulabilirler (Rabaey ve ark., 2004; Nevin ve Lovley, 2002; Newman ve Kolter, 2000; Rabaey ve ark., 2005a).

Ayrıca, Fe(III) ve Mn(IV) solunumlu mikrobiyal topluluklarda bu hücre dışı elektron transfer mekanizması tiyonin, demir şelatlar ve nötral kırmızı gibi yapay elektron taşıyıcılar eklenerek de geliştirilebilir (Tanaka ve ark., 1983a; Lovley, 2006; Tanaka ve ark., 1983b; Park ve Zeikus, 2000).



Şekil 1.4. Çözünemeyen elektron alıcılarda hücre dışı elektron transfer mekanizması: (A) çözünebilir elektron taşıyıcılar (ET) ile hücre dışı elektron transferi ve (B) çözünemeyen elektron alıcılar ile doğrudan iletimle hücre dışı elektron transferi (aracısız elektron transferi). Y: yükseltgenme; İ: İndirgenme (Rozendal, 2007)

Hücre dışı elektron transfer mekanizmasına göre solunum yapan mikrobiyal topluluklar, elektron taşıyıcılar elektrotlarla etkileşime girdiği zaman da elektrokimyasal olarak aktiftir. Az çözünen Fe(III) ve Mn(IV) minerallerinin mikrobiyal metabolizma ile doğrudan elektrokimyasal ilişkisinin elektrot yüzeyi ile de mümkün olabileceği varsayılmıştır. Bu varsayım test edilmiş ve Kim ve arkadaşları tarafından kontrollü bir potansiyelde, elektrot varlığında, laktat üzerinde geliştirilen *S. oneidensis* ile doğrulanmıştır (Kim ve ark., 1999). Bu çalışmada, *S. oneidensis* hücrelerinin gerçekten elektrokimyasal olarak aktif oldukları ve bir elektron alıcı olarak elektrodu kullanabildikleri doğrulanmıştır. *Geobacteraceae* ailesinin üyeleri (*Geobacter sulfurreducens*, *Geobacter metallireducens*, *Desulfuromonas acetooxidans*) ile yapılan MFC ve kontrollü potansiyel deneylerinde de bu bakterilerin doğrudan elektron transferini yapabildiklerini doğrulanmıştır (Bond ve ark., 2002; Bond ve Lovley, 2003).

Şuana kadar, doğrudan iletim mekanizması ile elektrokimyasal olarak aktif pek çok mikroorganizma türü tespit edilmiştir (Lee ve ark., 2003; Park ve ark., 2001; Pham ve ark., 2003; Logan ve Regan, 2006; Holmes ve ark., 2004a; Chaudhuri ve Lovley, 2003). Şu günlerde, doğrudan iletim ile hücre dışı elektron transferini yapabilen elektrokimyasal aktif mikroorganizmalar anodofilik mikroorganizmalar (Angenent ve ark., 2004; Rabaey ve ark., 2003), elektrojenler (Lovley, 2006) veya ekzoelektrojenler (Logan ve Regan, 2006) olarak ifade edilmektedir. Bu elektrokimyasal aktif mikroorganizmalar, elektrokimyasal reaksiyonların ilerlemesine imkan sağlayan elektrodun katalizörüdür. Bu olay, biyolojik olmayan elektrokimyasal sistemlerdeki değerli metal katalizörlerdeki (platin gibi) gibidir. Ancak değerli metal katalizörlerin aksine, elektrokimyasal aktif mikroorganizmalar kendi kendilerini yenileyebilirler. Bu da atık sular gibi zehirli çevrelerde önemli bir avantajdır (Rozendal, 2007).

1.4.3. Mikrobiyal Elektrolizin Termodinamiği ve Elektrokimyasal Sınırlamalar

Mikrobiyal elektroliz sistemleri normal elektrokimyasal sistemlere nazaran çok daha karmaşıktır. Elektronların üretimi ve anoda transferinin kapsamı sistem performansını oldukça fazla etkiler (Wrana ve ark., 2010). Bunların yanı sıra aşırı gerilimler ve ohmik dirençlerin de sistemin toplam etkinliği üzerinde etkileri bulunmaktadır.

Mikrobiyal elektroliz ile hidrojen oluşum reaksiyonu kendiliğinden gerçekleşen bir reaksiyon değildir. Bu sistemde, elektrotlarda gerçekleşen reaksiyonların ve sistem dahilindeki potansiyel kayıplarının üstesinden gelebilmek için sisteme ek bir enerji uygulanması gerekmektedir. Anot ve katot arasındaki potansiyel fark ölçülerek, elektromotor kuvveti (electromotive force, emf) olarak ifade edilen toplam pil potansiyelini hesaplamak mümkündür (Eşitlik 1.1).

$$E_{emf} = E_K - E_A \quad (1.1)$$

Mikrobiyal elektroliz sistemlerindeki üst limitler elektrotlardaki yarı reaksiyonlar tarafından belirlenir. Bu değerler, anot ve katottaki indirgenme denge potansiyellerini ifade eden Nernst denklemi ile hesaplanabilir (Eşitlik 1.2).

$$E_{emf} = E^0_{emf} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[red]^p}{[oks]^r} \quad (1.2)$$

Bu eşitlikte R, ideal gaz sabiti (8,31447 J mol⁻¹ K⁻¹); T, mutlak sıcaklık (K); n (mol), reaksiyon süresince transfer edilen elektron sayısı; F, Faraday sabiti (96485 C mol⁻¹); [red] ve [oks] sırasıyla indirgenmiş ve yükseltgenmiş türlerin derişimidir. Standart indirgenme potansiyeli (E^0_{emf} , V), standart koşullar altında (298,15 K, 1 bar ve tüm türler için 1 M derişim) 0,000V olan normal hidrojen elektrot (NHE) referans alınarak kullanılır. Fakat mikrobiyal elektroliz sistemi biyolojik bir sistem olduğundan, NHE potansiyelinin pH 7' ye göre düzeltilmesi gerekmektedir. Düzeltilmiş NHE potansiyeli aşağıdaki gibi hesaplanır:



$$E^0_{(H_2/H^+)} = E^0 - \frac{RT}{2F} \ln \frac{pH_2}{[H^+]^2} \quad (1.4)$$

$$E^0_{(H_2/H^+)} = 0,0 + 0,0129 \ln \frac{1}{[10^{-7}]^2} = -0,414V \quad (1.5)$$

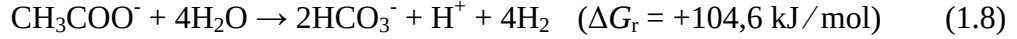
Bir reaksiyonun kendiliğinden gerçekleşebilmesi için reaksiyonun Gibbs serbest enerjisinin (ΔG_r) negatif olması gerekmektedir. Bir elektrokimyasal reaksiyona ait elektromotor kuvveti reaksiyonun Gibbs serbest enerjisi ile aşağıdaki gibi ilişkilendirilir (Eşitlik 1.6):

$$-\Delta G_r = QE_{emf} = nFE_{emf} \quad (1.6)$$

Burada Q , reaksiyonda transfer edilen yükü; E_{emf} (V), spesifik koşullarda reaksiyonun emf' sini ifade eder. Eşitlik 1.6 yeniden düzenlenebilir:

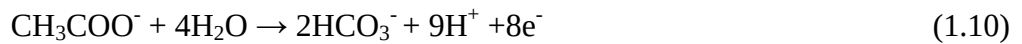
$$E_{emf} = -\frac{\Delta G_r}{nF} \quad (1.7)$$

Pek çok organik maddenin hidrojene dönüşüm reaksiyonuna ait ΔG_r değeri pozitifdir. Örneğin standart biyolojik koşullarda ($T=25^\circ\text{C}$; $P=1\text{bar}$; $\text{pH}=7$) asetat oksidasyonuna ait Gibbs serbest enerjisi $+104,6 \text{ kJ/mol}$ ' dür. Buna göre, asetatın hidrojene dönüşüm reaksiyonu kendiliğinden gerçekleşen bir reaksiyon değildir. Bu reaksiyona ait ΔG_r değerinden faydalanılarak asetatın substrat olarak kullanıldığı bir elektroliz sisteminde standart biyolojik koşullarda asetattan hidrojen üretimi için gerekli olan minimum denge potansiyeli aşağıdaki gibi hesaplanabilir. Asetatın hidrojene dönüşümüne ait reaksiyon aşağıdaki gibidir (Eşitlik 1.8).



$$E_{denge} = -\frac{\Delta G_r}{nF} = -\frac{104,6 \times 10^3}{8 \times 96485} = -0,14\text{V} \quad (1.9)$$

Sonucun negatif oluşu reaksiyonun kendiliğinden gerçekleşmeyeceğini, gerçekleşebilmesi için sisteme ek bir potansiyel uygulanması gerektiğini göstermektedir. Bu reaksiyona ait E_{denge} ifadesi elektrokimyasal sistemde anot ve katotta gerçekleşecek olan yarı reaksiyonların teorik denge potansiyelleri dikkate alınarak da yapılabilir. Örneğin, asetatın mikrobiyal elektroliz sisteminde anotta bakteriler tarafından oksitlenmesine ait reaksiyon aşağıdaki gibidir:



Bu reaksiyon göz önünde bulundurularak asetatın oksidasyonua ait anot potansiyeli aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$E_A = E^{\circ}_A - \frac{RT}{8F} \ln \left(\frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{HCO}_3^-]^2 [\text{H}^+]^9} \right) \quad (1.11)$$

E°_A değerinin 0,187 V olduğu bu eşitlikte standart biyolojik koşullarda anot potansiyeli -0,279 V olarak hesaplanır. Söz konusu elektrokimyasal sistemde katotta gerçekleşen reaksiyon ise Eşitlik 1.3' teki gibidir. Bu reaksiyon için hesaplanan katot potansiyeli ise Eşitlik 1.4 ve 1.5' te gösterilmiştir. Buna göre hesaplanan denge potansiyeli aşağıdaki gibidir:

$$E_{denge} = E_K - E_A = (-0,414\text{V}) - (-0,279\text{V}) = -0,14\text{V} \quad (1.12)$$

Bu hesaplamalara göre, asetatın substrat olarak kullanıldığı bir mikrobiyal elektroliz sisteminde hücreye uygulanması gereken minimum potansiyel -0,14V olarak belirlenmiştir. Fakat mikrobiyal elektroliz sisteminin oldukça kompleks bir sistem olması, sistemde uygulanması gereken potansiyelin pratikte teorik potansiyelden daha yüksek olmasını gerektirmektedir.

1.4.4. Mikrobiyal Elektroliz Sisteminde Enerji Kayıpları

Mikrobiyal elektroliz sistemleri oldukça karmaşık sistemler olduğundan pratikte sisteme uygulanması gereken potansiyel anot ve katottaki aşırı potansiyeller ve ohmik kayıplar nedeni ile daha fazladır. Mikrobiyal elektroliz sistemleri için gereken gerçek enerji ihtiyacı aşağıdaki ifade ile değerlendirilir:

$$E_{hücre} = E_{denge} - \left(|\sum \eta_a| + |\sum \eta_k| + IR_{\Omega} \right) \quad (1.13)$$

$|\sum \eta_a|$ ve $|\sum \eta_k|$ anot ve katottaki toplam aşırı potansiyelleri, IR_{Ω} ise sistem içerisindeki toplam ohmik kayıpları ifade etmektedir.

1.4.4.1. Ohmik Kayıplar

Bir elektrokimyasal pil sisteminde elektrik akımının iletimi elektronik veya iyonik olarak gerçekleşmektedir (Bagotsky, 2005). Bir mikrobiyal elektroliz sistemindeki ohmik kayıplar ise elektrotlar ve dış elektrik devresi arasındaki elektron akışına karşı gösterilen direnç olarak tanımlanır (Logan ve ark., 2006). Ohm kanununa göre, ohmik kayıplar akımdan bağımsızdır. Bu durumda bir mikrobiyal elektroliz sistemindeki ohmik kayıpları minimize etmek için elektrot yüzeyindeki boşlukları azaltarak ve direnci düşük bir elektrot materyali kullanarak mikrobiyal elektroliz sisteminin performansını arttırmak mümkün olabilir.

1.4.4.2. Elektrot Aşırı Gerilimleri

Bir elektrokimyasal pile uygulanması gereken minimum hücre potansiyeli, sonsuz direnç ve sıfır akımın olduğu açık hücre koşullarında elde edilir. Devreden geçen akım, uygulanması gereken bu minimum potansiyeli denge değerinden uzaklaştıran bir aşırı gerilim oluşumuna sebep olur. Elektrokimyasal sistemdeki herhangi bir elektrodun polarizasyonu akım yoğunluğu ve gerçekleşen reaksiyona bağlıdır. Fakat diğer elektrodun durumuna bağlı değildir. Bu nedenle elektroliz sistemlerinde çalışılacak olan elektrotlar değerlendirilirken kendi başlarına değerlendirilmelidirler. Mikrobiyal elektroliz sistemlerindeki aşırı potansiyeller aktivasyon kayıpları, yük kayıpları ve konsantrasyon kayıpları olmak üzere üç ana başlık altında incelenir (Logan ve ark., 2006).

Bir redoks reaksiyonunda aktivasyon enerjisini aşabilmek için ekstra bir enerji uygulanması gerekmektedir. Elektrot yüzeyinde reaksiyona giren bir maddeden elektron alışverişi gerçekleşirken aktivasyon kayıpları meydana gelmektedir. Anotta gerçekleşen reaksiyonlar için aktivasyon aşırı potansiyelleri çoğunlukla mikroorganizma ve elektrot arasında meydana gelen elektron transfer mekanizmasından kaynaklanır. Tüm bu durumlar göz önünde bulundurulduğunda, mikrobiyal elektroliz hücresinde çalışılacak olan elektrotların yüzey alanının geniş tutulması gibi yöntemlerle modifiye edilerek elektrotların aşırı gerilimlerinin

azaltılması gerekmektedir (Logan ve ark., 2006; Clauwaert ve ark., 2008; Logan, 2008).

Bakteriyel metabolik kayıpların yük kayıpları üzerinde anlamlı etkileri bulunmaktadır. Bakterilerin büyümesi için kullanılacak enerji substrat ve elektrot arasında meydana gelen potansiyel fark ile ayarlanabilir. Bu potansiyelin azaltılması hem hidrojen üretimi için gerekli olan enerjiyi hem de bakterinin bu süreçte büyümek için kazanacağı enerjiyi azaltacaktır. Mikrobiyal elektroliz sistemlerinde optimum performansı yakalamak için bakterinin enerji kullanımı ve elektrot potansiyelleri arasında bir dengenin kurulmasını gerektirmektedir.

MEC yeni bir teknolojidir ve bu nedenle, pek çok araştırmacı bu reaktörlerin yapımına ve performansını etkileyen faktörlere yabancı olabilir. Dolayısıyla, prosesin mekanizmasının anlaşılması ve ilgili teknolojinin geliştirilmesi için yapılacak çok şey vardır.

1.4.5. Materyaller

1.4.5.1. Anot

MEC' lerde anot olarak karbon örtü (Liu ve ark., 2005b), karbon kğıdı (Ditzig ve ark., 2007), grafit keçe (Rozendal ve ark., 2006b; Rozendal ve ark., 2007), granül grafit (Cheng ve Logan, 2007b; Ditzig ve ark., 2007) ve grafit fırça (Call ve Logan, 2008) kullanılmıştır. Granül grafit kullanılırken, grafit bir çubuk granül yatağına eklenmiştir. Grafit fırçada, karbon fiberlerin tutturulduğu iletken ve korozyon olmayan (titanyum veya paslanmaz çelik gibi), bükülmüş, iki metal tel anodu oluşturmuştur (Logan ve ark., 2007). Diğer materyaller, elektrot sarılı bir tele sıkıştırılmıştır (veya epoksi kullanılarak yapıştırılmıştır).

1.4.5.2. Katot

MEC' de hidrojen üretimi katotta gerçekleşir. Düz karbon elektrotlarda hidrojen oluşum reaksiyonu çok yavaştır ve hidrojen üretimini sağlamak için daha

fazla potansiyel uygulamak gerekir. Bu durumda katotta aşırı gerilim artar. Bu aşırı gerilimi azaltmak için katalizör olarak platin kullanılabilir. Platin katalizörlü elektrotlar ticari olarak bulunur. Ama kimyasal bir bağlayıcı (%5 Nafyon çözeltisi veya %2 PTFE çözeltisi) ile platin (örneğin, kütlece %10 Pt/C) karıştırılarak da laboratuarda kolaylıkla hazırlanabilir (Logan ve ark., 2008). Platin, yüksek fiyat ve madencilik/ekstraksiyon sırasında maruz kalınan negatif çevresel etkiler gibi bazı dezavantajlara sahiptir (Freguia ve ark., 2007). Ayrıca, platin atık suların yaygın bir bileşeni olan sülfür gibi kimyasallardan zehirlenebilir. Son zamanlarda, hidrojen oluşum reaksiyonlarının bakteriler tarafından katalizlenebildiği keşfedilmiştir (Rozendal ve ark., 2008a). MEC' lerde düşük bedelli ve iyi performans gösteren bir biyokatodun platin yerine kullanılabileceği araştırılmaktadır (Logan ve ark., 2008).

1.4.5.3. Membran

MEC' ler hem membranız tek bölmeli hem de membranlı iki bölmeli olarak geliştirilmiştir. Membran, katottan (hidrojenin oluşturulduğu yer) anodu (substratı parçalayabilen mikroorganizmaların olduğu yer) ayırmak için kullanılır. Bu konfigürasyon, anotta ve sıvıdaki mikroplarda hidrojen kayıplarını azaltır. Aynı zamanda, anotta üretilen karbondioksit gazı ile katotta üretilen hidrojen gazının karışmasını önler. MEC' lerin çğunda, iki bölmeli sistemde elektroda proton transferini kolaylaştırmak için katot çözelti içerisine batırılır. Proses sırasında, protonlar dışındaki diğer katyon türleri de katyon değiştirici membran aracılığı ile pozitif yük taşınımından sorumludur. Çünkü atık sulardaki Na^+ , K^+ , NH_4^+ ve Ca^{2+} iyon konsantrasyonu ($\sim\text{pH}=7$) protonlardan 10 kat daha büyüktür. Sonuçta, katotta tüketilen protonlar anotta oluşturulan protonlarla yeniden doldurulamaz. Bu durum katotta pH artışına ve Nernst eşitliği ile bağlantılı olarak, anotta potansiyel kaybı ile sonuçlanan pH azalışına yol açar. Anyon değiştirici, bipolar ve yük mozaik membranlar da incelenmiştir (Cheng ve Logan, 2007b; Rozendal ve ark., 2007; Rozendal ve ark., 2008c). Anyon değiştirici membranların, bazik fosfat ve bikarbonat gibi negatif yüklü kimyasal tamponların taşınımına izin verdiği için MEC performansını oldukça arttırdığı bulunmuştur. Bu çalışmada, anyon değiştirici

membran ve granül grafit anot kullanıldığında, 0,6 V uygulama potansiyelinde asetattan günde $1,1 \text{ m}^3\text{H}_2/\text{m}^3$ hızında hidrojen üretilmiştir (Cheng ve Logan, 2007b).

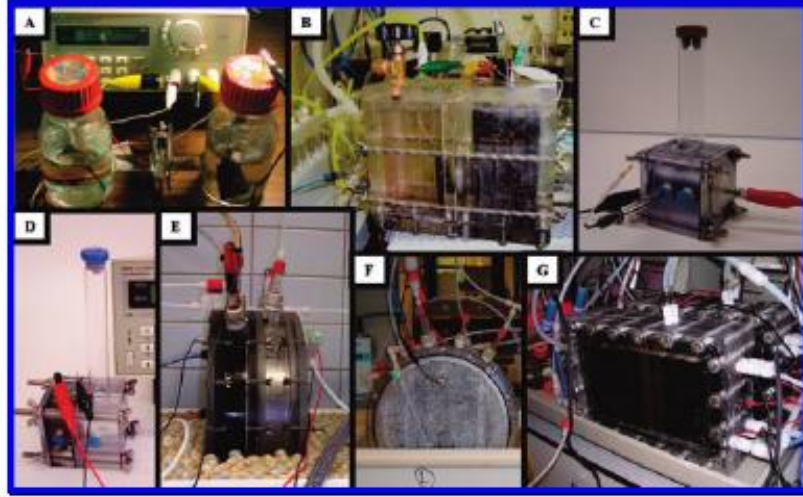
1.4.5.4. Borular ve Gaz Toplama Sistemleri

Hidrojen gazı, borular ve bağlantılar aracılığı ile kolaylıkla geçebilen küçük bir molekül olduğu için, borular ve kapaklar aracılığı ile kaybı laboratuvar testlerinde temel bir problem olabilir. Bu nedenle, reaktör dizaynında gaz sızdırmaz kapakların olması çok önemlidir. Teflon için hidrojenin yayılma gücü $10\text{-}12 \text{ cm}^2/\text{s}$ ve Viton için $10\text{-}13 \text{ cm}^2/\text{s}$ ' dir. Az miktarda hidrojen, membran ile (ğer varsa) katottan anoda da difüze olabilir. Bu difüzyonal hidrojen kaybı, membrana karşı hidrojen konsantrasyonuna bağlıdır (Logan, 2008). Hidrojen üretim hızı daha yüksek olduğunda membran aracılığı ile hidrojen kaybı, toplam hidrojen üretimine kıyasla, azdır (Rozendal ve ark., 2006).

1.6. MEC Yapımı

MEC' ler, hidrojen oluşumu için, pek çok farklı dizaynda test edilmiştir (Şekil 1.5). İlk sistemlerde, konseptin çatısı dizayn edilmiş ve bu nedenle performansı en uygun hale getirilememiştir (Şekil 1.5A ve 1.5E). Örneğin, Liu ve ark. (2005) tarafından katyon değiştirici membran ile ayrılmış iki cam şişe ve gaz toplayıcısından oluşan basit bir reaktör kullanılmıştır (Şekil 1.5A). Bu tür sistemlerde, anot ile katot arasındaki uzaklığın çok olmasından dolayı iç direnç yüksektir (Logan ve ark., 2006). Bir başka çalışmada, küçük boyutlu bir katyon değiştirici membran kullanılmış, fakat grafit granüller kullanılarak anot yüzey alanının arttırılmasına ve elektrot aralığının azaltılmasına rağmen performans arttırılamamıştır (Şekil 1.5B). Performans, elektrot yüzey alanına bağlı membran boyutu arttırılarak da geliştirilmiştir (Şekil 1.5D) (Cheng ve Logan, 2007a; Rozendal ve ark., 2007). Anotta grafit granüllerin kullanıldığı (yüksek yüzey alanı) ve elektrot aralığının azaltıldığı küp şeklindeki reaktörde anyon değiştirici membran akım yoğunluğunu ve

hidrojen geri kazanımını arttırarak sistemin performansını oldukça geliştirmiştir (Şekil 1.5D) (Cheng ve Logan, 2007b).



Şekil 1.5. Farklı çalışmalarda kullanılan mikrobiyal elektroliz hücreleri: (A) membran ile ayrılmış iki şişeli MEC (Liu ve ark., 2005b); (B ve D) anot ve katodun membranla ayrıldığı küp şeklinde MEC (Cheng ve Logan, 2007; Ditzig ve ark., 2007); (C) membransız, küp şeklinde tek bölmeli MEC (Call ve Logan, 2008), (E) disk şeklinlde iki bölmeli MEC (Rozendal ve ark., 2006b; Rozendal ve ark., 2008c); (F) gaz difüzyon elektrotlu, disk şeklinde membran elektrot monteli MEC (Rozendal ve ark., 2007); (G) dikdörtgen şeklinde, kıvrımlı akış kanallarına sahip MEC (Rozendal ve ark., 2008a)

Rozendal ve ark. (2007) tarafından gaz difüzyon elektrotlu ve membran elektrot aksamı MEC tasarlanmıştır. Burada membran katot ile bütünleştirilmiş ve bir platin katalizör tabakası gaz toplama odasına kaplanmıştır (Şekil 1.5F). Bu, katot etrafındaki sıvıyı ortadan kaldırmış ve reaktör hacmini azaltmıştır. Reaktör devamlı akış modunda çalıştırılmıştır. Diğer bir devamlı akış reaktörü, akış kanalları ve bir biyokatot dikey olarak yönlendirilerek test edilmiştir. Kanallar, sıvı akışı tüm kanallarda olacak şekilde tasarlanmıştır ve üretilen hidrojen akış kanallarının tepesinden toplanmıştır (Şekil 1.5G) (Rozendal ve ark., 2008a). Bu sayede, elektrot üzerinde bölgesel pH artışları ile biyokatot performansının engellendiği durgun alanların gelişimi önlenmiştir. Ayrıca, hidrojen kanallarda biriktirilmeden sistemden etkili bir şekilde toplanmıştır.

MEC, reaktör tasarımını basitleştiren ve anapara maliyetini azaltan tek bölmeli membransız tasarımda da çalışılabilir (Şekil 1.5C) (Call ve Logan, 2008; Hu ve ark., 2008). Membranı uzaklaştırmak ohmik direnci azaltır ve sıvıdaki pH değişiminin azalmasına yardımcı olur. Ama elektrotlarda bölgeselleşmiş pH değişimlerini önlemez. Bu tasarımın temel dezavantajı, katot üzerinde veya çözeltide gelişen metanojenler tarafından hidrojenin tüketimidir. Call ve Logan (2008), membransız MEC kullanarak ve katodu anot yakınına yerleştirerek akım yoğunluğunu geliştirmişlerdir. 12 saatlik kesikli besleme ile 0,8 V uygulama potansiyelinde, günde $3,12 \text{ m}^3 \text{ H}_2/\text{m}^3$ maksimum hidrojen üretim hızı sağlamışlardır. Üretilen gazda az miktarda metan gazı belirlenmiştir. Coulomb etkinliği (CE) yüksektir ve katodik hidrojen geri kazanımı 0,3-0,8 V uygulama potansiyelinde %78' den %96' ya çıkmıştır. Membranlı MEC reaktörleri ile kıyaslandığında, tek bölmeli dizaynda %7-8 oranında karbondioksit ürün gazında tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, yüksek CE ve hidrojen geri kazanımı membransız MEC' lerde elde edilebilir, ama sonraki çalışmalar, metan oluşumundan sakınmak için, uzun süre kararlı kalabilen sistemlerin araştırılmasını gerektirmektedir. Hidrojen tüketen mikroorganizmaların çokça bulunduğu gerçek atık sularda da sistemin etkinliğini değerlendirmek gereklidir. Bununla beraber, biyokatotların membransız MEC' lerde etkili olarak kullanılıp kullanılmadığı bilinmemektedir.

1.7. Atık Suyu İşlemek için Mikrobiyal Elektroliz Hücreleri

MEC' ler, atık suları işlemede umut verici teknolojilerden biridir. Çünkü MEC' ler

- Bir ürün olarak hidrojen gazının oluşumu ile enerji sağlar.
- Katı oluşumunu azaltır ve daha düşük çamur işleme bedelleri getirir.
- Kötü kokuların yayılmasını sınırlayabilir.

Ancak MEC' ler, var olan atık su işleme teknolojilerinden, çok daha fazla maliyetlidir (Rozendal ve ark., 2008b). MEC, elektrik enerjisini tükettiği için

prosesin ekonomik olmasına yardımcı olmak için atık sudan yeterince hidrojen gazı geri kazanılmalıdır. Elde edilen enerjinin net miktarı çoğunlukla uygulanan potansiyele bağlıdır. Asetatı kullanan MEC' ler, 0,50 kWsa/kg COD (0,2 V) kadar az ve 1,74 kWsa/kg COD (0,6 V) kadar enerjiye gereksinim duymuştur (Call ve Logan, 2008). Bu enerji gereksinimi, 0,7-2,0 kWsa/kg COD (Tchobanoglous ve ark., 2003) arasında enerji gerektiren aktifleştirilmiş çamur sistemlerinde havalandırma için gerekli olana yakındır. Gerçek bir atık su bir MEC çalışmasında test edilmiş, ama son sistemlere (186 A/m³; 0,6 V) (Call ve Logan, 2008) kıyasla, kullanılan tasarım akım yoğunluğu açısından etkili olamamıştır (4,1 A/m³). Bağlı olarak düşük hidrojen üretimi ile sonuçlanmıştır (Ditzig ve ark., 2007). Kompleks substratların az parçalanması (Ren ve ark., 2007b; Rismani-Yazdi ve ark., 2007) ve gerçek atık suların düşük iletkenlikleri (Taylor ve Gardner, 2007) optimum laboratuvar koşulları altındaki testlerle (Liu ve ark., 2005a) karşılaştırıldığında MFC' lerin performansında kayıplar gözlemlenmiştir. Bu nedenle, MEC' ler kullanarak isimlendirilmemiş atık sularla (besinsiz ve tamponsuz) çalışmak gereklidir. Bunun yanı sıra, farklı çalışmalar arasında MEC' lerin performansını karşılaştırmak sentetik ortamda veya atık sudaki iletkenlikleri belirlemek için önemlidir.

MEC prosesi, enerji etkinliği için metan gazı üreten anaerobik parçalayıcılarla (AD) da kıyaslanabilir. AD' ler sadece yüksek-dirençteki atık sular için ekonomiktir. AD ile kıyaslandığında, mikrobiyal elektroliz benzer COD miktarı, daha faydalı gaz oluşumu açısından avantaja sahiptir (Logan, 2004). MEC' ler son yıllarda araştırılan bir konu olduğu için reaktör kontrolü, çalışma stratejileri gibi proses mühendisliği yönlerinde de araştırma yapmak gereklidir. Çünkü mikrobiyal elektron transferi son zamanlarda göz önüne çıkmıştır ve matematiksel modeller tasarım yapmak için mevcut değildir. AD' ye kıyasla, daha yüksek değerlerde gaz ürünü oluşturmada daha kompleks MEC' leri tasarlamak için ilave çalışmalar ve pilot testler yapılmalıdır (Rozendal ve ark., 2008b). Aynı zamanda, MEC sistemlerinin bağımsız çalışma yeteneğinde olup olmadığı veya aerobik bir atık suyun gerekip gerekmeyeceği araştırma gerektirir.

Atık su işlemede diğer bir sorun kötü kokuların oluşumunu önlemektir. Aktif çamur (AS) proseslerinde havalandırma ile kötü kokular yayılır, ama MEC

tamamıyla kapalı bir proses olduğu için bu kötü kokuların oluşumunu önlemede doğal bir avantaja sahiptir. AS sistemleri azot ve fosfor gibi besinleri taşımak için tasarlanmıştır. AD' ler besinleri taşıma yeteneğinde değildir, MEC' lerde ise besin taşınımı araştırılmamıştır. Son çalışmalar, MFC' de nitratın biyokatot ile taşınabileceğini göstermiştir (Kim ve ark., 2008; Clauwaert ve ark., 2007). Fosfor taşınımı ne MFC ne de MEC sistemlerinde gösterilmemiştir. Fosfat ve karbonat tamponları MFC performansını iyileştirmede kullanılmıştır (Fan ve ark., 2007). Atık suya herhangi bir tampon ilavesi pratik değilken, bikarbonat özellikle pek çok atık suda doğal olarak oluşan bir tampon sistemi olduğu için MEC' lerdeki rolü araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Mikrobiyal Elektroliz ile Hidrojen Üretimi

Hyrapovic ve ark. (2010), elektrokimyasal yöntemle nikel (Ni) partiküllerinin yüklendiği gaz difüzyon katotları geliştirmiş ve bunları devamlı akışlı MEC' de hidrojen üretimi için test etmişlerdir. Bu MEC' de katoda elektrokimyasal olarak yüklenmiş Ni partiküllerinin yüksek katalitik aktivitesi proton değiştirici membran kullanmaksızın elde edilmiştir. Pt ve Ni partiküllerinin elektrokimyasal olarak yüklenmesi hidrojen üretimini daha fazla iyileştirmemiştir. 0,2 ve 0,4 mg/cm² arasında yüklenen Ni' e denk olarak maksimum hidrojen üretim hızı 5,4 L/L_R gün (R: reaktör) olarak belirlenmiştir. Bir ayın üzerinde, sürekli olarak MEC' in çalıştırılması kararlı hidrojen üretimi göstermiştir. Genel olarak, çıkış gazındaki metan oranı %5' ten daha az olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, elektrokimyasal olarak yüklü Ni partiküllü gaz difüzyon katotlar, pahalı Pt katotlara kıyasla, hidrojen üretimi için muhteşem kararlılık göstermiştir.

Selembo ve ark. (2009), MEC kullanarak gliserolden hidrojen gazı üretimini araştırmışlardır. 0,9 V uygulama potansiyelinde 3,9 mol H₂/mol gliserol verimle ve bağlı olarak 2,0 ± 0,4 m³/m³gün hızda hidrojen gazı üretmişlerdir. Bu değer fermantasyon ile elde edilenden daha yüksektir. Benzer koşullarda, glukozdan 7,2 mol-H₂/mol verimle ve 1,9±0,3 m³/m³ gün hızla hidrojen üretilmiştir. Gliserol tam olarak 6 saatte taşınmış ve elektronların %56' ına ürünlerinden (birincil olarak 1,3-propandiol) sağlanmıştır. Glukoz ise tam olarak 5 saatte taşınmış ve elektronların %19' u ara ürünlerinden (ana ürün propiyonat) sağlanmıştır. Biyodizelin yan ürünü gliserol kullanılarak da 0,41±0,1 m³/m³gün hızla hidrojen üretilmiştir. Bu sonuçlar, mikrobiyal elektrolizin ya saf gliserolden ya da biyodizel yakıt üretiminin yan ürünü gliserolden hidrojen üretimi için etkili bir metot olduğunu göstermiştir.

Lee ve ark. (2009), hidrojen oluşum etkinliğini en yüksek düzeye çıkarmak için katodu MEC' nin üst kısmına yerleştirerek yukarıdan akışlı, tek bölmeli mikrobiyal elektroliz hücresi tasarlamışlardır. Kesikli deneylerde H₂ ve elektron eşdeğerliğini izlemek için bir program kullanmışlardır. İlk asetat derişimi 32 saat

boyunca devam eden kesikli-ölçümlü deneylerde 10 mM olduğu zaman, yükten (coulomb) H_2 ' e katodik dönüşüm etkinliği (KDE) %98,2; Coulomb etkinliği (CE) %60,1 ve H_2 verimi %59,2 olarak hesaplanmıştır. Metan üretimi ise ihmal edilebilir ölçüdedir. Ancak asetat derişimi arttırılıp (30 veya 80 mM) kesikli reaksiyon zamanı uzun tutulduğunda (yaklaşık 7 gün) CH_4 oluşumu meydana gelmiş ve bu önemli ölçüde H_2 kaybına yol açmıştır. 30 ve 80 mM asetattan oluşan biyogaz bileşiminde sırasıyla %14,1 ve %16,2 civarında CH_4 gazına rastlanmıştır. Hidrojenotropik metanojenler katotta oluşan H_2 ' yi CH_4 e dönüştürerek KDE' yi azaltmıştır. Bazı deneylerde CE %100' ün üzerine çıkmıştır. Bunu sebebi, H_2 ' ni oksitleyen ve akım üreten anot solunumlu bakterilerdir.

Call ve ark. (2009), hidrojen kullanan ekzoelektrojenik bakteriyi (*Geobacter sulfurreducens*), MEC' lerde saf ve karışık kültürlerle hidrojen üretim hızını ve hidrojen geri kazanımını karşılaştırmak için, hidrojeniz yükseltgeyici (*Geobacter metallireducens*) ve karışık kültürle kıyaslamışlardır. 0,7 V uygulama potansiyelinde hem *G. sulfurreducens* hem de karışık kültür benzer akım yoğunlukları göstermiştir (yaklaşık $160 A/m^3$). Hidrojen üretim hızı yaklaşık $1,9 m^3 H_2/m^3/gün$ ile sonuçlanmıştır. Aksine *G. metallireducens* daha düşük akım yoğunlukları ve hidrojen üretim hızı göstermiştir (sırasıyla $110 \pm 7 A/m^3$ ve $1,3 \pm 0,1 m^3 H_2/m^3/gün$). Karışık kültürlü MEC' de 82 ± 8 değerinde en yüksek tüm enerji kazanımını (hem elektrik hem de substrat enerji girişlerine göre) sağlamıştır. Bu, karışık kültürün daha yüksek kulomik etkinliğinden kaynaklanmaktadır. *G. sulfurreducens* ve *G. metallireducens* için tüm enerji geri kazanımı sırasıyla 77 ± 2 ve 78 ± 5 olarak hesaplanmıştır. 0,4 V uygulama potansiyelinde karışık kültürlü MEC' de metan üretimi artmış ve bunun bir sonucu olarak hidrojen geri kazanımı azalmış ve tüm enerji geri kazanımı 38 ± 16 ya düşmüştür. Aksine, tüm enerji kazanımı *G. sulfurreducens* ve *G. metallireducens* için sırasıyla 80 ± 5 ve 76 ± 0 dır. Karışık kültür, hidrojen gazı ile beslenildiği zaman $31 \pm 0 A/m^3$ değerinde kararlı bir akım yoğunluğu oluşturmuştur. Ancak *G. sulfurreducens* akım oluşturmada kararlı bir azalış göstermiştir. Organizma topluluğu analizleri, *G. sulfurreducens*' in karışık kültürlü MEC' de baskın olduğunu öne sürmüştür (%72 klon). Bu sonuçlar,

Geobacter türlerinin, karışık kültürlerle benzer hidrojen üretim hızları ve enerji geri kazanımları sağlayabildiğini göstermiştir.

Mikrobiyal elektroliz ile hidrojen gazı üretiminde kullanılan proton değiştirici membranların gaz ürünün bakteriyel tüketiminden dolayı hidrojen kayıplarından sakınmak için MEC' de gerekli olduğu varsayılmaktadır. Ancak, Call ve Logan (2008), elektrotlar arasına membran yerleştirmeden $78 \pm 1\%$ - $96 \pm 1\%$ aralığında yüksek katodik hidrojen geri kazanımını başarmışlardır. Membransız sistem, grafit fiber fırça anot ve yakın elektrot aralığı kullanımı ile hidrojen üretim hızı 0,8 V uygulama potansiyelinde $3,12 \pm 0,02 \text{ m}^3 \text{ H}_2/\text{m}^3 \text{ gün}$ ' e ulaşmıştır. 0,2 V' ta hidrojen geri kazanımı azalmış ve metan konsantrasyonu artmıştır. Bu sonuçlar, membransız tek bölmeli MEC' de yüksek hidrojen geri kazanımının ve üretim hızının sağlanabildiğini göstermiştir.

Hu ve ark. (2008), membranla ilişkili potansiyel kayıplarını azaltmak ve prosesin enerji geri kazanımını arttırmak için tek bölmeli membransız MEC kullanarak karışık kültürden ve saf kültürden (*Shewanella oneidensis* MR-1) hidrojen üretimini araştırmışlardır. 0,6 V uygulama potansiyeli ve pH 5,8' de karışık kültür ile 14 A/m^2 akım yoğunluğu ve $0,53 \text{ m}^3/\text{gün}/\text{m}^3$ hidrojen üretim hızı elde etmişlerdir. *S. oneidensis* MR-1 ile laktik asitten kararlı hidrojen üretimini gerçekleştirmişlerdir. Karışık kültürle hidrojen üretim prosesi sırasında metan gazı tespit edilmiştir ve bu hidrojen üretim hızını negatif olarak etkilemiştir. Ancak, katodu havaya maruz bırakmak gibi uygun yaklaşımlar geliştirerek hidrojenotropik metanojenleri baskılayabilmişlerdir. Bu sistemin akım yoğunluğu ve hidrojen üretim hızı, elektrot aralığını azaltarak ve elektrot yüzey alanı/hacim oranını arttırarak önemli derecede artabilmektedir.

Liu ve ark. (2008), elektrokimyasal mikrobiyal bir proseste hidrojen üretim hızını kontrol eden önemli proses parametrelerini belirlemeye çalışmışlardır. 600 mV uygulama potansiyelinde, anottaki bakteriler etkili bir şekilde asetati parçalayabilmişlerdir, ama hidrojen üretememişlerdir. Anot yüzeyinde aktif biyofilm oluşumunda nötral pH kontrolünün önemli olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, oluşan proton ve elektronlar katoda transfer edilmiş ve H_2 oluşturulmuştur. Proton değiştirici membran boyunca diğer katyonlar arasındaki yarış ve süspanse, gelişmiş

mikrobiyal popülasyonların varlığı, asetattan H_2 'nin düşük geri kazanım etkinliğine neden olmuştur. Hücrenin yeterince beslenememesi biyofilmin bozulması ve bu nedenle sistemin başarısızlığı ile sonuçlanmıştır.

Mikrobiyal yakıt pilleri (MFC), organik ve inorganik maddeyi oksitlemek için katalizör olarak bakterileri kullanan ve akım oluşturan araçlardır. Aksine mikrobiyal elektroliz hücreleri (MEC) MFC ile birleştirilerek biyohidrojen üretimi için bir reaktördür ve elektroliz yapar. Bir MEC' de dışarıdan bir potansiyel termodinamik engeli yenmek için uygulanmak zorundadır. Sun ve ark. (2008), asetattan hidrojen üretimi için MEC-MFC ikili sistemini kullanmışlardır. Bu sistemde hidrojen MEC' de üretilirken dışarıdan potansiyel katkısı MFC' den sağlanmıştır. Bu ikili sistemde, güç kaynağı kullanmaksızın asetattan hidrojen üretilmiştir. 10 mM fosfat tamponunda hidrojen üretim hızı $2,2 \pm 0,2 \text{ ml L}^{-1} \text{ gün}^{-1}$, e, katodik hidrojen geri kazanımı (R_{H_2}) ve tüm sistemin Coulombic etkinliği (CE_{sis}), sırasıyla, %88-96 and %28-33' e ulaşmıştır. Tüm sistemin hidrojen verimi (Y_{sysH_2}) $1,21 \text{ mol-H}_2 \text{ mol-asetat}^{-1}$ a ulaşmıştır. Hidrojen üretimi, fosfat tamponunun derişimi arttıkça artmış ve 100 mM fosfat tamponunda en yüksek hidrojen üretim hızı $14,9 \pm 0,4 \text{ mL}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ ve tüm sistemin hidrojen verimi $1,6 \pm 0,08 \text{ mol-H}_2 \text{ mol-asetat}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. MEC ve MFC' nin performansı birbirinden etkilenmiştir. MEC-MFC ikili sisteminin atıklardan biyohidrojen üretimi için kullanılabileceği kanıtlanmıştır.

Tartakovsky ve ark. (2008a), , gaz toplama bölümlü tek sıvı bölmeli bir MFC' yi elektriksel olarak desteklenen koşullarda hidrojen üretimi için devamlı olarak çalıştırmışlardır. Çalışmada, anotta grafit keçe, katotta $0,5 \text{ mg/cm}^2$ Pd/Pt katalizörü yüklenmiş Toray karbon fiber kağıt kullanılmışlardır. Hidrojen üretimini sağlamak için, MFC bir güç kaynağına bağlanmış ve 0,5-1,3 V potansiyel aralığında çalıştırılmıştır. Karbon kaynağı olarak asetat ya da glukoz kullanılmıştır. Sisteme $1,67 \text{ g/L}_A$ gün asetat yüklendiğinde ve 1,16 V potansiyel uygulandığında hidrojen üretiminin volumetrik hızı $0,98 \text{ L}_{STP}/\text{L}_A \text{ gün}^{-1}$ e ulaşmıştır. Bu %50 dönüşüm etkinliği ile $2 \text{ mol H}_2/\text{mol asetat}$ hidrojen verimine karşılık gelmektedir. Deneyin her aşamasında metanojenik mikroorganizmaların metabolik aktivitesi MFC etkinliğini, zıt olarak etkilemiştir. Çünkü bu mikroorganizmalar, karbon kaynağı için

ekzoelektrojenik mikroorganizmalarla rekabet halindedir ve katotta üretilen hidrojenin bir kısmı bu mikroorganizmalar tarafından tüketilir.

Tartakovsky ve ark. (2008b) yaptıkları çalışmada, gaz-fazı katotlu, membransız, devamlı akışlı mikrobiyal elektroliz hücresinde hidrojen üretimini gerçekleştirmişlerdir. Bu MEC sisteminde anot olarak karbon keçe ve katot olarak $0,5 \text{ mg/cm}^2$ Pt yüklenmiş gaz difüzyon katot kullanılmıştır. Proton değiştirici membran MEC tasarımında yoktur. Yerine, J-cloth ile elektrotlar birbirinden ayrılmıştır. Membranın olmayışı, elektrotlar arasındaki uzaklığın kısa oluşu (0,3 mm) 19Ω luk düşük iç direnç ile sonuçlanmıştır. MEC tasarımı geliştirildiğinde volumetrik hidrojen üretim hızı $6,3 \text{ L}_{\text{STP}}/\text{L}_A \text{ gün'}$ e ulaşmıştır. Membran olmamasına rağmen, gaz toplama odasındaki metan konsantrasyonu %2,1' in altında çıkmış ve anot bölmesinde hiç hidrojene rastlanmamıştır.

Chae ve ark. (2008), MFC' nin modifiye edildiği iki bölmeli biyoelektrokimyasal hücreyi kullanarak asetatın oksidasyonu ile etkili bir şekilde hidrojen üretebilmişlerdir. Hidrojen üretimi, uygulama potansiyelinin 0,1 V' tan 1,0 V' a kadar artırılması ile artmıştır. Maksimum etkinlik, 0,8 V' ta her 1 mol asetatta 2,1 mol H_2 verimi ile %52,5' e ulaşmıştır. Elektronların anodik kaybı, katodik kayıpla kıyaslandığında, özellikle daha yüksek uygulama potansiyeli aralığında daha fazla olmuştur. Katot odasında başlıca H_2 (%96,6) elde edilirken, az miktarda CH_4 (%2,5) ve CO_2 (%0,9) anottan difüze olan safsızlıklar olarak tespit edilmiştir. Safsızlığı belirli bir düzeyde tutmak veya üretilen H_2 kaybını önlemek için CH_4 ve CO_2 ' in kontrolü daha çok gereklidir. Çünkü bu gazlar Nafyon 117 membrandan H_2 ' e göre daha kolay difüze olabilirler. Hidrojen üretmek için dışarıdan bir potansiyel ile akımın artırılması bakterilerin yaşama kabiliyetleri üzerinde zararlı bir etki oluşturmamıştır. MFC ve biyoelektrokimyasal hücrede *Geobacter* gibi türler bakteriyel topluluğun bütününe oluşturmuştur.

Bakteriyel fermantasyon ile hidrojen üretimi bir mol glukoz başına maksimum 4 mol hidrojen ile sınırlanır ve bu koşullar altında tek bir fermantasyon son ürünü (asetat; 2 mol/mol glukoz) oluşur. Bu ürünü bakteriler H_2 ' e dönüştüremezler. Liu ve ark. (2005b), anaerobik MFC kullanarak asetattan hidrojen gazı üretebilmişlerdir. Bu MFC' de 250 mV ve daha yüksek potansiyellerde,

bakteriler aracılığıyla oksitlenmiş organik maddelerden katotta hidrojen üretmeyi başarmışlardır. Asetatın oksidasyonundan bakteriler aracılığı ile oluşturulan proton ve elektronların %90' ından fazlası %60-78 toplam Coulomb etkinliği (asetattan elektronların toplam geri kazanımı) ile hidrojen gazı olarak geri kazanılmıştır. Bu 2,9 mol H₂/mol asetat toplam verimine (%78 Coulomb etkinliği ve hidrojen olarak elektronların %92 geri kazanımı olarak farz edilir) denktir. Bu biyoelektrokimyasal olarak desteklenmiş mikrobiyal sistem 2-3 mol H₂/mol glukoz üreten hidrojen fermantasyonu ile birleştirilirse 1,2 mol H₂/mol glukoz' a denk enerji değerinde yaklaşık 8-9 mol H₂/mol glukoz üretme potansiyeline sahip olur. Herhangi bir biyolojik olarak parçalanabilir çözünmüş organik madde, organik maddenin tam oksidasyonu ile hidrojen üretmek için, teorik olarak bu proseste kullanılabilir. Ancak bu anaerobik MFC prosesi ile hidrojen üretiminin karbohidratlarla sınırlandırılmadığı da belirtilmiştir.

2.2. Elektrokimyasal Aktif Mikroorganizmalar ile Elektron Transferi ve Mekanizma Üzerine Çalışmalar

Shewanella oneidensis MR-1, elektron alıcılar olarak karbon elektrotları ve oksihidroksitleri kullanarak solunum yapabilir. Bu elektron alıcılar, hücrenin ötesinde hücre içerisinden yüzeylere konumlanan elektronların transferi için mekanizmaya gereksinim duyar. Saf hücre dışı membran sitokromlar hem elektrotları hem de metalleri indirgemesine rağmen, *S. oneidensis* MR-1 metallere ve elektrotlara elektron transferini hızlandıran flavinleri gizler. Baron ve ark. (2009), dönüşümlü ve doğrusal taramalı voltametreyi kullanarak sağlam hücrelerle doğrudan elektron transferini belirlemek için teknikler geliştirmişlerdir. Metabolik olarak aktif hücreler ince filmleri (submonolayer) oluşturan grafit elektrotlara tutunmuştur. Bu ince filmler falvinlerin yokluğunda ve varlığında hem katalitik hem de tersinir elektron tarnsferini göstermiştir. Çözünebilir flavinlerin yokluğunda elektron transferi, yaklaşık 0,0 V' ta (standart hidrojen elektroda karşı) ve ortalama geniş bir potansiyel penceresinde meydana gelmiş ve hücre dışı membran sitokromların tek ($\Delta omcA$ ve $\Delta mtrC$) ve çift ($\Delta omcA/ \Delta mtrC$) delesyon mutantlarında değiştirilmiştir.

Fizyolojik derişimde çözünebilir flavinlerin ilavesi elektron transferini önemli ölçüde hızlandırmış ve daha düşük potansiyelerde (-0,2V) meydana gelen katalitik elektron transferine olanak sağlamıştır. Tarama hızı analizleri, doğrudan elektron transferi için hız sabitlerinin saf sitokromlar için belirtilenlerden (yaklaşık 1 s^{-1}) daha düşük olduğunu göstermiştir. Bu yorumlar, daha yüksek pencerede (>0 V) anodik akımın doğrudan transfer mekanizmasının aktivasyonundan kaynakladığını, aksine elektron transferinin daha düşük potansiyelerde flavinler tarafından sağlandığını göstermiştir.

Hambourger ve ark. (2008), *Clostridium acetobutylicum* [FeFe]-hydrogenase HydA' y fotoelektrokimyasal biyoyakıt hücresinde hidrojen üreten katalizör olarak araştırmışlardır. Hidrogenaz pirolize grafit kenar ve karbon keçe elektrotlara adsorblanmıştır. İmmobilize hidrogenaz filmlerin dönüşümlü voltamogramları katodik proton indirgeme ve anodik hidrojen yükseltgeme ile ortaya konulmuştur. Elektrokimyasal aktif yüzey alanı doğrulandığı zaman katodik akım yoğunlukları hem karbon elektrotlar hem de platin elektrotla ile elde edilenin yaklaşık %40'ı için benzerdir. Yüksek yüzey alanlı karbon keçe/hidrogenaz elektrot fotoelektrokimyasal biyoyakıt hücresinde katot olarak kullanılmıştır. Bu cihaz, aydınlatma altında biyoyakıt substratı oksitleyebilmiş ve protonları hidrojene indirgeyebilmiştir. Benzer fotoakımlar ve hidrojen üretim hızları ya hidrogenaz ya da platin katotlar kullanılarak fotoelektrokimyasal biyoyakıt hücresinde gözlemlenmiştir.

Önceki çalışmalar, *Geobacteraceae* üyelerinin anaerobik solunum için elektron alıcıları olarak elektrotları kullanabileceklerini ifade etmişlerdir. Bond ve Lovley (2003), enerji üretiminde bu elektron transferini daha iyi anlamak için, *Geobacter sulfurreducens*' i grafit elektrodun tek elektron alıcısı olarak görev aldığı ve asetat veya hidrojenin elektron verici olduğu bölümlere aşlamıştır. Elektron alıcı elektrotlar, oksijenlenmiş ortamdaki benzer elektrotlara (yakıt hücreleri) veya Ag/AgCl referans elektroda karşı 0,2V' ta elektrotlanın dengelendiği potansiyostatlara (dengelenmiş potansiyel) onları bağlayarak yükseltgeyici potansiyelerde tutulmuştur. Az miktarda *G. sulfurreducens* elektrotların bulunduğu hücrelere aşılandığında elektrik akımının oluşumu asetatın karbondioksit'e yükseltgenmesine bağlanmış ve giderek artmıştır. Elektrodun indirgenmesi bu organizmanın gelişimi ile desteklenmiştir. Elektrolit ortamı, gelişim için gerekli besinlerden eksik anaerobik

tampon ile yer değiştirildiği zaman asetata bağlı elektrik akımı oluşumunu etkilememiş ve hücreler haftalarca elektrik akımını oluşturmak için devamlı bu elektrotlara tutturulmuştur. Bu, bir elektroda tutunan hücreler ile yalnızca mikrobiyal elektrik üretiminin ilk sunumunu temsil etmektedir. Elektroda tutunan hücreler asetati düşük seviyelere ($<10\mu\text{M}$) tam olarak yükseltmiş ve hidrojen 3 Pa değerinde üretilmiştir. Elektrotlara elektron transfer hızı ($0,21\text{-}1,2\ \mu\text{mol elektron/mg protein/dk.}$), elektron alıcısı olarak Fe (III) sitratın ($E^{\circ'}=+0,37\text{V}$) kullanıldığı ile benzer olduğu görülmüştür. Mikrobiyal yakıt hücresi ($65\ \text{mA/m}^2$ elektrot yüzeyi) veya denge potansiyelinde ($163\text{-}1,143\ \text{mA/m}^2$) akımın değeri diğer mikrobiyal sistemlerde belirtilenlerden daha fazla çıkmıştır. Hatta, bunlar daha büyük hücre yoğunlukları ve elektron taşıyıcı bileşiklerle çalışmıştır. Asetat tam olarak yükselttiği için organik elektron vericinin elektriğe dönüşüm etkinliği daha önce mikrobiyal yakıt hücrelerinde tanımlanandan önemli ölçüde daha yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlar, mikrobiyal yakıt hücrelerinin verimliliğinin elektroda tutunabilen *G. sulfurreducens* gibi organizmalarla arttırılabileceğini ve bir elektroda elektronların kantitatif transferi ile organik maddeler tam olarak yükseltgenirken organizmaların uzun süre boyunca canlı kalabileceğini göstermiştir.

Lger ve ark. (2002), *Allochromatium vinosum* [NiFe]-hidrogenaz ile katalitik hidrojen oluşumu ve oksidasyonun mekanizmasını protein film voltametri (PFV) tekniğini kullanarak pirolize grafit kenar elektroda adsorblanmış enzim ile çalışmışlardır. Katalitik voltamogramların şekli analizlenerek pH' ya karşı detaylı aktivite profilleri ve proton ve elektron transferlerinin sıralarını içeren katalitik döngülerin enerjisi (aktif bölgelerin indirgenme potansiyelleri ve asitlik sabitleri) belirlenmiş ve bunlar mekanizmaya göre tartışılmıştır. PFV' nin oda sıcaklığında ve döngü sırasında, substratın varlığında aktif bölgenin redoks özelliklerini belirlemek için değerli bir araç olduğu kanıtlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Mikroorganizmalar

Mikrobiyal elektroliz, dönüşümlü voltametre ve RDE çalışmalarında *Shewanella oneidensis* MR-1 ve *Geobacter metallireducens* saf bakteri kültürleri kullanılmıştır. *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü Edinburgh Üniversitesi'nden (İskoçya, UK) Prof. Steve Chapman tarafından sağlanmıştır. *G. metallireducens* saf bakteri kültürü ise DSMZ' den (Braunschweig, Germany) liyofilize halde ticari olarak temin edilmiştir.

3.1.2. Elektrotlar

Bu çalışmada platin levha, platin tel ve bir pirolize grafit elektrot olarak kullanılmıştır. Üç elektrot tekniği kullanılarak yapılan dönüşümlü ve doğrusal taramalı voltametre çalışmalarında platin levhalar (10x10 mm) hem çalışma elektrodu hem de karşı elektrot olarak kullanılmıştır. Pirolize grafit elektrot, kenar düzlemli pirolize grafit (EPPG) (38x3 mm) olarak hazırlanıp kullanılmıştır. Bu elektrotlar hem çalışma elektrodu hem de karşı elektrot olarak kullanılmıştır. Platin tel (kalınlık 0,35 mm; uzunluk 20,35 mm) ise EPGG elektrodun çalışma elektrodu olarak kullanıldığı elektrokimyasal ölçümlerde karşı elektrot olarak kullanılmıştır. Bütün çalışmalarda referans elektrot olarak Ag/AgCl (doygun KCl' de, $E = 0,198$ V) kullanılmıştır ve ölçüm sonuçları buna göre değerlendirilmiştir.

Elektroliz çalışmalarında ise yine pirolize grafitten hazırlanan EPPG elektrotlardan biri katot (31,1x39,25x3 mm UEK) diğeri ise anot (32,1x40x3 mm UEK) elektrodu olarak kullanılmıştır.

3.1.3. Mikrobiyal Elektroliz Hücresi

Mikrobiyal elektroliz deneylerinde ve dönüşümlü voltametre çalışmalarında kullanılan cam hücreler, elektroliz çalışmalarında kullanılan EPPG elektrotlar için öngörülen boyutlar dikkate alınarak özel olarak yaptırılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Tek odalı ve membransız mikrobiyal elektroliz hücresi

Bu cam reaktör iki parçalı olarak imal edilmiştir. İlk parçayı cam elektroliz hücresi oluşturmaktadır ve bu kısım ısıtmalı bir su sirkülatörü yardımıyla elektroliz süresince homojen bir ısı dağılımı sağlamak için ceketli olarak imal edilmiştir. İkinci parçayı ise cam bir kapak oluşturmaktadır. Kapak kısmı gaz çıkışı, gaz, pH probu ve elektrot girişleri ile örnekleme yeri bulunacak şekilde tasarlanmıştır. İki parçanın birleşimini ve sızdırmazlığı sağlamak amacı ile kapak ve cam hücre arasına silikon malzemeden yapılmış bir O-ring yerleştirilmiş ve paslanmaz çelik kelepçeler ile hücrenin kapatılması sağlanmıştır. Bu reaktörün hacmi yaklaşık 600 ml' dir.

3.2. Metod

3.2.1. Mikroorganizmaların Geliştirilmesi

3.2.1.1. *Shewanella oneidensis* MR-1

S. oneidensis MR-1 saf bakteri kültürü Luria-Bertani (LB) Broth, Miller (Merck) gelişme ortamında çoğaltılmıştır. Bu ortam, bakteri kültürü aşılardan önce otoklavda (CL-40M Model, ALP Co., Ltd., Japan) 121°C sıcaklıkta, 15 dk. boyunca steril edilmiştir. Aşılama işlemi steril kabinde (Labculture Class II Type A₂ Biohazard Safety Cabinet, ESCO) gerçekleştirilmiştir. Aşılardan kültürün oda sıcaklığında, 100 rpm’ de çalkalanarak (SK-600 Model Shaker, Lab. Companion) 3-4 gün boyunca maksimum yoğunluğa ulaşması sağlanmıştır (Beliaev ve ark., 2005; Meshulam-Simon ve ark., 2007).

3.2.1.2. *Geobacter metallireducens*

Liyofilize halde temin edilen *G. metallireducens* saf bakteri kültürünün çoğaltılması için Çizelge 3.1’ de belirtilen bileşenler kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Kültür ortamı bileşimi (Lovley ve Phillips, 1988; Lovley ve Lonergan, 1990; Kieft ve ark., 1999)

Ortam Bileşimi	Miktar
Fe (III) sitrat	13,70 g
NaHCO ₃	2,50 g
NH ₄ Cl	1,50 g
NaH ₂ PO ₄	0,60 g
KCl	0,10 g
CH ₃ COONa	2,50 g
Vitamin çözeltisi (Çizelge 3.2’ de belirtilmiştir.)	10,00 ml
Eser element çözeltisi (Çizelge 3.3’ te belirtilmiştir.)	10,00 ml
Na ₂ WO ₄ .2H ₂ O	0,25 mg
Destile su	980,0 ml

Çizelge 3.2. Eser element çözeltisi bileşimi (Lovley ve Phillips, 1988; Lovley ve Lonergan, 1990; Kieft ve ark., 1999)

Ortam Bileşimi	Miktar
Nitrilotriasetik asit	1,50 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	3,00 g
MnSO ₄ .2H ₂ O	0,50 g
NaCl	1,00 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,10 g
CoSO ₄ .7H ₂ O	0,18 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,10 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,18 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,01 g
KAl(SO ₄) ₂ .12H ₂ O	0,02 g
H ₃ BO ₃	0,01 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,01 g
NiCl ₂ .6H ₂ O	0,025 g
Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O	0,30 g
Destile su	1000 ml

Çizelge 3.3. Vitamin çözeltisi bileşimi (Lovley ve Phillips, 1988; Lovley ve Lonergan, 1990; Kieft ve ark., 1999)

Ortam Bileşimi	Miktar
Biotin	2,00 mg
Folik asit	2,00 mg
Pyridoksin-HCl	10,00 mg
Thiamin-HCl.2H ₂ O	5,00 mg
Riboflavin	5,00 mg
Nikotinik asit	5,00 mg
D-Ca-pantotenat	5,00 mg
Vitamin B ₁₂	0,10 mg
p-Aminobenzoik asit	5,00 mg
Lipoik asit	5,00 mg
Destile su	1000 ml

Bakteri gelişim ortamı hazırlanırken, öncelikle demir (III) sitrat saf su içerisinde ısıtılarak çözülmüş ve pH' ı değişik NaOH çözeltisi ile 6' ya ayarlanmıştır. Daha sonra, diğer ortam bileşenleri (vitamin çözeltisi ve sodyum asetat hariç) bu çözeltiye eklenmiş ve son pH 6,7-7,0 aralığında ayarlanmıştır. Bu çözelti otoklavda 121°C' de 15 dk. steril edildikten sonra içerisine vitamin ve sodyum asetat çözeltisi steril filtre (0,45 µm gözenek boyutunda, 25 mm çapında steril selüloz asetat şırınga tipi filtre, Whatman) kullanılarak ortama ilave edilmiştir. Liyofilize haldeki saf bakteri kültürü ortama aşılanmış ve hem anaerobik ortam sağlamak hem de ortamdaki var olabilecek oksijeni uzaklaştırmak için steril filtre ile çözeltiden 30 dk.

boyunca %80 N₂ + %20 CO₂ gaz karışımı geçirilmiştir. Aşılana bakteri kültürleri 30°C’ deki etüvde (BD (E2) Model, Binder), karank ortamda statik olarak inkübe edilmiştir (Champine ve ark., 2000).

3.2.2. Mikroorganizmaların Karakterizasyonu

S. oneidensis MR-1 saf bakteri kültürünü tanımlamak için iki test uygulanmıştır. Bu testlerden biri katalaz oluşumuna dayanmaktadır. Bu test için %3’ lük H₂O₂ çözeltisinden bir miktar alınarak üzerine sıvı kültürden birkaç damla damlatılmıştır (Vogel ve ark., 2005).

Diğer bir test yöntemi ise tiyosülfattan H₂S oluşumuna dayanmaktadır. Bu test için pepton (20 g/L), et özütü (6,6 g/L), demir (II) amonyum sülfat (0,2 g/L), sodyum tiyosülfat (0,2 g/L) ve agar (3 g/L) kullanılmıştır. Önce agar hariç tüm içerik saf suda çözülmüştür. Çözeltinin pH’ ı NaOH çözeltisi ile 7,3±0,2 olacak şekilde ayarlanmıştır. Çözeltiye agar ilave edilmiş ve agar tam olarak çözününceye kadar ısıtılarak karıştırılmıştır. Çözünme tamamlandığında çözelti eşit hacimde, kapaklı tüplere dağıtılmıştır. 121°C sıcaklıkta 15 dk. boyunca otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra tüpler dikey bir şekilde soğumaya bırakılmıştır. Hazırlanan bu besi ortamına iğne uçlu öze yardımı ile önceden çoğaltılmış katı kültürlerden ekim yapılmıştır. Tüpler 35 ± 2°C’ de etüvde 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Vogel ve ark., 2005; MacFaddin, 1985; Ewing, 1986; Holt ve ark., 1994; Farmer, 1999).

3.2.3. Bakterilerin Gelişim Sürecinin İzlenmesi

Saf bakteri kültürlerinin gelişim süreci, UV-VIS spektrofotometresi ile bakterilerin sıvı kültürdeki optik yoğunluğu (Optic density, OD) 600 nm dalga boyunda izlenerek takip edilmiştir. Bu amaçla, 50’şer ml 10 şişe LB Broth sıvı kültür ortamı hazırlanmış ve steril edilmiştir. Daha sonra bu sıvı ortama önceden katı kültür ortamında çoğaltılmış *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültüründen ekilmiştir. Sıvı kültürdeki gelişim oda sıcaklığında 100 rpm’ de çalkalanarak sğlanmıştır. Gelişim

süreci, sıvı kültürdeki bakteri yoğunluğunun 10 gün boyunca günlük olarak UV absorbansının ölçülmesiyle takip edilmiştir. Deneyler iki kez tekrarlanmıştır.

3.2.4. Bakterilerin Saklanması

Sürekli olarak kullanılan bakteriler +4°C’ de buzdolabında 1-2 ay, daha uzun süre kullanılmayacak bakteriler ise -82°C’ de derin dondurucuda 1 yıl boyunca muhafaza edilebilir.

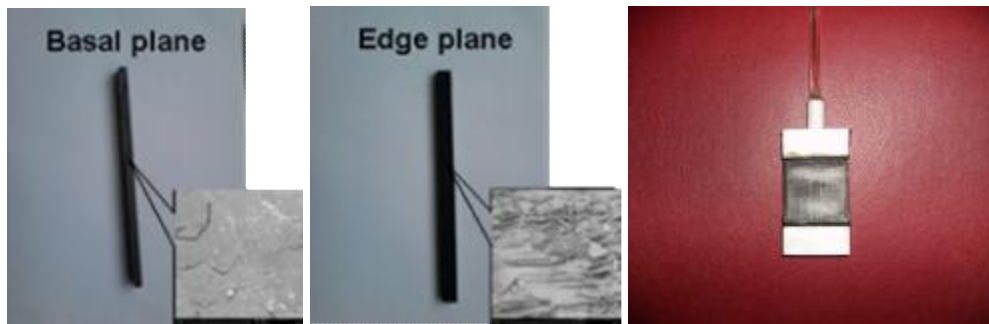
S. oneidensis MR-1 bakterisini +4°C’ de buzdolabında saklamak için öncelikle, LB Broth ile sıvı kültür ortamı hazırlanmış ve 121°C’ de 15 dk. steril edilmiştir. Oda sıcaklığına gelen kültür ortamına buzdolabında eğik katı besi ortamında saklanan *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü öze yardımıyla ekilmiş ve 30°C’ de, 100 rpm’ de çalkalanarak 24-48 saat geliştirilmiştir. LB Broth agarlı besi ortamı hazırlanmış ve 121°C’ de 15 dk. steril edilmiştir. Steril besi ortamı steril kabinde petri kaplarına dökülmüş ve soğutulmuştur. Katılaştıran agarlı besi ortamına önceden geliştirilmiş sıvı kültürler öze ile çizgisel hareketlerle yayılmıştır. Kültürler etüvde 30°C’ de 2 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petri kapları parafilm ile sarılarak +4°C’ de buzdolabında saklanmıştır.

Bakteri kültürlerini -82°C’ de depolamak için ise LB Broth ile hazırlanmış sıvı kültür ortamından 6’şar ml vida kapaklı deney tüplerine dağıtılmıştır. Tüpler ile birlikte depolamada kullanılan 2 ml’ lik cryo vialler (Neptune) ve gliserol ayrı olarak 121°C’ de 15 dk. otoklavda steril edilmiştir. Önceden LB Agar katı besi ortamında çoğaltılmış bakteri kültürleri sıvı kültür ortamına öze ile aktarılmıştır. Sıvı kültürdeki bakteriler 30°C’ deki etüvde 18-24 saat inkübe edilmiştir. Tüplerde gelişen bakterilerin üzerine 4’ er ml steril gliserol ilave edilmiş ve hafifçe çalkalanmıştır. Bu karışım steril viallere eşit hacimlerde dağıtılmış ve -82°C’ deki derin dondurucuda kullanılacakları zamana kadar saklanmıştır.

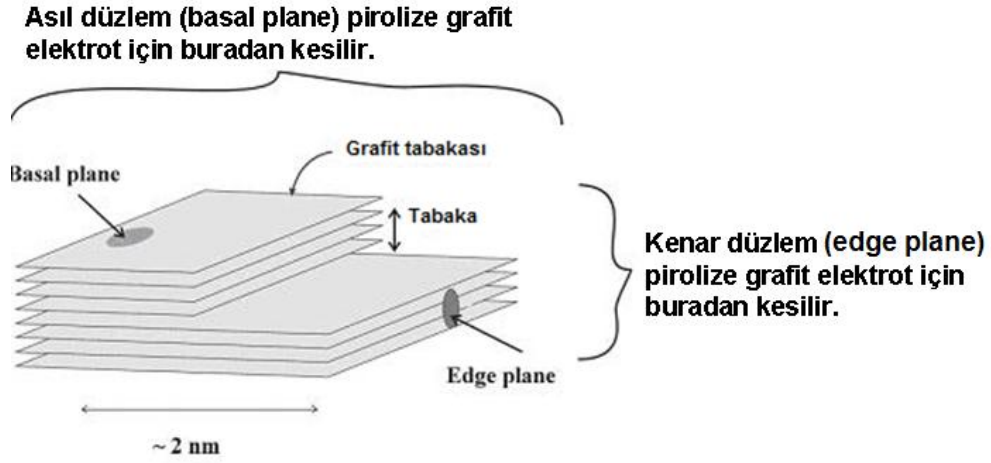
Anaerobik bir kültür olan *G. metallireducens* saf bakteri kültürü ise %80 N₂ + %20 CO₂ atmosferinin sağlandığı 100 ml’ lik serum şişelerinde, karanlık bir ortamda, 30°C’ de statik olarak saklanmıştır (Champine ve ark., 2000). Kültürler her gün kısa bir süre çalkalanmıştır (Tobler ve ark., 2008).

3.2.5. Elektrotların Hazırlanması

Elektroliz çalışmalarında kullanılan EPPG elektrotlar, bir pirolize grafit levha (Momentum PG plate 2"x2"x0.125" UEK, USA) kenar düzlemlerinden kesilerek hazırlanmıştır. Bu levha öncelikle her biri 0,3 cm kalınlığında 12 eşit parçaya bölünmüştür. Sonra, özel olarak kestirilmiş teflon bir çerçeve üzerindeki oyuğa bakır levha, teflon çerçevedeki silindirik kısma ise bir cam boru içerisinde bakır tel yerleştirilmiştir. Daha sonra, kesilen pirolize grafit parçalar, aralarında nerdeyse hiç boşluk kalmayacak ve asıl düzlem (basal plane) arada kenar düzlem (edge plane) çözeltiye bakacak şekilde bakır levha bulunan oyuğa dikey olarak yerleştirilmiştir. Bu sayede elektrodun hem ön hem de arka yüzünün EPPG yüzeye sahip olması sağlanmıştır. Diğer uç da aynı şekilde bir başka teflon çerçeve ile kapatılmıştır. Çözelti ile temasta olması istenmeyen tüm kısımlar epoksi ile kaplanmıştır. 24 saatlik kurutma süresinin ardından elektrotlar kullanıma hazır hale getirilmiştir. Bu şekilde, kenar düzlemlerin elektroliz çözeltisi ile temas ettirildiği pirolize grafit elektrotlar kenar düzlemlili pirolize grafit (EPPG) olarak adlandırılmaktadır (Şekil 3.2). EPPG, pirolize grafitin yüzeye dik uzanan grafit tabakalarından kesilerek oluşturulur (Şekil 3.3). Bu sayede hızlı elektron transferi sağlayacak baskın bölgelere sahip olmaktadır. EPPG' nin elektrot kinetiği asıl düzleme göre 3 kat daha büyük hızdadır. Bu hızlı elektrot kinetiği bir elektrot substratı olarak elektrokimyasal analizler için EPPG' nin kullanımını yararlı kılar. EPPG, düşük tespit sınırı, yüksek hassasiyet, düşük S/N oranı, düşük aşırı gerilimler, hidrofilik yüzey gibi avantajlara sahiptir. Aynı zamanda bu elektrot Pt' e göre daha ucuzdur (Banks ve Compton, 2006).



Şekil 3.2. Pirolize grafit levhanın asıl (basal) ve kenar (edge) yüzey kesitleri ve teflon destek üzerine sabitlenmiş EPPG elektrot



Şekil 3.3. Asıl düzlem (basal plane) ve kenar düzlem (edge plane) pirolize grafit elektrodun şematik gösterimi (Banks ve Compton, 2006).

Dönüşümlü voltametre çalışmalarında kullanılan platin levha elektrotlar önce bir platin tele daha sonra da bakır bir çubuğa lehimlenerek cam bir çubuk içerisine yerleştirilmiştir. Cam çubuğun elektrot ucu hamlaç kullanılarak kapatıldıktan sonra, cam çubuğun içi hava ile teması kesmek için epoksi ile doldurulmuştur. 24 saatlik kurutma süresinin ardından elektrotlar kullanıma hazır hale getirilmiştir. Platin tel elektrot da yukarıda bahsedildiği şekilde hazırlanmıştır. EPGG elektrotlar ise, bir pirolize grafit levha kenar yüzeylerinden kesilerek hazırlanmıştır. Bu levha öncelikle 12 eşit parçaya bölünmüştür. Bu parçalardan biri önce bakır bir tele iyice sarılmış ve bir cam çubuk içerisine yerleştirilmiştir. Elektrolit çözeltisinin hem bakır tel hem de asıl (basal) düzlemle temasını önlemek için cam çubuğun elektrot ucu ve elektrodun asıl düzlem, epoksi ile kaplanmıştır. 24 saatlik kurutma süresinin ardından elektrotlar kullanıma hazır hale getirilmiştir.

3.2.6. EPPG/Ekzoelektrojenik Bakteri Kombine Elektrotlarının ve Model Substratın Kullanıldığı Mikrobiyal Elektroliz Deneyleri

3.2.6.1. Standart Elektroliz Çözeltisinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan elektroliz çözeltisi bileşimini $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,125 g/L), K_2HPO_4 (0,5 g/L), KH_2PO_4 (0,5 g/L), NaCl (1 g/L), pepton (5 g/L), L-cysteine HCl.

H₂O (0,05 g/L) ve maya ekstraktı (0,3 g/L) oluşturmaktadır (Argun ve ark., 2008). Gerektiğinde bu çözeltinin pH' ı 1 M NaOH çözeltisi ile 7' ye ayarlanmıştır.

3.2.6.2. Mikrobiyal Elektrolize Substrat Miktarının Etkisi

Bu çalışmada, elektroliz deneylerinde hem bir karbon kaynağı (substrat) hem de bir elektron verici olarak kullanılan glukozun miktarının elektrolizdeki etkisi *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü ile bir seri elektroliz deneyi yapılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada Bölüm 3.1.3' de bahsedilen ceketli cam reaktör ve Bölüm 3.1.2' de elektroliz deneyleri için bahsedilen EPPG elektrotlar kullanılmıştır. Deneyler manyetik karıştırıcı (IKA) üzerinde 200 rpm karıştırma hızında ve 30°C çözelti sıcaklığında, güç kaynağı olarak bir potansiyostat (Iviumstat Soft, EG&G Inst. Model 362) kullanılarak 0,5 V sabit uygulama potansiyelinde 24 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Çalışma sıcaklığı ısıtmalı bir su sirkülatörü (Huber Compatible Control CC1) kullanılarak sağlanmıştır. Standart çözelti içerisine farklı miktarlarda glukoz (2, 5, 10, 20 ve 30 g/L) ilave edilerek elektroliz deneyleri gerçekleştirilmiştir. Tüm deneyler iki kez tekrarlanmıştır.

Deney öncesinde glukoz ve L-sistein HCl.H₂O stok çözeltileri eklenmeksizin hazırlanan standart elektroliz çözeltisi 121°C sıcaklıkta 15 dk. otoklavda steril edilmiştir. Oda sıcaklığına getirilen steril çözelti içerisine steril filtre ile stok L-sistein HCl.H₂O ve glukoz çözeltisi ilave edilmiştir. Önceden çoğaltılıp maksimum yoğunluğa getirilmiş olan bakteriler 25°C ve 4000 rpm' de 15 dk. santrifüj edilmiş ve standart elektroliz çözeltisine çöken bakteriler aktarılmıştır. Herhangi bir inkübasyon yapılmaksızın elektroliz deneylerine başlanmıştır. Deneylere başlamadan önce, çözelti içerisinde var olabilecek oksijeni uzaklaştırmak ve bu sayede anaerob ortam sağlamak için 20-30 dk. boyunca çözeltiden ve reaktörde kalan boş hacimden N₂ gazı geçirilmiştir. Deneylerde fotofermantasyondan kaçınmak için hücreler alüminyum folyo ile kapatılmıştır.

Deney süresince oluşan toplam gaz miktarı derecelendirilmiş ve üstü septum ile sıkıca kapatılmış bir cam boru ile hacimsel olarak belirlenmiştir. Deneylerin başında ve sonunda analiz edilmek üzere alınan numuneler önce 5000 rpm' de 30 dk.

santrifüj edilmiş ve sonra 0,45 µm' likşırınga tipi filtreden (Nylon filtre, VWR International, USA) süzölmüştür. Filtrelenen numunuler -24°C' de derin dondurucuda kullanılacakları zamana kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.6.3. Gaz Analizleri

Üretilen gazın kompozisyonu, birinden argon diğlerinden helyum taşıyıcı gazlarının geçtiğı iki kanallı ve iki termal iletkenlik dedektörlü Varian-450 gaz kromatografisi cihazı ile belirlenmiştir. Hidrojen kanalında MolSieve 5A (1m x1/8" Ultimetel) kolon, hidrojen dışındaki gazların saptandığı kanalda ise, Shincarbon (100/120 mesh 2m x 1/16" x 1mm) kolon kullanılmıştır. Gaz kromatografisi analiz programı, 40°C' de 3 dk. bekleyip 8°C/dk. ile 230°C' ye yükselme ve bu sıcaklıkta 5 dk. bekleme şeklindedir. Elüsyon süresi toplam 31,75 dakikadır. Dedektör sıcaklığı 230°C, filament sıcaklığı ise 300°C olarak çalışılmıştır. Standart gaz karışımı Elite Gaz Teknolojileri İnş. Tur. San. ve Tic. Ltd. Şti.' den (İstanbul, Türkiye) sağlanmışır. Bu gaz karışımının bileşimini % mol olarak sırasıyla 1,8 ± 0,036 asetilen; 4,0 ± 0,08 etilen; 3,9 ± 0,078 etan; 4,9 ± 0,098 metan; 16,0 ± 0,32 karbonmonoksit; 22,0 ± 0,44 karbondioksit ve balans sağlayacak miktarda hidrojen (47,4 ± 0,474) oluşturmaktadır. Firma bilgisine göre bu gaz karışımının dolum basıncı 15°C' de 110 bar' dır.

3.2.6.4. Analitik Boyutta HPLC Analizleri

Elektroliz deneylerinin başında ve sonunda alınan ve -24°C' de buzdolabında saklanan numuneler analiz öncesinde oda sıcaklığına gelmesi için bekletilmiştir. Numunelerden alınan bir miktar 0,45 µm' likşırınga tipi filtreden süzölmüş ve HPLC ile analiz edilmiştir. Numunedeki bileşenlerin kalitatif ve kantitatif analizleri için analitik moddaki ayırma Shimadzu 10VP serisi HPLC cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Bu cihaz, refraktif indeks dedektör (Shimadzu RID-10A), diode array dedektör (DAD, Shimadzu SPD-M10A VP), fırın (Shimadzu CTO-10AS VP), oto örnekleyici (Shimadzu SIL-10AF Automatic Sample Injector), manuel enjektör, fraksiyon

toplayıcı (Shimadzu FRC-10A), iki pompa (Shimadzu LC-6AD), hava kabarcığı uzaklaştırıcı (Shimadzu DGU-14A) ve sistem kontrolü sağlayıcı (Shimadzu SCL-10A VP) ile donatılmıştır.

Örnek ve standartların analizleri ICsep ICE-Coregel 87H (30 cm x 7,8 mm x 9µm, Transgenomic, USA) kolonda gerçekleştirilmiştir ve ayrılan bileşenler refraktif indeks dedektör ile izlenmiştir. Optimum kromatografik ayırım 4 mM H₂SO₄ hareketli fazı kullanılarak, 0,4 ml/dk. akış hızında ve 55°C kolon sıcaklığında sağlanmıştır. Tam bir ayırım için 45 dakikalık bir elüsyon zamanı yeterli olmuştur. Her bir analiz iki kez tekrarlanmıştır. Analizlerde glukoz (Sigma) ve organik asitler (laktik asit, formik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit, Merck) standart olarak kullanılmıştır.

3.2.6.5. EPPG Elektrotlar ile Mikrobiyal Elektroliz Çalışma Koşullarının Belirlenmesi

Bu çalışmada, en verimli hidrojen üretiminin sağlandığı mikrobiyal elektroliz çalışma koşulunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla EPPG elektrotlar ile farklı ekzoelektrojenik bakteriler kullanılarak farklı potansiyellerde mikrobiyal elektroliz deneyleri gerçekleştirilmiştir. Elektroliz çalışmalarında Şekil 3.1' deki ceketli cam reaktör ve Bölüm 3.2.5' te bahsedilen EPPG elektrotlar anot ve katot olarak kullanılmıştır. Ekzoelektrojenik bakteri olarak *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* kullanılmıştır. Tüm deneylerde kullanılan standart elektroliz çözeltisi bileşimine karbon kaynağı olarak glukoz (2,0 g/L) ilave edilmiştir. Tüm çözeltiler (glukoz hariç) deney öncesi Bölüm 3.2.6.2' de bahsedildiği gibi steril edilmiştir. Elektroliz deneyleri 30°C sıcaklıkta, manyetik karıştırıcı üzerinde 200 rpm karıştırma hızında, potansiyostat kullanılarak farklı potansiyellerde (0,5; 0,7 ve 1,0 V) 24 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Çalışma sıcaklığı ısıtılmalı su sirkülatörü kullanılarak sağlanmıştır. Deneye başlamadan önce, steril standart elektroliz çözeltisine stok glukoz çözeltisi steril filtre ile aktarılmıştır. Önceden ekilmiş ve maksimum yoğunluğa ulaştıktan sonra 25°C ve 4000 rpm' de 15 dk. santrifüj edilerek çöktürülen *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* bakteri kültürleri ise ortama

doğrudan eklenmiştir. Tüm deneylere başlamadan önce, çözeltiden saf N₂ gazı 20-30 dk. boyunca geçirilmiştir. Deneylerde fotofermantasyondan kaçınmak için hücreler alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Deneyler iki kez tekrarlanmıştır.

Deney süresince oluşan toplam gaz miktarı gaz büreti ile hacimsel olarak belirlenmiş ve gazın bileşimi gaz analizleri ile tespit edilmiştir. Deneylerin başında ve sonunda analiz edilmek üzere alınan numuneler önce 5000 rpm’ de 45 dk. santrifüj edilmiş ve sonra 0,45 µm’ lik şırınga tipi filtre ile filtrelenmiştir. Filtrelenen numunelerde sulu çözelti bileşimi HPLC analizleri ile belirlenmiştir.

3.2.6.6. Atık Su ile Mikrobiyal Elektroliz Deneyleri

Çalışmanın bu kısmında Bölüm 3.2.6.5’ de anlatılan mikrobiyal elektroliz deneylerine göre optimum elektroliz koşulu seçilerek *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* bakteri kültürleri ve melas atık suyu ile çalışılmıştır. Deneyler 24 saat boyunca sürdürülmüştür. Standart elektroliz çözeltisi içerisine karbon kaynağı olarak atık su ilave edilmiştir. Bu çözeltideki atık suyun miktarı, içerisindeki organik karbon miktarı 2 g glukoz/L eşdeğer olacak şekilde TOC analizörü (Apollo 9000, Tekhmar Dohrmann) kullanılarak ayarlanmıştır. Elektroliz deneyleri öncesinde ve sonrasında alınan sıvı numunelerde COD analizleri yapılmış ve sonuçlar buna göre değerlendirilmiştir. Sıvı numuneler analiz öncesinde 0,45 µm’ lik şırınga tipi filtre ile filtrelenmiştir. Deney sonunda elde edilen gazın kompozisyonu gaz kromatografisi cihazı ile belirlenmiştir.

3.2.7. Mikrobiyal Elektroliz Mekanizmasının İncelenmesi

3.2.7.1. Destek Elektrolit Çözeltisi

Çalışmada kullanılan destek elektrolit bileşimini MgSO₄.7H₂O (0,125 g/L), K₂HPO₄ (0,5 g/L), KH₂PO₄ (0,5 g/L) ve NaCl (1 g/L) oluşturmaktadır. Eğer gerekli ise bu çözeltinin pH’ ı 1 M NaOH çözeltisi ile 7’ ye ayarlanmıştır.

3.2.7.2. Destek Elektrolitte Platin ve EPPG Çalışma Elektrotları ile Dönüşümlü Voltametre Çalışmaları

Çalışmanın bu bölümünde, platin (Pt) ve EPPG çalışma elektrotlarının nötr pH ve bakterisiz ortamda sulu çözeltideki davranışları voltametrik ve potansiyostatik ölçümlerle karakterize edilmeye çalışılmıştır. Bu deneyler, hem oda koşullarında hem de azot atmosferinde Şekil 3.1’ de gösterilen cam reaktörde yapılmıştır. N₂ atmosferinde yapılan çalışmalarda, ortamda var olan oksijeni uzaklaştırmak için, 20-30 dk. boyunca saf N₂ gazı destek elektrolitten ve çözelti doldurulduktan sonra kalan boş hacimden geçirilmiştir. Tüm deneyler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Tüm elektrokimyasal ölçümlerde bir potansiyostat kullanılmıştır. Çalışmalar üç elektrot tekniği kullanılarak yapılmıştır. Tüm çalışmalarda referans elektrot olarak Ag/AgCl (doymuş KCl, NHE’ ye karşı E = 0,198 V) kullanılmıştır. Ölçümler iki kez tekrarlanmıştır. Her deney öncesinde Pt elektrotlar önce HNO₃/H₂O (50:50 v/v) çözeltisine daldırılmış ve sonra saf su ile yıkandıktan sonra 0,5 M H₂SO₄ çözeltisinde -2,5 V’ ta birkaç dakika elektroliz edilerek temizlenmiştir. EPPG çalışma elektrodu ise kumlu zımpara (P1200 1913 siawat, fc, SIA Abrasives Industries AG, Switzerland) ile dikkatlice zımparalanarak temizlenmiştir.

Pt levhanın çalışma elektrodu olarak kullanıldığı deneylerde, karşı elektrot olarak yine özdeş bir Pt levha elektrot tercih edilmiştir. EPPG’ nin çalışma elektrodu olarak kullanıldığı çalışmalarda ise, hem bir Pt tel hem de bir başka özdeş EPPG elektrot karşı elektrot olarak kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda, dönüşümlü voltamogramlar hem geniş bir potansiyel aralığında (-0,8 V ve +1,4 V) hem de katodik ve anodik yönde ayrı olarak alınmıştır. Voltametrik ölçümler 3 farklı tarama hızında (10; 50 ve 100 mV/s) gerçekleştirilmiştir. Tüm çalışmalarda 3’ er voltamogram (6 segment) alınmıştır.

3.2.7.2.(1). Ayrışma Potansiyeli ve Aşırı Gerilimi Belirleme Çalışmaları

Destek elektrolitte H₂ ve O₂ gazlarının Pt ve EPPG elektrotlarındaki ayrışma potansiyellerini ve bu elektrolit ortamında elektrottaki aşırı gerilimi belirlemek için,

polarizasyon eğrileri 2 mV/s tarama hızında, oda koşullarında ve N₂ atmosferinde, katodik ve anodik yönde doğrusal taramalı voltametre tekniği kullanılarak kaydedilmiştir. Pt/Pt levha elektrot çiftinin kullanıldığı çalışmada katodik polarizasyon eğrisi (0,0)-(-1,0) V, anodik polarizasyon eğrisi (0,0)-(1,8) V potansiyel aralığında kaydedilmiştir. EPPG/Pt ve EPPG/EPPG elektrot çiftlerinin kullanıldığı çalışmada ise, katodik polarizasyon eğrisi (0,0)-(-2,5) V, anodik polarizasyon eğrisi (0,0)-(2,5) V potansiyel aralığında kaydedilmiştir. Tüm taramalar ikişer tekrarlı olarak yapılmıştır. Potansiyelin akım yoğunluğuna karşı grafiğe alındığı polarizasyon eğrilerinden deneysel olarak katodik ve anodik yönde elektrotların ayrışma potansiyelleri belirlenmiş ve aşırı gerilimler pH 7’ de Nernst eşitliğinden faydalanılarak bulunan teorik ayrışma potansiyellerinden yola çıkılarak hesaplanmıştır.

3.2.7.3. Destek Elektrolitte Glukoz Varlığında Dönüşümlü Voltametre ve Kronoamperometre Çalışmaları

Bu çalışmada, destek elektrolite glukoz (10 mM) ilave edilerek N₂ atmosferinde, 50 mV/s tarama hızında, hem Pt/Pt hem de EPPG/Pt elektrot çiftleri kullanılarak geniş bir potansiyel aralığında (-0,8 ve +1,4 V) dönüşümlü voltametre tekniği ile çalışılmıştır. Çalışmada 3’ er voltamogram (6 segment) alınmıştır.

Glukozun destek elektrolitteki farklı derişimleri (10, 50, 100, 150 ve 200 ve 500 mM) de Pt ve EPPG elektrotlarda çalışılmıştır. Bu deneyler de N₂ atmosferinde, 50 mV/s tarama hızında yapılmıştır. Her derişim için 5’ er voltamogram (10 segment) alınmıştır. Pt/Pt elektrot çifti ile -0,2 ve +1,0 V potansiyel aralığında, EPPG/Pt elektrot çifti ile -0,4 ve +1,0 V aralığında çalışılmıştır. Ayrıca 200 ve 500 mM glukoz derişiminde destek elektrolitte Pt/Pt elektrot çifti ile 0 V’ dan -1,0 V’ a kadar, EPPG/Pt çifti ile 0 V’ dan -2,5 V’ a kadar katodik yönde 50 mV/s tarama hızında çalışılmıştır. Her çalışmada 5’ er voltamogram alınmıştır.

Sabit bir potansiyelde (+0,75 V), destek elektrolitte glukoz varlığında (11,1 mM) Pt ve EPPG elektrotlar ile 4 saat boyunca, oda sıcaklığında kronoamperometre çalışılmıştır. Deneyler N₂ atmosferinde gerçekleştirilmiştir. Başlangıçta ve deney

sonunda HPLC cihazında sulu çözelti analizi ile glukoz tüketimi belirlenmeye çalışılmıştır.

3.2.7.4. Platin ve EPPG Elektrotlarda Bakteri Varlığında Dönüşümlü Voltametre Çalışmaları

Çalışmanın bu bölümünde destek elektrolite *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü aşıl原因arak Pt elektrotlarda dönüşümlü voltametre çalışmaları yapılmıştır. Çalışmada destek elektrolite pepton (5 g/L), maya özütü (0,3 g/L) ve L-sistein (0,05 g/L) de ilave edilmiştir. Gerektiğinde bu çözeltinin pH' ı 1,0 M NaOH çözeltisi ile 7' ye ayarlanmıştır. Bu çözelti deney öncesi otoklavda 121°C' de 15 dk. steril edilmiştir. Çalışmada kullanılan *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü Bölüm 3.2.1.1' de anlatıldığı gibi geliştirildikten sonra deney öncesinde 25°C ve 4000 rpm' de 15 dk. santrifüj edilmiş ve çöken bakteriler steril organik içerikli destek elektrolite alınmıştır.

Dönüşümlü voltametre çalışmaları N₂ atmosferinde, 50 mV/s tarama hızında, -0,8 ve +1,4 V potansiyel aralığında ve oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Katodik ve anodik yönde de de aynı koşullarda çalışılmıştır. Tüm çalışmalarda 10 voltamogram (20 segment) alınmıştır. Organik içerikli destek elektrolit içinde Pt elektrotlarda H₂ ve O₂ gazlarının ayrışma potansiyelleri ve aşırı gerilimler Bölüm 3.2.7.2.1' de bahsedildiği şekilde doğrusal taramalı voltametre tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Buradan elde edilen sonuçlar ışığında organik içermeyen destek elektrolitte hem *S. oneidensis* MR-1 hem de *G. metallireducens* varlığında çalışılmıştır.

3.2.7.4.(1). Destek Elektrolitte Bakteri Varlığında Dönüşümlü ve Doğrusal Taramalı Voltametre Çalışmaları

Bu çalışmada, destek elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* varlığında Pt ve EPPG çalışma elektrotlarının davranışı karakterize edilmeye

çalışılmıştır. Destek elektrolite herhangi bir organik madde ya da karbon kaynağı eklenmemiştir.

S. oneidensis MR-1 ve *G. metallireducens* bakteri kültürleri 25°C ve 4000 rpm’ de 15 dk. santrifüj edildikten sonra çöken bakteriler doğrudan destek elektrolite alınmıştır. Pt ve EPPG elektrotlarda dönüşümlü voltametre çalışmaları, N₂ atmosferinde, 50 mV/s tarama hızında, (-0,8)-(1,4) V potansiyel aralığında ve oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu elektrotlarda benzer koşullarda katodik ve anodik yönde de ayrı olarak çalışılmıştır. Tüm çalışmalarda 5’ er voltamogram (10 segment) alınmıştır. Bakteri varlığında H₂ ve O₂ gazlarının elektrot yüzeyinden ayrışma potansiyelleri ve aşırı gerilimler Bölüm 3.2.7.2.1’ de bahsedildiği şekilde doğrusal taramalı voltametre tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen polarizasyon eğrilerinden bakterili ortamda deneysel olarak katodik ve anodik yönde elektrotların ayrışma potansiyelleri belirlenmiş ve aşırı gerilimler teorik ayrışma potansiyellerinden yola çıkılarak hesaplanmıştır.

3.2.7.5. Platin ve EPPG Elektrotların Yüzeyinde Biyofilm Oluşturma ve Karakterizasyon Çalışmaları

Çalışmanın bu kısmında *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* bakteri kültürünün elektrot yüzeyinde biyofilm oluşturularak karakterizasyonu elektrokimyasal olarak tespit edilmeye çalışılmıştır. Bunun için, bakteri aşılınmış destek elektrolitte katodik yönde sabit bir potansiyelde (-0,4 V), oda sıcaklığında, manyetik karıştırıcı üzerinde 100 rpm karıştırma hızında, 20 dk. boyunca bakterinin elektrot yüzeyine adsorblanması sağlanmıştır. Çalışmada Pt/Pt, EPPG/Pt ve EPPG/EPPG elektrot çiftleri kullanılmıştır. Deney ortamında anaerob ortam sağlamak için çözeltiden N₂ gazı geçirilmiştir. Biyofilm çalışmaları sonucunda elektrot yüzeyinde *S. oneidensis* MR-1 bakteri kültürünün varlığı, Pt/Pt çifti için +0,2 ve +1,2 V potansiyel aralığında, EPPG/Pt ve EPPG/EPPG çiftleri için -0,5 ve +1,0 V potansiyel aralığında dönüşümlü voltamogramlar alınarak belirlenmiştir. *G. metallireducens* bakteri kültürünün varlığı ise, Pt/Pt çifti için -0,5 ve +1,2 V potansiyel aralığında, EPPG/Pt ve EPPG/EPPG çiftleri için (-0,8)-(0,8) V potansiyel

aralığında dönüşümlü voltamogramlar alınarak belirlenmiştir. Ancak tüm dönüşümlü voltamogramlar bakterinin bulunmadığı destek elektrolitte alınmıştır. Bunun için bakterili ortamdan çıkarılan elektrotlar hızlı bir şekilde saf suya daldırılıp çıkarılmış ve sadece destek elektrolitin bulunduğu bir başka hücrede ölçümler alınmıştır

3.2.7.6. Platin ve EPPG Elektrotlarının Farklı Sıcaklıklarda Bakterisiz ve Bakterili Destek Elektrolitte Katodik Yönde Davranışlarının İncelenmesi

Bu çalışmada bakterili ve bakterisiz destek elektrolitte farklı sıcaklıklarda (20, 25, 30 ve 35 °C) Pt ve EPPG çalışma elektrotlarının katodik yönde davranışları incelenmiştir. Çalışmada standart elektrolit çözeltisi kullanılmış ve içerisine pepton (5 g/L), maya özütü (0,3 g/L) ve L-sistein (0,050 g/L) de ilave edilmiştir. Deneylerde kullanılan tüm cam malzemeler ve organik içerikli destek elektrolit otoklavda steril edilmiştir. Tüm deneyler N₂ atmosferinde gerçekleştirilmiştir. Deneyde çalışılan sıcaklıkları kontrol edebilmek için bir su banyosu ve sirkülatör kullanılmıştır. Bakterili ortamda gerçekleştirilen deneylerde de tüm koşullar yukarıda anlatıldığı şekilde sağlanmıştır. Deney öncesinde geliştirilen *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* saf bakteri kültürleri santrifüj edildikten sonra standart elektrolit çözeltisine aktarılmıştır.

Pt/Pt elektrot çifti ile katodik yönde taramalar 0,0 ve -1,0 V potansiyel aralığında, EPPG/Pt ve EPPG/EPPG elektrot çiftleri ile 0,0 ve -2,5 V potansiyel aralığında yapılmıştır. Tüm deneyler iki paralel halinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.7.7. İmpedans Çalışmaları

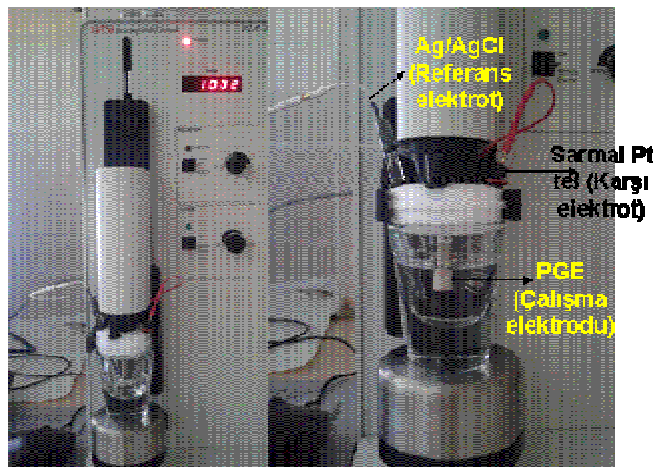
Elektrokimyasal impedans spektroskopisi, EPPG elektrot yüzeyine belirli bir potansiyel uygulanarak adsorblanan bakterilerin yüzeydeki kaplanma kesrini belirlemek ve oluşturulan biyofilmin farklı potansiyellerde kararlılığını tespit etmek için kullanılmıştır. Nyquist eğrileri anlık açık devre potansiyellerinde ve farklı

potansiyellerde (0,2; 0,5; 0,7 ve 1,0 V), 1mHz-100 kHz frekans aralığında, 5 mV genlikte kaydedilmiştir.

3.2.7.8. Döner Disk Elektrot Sistemi ile Yapılan Çalışmalar

3.2.7.8.(1). Substratsız Destek Elektrolitte Yapılan Elektrokimyasal Ölçümler

Çalışmanın bu kısmında döner disk elektrot sistemi kullanılarak (RDE-2 Rotating Disk Electrode, BAS Inc.) (Şekil 3.4) PGE elektrodun karakterizasyonu destek elektrolitte (Bk. Bölüm 3.2.7.1) gerçekleştirilmiştir. Üç elektrotlu sistemde yapılan bu çalışmada PGE elektrot (RDE-2 Pyrolytic graphite electrode-Edge Plane, 3 mm dia., BAS Inc.) çalışma elektrodu olarak kullanılırken bir platin tel (Coiled Platinum Electrode, 23 cm., BAS Inc.) karşı elektrot olarak kullanılmıştır. Referans elektrot olarak Ag/AgCl (RE-5B Reference Electrode, saturated KCl, BAS Inc.) ($E = +0,198$ V NHE' ye karşı) tercih edilmiştir. PGE elektrot yüzeyi deney öncesinde ya sulu alumina çamuru (CF-1050 Polishing Alumina, 0.05 μ m, 7 ml, BAS Inc.) ya da kumlu zımpara (P 1200) ile cilalanmıştır. Tüm deneyler, yaklaşık 20 ml' lik cam bir hücre içerisinde 15 ml destek elektrolit çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm çalışmalar oda sıcaklığında ve N₂ atmosferinde, biyofilm oluşturulması hariç, yapılmıştır.



Şekil 3.4. Döner disk elektrot sistemi

PGE elektrodunun destek elektrolitte karakterizasyonu öncelikle geniş bir potansiyel aralığında (-0,8 V' dan 1,4 V' a), 50 mV/s tarama hızında ve farklı dönme hızlarında (0, 100, 250, 500, 1000, 1500, 2000 ve 2500 rpm) gerçekleştirilmiştir. +0,2 ve -0,8 V potansiyel aralığında, 10 mV/s tarama hızında PGE çalışma elektrodu döndürülmeksizin de dönüşümlü voltamogramlar alınmıştır. Bu karakterizasyon çalışmalarında her bir çalışma için 3' er döngü (6 segment) alınmıştır.

Döner disk elektrot sistemi kullanılarak, *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* saf bakteri kültürlerinin PGE yüzeyinde biyofilm oluşturması sağlanarak destek elektrolitte karakterizasyonu ve elektron aktarım mekanizması belirlenmeye çalışılmıştır. İlk olarak, destek elektrolite bakteri aşılandığı anda -0,8 ve +1,4 V potansiyel aralığında, 50 mV/s tarama hızında, elektrot döndürülmeksizin çalışılmıştır. Sonra katodik yönde 10 mV/s tarama hızında çalışılmıştır. Benzer bir çalışma PGE yüzeyinde biyofilm oluşturularak da gerçekleştirilmiştir. Ancak PGE döner disk elektroda adsorblanmış *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* bakterilerinin kararlı hal voltamogramları bakterisiz taze destek elektrolitte alınmıştır. Katodik yönde 10, 50 ve 100 mV/s tarama hızlarında çalışılmıştır. Bu çalışmaların her birinde 3' er döngü (6 segment) alınmıştır. Proton indirgeme deneyleri ise, yine bakterisiz taze destek elektrolitte, -0,2 ve -0,8 V potansiyel aralığında, 6000 rpm dönme hızı ve 3 mV/s tarama hızında gerçekleştirilmiştir. Katalitik hız üzerinde substrat/ürün kütle taşınımının etkisini belirlemek amacıyla, sabit bir potansiyelde (-0,8 V) üç elektrotlu sistemde, farklı dönme hızlarında (0, 500, 700, 1000, 1500, 2500, 4000 ve 6000 rpm) kronoamperometri de çalışılmıştır.

PGE yüzeyinde adsorblanmış bakterinin katodik yöndeki kararlılığı, bakterisiz destek elektrolitte 10 mV/s tarama hızında 100 segment alınarak tespit edilmeye çalışılmıştır.

3.2.7.8.1.(1).a. PGE yüzeyinde biyofilm oluşturulması

Döner disk elektrot sistemi kullanılarak, PGE elektrotta *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* bakterileri film oluşturmada önce, elektrot yüzeyi ya alumina ya da kumlu zımpara ile cilalanmıştır. Sonra, daha önceden maksimum yoğunluğa

getirilen bakteriler santrifüj edilmiş ve çöken kültürler taze destek elektrolite aktarılmıştır. Sabit bir potansiyelde (-0,4 V), oda sıcaklığında, 1000 rpm dönme hızında çalışma elektrodu döndürülerek bir saat boyunca yükleme işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.2.7.6.(2). Substratsız Fosfat Tamponunda Yapılan Elektrokimyasal Ölçümler

Çalışmanın bu kısmında da döner disk elektrot sisteminde, destek elektrolit olarak 0,1 M fosfat tamponu (pH=7) kullanılarak *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* bakterilerinin hidrojen üretim aktiviteleri PGE elektrotta çalışılmıştır. Dönme çalışmaları döner disk PGE ile yapılmıştır. PGE elektrot yüzeyi kullanılmadan önce kumlu zımpara ile cilalanmış ve sonrasında yüzey saf su ile yıkanmıştır. Sarmal Pt tel karşı elektrot olarak kullanılmış ve kullanmadan önce 1 M H_2SO_4 ile birkaç dakika -2.5 V' ta elektroliz edilerek temizlenmiştir.

Dönüşümlü voltametre çalışmaları, sarmal Pt tel karşı elektrot ve Ag/AgCl (doymun KCl) referans elektrot olarak kullanılarak bir potansiyostat ile yapılmıştır. Bu çalışmadaki tüm değerler Ag/AgCl' e karşı (doymun KCl, $E = 0,198$ V) değerlendirilmiştir. Deneylerde çalışma çözeltisi olarak 0,1 M, pH = 7 potasyum fosfat tamponu kullanılmış ve bu çözelti hazırlandıktan sonra içerisinde 30 dk. kadar saf azot gazı geçirilmiştir. Döner disk elektrotlar için kullanılan elektrokimyasal hücre tepesi açık bir teflon kapak ile kapatılmış ve gaz değişimi döner disk elektrot sisteminde bulunan gaz giriş ve çıkış boruları aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan çözelti başlangıçta yaklaşık 2 dk. kadar uygun bir gaz ile doyurulmuştur. Kullanılan bakteri kültürleri yeterli yoğunluğa geldikten sonra santrifüj edilmiş, çöken bakteriler en az 2 kez fosfat tamponu ile yıkandıktan sonra taze, bakterisiz fosfat tamponuna aktarılmış ve elektrokimyasal ölçümlerde kullanılmıştır. Her deneyde çözeltide sabit bir bakteri miktarı sağlamak için spektrofotometrik olarak 600 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri alınmıştır. Sabit bir sıcaklık gerektiren deneylerde ceketli, yaklaşık 20 ml hacimli bir cam hücre kullanılmıştır. Sıcaklık kontrolü, ısıtılmalı bir su sirkülatörü kullanılarak sağlanmıştır.

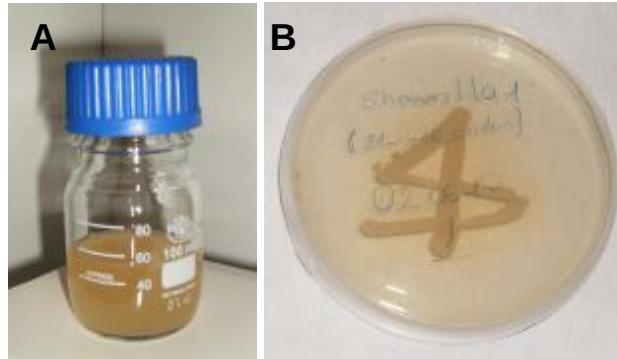
S. oneidensis MR-1 ve *G. metallireducens*, +0,20 ve -0,80 V potansiyel aralığında, 50 mV/s tarama hızında bakteri içerikli fosfat tamponunda kararlı bir sinyal elde edilene kadar ($\sim 100 \pm 25$ döngü, ~ 60 dk.) ardışık tarama ile durgun PGE elektroda adsorblanmıştır. Bu esnada çözeltiden devamlı olarak N₂ gazı geçirilmiştir. Daha sonra adsorblanmış bakteri filmi su ile yıkanmış ve elektrokimyasal karakterizasyon için taze, bakterisiz tampon çözeltiye aktarılmıştır. 50 mV/s tarama hızında, 0 rpm dönme hızında, N₂ atmosferinde +0,2 V' tan -0,8 V' a kadar adsorblanmış bakteri filminin dönüşümlü voltamogramı alınmıştır. Aynı koşullarda N₂ ile doyurulmuş tamponda negatif potansiyel arttırılarak da (+0,2 V' tan -1,0 ve -1,2 V' a) dönüşümlü voltamogramlar alınmıştır. Benzer koşullarda tarama hızı arttırılarak ve azaltılarak da çalışılmıştır. N₂ ile doyurulmuş tamponda 100 mV/s tarama hızında, 2000 rpm dönme hızında +0,2 V' tan -0,8 ve -1,2 V' a kadar çalışılmıştır. PGE' ye adsorblanmış bakteri filmi N₂ ile doyurulmuş tamponda, 50 mV/s tarama hızında, farklı dönme hızlarında da çalışılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Mikroorganizmaların Karakterizasyonu

S. oneidensis MR-1 saf bakteri kültürü iki farklı test metodu uygulanarak tanımlanmıştır.

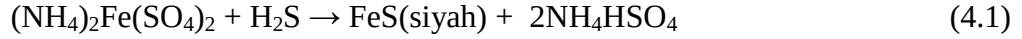
Bu testlerden biri katalaz oluşumudur. Testte %3' lük H_2O_2 çözeltisine sıvı kültür ortamında geliştirilen *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültüründen (Şekil 4.1A) birkaç damla damlatıldığında gaz çıkışı gözlenmiştir. Gaz çıkışının gözlenmesi bu test için pozitif sonuçtur. Gram-negatif, hareketli çubuk şeklindeki bakteriler bu teste pozitif sonuç vermektedir (Vogel ve ark., 2005). Geliştirdiğimiz *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü bu teste pozitif sonuç vermiştir.



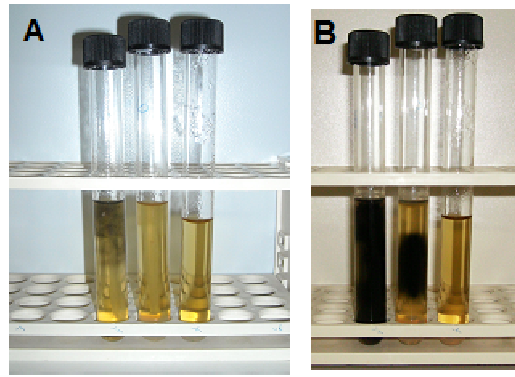
Şekil 4.1. Sıvı kültür ortamında (A) ve katı besi yerinde geliştirilmiş (B) *S. oneidensis* MR-1

Uygulanan bir başka test yöntemi ise tiyosülfattan H_2S oluşumudur. Bu test için, cam tüplere hazırlanan agarlı besi yerine iğne uçlu öze yardımı ile önceden çoğaltılmış *S. oneidensis* MR-1 katı kültüründen (Şekil 4.1B) ekim yapılmıştır. Tüpler $35 \pm 2^\circ C$ ' de etüvde 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrasında ekim bölgesinde bir bulanıklık gözlenmiştir. Merkezi saplama çizgisinde dışa yayılan gelişim (bulanıklık şeklinde gözlemlenmektedir) test edilen bu bakteri kültürünün hareketli olduğunu göstermektedir (Şekil 4.2A). Hareketlilik tespiti, ortamın yarı katı doğasından dolayı olasıdır. H_2S oluşumu ise, üremenin olduğu bölgelerde siyahlaşma ile belirlenebilmektedir. Bu testte sodyum tiyosülfat ve

demir(II)amonyum sülfat H_2S üretiminde indikatördür. Demir(II)amonyum sülfat, FeS üretmek için oluşan H_2S gazı ile reaksiyona girer ve siyah bir çökelti oluşturur (Eşitlik 4.1) (Vogel ve ark., 2005; MacFaddin, 1985; Ewing, 1986; Holt ve ark., 1994; Farmer, 1999).



Shewanella türleri bu teste pozitif sonuç vermektedir (Vogel ve ark., 2005). Şekil 4.2B’ de görüldüğü gibi, geliştirdiğimiz *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürünün ekildiği bölgelerde bu tür bir siyahlaşmanın olması bu yargıları desteklemektedir.



Şekil 4.2. *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü için H_2S oluşumu testi. A: Hareketlilik testi; B: H_2S oluşumu

G. metallireducens, pH 7 asetat ortamında sitokiyometrik olarak 1 mol asetat için 8 mol $Fe(III)$ ’ü CQ ’e yükseltgeyerek amorf demir oksihidroksitten $Fe(III)$ ’ü indirger (Lovley and Phillips, 1988). $Fe(III)$ sitrat-asetat ortamında gelişimin katı amorf demir (III) ortamından daha hızlı olduğu bilinmektedir. Ama $Fe(III)$ /asetat reaksiyon sitokiyometrisi 8:1 oranında kalmakta ve asetat yokluğunda *G. metallireducens* için sitrat uygun bir elektron verici olmadığından gelişim göstermemiştir (Lovley and Phillips, 1988). Bu çalışmada da *G. metallireducens* benzer şekilde gelişim göstermiştir. Geliştirilen kültürler Şekil 4.3’te gösterilmiştir. Bu kültür yaklaşık 4 ayda geliştirilmiş bir kültürdür.

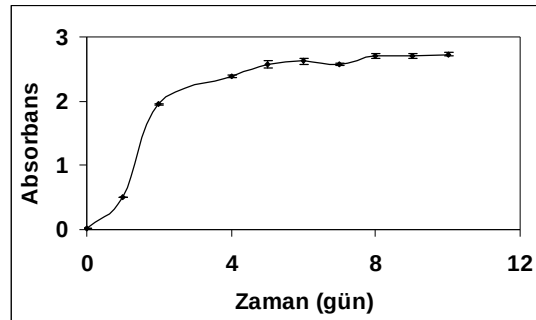


Şekil 4.3. Fe(III)sitrat-asetat ortamında geliştirilmiş *G. metallireducens*.

4.2. Bakterilerin Gelişim Sürecinin İzlenmesi

Saf bakteri kültürlerinin gelişim süreci, UV-VIS spektrofotometresi ile bakterilerin sıvı kültürdeki optik yoğunluğu (optic density, OD) 600 nm dalga boyunda gözlenen değişim izlenerek takip edilebilir.

Çalışmanın bu kısmında yalnız *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürünün sıvı kültürdeki gelişim süreci 10 gün boyunca takip edilmiştir. Bu süreçte günlük olarak ölçülen absorbans değerleri zamana karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.4). Grafiğe göre, bu bakteri kültürü 2. güne kadar hızlı bir gelişim göstermekte (çoğalma evresi) ve 4. güne kadar maksimum yoğunluğa ulaşmaktadır. Ancak 4. günden sonra bakteri kültüründeki gelişim yavaşlamaya başlarken 5. günden itibaren neredeyse sabit bir gelişim (duraklama evresi) göstermiştir. Bu sonuçlara göre, çalışmalarda *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürünü maksimum yoğunlukta kullanmak için en az 4 gün boyunca bu koşullarda geliştirmek gerekmektedir.



Şekil 4.4. Bakteri yoğunluğunun zamana karşı değişimi

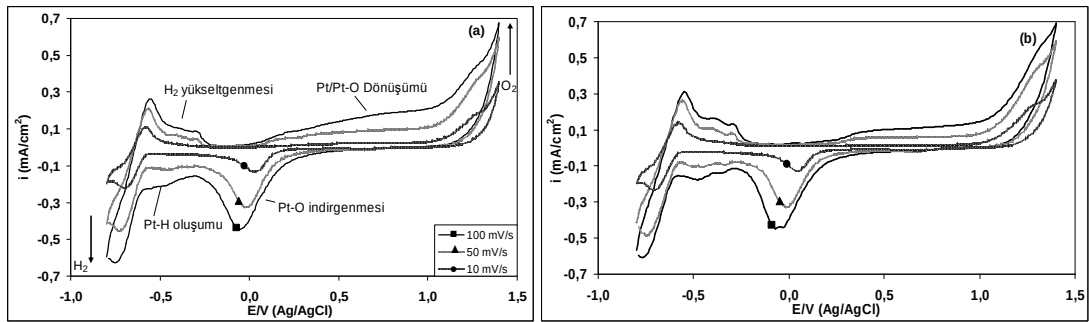
4.3. Mikrobiyal Elektroliz Mekanizmasının İncelenmesi

4.3.1. Platin ve EPPG Elektrotların Karakterizasyonu

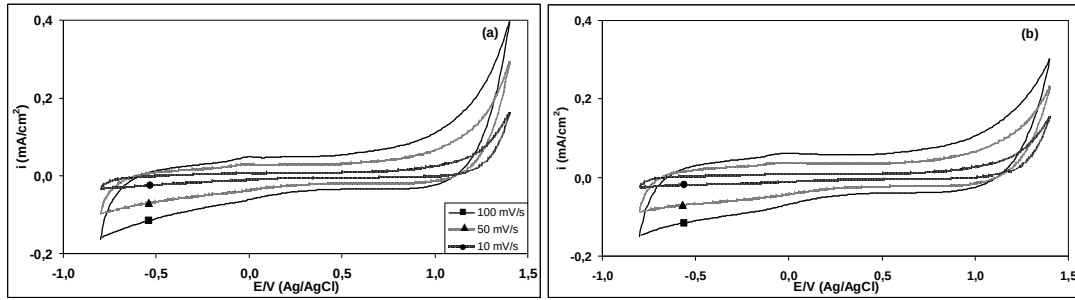
Dönüşümlü voltametre çalışmaları potansiyelin fonksiyonu olarak yüzeyin durumu hakkında önemli bilgiler vermektedir. Bu çalışmada bir destek elektrolitte (pH=7) Pt ve EPPG elektrotlar hem oda koşullarında hem de azot atmosferinde, farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltametre çalışmaları ile karakterize edilmeye çalışılmıştır. Çalışmalarda karşı elektrot olarak da hem Pt hem de hem de EPPG kullanılmıştır. Ancak bu elektrotların yüzey alanlarındaki farklılıklardan dolayı ölçüm sonuçları kıyaslama yapabilmek için akım yoğunluğu türünden verilmiştir.

Şekil 4.5 ve Şekil 4.6 sırasıyla Pt ve EPPG elektrotların voltamogramlarını göstermektedir. Öncelikle, her iki şekilden de anlaşılacağı gibi, kullanılan atmosferik koşullara bağlı olarak bu elektrotların kinetikleri hakkında önemli farklılıklar görülmemektedir. Şekil 4.5’ teki voltamogram üç ana bölgeye bölünerek incelenebilir (Vielstich, 2003):

1. Hidrojen bölgesi
2. Çift tabaka bölgesi
3. Oksijen bölgesi



Şekil 4.5. Destek elektrolitte farklı tarama hızlarında Pt elektrodun (Pt’ e karşı) dönüşümlü voltamogramları. (a) Oda koşulları (b) N₂ atmosferi



Şekil 4.6. Destek elektrolitte farklı tarama hızlarında EPPG elektrodun (Pt' e dönüşümlü voltamogramlar. (a) Oda koşulları (b) N₂ atmosferi

Literatürde de bahsedildiği gibi, Pt elektrotlar kullanıldığı zaman hidronyum iyonunun indirgenmesi ve moleküler oksijenin yükseltgenmesine ilişkin karakteristik pikler katodik yönde gösterilmektedir.



Yığın (bulk) hidrojenin oluşumu çalışılan koşullar altında termodinamik olarak hesaplanan elektrot potansiyelinin yakınında başlar. Geri yöndeki taramada, potansiyel H₂/OH⁻ denge potansiyelinden daha pozitif olduğu zaman adsorblanmış hidrojen molekülleri yeniden okstilenebilir. Bu potansiyel bölgesi civarındaki akım yoğunluğu elektrodun kristalografik yapısına ve elektrolitteki anyonik türlerin varlığına oldukça bağlıdır (Vielstich, 2003).

-0,25 ve 0,10 V potansiyel bölgesi çift tabaka bölgesi olarak ele alınabilir. Metal yüzeyi üzerinde hidroksit iyonlarının kemisorpsiyonu 0,10 V' tan daha büyük potansiyellerde gerçekleşmektedir (Eşitlik 4.3). Sonuç olarak, platin oksit oluşumu meydana gelmekte ve anodik akım gözlemlenmektedir.

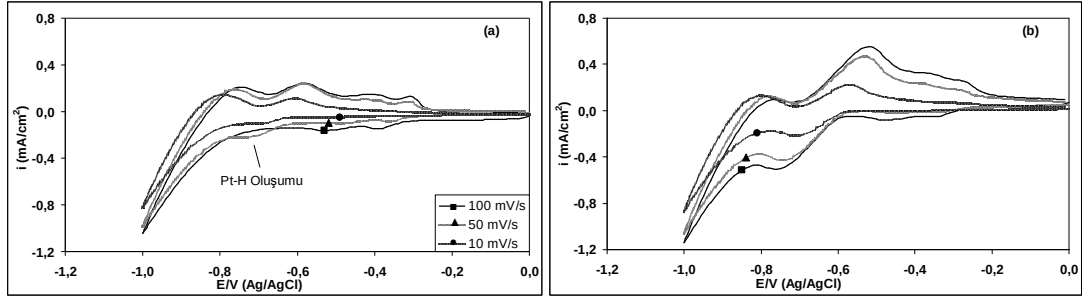


Ters yöndeki tarama esnasında 0,0 V civarında katodik bir pik gözlenmiştir. Bu durum yüzeydeki platin oksidin indirgenmesine bağlanmıştır. Potansiyel +1,10 V' un yukarısına çıktığında oksijen gazının oluşumu ve anodik akım artışı gözlenmiştir.

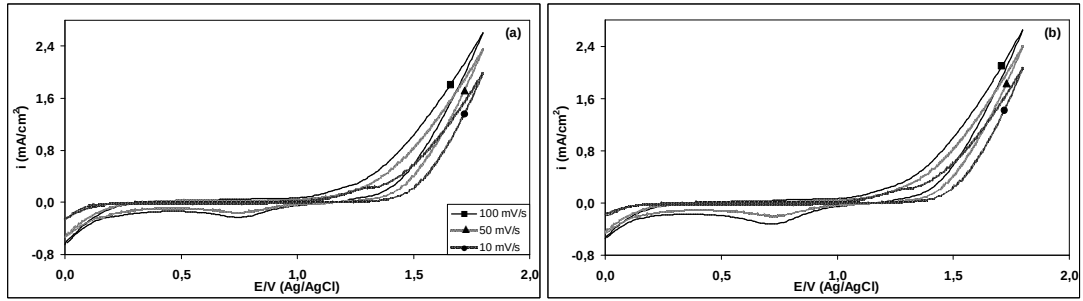
Difüzyon tabakası kinetiğindeki değişikliklerden dolayı, elektrot/çözelti ara yüzeyinde gerçekleşen reaksiyon kinetiğinin tarama hızı ile değişebildiği literatürde bilinmektedir. Bu, elektrot tepkimesiyle oluşan ara ürünlerin kararlılıklarıyla ilgili görüşlerin belirlenmesinde yardımcı olmaktadır. Düşük tarama hızlarında, başlangıçta oluşan ara ürünlerin yeniden yükseltgenmesine karşılık gelen, iki veya daha çok elektron aktarımını içeren voltametrik yükseltgenmeler gözlenebilir. Tarama hızı arttırıldığında ise kimyasal adımlar saf dışı edilebilir ve böylece ilk ürünün ya da katyonun indirgenme pikini gözlemleme olanağı doğabilir (Adams, 1969). Şekil 4.5 ve Şekil 4.6' da görülebildiği gibi, hem ileri yönde hem de geri yöndeki taramalarda akım yoğunlukları tarama hızı ile düzenli bir şekilde artmıştır.

EPPG elektrot kullanıldığında yığın hidrojen gazının oluşumu -0,80 V elektrot potansiyeline kadar gözlenememiştir (Şekil 4.6). Aksine, oksijen oluşumu neredeyse Pt elektrotla yakın potansiyelde gerçekleşebilmektedir.

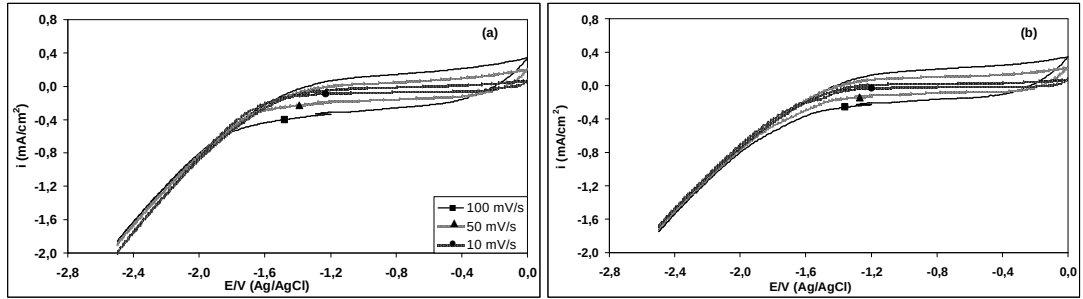
Pt ve EPPG elektrotta hidrojen oluşumu reaksiyon kinetiğini anlamak için katodik ve anodik potansiyellerde ayrı olarak çalışılmıştır. Bu sayede elektrot yüzeyindeki net değişimler daha iyi gözlenebilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10' da gösterilmiştir. Pt, literatürde tanımlanmış hidrojen oluşum reaksiyon mekanizması için (Gennero de Chialvo ve Chialvo, 1994) karakteristik pikler göstermiştir (Şekil 4.7). EPPG elektrodun daha yüksek katodik potansiyellerde bile hidrojen üretimi göstermemesi şaşırtıcıdır. Elektrot potansiyeli tarama esnasında -2,0 V' a ulaştığı zaman yığın hidrojen gaz üretimi başlamaktadır (Şekil 4.8). EPPG elektrotta hidrojen üretimi için bu potansiyelin daha üzerinde bir potansiyele gereksinim duyulduğu açıkça görülmektedir. Aynı zamanda, hidrojen üretiminin iki basamaklı mekanizmasında gösterilen pikler gözlenmemiştir. Bu, EPPG elektrotta hidrojen oluşum mekanizmasının farklı olduğu fikrini beraberinde getirmektedir.



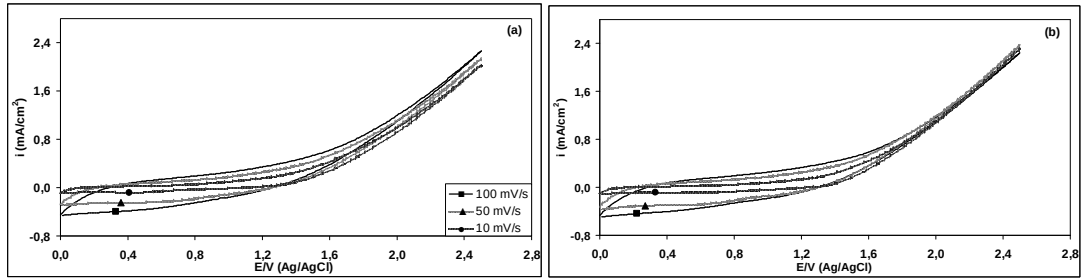
Şekil 4.7. Farklı tarama hızlarında katodik potansiyellerde Pt elektrot (Pt' e karşı) ile destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (a) Oda koşulları (b) N₂ atmosferi



Şekil 4.8. Farklı tarama hızlarında anodik potansiyellerde Pt elektrot (Pt' e karşı) ile destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (a) Oda koşulları (b) N₂ atmosferi



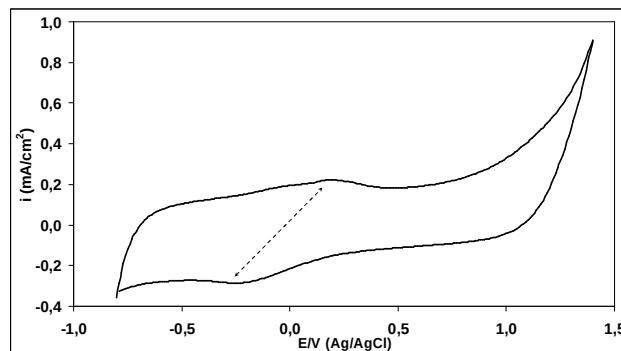
Şekil 4.9. Farklı tarama hızlarında katodik potansiyellerde EPPG elektrot (Pt' e karşı) ile destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (a) Oda koşulları (b) N₂ atmosferi



Şekil 4.10. Farklı tarama hızlarında anodik potansiyellerde EPPG elektrot (Pt' e karşı) ile destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (a) Oda koşulları (b) N₂ atmosferi

Dönüşümlü voltametre çalışmaları her iki elektrot üzerinde oksijen gazı oluşumunun kinetiği ile ilgili önemli bir fark olmadığını göstermiştir. Ayrıca, farklı atmosferler (oda koşulları ve azot) kullanıldığı zaman önemli farklılıklar görülmemiştir.

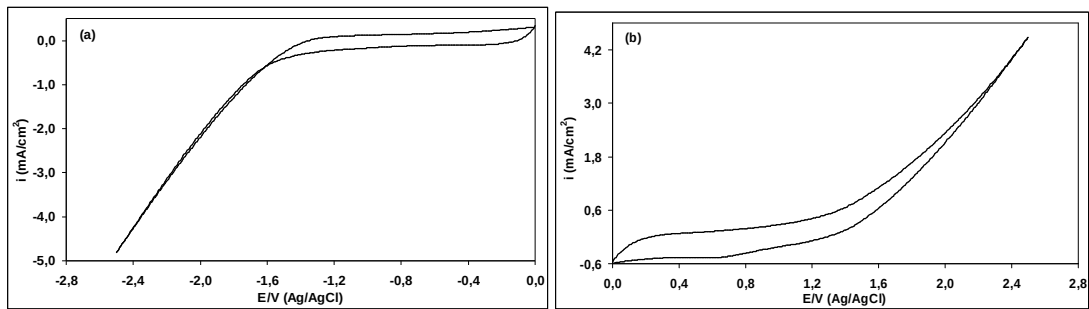
N₂ atmosferinde, oda sıcaklığında ve sabit bir tarama hızında (50 mV/s) EPPG çalışma elektrodunun yine EPPG elektroduna karşı destek elektrolitteki davranışı Şekil 4.11' de gösterilmektedir. EPPG-EPPG çifti için, şekildeki voltamogramda anodik (yaklaşık 0,2 V civarında) ve katodik yönde (yaklaşık -0,2 V civarında) yükseltgenme ve indirgenme piklerine rastlanmaktadır.



Şekil 4.11. EPPG-EPPG elektrot çiftinin 50 mV/s tarama hızında N₂ atmosferinde destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramı

EPPG-EPPG elektrot çifti kullanıldığında da yoğun hidrojen gazının oluşumu -0,80 V elektrot potansiyeline kadar gözlenememiştir (Şekil 4.11). Bu elektrot çifti kullanıldığında da hidrojen oluşumu reaksiyon kinetiğini anlamak için katodik ve anodik potansiyellerde çalışılmıştır. Sonuçlar Şekil 4.12' de gösterilmiştir. Burada da

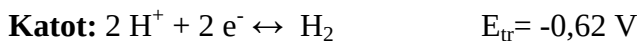
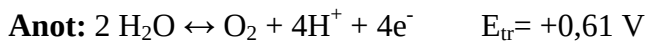
EPPG daha yüksek katodik potansiyelerde bile hidrojen üretimi göstermemektedir. Elektrot potansiyeli tarama esnasında -2,0 V' a ulaştığı zaman yığın hidrojen gaz üretimi başlamaktadır. EPPG-EPPG elektrot çifti kullanıldığında da hidrojen üretimi için bu potansiyelin daha üzerinde bir potansiyele ihtiyaç duyulduğu görülmektedir. Burada da, hidrojen üretiminin iki basamaklı mekanizmasında gösterilen pikler gözlenmemiştir. Bu sonuç da, EPPG elektrotta hidrojen oluşum mekanizmasının farklı olduğu sonucunu ortaya koymaktadır.



Şekil 4.12. 50 mV/s tarama hızında, N₂ atmosferinde (a) katodik ve (b) anodik potansiyelerde EPPG-EPPG elektrot çifti ile destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar

4.3.1.1. Ayrışma Potansiyeli ve Aşırı Gerilimlerin Belirlenmesi

Destek elektrolitte (pH 7) hidrojen ve oksijen gazlarının oluşumları için tersinir ayrışma potansiyelleri (E_{tr}) Nernst eşitliği kullanılarak hesaplanmış ve yarı reaksiyonlar ile birlikte aşağıda verilmiştir. Bu değerler Ag/AgCl referans elektroduna (doğun KCl' de $E = 0,198$ V) karşı düzeltilmiştir.



Destek elektrolitte Pt ve EPPG elektrotlar için deneysel olarak belirlenen H₂ ve O₂ ayrışma potansiyelleri ve aşırı gerilimler Çizelge 4.1' de özetlenmiştir (Bk. Ek-B: Pt ve EPPG Elektrotların Destek Elektrolitte Deneysel Ayrışma Potansiyellerinin

Belirlendiği Doğrusal Taramalı Voltamogramlar). Aşırı gerilimler (η) aşağıdaki bağıntı ile hesaplanmıştır (Eşitlik 4.5).

$$\eta = E_d - E_{tr} \quad (4.5)$$

E_d : Deneysel ayrışma potansiyeli

E_{tr} : Tersinir ayrışma potansiyeli

Çizelge 4.1. Platin ve EPPG elektrotların oda koşullarında ve N₂ atmosferinde hesaplanan deneysel ayrışma potansiyelleri ve aşırı gerilimler

Çalışma/Karşı Elektrotlar	Oda koşulları				N ₂ atmosferi			
	E_d/V		η/V		E_d/V		η/V	
	Katot	Anot	Katot	Anot	Katot	Anot	Katot	Anot
Pt/Pt	-0,83	1,41	0,21	0,80	-0,83	1,41	0,21	0,80
EPPG/Pt	-1,60	1,62	0,98	1,01	-1,60	1,48	0,98	0,87
EPPG/EPPG					-1,65	1,56	1,03	0,95

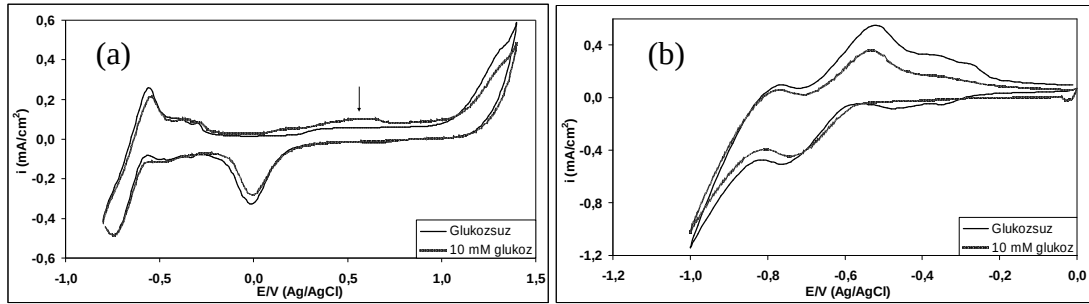
Çizelge 4.1’ den görüldüğü gibi, oda koşullarında katot reaksiyonu için Pt elektrodun aşırı gerilimi 0,21 V iken, anot reaksiyonu için 0,80 V’ tur. Oda koşullarında EPPG-Pt elektrot çiftinde katodik aşırı gerilim 0,98 V iken, anodik aşırı gerilim 0,87 V’ tur. N₂ atmosferinde ise hem Pt hem de EPPG için hesaplanan değerler benzerlik göstermektedir. EPPG-EPPG elektrot çifti için N₂ atmosferinde hesaplanan katodik ve anodik aşırı gerilimler sırası ile 1,03 V ve 0,95 V’ tur.

Sonuç olarak, deneysel H₂ ve O₂ oluşum potansiyelleri Pt çifti ile kıyaslandığında EPPG elektrotlarda daha yüksek bulunmuştur. Aşırı gerilimin de EPPG elektrotlarda daha yüksek olduğu görülmektedir. Hem anot hem de katot aşırı gerilimleri EPPG elektrotlarda artmıştır. Ayrıca, farklı atmosferler (oda koşulları ve N₂ atmosferi) kullanıldığı zaman önemli farklılıklar görülmemiştir. Pt’ nin çalışılan pH’ da aşırı geriliminin düşük olması, hidrojen ve oksijen gazlarının elektrot yüzeyinden daha kolay ayrılmasını sağlamakta ve bu da Pt’ nin hidrojen gaz oluşumunda etkin bir elektrot olduğunu kanıtlamaktadır. Kısaca, aşırı gerilimlerin oluşumunda enerji kayıpları sistemin tüm etkinliğini büyük ölçüde etkilediği için, EPPG’ nin hidrojen oluşumu için Pt ile yarışamayacağı söylenebilir.

4.3.2. Platin ve EPPG Elektrotlarda Glukozun Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

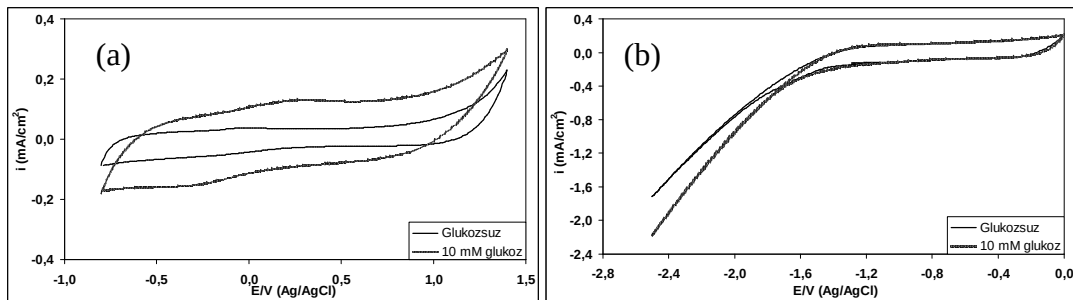
Bu bölümde dönüşümlü voltametre tekniği kullanılarak pH' 7 olan bir destek elektrolitte D(+)-glukozun elektrokimyasal davranışı Pt ve EPPG elektrotlarda irdelenmeye çalışılmıştır. Glukoz, Bölüm 4.4' te bahsedilen mikrobiyal elektroliz çalışmalarında model substrat/karbon kaynağı olarak kullanılmıştır. Ancak elektroliz çözeltisi bileşiminde farklı organik maddeler ve saf bakteri kültürü de bulunmaktadır. Bu bölümdeki çalışmalar ise bir destek elektrolitte glukoz dışında herhangi bir organik madde kullanılmadan, bakterisiz ortamda gerçekleştirilerek glukozun tek başına Pt ve EPPG elektrotlardaki davranışı ortaya konulmuştur. Bu sayede diğer sistem parametrelerinin etkisi elimine edilmiştir.

Şekil 4.13a, glukoz yokluğunda (—) ve varlığında (---) -0,8 ve +1,4 V potansiyel aralığında, 50 mV s⁻¹ tarama hızında, bir destek elektrolitte (pH 7) Pt elektrodun davranışını gösteren dönüşümlü voltamogramları temsil etmektedir. Şekilde, Pt elektrodun çalışılan koşullarda eklenen glukoz tepki gösterdiği ve yaklaşık 0,0 V' tan başlayıp +0,8 V' a kadar iki oksidasyon piki gösterdiği görülmektedir. Potansiyel +1,0 V' un yukarısına çıktığında oksijen gazının çıkışı ve anodik akımda azalış gözlenmektedir. Ters yöndeki taramada ise 0,0 V civarında Pt-O indirgenme piki gözlenmekte, ama buradaki katodik akım biraz azalmaktadır. Bu sonuçlar, Pt elektrodun glukozu karşı elektrokatalitik aktivite gösterdiğini kanıtlamaktadır. Glukozun platin elektrotta hidrojen çıkışına etkisinin olup olmadığını gözlemlemek için katodik yönde de dönüşümlü voltametre çalışması yapılmıştır. Şekil 4.13b' de elde edilen voltamogramdan da görüleceği gibi, glukoz varlığı platin elektrotta hidrojen çıkışına olumsuz bir etki göstermemektedir. Çünkü her iki voltamogramda da okunan akım yoğunluklarında önemli bir fark gözlenmemektedir. Örneğin, her iki voltamogramda -1,0 V' ta akım yoğunlukları (glukozsuz -1,142 mA/cm², 10 mM glukoz varlığında -1,022 mA/cm²) birbirine oldukça yakındır (Şekil 4.13b).



Şekil 4.13. Destek elektrolitte Pt elektrodun glukozu karşı davranışı. (a) -0,8 ve +1,4 V (b) 0,0 ve -1,0 V. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 10 mM; T (K): 298; pH=7

Şekil 4.14, Pt elektrotla benzer koşullarda, glukoz yokluğunda (—) ve varlığında (---) EPPG elektrodun (Pt' e karşı) davranışını gösteren dönüşümlü voltamogramlardır. Voltamogramlarda glukoz varlığında hem anodik hem de katodik yöndeki akım artışı EPPG elektrodun glukozu tepkisini göstermektedir. Aynı zamanda, voltamogramda yaklaşık 0,3 V civarında glukozu ait olduğu bilinen bir oksidasyon pikinin varlığından söz edilebilir. EPPG elektrodun glukozu karşı elektrokatalitik aktivite gösterdiğini bu sonuçlar kanıtlamaktadır. EPPG elektrodun glukoz varlığında hidrojen çıkışına bir etkisinin olup olmadığını gözlemlemek için yine katodik yönde taramalar yapılmıştır. Şekil 4.14b' de elde edilen voltamogramdan da görüleceği gibi, glukoz varlığı EPPG elektrotta hidrojen çıkışına olumsuz bir etki göstermemektedir. Aksine akım yoğunluğunda artışa sebep olmuştur.

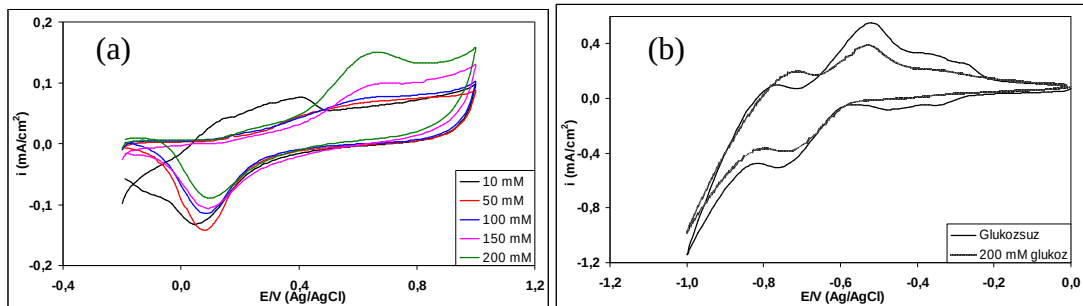


Şekil 4.14. Destek elektrolitte EPPG elektrodun glukozu karşı davranışı. (a) -0,8 ve +1,4 V (b) 0,0 ve -2,5 V. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 10 mM; T (K): 298; pH=7

4.3.2.1. Platin ve EPPG Elektrotlar Üzerinde Glukoz Derişimindeki Değişimin Etkisi

Çalışmanın bu kısmında, glukoz derişimindeki değişimin platin ve EPPG elektrotlar üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

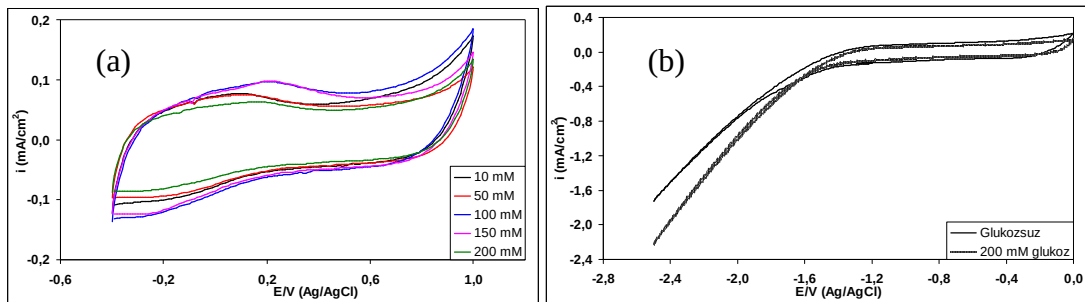
Şekil 4.15a, standart elektrolitte hazırlanan 10 (siyah), 50 (kırmızı), 100 (mavi), 150 (pembe) ve 200 (yeşil) mM glukoz çözeltilerinin -0,2 ve + 1,0 V potansiyel aralığında, 50 mV s^{-1} tarama hızında platin elektrotta alınan dönüşümlü voltamogramlarını göstermektedir. Voltamogramdan da görüleceği gibi, Pt elektrot glukozun farklı derişimlerine daha iyi cevap vermekte ve glukoz derişimi arttıkça 0,4 V' tan 0,8 V' a kadar gözlenen oksidasyon pikinin ~~akı~~ yoğunluğu giderek artmaktadır. 200 mM glukoz varlığında katodik yönde yapılan taramada (Şekil 4.15b) ise, glukozun olmadığı duruma göre, akım yoğunluğunda önemli bir değişim gözlenmemiştir. Bu da glukoz varlığının platin elektrotta hidrojen çıkışı üzerinde olumsuz bir etki yaratmayacağını göstergesidir.



Şekil 4.15. (a) Destek elektrolitte farklı glukoz derişimlerinde Pt elektrodun dönüşümlü voltamogramları. (b) Katodik yönde glukoz varlığında (200 mM) platin elektrodun davranışı. Tarama hızı: 50 mV/s ; T (K): 298; pH=7

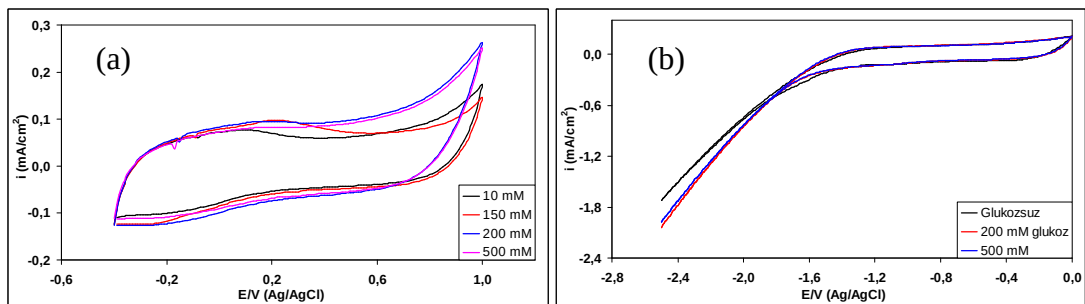
Şekil 4.16a, standart elektrolitte hazırlanan 10 (siyah), 50 (kırmızı), 100 (mavi), 150 (pembe) ve 200 (yeşil) mM glukoz çözeltilerinin -0,4 ve + 1,0 V potansiyel aralığında, 50 mV s^{-1} tarama hızında EPPG elektrotta (Pt' e karşı) alınan dönüşümlü voltamogramları gösterilmektedir. Voltamogramdan da görüleceği gibi, EPPG elektrot glukozun farklı derişimlerine cevap vermekte ve glukoz derişimi arttıkça 0,0 V' tan 0,4 V' a kadar gözlenen oksidasyon pikinin ~~akı~~ yoğunluğu

giderek artmaktadır. Ayrıca derişim arttıkça oksidasyon piki daha pozitif potansiyele kaymaktadır. Ancak 200 mM glukoz derişiminde akım yoğunluğu şaşırtıcı bir şekilde azalmıştır. 200 mM glukoz varlığında katodik yönde yapılan taramada (Şekil 4.16b) ise ortama glukoz eklendiğinde akım yoğunluğunda artış gözlenmektedir. Bu sonuç, glukoz varlığının EPPG elektrotta hidrojen gazı oluşumunda olumsuz bir etki yaratmayacağını kanıtlamaktadır.



Şekil 4.16. (a) Destek elektrolitte farklı glukoz derişimlerinde EPPG elektrodun dönüşümlü voltamogramları. (b) Katodik yönde glukoz varlığında (200 mM) EPPG elektrodun davranışı. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7

Daha yüksek miktarda glukoz (500 mM) kullanıldığında EPPG elektrodun (Pt' e karşı) Şekil 4.16' da gösterilen potansiyel aralığında ve katodik yöndeki davranışı Şekil 4.17' de gösterilmiştir. Buna göre, 200 ve 500mM glukoz derişiminde 0,0 V' tan itibaren akım yoğunluğu giderek daha da artmaktadır, ama her iki derişim arasında önemli bir fark gözlenmemektedir. Benzer sonuç katodik yönde alınan dönüşümlü voltamogramda da gözlenmektedir.

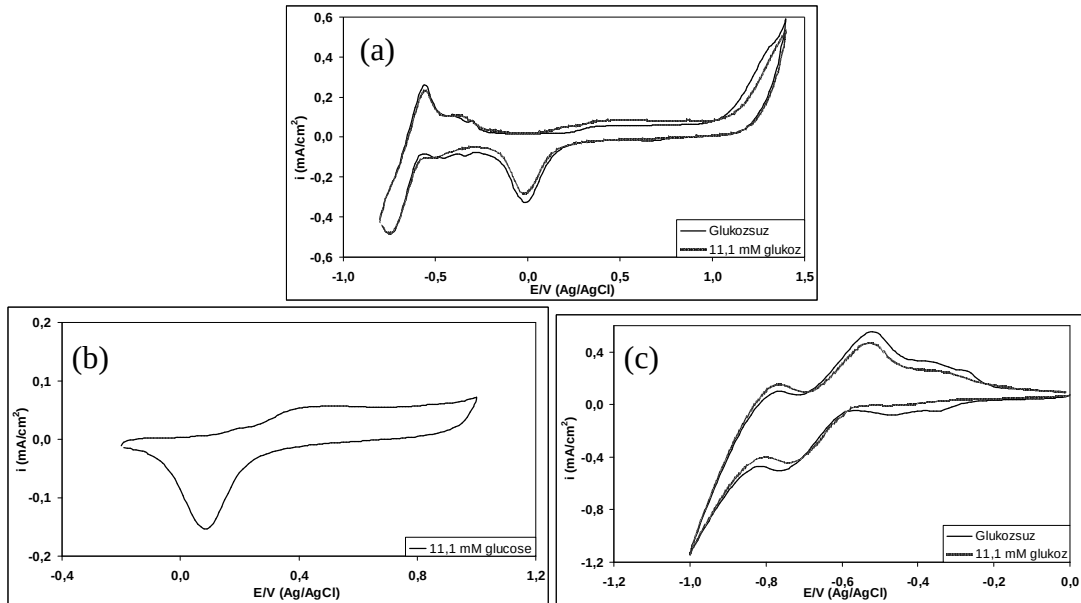


Şekil 4.17. Destek elektrolitte 10, 150, 200 ve 500 mM glukoz varlığında EPPG elektrodun dönüşümlü voltamogramları. Karşı elektrot: Pt; tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7

4.3.2.2. Platin ve EPPG Elektrotlarda Glukozun Oksidasyonu ve Kronoamperometrik Çalışma

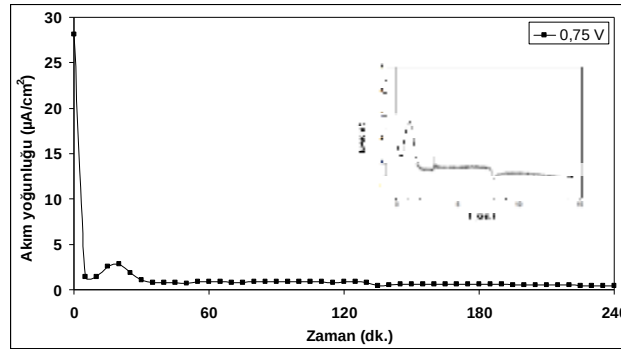
Bir elektrodun amperometrik cevabı, genel olarak kronoamperometri kullanılarak düzenli zaman aralıklarında analitin bilinen miktarı eklenip sabit bir potansiyelde akım ölçülerek çalışılmaktadır. Bu çalışmada da elektroliz çalışmalarında kullanılan glukoz miktarı dikkate alınarak önce dönüşümlü voltametre çalışmaları ve ardından kronoamperometrik çalışma yapılmıştır.

Şekil 4.18a’ da gösterilen dönüşümlü voltamogram glukoz varlığında (11,1 mM) ve yokluğunda -0,8 ve +1,4 V potansiyel aralığında, 50 mV s⁻¹ tarama hızında, destek elektrolitte (pH 7) Pt elektrodun davranışını göstermektedir. Buna göre, Pt elektrotta 0,0 V’ tan 1,0 V’ a kadar glukoz oksidasyonun gerçekleştiğini söyleyebiliriz. Potansiyel aralığı daraltıldığında platin elektrotta glukozun oksidasyon piki daha net gözlenebilmektedir (+0,2 V ve +0,8 V aralığı) (Şekil 4.18b). Glukoz varlığının Pt elektrotta hidrojen gazı oluşumuna etkisi katodik yönde yapılan taramalarla belirlenmiştir. Şekil 4.18c’ den de görüldüğü gibi, hidrojen gazının oluşmaya başladığı potansiyelde (-0,8 V’ tan sonra) ölçülen akım yoğunluğunda önemli bir değişiklik gözlenmemektedir. Bu, çözeltide glukoz varlığının Pt elektrotlarda hidrojen gazı oluşumuna olumsuz bir etki yaratmayacağının göstergesidir.



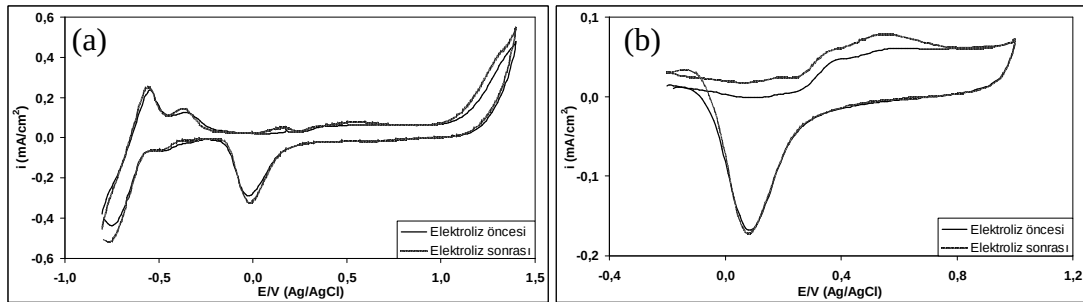
Şekil 4.18. (a) Destek elektrolitte glukoz yokluğunda ve varlığında Pt elektrodun dönüşümlü voltamogramı. (b) Destek elektrolitte Pt elektrotta glukoz oksidasyonunu gösteren voltamogram. (c) Katodik yönde Pt elektrodun glukoz varlığındaki davranışı. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 11,1 mM; T (K): 298; pH=7

Bu çalışmalar ışığında, Pt elektrotta 0,0-1,0 V potansiyel aralığında glukoz oksidasyona uğrayabildiğine göre, kronoamperometrik çalışmada glukozun elektrokimyasal olarak oksidasyonu için +0,75 V (Ag/AgCl' e karşı) tercih edilmiştir. Buna göre, destek elektrolitte hazırlanan 11,1 mM glukoz çözeltisi +0,75 V potansiyelde 4 saat boyunca elektroliz edilmiştir. Bu kronoamperometrik çalışmada elde edilen akım yoğunluğu-zaman grafiği Şekil 4.19' da gösterilmektedir.Şekilden de görüleceği gibi, akım çözelti ve elektrot yüzeyi arasındaki konsantrasyon değişiminden dolayı hızlı bir düşüş göstermiştir. Grafiğin içinde gösterilen diğer grafikte akım yoğunluğundaki hızlı düşüşten 4 saat boyunca devam eden akım değişimi daha net görülmektedir. Buradan anlaşılabacağı gibi, akım yoğunluğu başlangıçta yükselmiş, daha sonra giderek azalmış ve sonrasında sabit bir şekilde devam etmiştir. Deney öncesi ve sonrasında HPLC ile yapılan sulu çözelti analizlerinde ortamdaki glukozun hiç tükenmediği ve/veya farklı bir yan ürün oluşturmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.19. +0,75 V potansiyelde destek elektrolite eklenen glukozun (11,1 mM) Pt elektrotta kronoamperometrik çalışma sonucunda elde edilen akım yoğunluğu-zaman grafiği

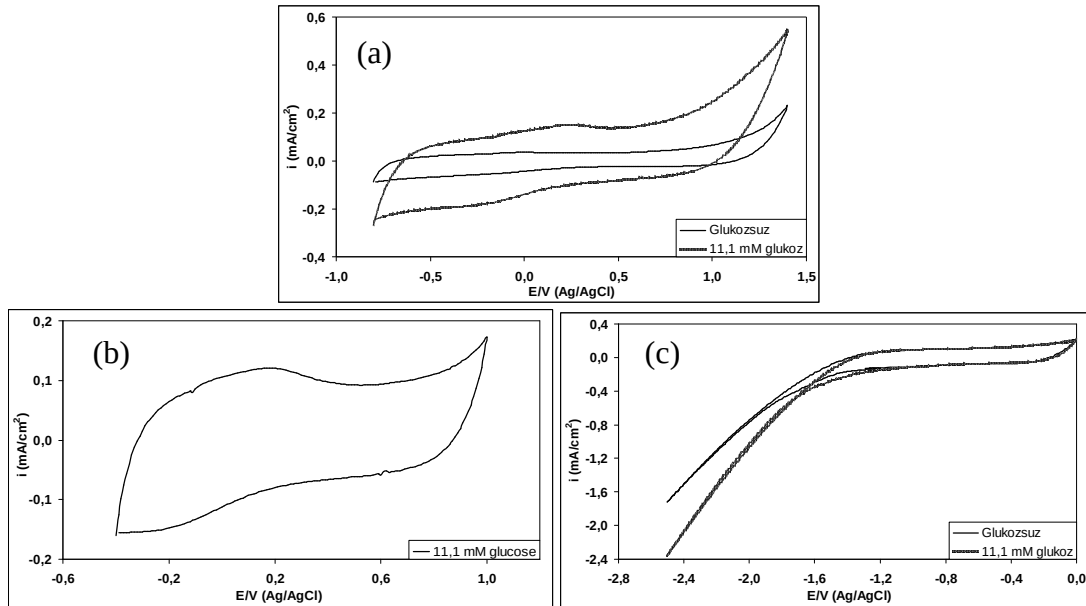
Elektroliz öncesi ve sonrası alınan dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde (Şekil 4.20), Şekil 4.20a' da elektroliz sonrası 0,0 ve 0,2 V ile 0,2 ve 0,8 V arasında belirgin oksidasyon pikleri gözlenmiştir. Yanı sıra, Pt-O indirgenme pikinin ve hidrojen gazı oluşumunun gözlemlendiği bölgelerde akım yoğunluğunda biraz artış gözlenmektedir. Şekil 4.20b' de ise 0,3 V' tan 0,8 V' a kadar iki oksidasyon piki daha belirgin gözlenmektedir. Bu sonuçlar, glukozun oksidasyona uğrayarak yan ürünler oluşturduğunu düşündürmektedir. Ancak HPLC analiz sonuçlarına göre, sulu çözeltide önemli ölçüde bir glukoz tüketimine rastlanmamıştır.



Şekil 4.20. Destek elektrolitte hazırlanan glukozun elektroliz öncesi ve sonrasında (a) -0,8 ve +1,4 V ve (b) -0,2 ve +1,0 V potansiyel aralığında Pt elektrotta alınan dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 11,1 mM; T (K): 298; pH=7; $E_{uygulama}$: +0,75 V

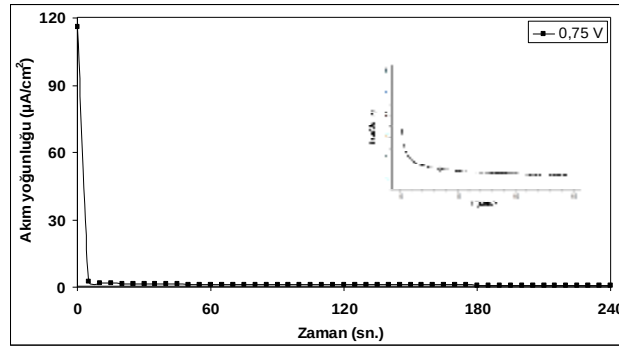
Pt elektrotla benzer koşullarda EPPG elektrot (Pt' e kağı) kullanılarak da çalışılmıştır. Burada, çözeltide glukoz varlığında hem anodik hem de katodik yönde net bir akım artışı gözlenirken 0,2 V civarında bir oksidasyon pikinin varlığından söz

edilebilir (Şekil 4.21a ve 21b). Bu glukoz derişiminde katodik yönde yapılan taramada ise akım yoğunluğu potansiyel artışı ile paralel bir şekilde artmış ve katodik aşırı gerilimi düşürmüştür (Şekil 4.21c). Bu sonuç, glukoz varlığının EPPG elektrotta hidrojen gazı oluşumuna olumsuz bir etki yaratmayacağını gösterir.



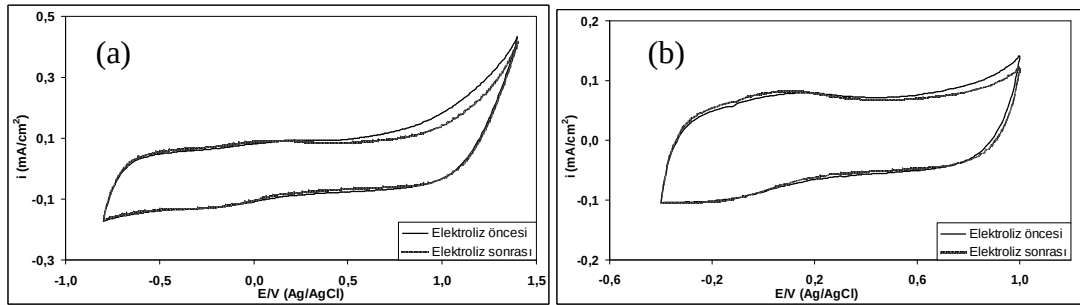
Şekil 4.21. (a) Destek elektrolitte glukoz yokluğunda ve varlığında EPPG elektrodun dönüşümlü voltamogramı. (b) Destek elektrolitte EPPG elektrotta glukoz oksidasyonunu gösteren voltamogram. (c) Katodik yönde EPPG elektrodun glukoz varlığındaki davranışı. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 11,1 mM; T (K): 298; pH=7

Standart elektrolitte hazırlanan 11,1 mM glukoz çözeltisi +0,75 V (Ag/AgCl' e karşı) potansiyelde 4 saat boyunca EPPG elektrot (Pt' e karşı) kullanılarak elektroliz edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen akım yoğunluğu-zaman grafiği ise Şekil 4.22' de gösterilmektedir. Pt elektrotlarda yapılan kronoamperometrik çalışmadaki gibi, akım çözelti ve elektrot ara yüzeyi arasındaki konsantrasyon değişiminden dolayı hızlı bir düşüş göstermektedir. Grafiğin içinde gösterilen diğer grafikte 4 saat boyunca takip edilen akım değişimi daha dar bir aralıkta daha net görülmektedir. Buradan anlaşılabacağı gibi, akım yoğunluğu zamanla giderek azalmış ve sonrasında sabit bir şekilde devam etmiştir. Deney öncesi ve sonrasında HPLC ile yapılan sulu çözelti analizleri ortamdaki glukozun hiç tükenmediğini ve/veya farklı bir yan ürün oluşturmadığını göstermiştir.



Şekil 4.22. +0,75 V potansiyelde destek elektrolite eklenen glukozun (11,1 mM) EPPG elektrotta kronoamperometrik çalışma sonucunda elde edilen akım yoğunluğu-zaman grafiği

Elektroliz öncesi ve sonrası alınan dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde (Şekil 4.23) ise deney öncesinde ve sonrasında akım yoğunluğunda önemli bir değişim gözlenmemiştir.



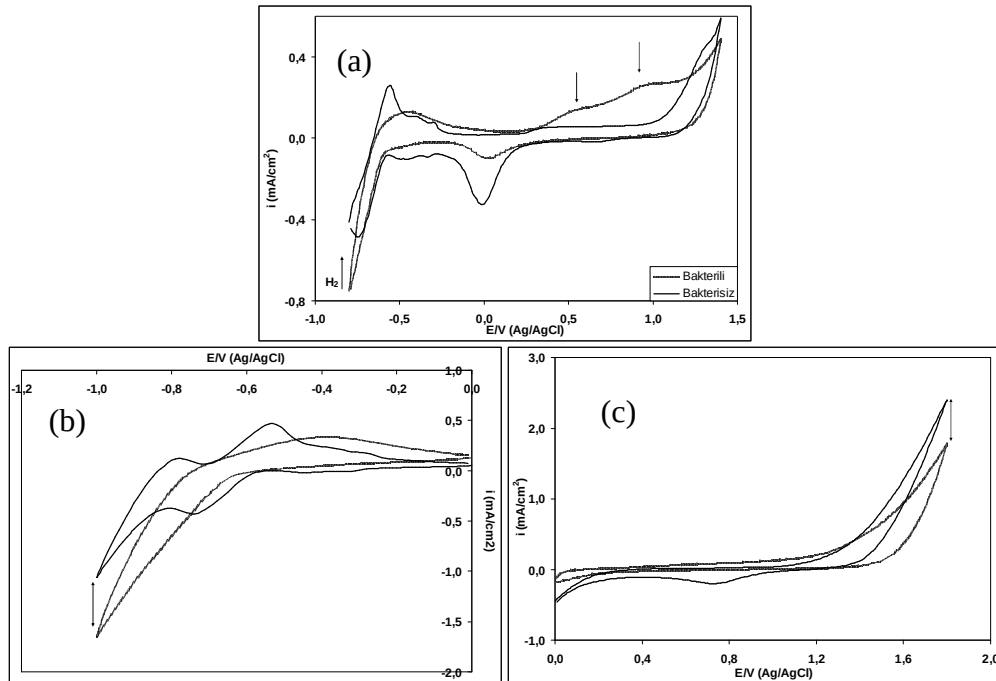
Şekil 4.23. Destek elektrolitte hazırlanan glukozun elektroliz öncesi ve sonrasında (a) -0,8 ve +1,4 V ve (b) -0,2 ve +1,0 V potansiyel aralığında EPPG elektrotta alınan dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s; glukoz derişimi: 11,1 mM; T (K): 298; pH=7; $E_{uygulama}$: +0,75 V

Bu sonuçlara göre, Hem Pt hem de EPPG elektrot kullanıldığında glukozun hızlı bir şekilde oksidasyona uğrayamadığı söylenebilir.

4.3.3. Platin Elektrotta *Shewanella oneidensis* MR-1' in Karakterizasyonu

Bu çalışmada organik içerikli (glukoz hariç) destek elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü eklendiği anda platin elektrodun cevabı dönüşümlü voltametre ile karakterize edilmeye çalışılmıştır.

Şekil 4.24a, 50 mV s^{-1} tarama hızında, $-0,8$ ve $+1,4 \text{ V}$ potansiyel aralığında, oda sıcaklığında platin elektrotlar kullanılarak organik içerikli destek elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 yokluğunda ve varlığında alınan dönüşümlü voltamogramları göstermektedir. Buna göre, bakteri varlığında $+0,23 \text{ V}$ ' tan sonra anodik akım giderek artmıştır. $+0,52$ ve $+0,92 \text{ V}$ ' ta iki oksidasyon piki gözlenmektedir. Bu piklerin bakteride bulunabilecek metal iyonlarının değerlik değiştirmesinden kaynaklanabileceğini söyleyebiliriz. Yanı sıra, $0,00 \text{ V}$ civarında gözlenen Pt-O indirgenme pikinin akım yoğunluğunda belirgin bir düşüş olmuştur. Bu sonuç, elektrot yüzeyinde bakterinin adsorbe olduğunun göstergesi olabilir. Hidrojen gazı oluşum bölgesinde ($-0,6 \text{ V}$ ' tan sonra) ise akım yoğunluğunda artış gözlenmiştir. Bu, bakteri varlığının Pt elektrotta hidrojen gazı oluşumuna katkı sağlayabileceğini düşündürülebilir. Son olarak, Pt elektrotta hidrojen molekülünün oluşumunun ve oksidasyonunun gözlemlendiği bölgelerde ($0,0$ ve $-0,8 \text{ V}$ potansiyel aralığı) karakteristik pikler kaybolmuştur. Bu sonuç, bakteri varlığında hidrojen oluşum mekanizmasının farklı işlediğini düşündürmektedir.



Şekil 4.24. Destek elektrolitte (organik içerikli) bakteri yokluğunda ve varlığında platin elektrodun dönüşümlü voltamogramları. (a) $-0,8$ ve $+1,4 \text{ V}$; (b) $0,0$ ve $-1,0 \text{ V}$; (c) $0,0$ ve $1,8 \text{ V}$. Tarama hızı: 50 mV/s ; $T (\text{K})$: 298 ; $\text{pH}=7$

Benzer koşullarda katodik yönde yapılan taramada ise -0,74 V civarında bakterisiz ortamda gözlenen proton adsorpsiyon piki bakterili ortamda kaybolmuştur (Şekil 4.24b). Aynı şekilde hidrojen molekülünün oksidasyon piki de (-0,54 V) bakterili ortamda kaybolmuştur. Bu durum için, bakterinin hidrojen oluşum reaksiyonunu ve elektron aktarımını farklı bir mekanizma üzerinden sağladığı söylenebilir. Anodik yönde yapılan taramada ise platinin oksidasyon pikinin kaybolduğu görülmektedir (Şekil 4.24c). Yanı sıra, oksijen gazının çıktığı anodik potansiyelde akım yoğunluğu azalmıştır. Akım yoğunluğundaki azalış aşırı gerilimi arttıracak ve yüzeyden gaz çıkışını zorlaştıracaktır. Oksijen gazının oluşumu ortamda amaçlandığı için bu durum hidrojen çıkışına olumsuz bir etki yaratmayacaktır. Amacımız bakteri varlığında glukozun oksidasyonu ve verimli ölçüde hidrojen gazı elde etmek olduğu için, potansiyel oksijen molekülünün oluşumuna kadar götürülmeyecektir. Bu nedenle, bu sonuç bizim için önemli bir fayda sağlamayacaktır.

4.4.3.1. Ayrışma Potansiyeli ve Aşırı Gerilimin Belirlenmesi

Bakterili ortamda katodik ve anodik deneysel ayrışma potansiyelleri akım yoğunluğu ve potansiyel eğrilerinden belirlenmiştir (Bk. Ek-B: Destek Elektrolitte (Organik İçerikli) *S. oneidensis* MR-1 Varlığında Pt Elektrottaki Deneysel Ayrışma Potansiyelinin Belirlenmesi). Katodik yönde deneysel ayrışma potansiyeli -0,78 V' tur. Aşırı gerilim ise 0,17 V olarak hesaplanmıştır. Bu değer bakteri yokluğunda platin elektrotta elde edilen aşırı gerilimden (0,21 V) biraz daha düşüktür. Anodik yönde deneysel ayrışma potansiyeli 1,50 V olarak belirlenmiştir. Anodik yöndeki aşırı gerilim ise 0,88 V' tur. Buna göre, oksijen çıkışı için gerekli ayrışma potansiyeli değeri bakterisiz ortamda elde edilenden biraz daha yüksektir. Aşırı gerilim de buna bağlı olarak artış göstermiştir. Şekil 4.24c' de akım yoğunluğundaki azalış da oksijen çıkışında elektrottaki aşırı gerilimin artışının kanıtıdır.

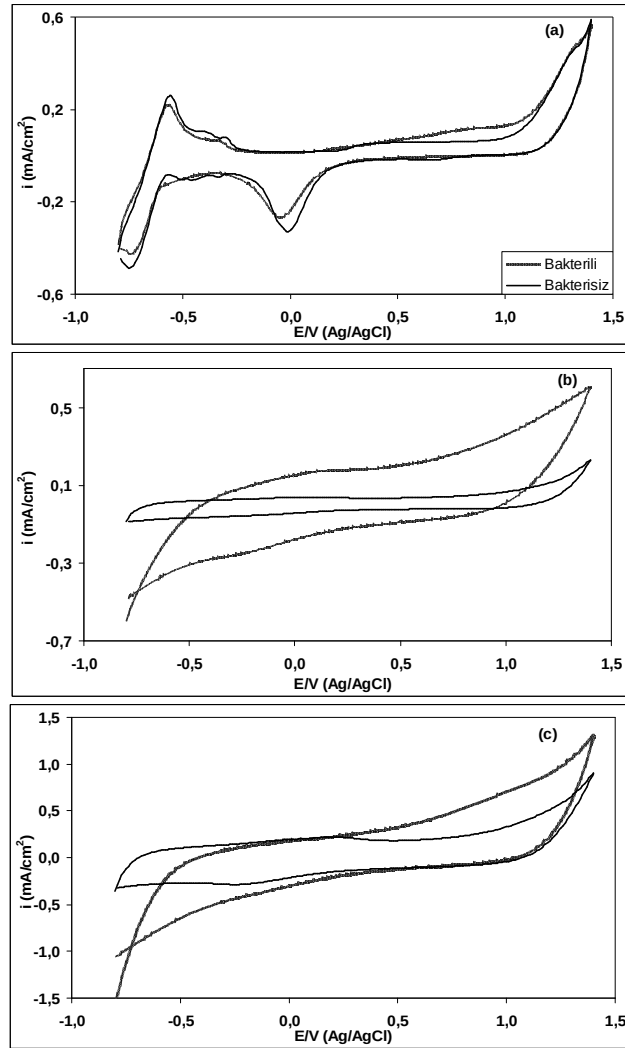
Bu sonuçlara göre, bakterinin varlığı platin elektrotlarda hidrojen gazı oluşumunun mekanizmasını değiştirebileceği gibi, bakteri varlığında aşırı gerilimin azalışı hidrojen gazı üretiminde pozitif bir etki de yaratabilir.

4.3.4. Platin ve EPPG Elektrotlar Üzerinde Farklı Saf Bakteri Kültürlerinin Destek Elektrolitte Karakterizasyonu

4.3.4.1. *Shewanella oneidensis* MR-1

Bu çalışmada, Pt ve EPPG çalışma elektrotlarında destek elektrolite eklenen *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü elektrokimyasal olarak karakterize edilmeye çalışılmıştır. Çalışmalarda ortamda herhangi bir organik madde kullanılmamış, tamamen inorganik ortamda çalışılmıştır.

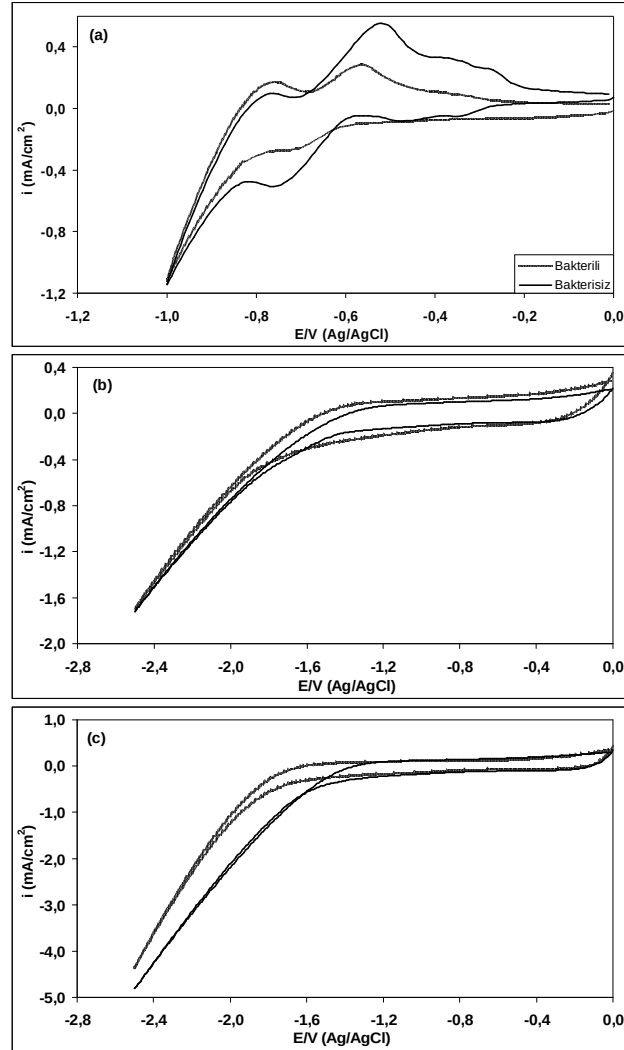
Şekil 4.25, destek elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 yokluğunda ve varlığında Pt ve EPPG elektrotlarda oda sıcaklığında ve N₂ atmosferinde kaydedilen voltamogramları göstermektedir. Bu bakterinin yokluğunda ve varlığında kaydedilen voltamogramlar birbirlerinden çok az farklılık göstermektedir. Bakteri eklendiğinde Pt-O indirgenme pikinin (yaklaşık 0,00 V) akım yoğunluğu azalmıştır (Şekil 4.25a). Bu, elektrot yüzeyinde bakterinin adsorpsiyon tabakası oluşturması ile açıklanabilir. Bakterinin adsorpsiyonundan dolayı hidrojen gazı oluşumu ile ilgili (~ -0,80 V) akım yoğunluğu da biraz azalmıştır (Şekil 4.25a). Bakteri varlığında akım hem Pt hem de EPPG elektrotlar için anodik yönde artmaktadır ve bu akım artışı (oksijen oluşumundan önce) bakterinin oksidasyonu ile alakalıdır. Ters taramada da katodik akım artışı görülmektedir (Şekil 4.25b ve 4.25c). Bu, bakteri filminin indirgenme davranışı ile de ilişkilendirilebilir. Bir diğer ilginç nokta, bakteri varlığında Pt elektrot üzerinde katodik hidronyum adsorpsiyon piklerinin görülmemesidir (Şekil 4.25a). Bu durum katodik yönde yapılan taramada daha net gözlenmektedir (Şekil 4.26a). Ayrıca yüzeyde bakteri filmi olsa bile hidrojen gazı oluşumuna karşı katodik akım yoğunluğu azalmamıştır. Bu sonuçlar, bakteri varlığında hidrojen oluşum reaksiyonunun farklı bir mekanizma ile gerçekleştiğini ve hızı azaltmadığını göstermektedir.



Şekil 4.25. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 yokluğunda ve varlığında kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7; Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG

Geniş bir potansiyel aralığına karşı destek elektrolitte bakterisiz ve bakterili koşullarda katodik tarama sonuçları Şekil 4.26' da kıyaslanmıştır. Pt elektrot kullanıldığında, bakteri filmi hidrojen gazı oluşumundaki karakteristik piklerin şiddetini önemli ölçüde azaltmıştır (Şekil 4.26a). Ancak akım yoğunluğu daha katodik potansiyelerde neredeyse aynı kalmaktadır. Bakteri filmi saf yüzeydeki hidronyum iyonlarının adsorpsiyonunu azaltmıştır ve bu sebepten adsorblanmış moleküler hidrojenin oksidasyonu daha az elverişli olmuştur. EPPG elektrot ile voltametre çalışmalarından da görüldüğü gibi, EPPG elektrot Pt elektroda karşı

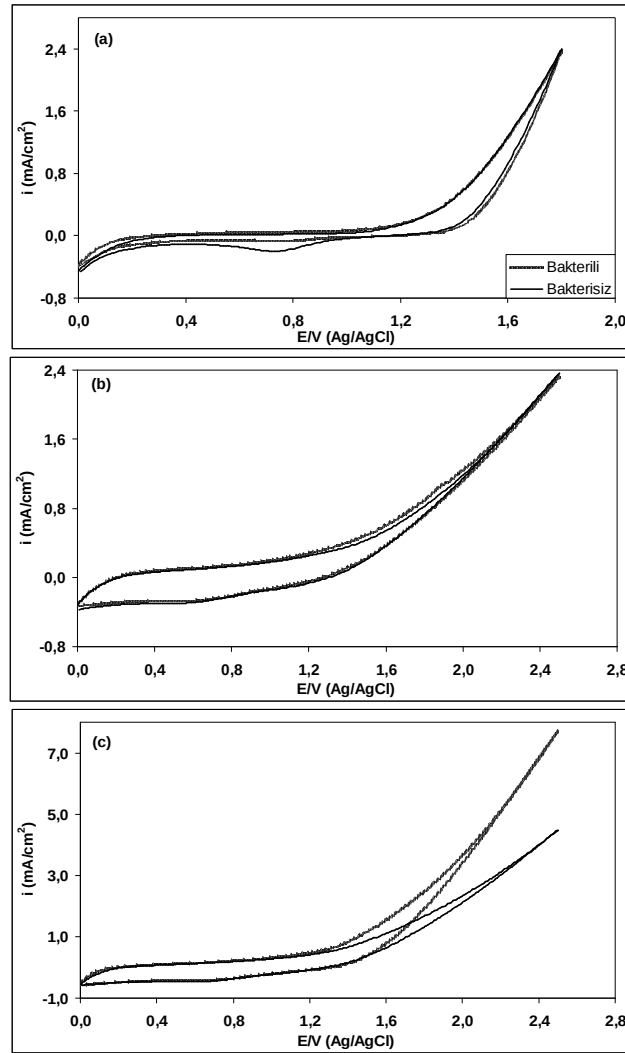
kullanıldığında bakteri varlığı akım yoğunluğunda katodik yönde önemli bir fark yaratmamaktadır (Şekil 4.26b). Ancak EPPG elektrot EPPG elektroda karşı kullanıldığında akım yoğunluğu bakteri varlığında biraz azalmıştır (Şekil 4.26c). Bu, aşırı gerilim değerini de arttıran adsorblanmış bakteri filminden kaynaklanmaktadır. Şekil 4.26c’ de görüldüğü gibi, $-0,1 \text{ mA/cm}^2$ akım yoğunluğundan sonra aynı akım yoğunluğunda gözlenen potansiyel değerlerinde de farklılık söz konusudur. Örneğin, yaklaşık $-1,0 \text{ mA/cm}^2$ akım yoğunluğunda okunan potansiyel bakterisiz ortamda $-1,73 \text{ V}$ iken bakterili ortamda $-1,94 \text{ V}$ ’ a çıkmıştır. Bu sonuç, bakteri varlığının EPPG elektrotta (EPPG elektroda karşı) hidrojen gazı oluşumunda aşırı gerilimi arttırdığını göstermektedir. Aynı zamanda, Pt elektrot ile kıyaslandığında, EPPG elektrotlarda hidrojen gazı oluşumu deneysel olarak yaklaşık $-1,60 \text{ V}$ ’ tan sonra başlamaktadır. Buna göre, EPPG elektrotlar kullanıldığında hidrojen gazının oluşumu için daha katodik potansiyellerde çalışmak gerekmektedir.



Şekil 4.26. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 yokluğunda ve varlığında katodik yönde kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7 Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG

Şekil 4.27' de anodik bölgede elde edilen (hidrojen oluşumunu kapsayan potansiyele göre) voltametre sonuçları görülmektedir. Pt/Pt elektrot çifti kullanılarak anodik yönde gerçekleştirilen taramalar, bakteriyel ortamda Pt-O indirgenme pikinin ($\sim 0,75$ V) görülmediğini göstermiştir (Şekil 4.27a). Oksijen gazı oluşumuna karşılık gelen akım yoğunluğunda önemli bir değişim olmamıştır. Ancak EPPG/EPPG elektrot çifti kullanıldığı zaman $+2,50$ V' ta akım yoğunluğu değeri bakteri varlığında artmıştır (Şekil 4.27c). Bununla beraber, $+1,0$ mA/cm² akım yoğunluğundan sonra potansiyeller birbirinden farklılık göstermiştir. Örneğin, $+3,0$ mA/cm² akım

yoğunluğunda okunan potansiyel bakterisiz ortamda yaklaşık +2,18 V iken bakterili ortamda yaklaşık 1,90 V' a gerilemiştir. Bu sonuç, oksijen gazı oluşumu amaçlandığında EPPG/EPPG elektrot çiftinin bakteri varlığında anodik yönde aşırı gerilimi düşürdüğünü göstermiştir. EPPG/Pt elektrot çifti kullanıldığında ise bakterisiz ve bakterili standart elektrolitte anodik yönde kaydedilen voltamogramlar arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.27b).



Şekil 4.27. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 yokluğunda ve varlığında anodik yönde kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7 Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG

4.3.4.1.(1). Ayrışma Potansiyeli ve Aşırı Geriliminin Belirlenmesi

S. oneidensis MR-1 içeren destek elektrolitte Pt ve EPPG çalışma elektrotları için hidrojen ve oksijen gazlarının oluşum potansiyelleri akım yoğunluğu-potansiyel eğrilerinden yola çıkılarak belirlenmiştir (Bk. Ek-B: Destek Elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 Varlığında Pt ve EPPG Elektrotlarda Katodik ve Anodik Deneysel Ayrışma Potansiyellerinin Belirlenmesi). Hesaplanan ayrışma potansiyelleri ve aşırı gerilimler Çizelge 4.2’ de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2. Destek elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 varlığında Pt ve EPPG elektrotlarda H₂ ve O₂ gazlarının oluşum potansiyelleri ve aşırı gerilimler

Çalışma/Karşı Elektrotlar	E _d /V		η/V	
	Katot	Anot	Katot	Anot
Pt/Pt	-0,84	1,49	0,22	0,88
EPPG/Pt	-1,62	1,55	1,00	0,94
EPPG/EPPG	-1,64	1,61	1,02	1,00

Buna göre, Pt/Pt elektrot çifti için aşırı gerilim hidrojen gazı oluşumu için çok düşüktür (0,22 V). EPPG/Pt ve EPPG/EPPG elektrot çiftleri için ölçülen aşırı gerilimlerin daha yüksek olduğu bulunmuştur (sırasıyla 1,00 ve 1,02 V). Daha önce tartışıldığı gibi, elektrot üzerinde bakteri filmi oluşturulduğunda hidrojen üretimi için mekanizma farklıdır. Pt elektrot durumunda bakteri ile yüzeyin örtünmesi zayıftır ve Pt’ nin katalitik olay açık yüzeyde hala etkili olmaktadır. Bu nedenle aşırı gerilimde önemli bir değişiklik olmamıştır. EPPG elektrotlarda ise aşırı gerilimin Pt’ e kıyasla daha yüksek olması (neredeyse 5 kat) katotta hidrojen çıkışını zorlaştırabilir ve bu da hidrojen verimini düşürebilir.

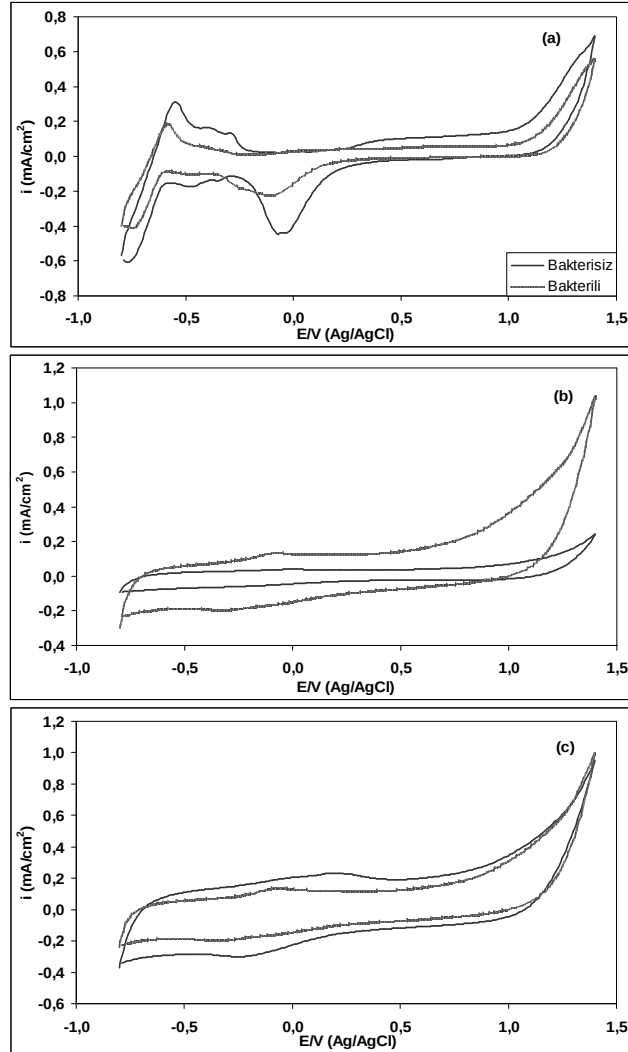
4.3.4.2. *Geobacter metallireducens*

Geobacter metallireducens saf bakteri kültürünün aşılандığı destek elektrolitte Pt ve EPPG çalışma elektrotlarının elektrokimyasal davranışı

irdelenmiştir. Çalışmalar herhangi bir organik madde kullanmaksızın pH' ı 7 olan inorganik ortamda gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.28' de, destek elektrolitte *G. metallireducens* yokluğunda ve varlığında Pt ve EPPG elektrotlarda oda sıcaklığında ve N₂ atmosferinde kaydedilen voltamogramlar kıyaslanmıştır. Bu bakterinin yokluğunda ve varlığında kaydedilen voltamogramlar birbirinden farklılık göstermiştir. Ortama bakteri aşılandığında Pt-O indirgenme pikinin (yaklaşık 0,00 V) akım yoğunluğunda belirgin bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.28a). Bu durum, elektrot yüzeyinde bakterinin adsorpsiyon tabakası oluşturması ile açıklanabilir. Bakterinin adsorpsiyonundan dolayı, hidrojen gazı oluşumunun gerçekleştiği bölgede (~ -0,80 V) de akım yoğunluğu oldukça azalmıştır (Şekil 4.28a). Bakteri varlığında anodik yönde de akım yoğunluğu azalmaktadır. Pt elektrotlardaki gözlenen bu azalış, ya Pt-O oluşumunun (oksidasyon) olmadığını ya da bakterinin Pt-O oluşumunu engellediğini düşündürebilir. Oksijen çıkışının gözlemlendiği potansiyelde (1,00 V' tan 1,40 V' a kadar) de akım yoğunluğunda da azalış olmaktadır. Bakteri elektrodun belirli bir kesrini kapladığı için bu azalış olasıdır. Ayrıca bu oksidasyon bölgesinde, bakterinin yükseltgenmesi ile oksijen çıkışının örtüşüyor olabileceği de söylenebilir. Bu, bakteri filminin indirgenme davranışı ile de ilişkilendirilebilir. Dikkat çekici diğer bir nokta, bakteri varlığında Pt elektrot üzerinde katodik hidronyum adsorpsiyon piklerinin görülmemesidir (Şekil 4.28a). Bu durum katodik yönde yapılan taramada daha net gözlenmektedir (Şekil 4.33a). Ayrıca yüzeyde bakteri filminin varlığı hidrojen gazı oluşumuna karşı katodik akım yoğunluğunu azaltmıştır. Bu sonuçlar da, *G. metallireducens* varlığında hidrojen oluşum reaksiyonunun farklı bir mekanizma ile gerçekleştiğini ancak hızı azaltılabileceğini göstermektedir. Şekil 4.28b' de EPPG çalışma elektrodu (Pt' e karşı) kullanılarak alınan dönüşümlü voltamogramlarda elektrolitte bakteri varlığında ileri ve geri yöndeki taramalarda akım yoğunluğunda artış gözlenmektedir. Ancak anodik akımdaki artış daha keskindir. 0,00 ve -0,50 V potansiyel aralığında pik gibi görünen yükseltgeyici (anodik akım) ve indirgeyici (katodik akım) dalga oluşumu görülmektedir. Şekil 4.28c' de ise EPPG çalışma elektrodu EPPG karşı elektroda karşı çalışıldığında ileri ve geri yönde akım yoğunluğu biraz azalmaktadır. Yine burada da 0,00 ve -0,50 V potansiyel aralığında

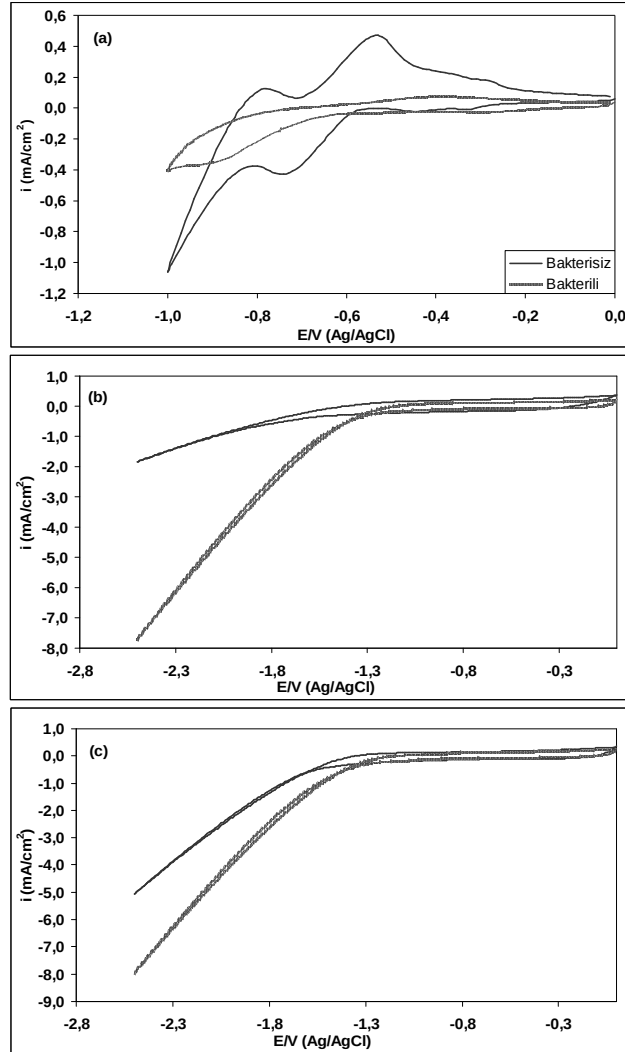
katodik ve anodik akım oluşumu vardır. Oksijen gazı oluşumunun başladığı bölgede (1,00 V' tan 1,40 V' a kadar) akım yoğunluğu bakterisiz ortamdaki ile üst üste çakışmaktadır. Hidrojen bölgesinde ise, akım yoğunluğu biraz azalmaktadır.



Şekil 4.28. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte *G. metallireducens* yokluğunda ve varlığında kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7 Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG

Geniş bir potansiyel aralığına karşı destek elektrolitte bakterisiz ve bakterili koşullarda katodik tarama sonuçları Şekil 4.29' da kıyaslanmıştır. Pt elektrot kullanıldığında, bakteri filmi hidrojen gazı oluşumundaki karakteristik piklerin şiddetini önemli ölçüde azaltmaktadır (Şekil 4.29a). Akım yoğunluğu daha katodik

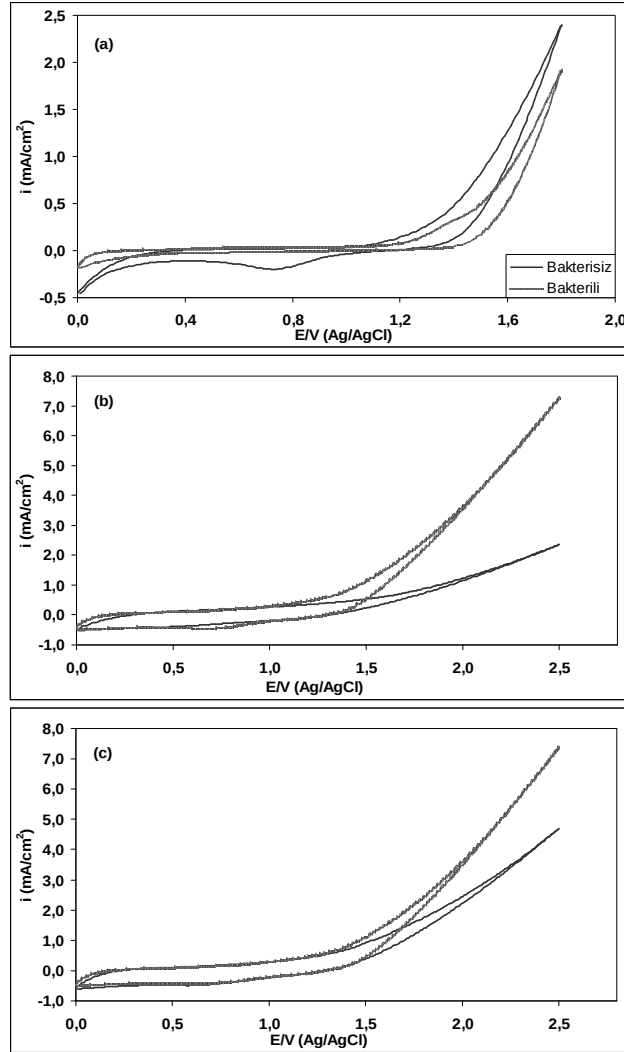
potansiyellerde daha da azalmıştır. Bakteri filmi saf yüzeydeki hidronyum iyonlarının adsorpsiyonunu oldukça azaltmıştır ve bu sebepten adsorblanmış moleküler hidrojenin oksidasyonu çok daha az elverişli olmaktadır. EPPG elektrot ile yapılan çalışmalarda ise, EPPG elektrot Pt elektroda karşı kullanıldığında bakteri varlığı akım yoğunluğunda katodik yönde ciddi bir fark yaratmaktadır (Şekil 4.29b). Bakteri yokluğunda -2,50 V' ta ölçülen katodik akım yoğunluğu -1,82 mA/cm² iken bakteri varlığında -7,65 mA/cm²' ye yükselmiştir. Şekilden de görüleceği gibi, bakteri varlığında hidrojen gazının oluşumu neredeyse -1,30 V' tan sonra başlamaktadır. Kısaca, EPPG elektrotta bakteri varlığı katodik aşırı gerilimi düşürmektedir. EPPG elektrot EPPG elektroda karşı kullanıldığında da akım yoğunluğu bakteri varlığında artmaktadır (-2,50 V' ta -4,99' dan -7,89 mA/cm² ye) (Şekil 4.29c). Ancak bu artış EPPG Pt elektroda karşı kullanıldığında kadar fark yaratacak ölçüde değildir. Yine burada da bakteri varlığında yaklaşık -1,30 V' tan sonra hidrojen gazının oluşumu başlamaktadır. Bu, aşırı gerilimi azaltan adsorblanmış bakteri filminden kaynaklanmaktadır. Bu sonuçlar, bakteri varlığının EPPG elektrotta hidrojen gazı oluşumunda aşırı gerilimi azaltacağını ve pozitif katkı sağlayacağını göstermektedir. Pt elektrotlarda ise durum düşünüldüğünün aksinedir. Ancak, Pt elektrot ile kıyaslandığında, EPPG elektrotlarda hidrojen gazı oluşumu deneysel olarak yaklaşık -1,30 V' tan sonra başlamaktadır. Bu nedenle, EPPG elektrotlar kullanıldığında hidrojen gazının oluşumu için daha katodik potansiyellerde çalışmak gerekmektedir. Son olarak, hidrojen gazı oluşum mekanizması *G. metallireducens* kullanıldığında da farklılaşmaktadır. Pt elektrotlar kullanıldığında reaksiyon hızı azalırken EPPG elektrotlarda artmaktadır.



Şekil 4.29. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte *G. metallireducens* yokluğunda ve varlığında katodik yönde kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (K): 298; pH=7 Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG

Anodik bölgede elde edilen (hidrojen oluşumunu kapsayan potansiyele göre) voltametre sonuçları Şekil 4.30' da görülmektedir. Pt/Pt elektrot çiftinin kullanıldığı anodik yönde gerçekleştirilen taramalar, elektrolitte bakteri varlığında Pt-O indirgenme pikinin ($\sim +0,75$ V) kaybolduğunu göstermiştir (Şekil 4.30a). Oksijen gazı oluşumuna karşılık gelen akım yoğunluğu biraz azalmıştır. Ayrıca yaklaşık bir +1,30 V civarında bir oksidasyon piki gözlenmektedir. Bu durum, daha önce Şekil 4.28a için açıklandığı gibi, elektrot yüzeyinde bulunan bakterinin oksidasyonundan kaynaklanmaktadır ve oksijen çıkışının olduğu bu bölgede bakterinin oksidasyon

potansiyeli üst üste çıkılabilmektedir. Ayrıca ileri yöndeki taramada +1,20 V' tan sonra aynı akım yoğunluğunda okunan potansiyeller farklılık göstermektedir. Aynı anodik akımda bakteri varlığında ölçülen potansiyel daha büyüktür (örneğin 0,67 mA/cm²' de 1,46 V' tan 1,56 V' artmıştır). Buna göre, elektrot yüzeyinde bakteri varlığı anodik aşırı gerilime sebep olmaktadır. Ancak EPPG/Pt elektrot çifti kullanıldığı zaman +2,50 V' ta akım yoğunluğu değeri bakteri varlığında önemli ölçüde artmıştır (2,30' dan 7,27 mA/cm²' ye) (Şekil 4.30b). Pt' de olduğu gibi, burada da ileri yöndeki taramada aynı anodik akımda ölçülen potansiyeller birbirinden oldukça farklıdır ve bakteri varlığında ölçülen potansiyeller, Pt' e kıyasla, daha düşüktür. Bu sonuç, oksijen gazı oluşumu amaçlandığında EPPG/Pt elektrot çiftinin bakteri varlığında anodik yönde aşırı gerilimi düşürdüğünü göstermiştir. EPPG/EPPG elektrot çifti kullanıldığında da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.30c). Ancak aradaki fark, Pt karşı elektrot olarak kullanıldığında daha dikkat çekicidir.



Şekil 4.30. Pt ve EPPG elektrotlarda destek elektrolitte *G. metallireducens* yokluğunda ve varlığında anodik yönde kaydedilen voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s; T (°K): 298; pH=7 Elektrot çiftleri: (a) Pt-Pt, (b) EPPG-Pt, (c) EPPG-EPPG

4.3.4.2.(1). Ayrışma Potansiyeli ve Aşırı Gerilimin Belirlenmesi

G. metallireducens saf bakteri kültürünü içeren standart elektrolit çözeltisinde Pt ve EPPG çalışma elektrotları için hidrojen ve oksijen gazlarının oluşum potansiyelleri de akım yoğunluğu-potansiyel eğrilerinden yola çıkılarak belirlenmiştir (Bk. Ek-B: Destek Elektrolitte *G. metallireducens* Varlığında Pt ve EPPG Elektrotlarda Katodik ve Anodik Deneysel Ayrışma Potansiyellerinin

Belirlenmesi). Hesaplanan ayrışma potansiyelleri ve aşırı gerilimler Çizelge 4.3’ te özetlenmiştir.

Çizelge 4.3 Destek elektrolitte *G. metallireducens* varlığında Pt ve EPPG elektrotlarda H₂ ve O₂ gazlarının oluşum potansiyelleri ve aşırı gerilimler.

Çalışma/Karşı Elektrotlar	E _d /V		η/V	
	Katot	Anot	Katot	Anot
Pt/Pt	-0,75	1,31	0,13	0,70
EPPG/Pt	-1,48	1,48	0,86	0,87
EPPG/EPPG	-1,50	1,48	0,88	0,87

Çizelge 4.3’ ten da görüldüğü gibi, Pt/Pt elektrot çifti kullanıldığında aşırı gerilim hidrojen gazı oluşumu için oldukça düşüktür (0,13 V). EPPG/Pt ve EPPG/EPPG elektrot çiftleri için ölçülen katodik aşırı gerilimler Pt’ e kıyasla daha yüksektir (sırasıyla 0,86 ve 0,88 V). Daha önce, elektrot üzerinde bakteri filmi oluşturulduğunda hidrojen üretimi için mekanizmanın farklı olduğu tartışılmıştı. Pt elektrot kullanıldığında bakteri ile yüzeyin örtünmesi zayıf olmasına rağmen bu bakteri kültürünün elektrot yüzeyindeki varlığı aşırı gerilimi biraz düşürmüştür. EPPG elektrotlarda ise aşırı gerilim Pt’ e kıyasla daha yüksektir. Bu elektrotların kullanımı hidrojen gazının oluşumunu biraz güçleştirebilir.

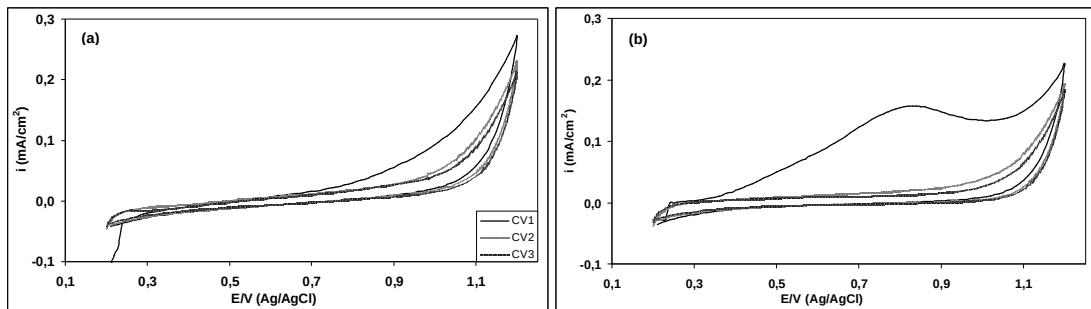
G. metallireducens için hesaplanan bu değerler, hem destek elektrolitte hem de destek elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 varlığında hesaplanan değerlerden daha düşüktür. Şu ana kadar yapılan karakterizasyon çalışmalarından ve literatürdeki verilere dayanarak hidrojen gazının oluşumu, aşırı gerilimi çok daha düşük olduğu için, platin elektrotlar kullanıldığında çok daha etkili olmaktadır. Ancak EPPG elektrotlar ortamda bakteriler varken hidrojen gazının oluşumuna katkı sağlamaktadır. Çalışma sonuçlarımıza göre, *G. metallireducens* kullanımının hidrojen gazı üretimine daha fazla katkı sağlayabileceği görülmektedir.

4.3.5. Platin ve EPPG Elektrotlar Üzerinde Oluşturulan Biyofilmin Karakterizasyonu ve Kararlılığı

4.3.5.1. *Shewanella oneidensis* MR-1

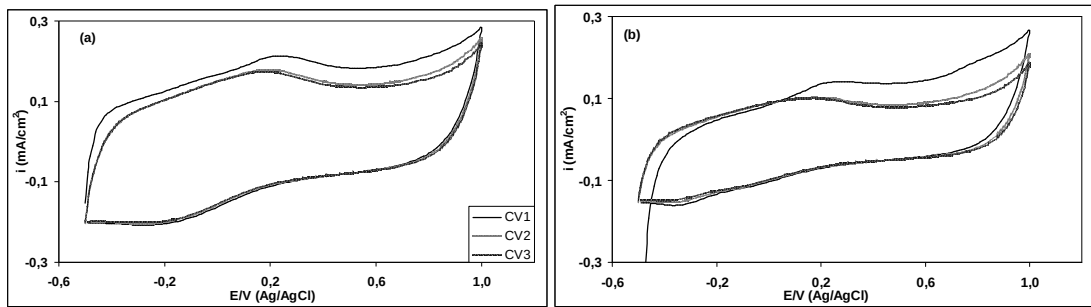
Çalışmanın bu kısmında *S. oneidensis* MR-1' in elektrot yüzeyinde adsorpsiyonu ve oluşan filmin kararlılığı elektrokimyasal metotlarla incelenmiştir. Dönüşümlü voltamogramlar herhangi bir organik maddenin bulunmadığı destek elektrolitte ve çözelti karıştırılmaksızın kaydedilmiştir.

Şekil 4.31a bakteriyi içeren destek elektrolitte Pt elektrot ile alınan ardışık voltamogramlardır. Elektrot yüzeyinde bakteri filmini hazırlamak için, Pt elektroda *S. oneidensis* MR-1 içeren çözeltide 20 dk. boyunca -0,4 V sabit potansiyel uygulanmıştır. Sonra elektrot bu çözeltiden alınmış, saf su ile yıkanmış ve bakteri içermeyen taze destek elektrolit içerisine daldırılmıştır. Taze elektrolitte kaydedilen voltamogram Şekil 4.31b' de gösterilmektedir. Görüldüğü gibi, bakterinin oksidasyon davranışı +0,80 V civarındadır ve bu bir oksidasyon piki olarak görülmektedir. Bu, kararlı bir bakteri filminin sabit bir katodik potansiyel uygulanarak elektrot yüzeyinde elde edilebildiğinin kanıtıdır. İfade edilen pik sonraki taramalarda görülmemiştir. Daha yüksek potansiyellerde, anodik akım arttığı zaman oksijen gazı oluşumu görülmektedir ve bu bakteri filmini yüzeyden uzaklaştırmaktadır (Şekil 4.31b)



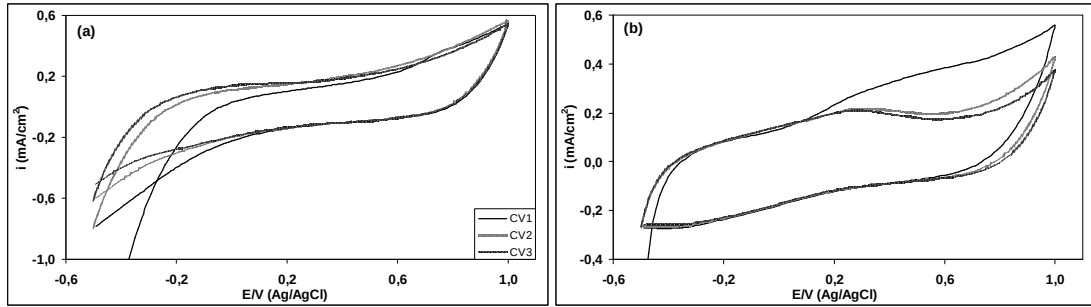
Şekil 4.31. (a) *S. oneidensis* MR-1 içeren destek elektrolitte Pt elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış Pt elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramları (Pt' e karşı)

EPPG elektrot Pt elektroda karşı kullanıldığında, bakteri filminin yüklendiği yaklaşık 0,10 V' tan sonra gözlenen akım artışı ile Şekil 4.32b' de görülmektedir. Bu elektrotta bakteri varlığını kanıtlayan bir oksidasyon piki gözlenmemektedir. Bu durum, anodik akımdaki belirgin artış ile kanıtlanmaktadır. EPPG elektrotta da ilk taramadan sonraki taramalarda bu davranış (anodik akım artışı) sergilenmemektedir. Anodik akım arttığı zaman oksijen gazının oluşumundan dolayı bakterinin yüzeyden uzaklaştığı söylenebilir.



Şekil 4.32. (a) *S. oneidensis* MR-1 içeren destek elektrolitte EPPG elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış EPPG elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramları (Pt' e karşı)

Son olarak, EPPG/EPPG elektrot çifti bakteri yükleme çalışmasında kullanıldığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar Şekil 4.33' de gösterilmektedir. İlk taramada yaklaşık 0,10 V' tan sonra dikkat çeken bir anodik akım artışı elektrot yüzeyinde bakteri filminin varlığını kanıtlamaktadır (Şekil 4.33b). Diğer çalışmalarda olduğu gibi, bakteri filmi daha yüksek anodik potansiyellere çıkıldığında yüzeyden uzaklaştığı için sonraki taramalarda herhangi bir oksidasyon pikine veya akım artışına rastlanmamaktadır.



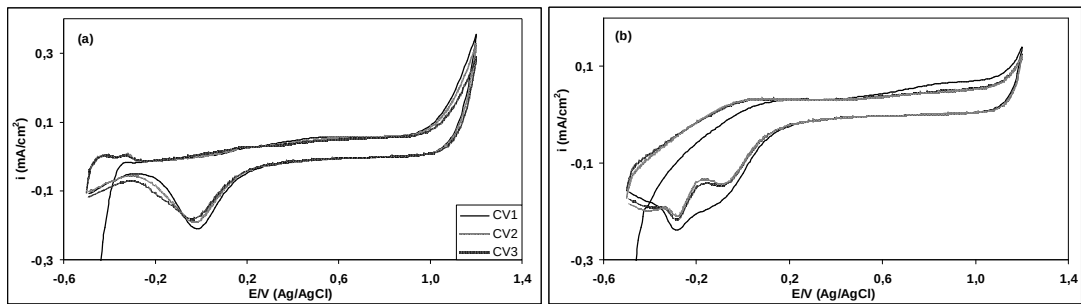
Şekil 4.33. (a) *S. oneidensis* MR-1 içeren destek elektrolitte EPPG elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış EPPG elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (EPPG' ye karşı)

4.4.5.2. *Geobacter metallireducens*

Bu çalışmada *G. metallireducens*' in elektrot yüzeyinde adsorpsiyonu ve oluşan filmin kararlılığı elektrokimyasal metotlar kullanılarak araştırılmıştır. Dönüşümlü voltamogramlar herhangi bir organik maddenin bulunmadığı destek elektrolitte ve çözelti karıştırılmaksızın kaydedilmiştir.

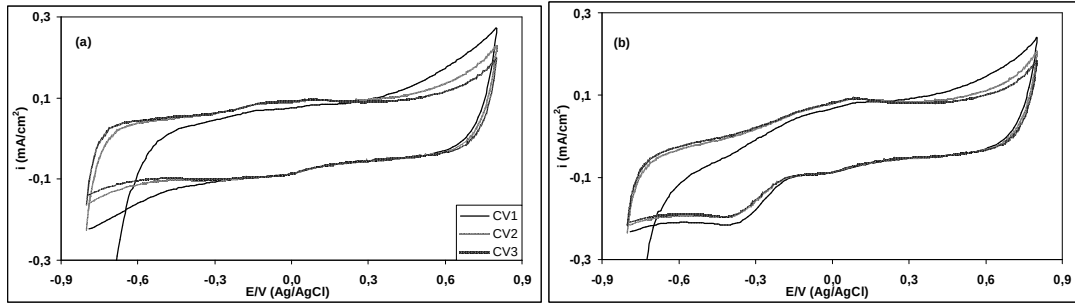
Şekil 4.34a bakteriyi içeren destek elektrolitte Pt elektrot kullanılarak alınan ardışık voltamogramlardır. Burada H_2 yükseltgenme bölgesinde (-0,20 ve -0,50 V potansiyel aralığı) Pt' de gözlenen karakteristik pikler katodik akımdaki düşüşle kaybolmuştur. Pt-O oluşumunun (yaklaşık +0,10 V' tan sonra) ve Q gazı çıkışının (+1,00 V' tan sonra) gerçekleştiği bölgelerdeki anodik akım önemli bir değişiklik göstermemiştir. 0,00 V civarında Pt-O indirgenme pikinin akım yoğunluğu ardışık taramada giderek azalmış ve pik şekli farklılaşmaya başlamıştır. Bu sonuç, bakterinin elektrot yüzeyini kapladığını göstermektedir. Elektrot yüzeyinde bakteri filmi Bölüm 4.3.3.5.1' de anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Bakteri yüklü elektrot saf su ile yıkanmış ve bakteri içermeyen taze destek elektrolit içerisine daldırılmıştır. Taze elektrolitte kaydedilen voltamogram Şekil 4.34b' de gösterilmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi, bakterinin oksidasyon davranışı +0,60 V ile +1,00 V arasındadır. Ama bu net bir oksidasyon piki olarak görülmemekte aksine anodik akımdaki artış şeklinde izlenmektedir. Anodik akım artışı sonraki taramalarda görülmemiştir. Burada dikkat çeken bir diğer nokta, 0,00 V civarında gözlenen Pt-O indirgeme piki daha katodik potansiyellere kaymakta ve akım yoğunluğu ardışık döngülerde giderek

azalmaktadır. Ayrıca H^+ indirgenme ve H_2 yükseltgenme bölgelerindeki karakteristik pikler belirgin şekilde kaybolmuştur. Oksijen gazı oluşumunun olduğu bölgede ise (+1,00 V' tan sonra) akım yoğunluğu Şekil 4.34a' dakine göre azalmıştır. Bu sonuçlar, kararlı bir bakteri filminin sabit bir katodik potansiyel uygulanarak elektrot yüzeyinde elde edilebildiğini göstermektedir (Şekil 4.34b)



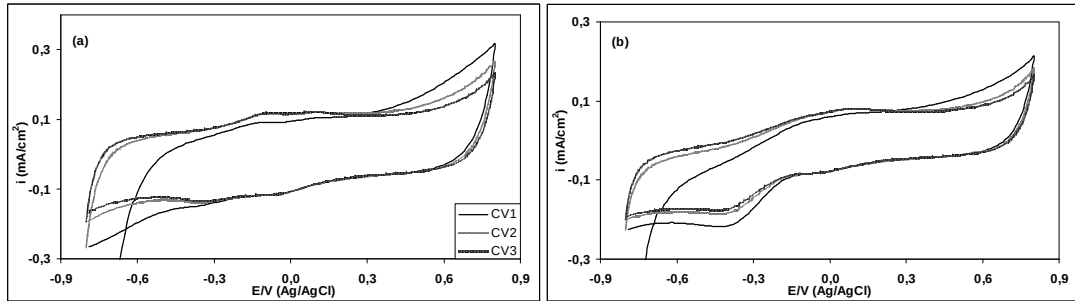
Şekil 4.34. (a) *G. metallireducens* destek elektrolitte Pt elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış Pt elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar

EPPG elektrot Pt elektroda karşı kullanıldığında, bakteri elektrolitte iken -0,30 ve +0,30 V potansiyel aralığında anodik akım ile -0,50 V ve +0,10 V potansiyel aralığında iki katodik akım gözlenmiştir (Şekil 4.35a). Ardışık döngülerde de bu durum değişmemektedir. Bu durum, elektrot yüzeyinde hiç yükleme yapmadan bile bakterinin yüzeyde tutunabildiğini göstermektedir. Bakteri filminin yüklendiği, yaklaşık +0,35 V' tan sonra gözlenen anodik akım artışının yanı sıra -0,40 V' ta gözlenen indirgenme piki ve -0,35 V ve +0,21 V potansiyel aralığındaki pik gibi görünen anodik akım artışı ile Şekil 4.35b' de görülmektedir. Ardışık döngülerde bu pikler kaybolmamaktadır. Bu durum, bakteri filminin yüzeyde tutunduğunu ve kararlı olarak kalabildiğini göstermektedir.



Şekil 4.35. (a) *G. metallireducens* içeren destek elektrolitte EPPG elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış EPPG elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (Pt' e karşı)

Son olarak, EPPG/EPPG elektrot çiftinin kullanıldığı ve öncekilerle aynı koşullarda yapılan yüzeyde biyofilm oluşturma çalışması sonuçları Şekil 4.36' da gösterilmektedir. Gösterilen voltamogramlarda alınan sonuçlar EPPG/Pt çifti ile yapılanlarla benzerlik göstermektedir. Buna göre, hangi karşı elektrot kullanılırsa kullanılsın EPPG yüzeyinde *G. metallireducens* biyofilm oluşturabilmekte ve oluşan biyofilm kararlı kalabilmektedir.



Şekil 4.36. (a) *G. metallireducens* içeren destek elektrolitte EPPG elektrodun ve (b) bakterisiz destek elektrolitte bakteri adsorblanmış EPPG elektrodun 50 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar (EPPG' ye karşı)

4.3.6. EIS Sonuçları

Bu çalışmada, çalışılan iki farklı bakteri türünün EPPG elektrot yüzeyindeki kaplanma kesri elektrokimyasal impedans spektrometresi (EIS) ile irdelenmeye çalışılmıştır. Saf bakteri kültürünün farklı sürelerde sabit bir katodik potansiyelde (-0,4 V, Ag/AgCl' e karşı) elektroda yüklenmesi sağlanmıştır. Biyofilm

oluşturulduktan sonra impedans ölçümleri taze bakterisiz destek elektrolitte, oda sıcaklığında alınmıştır.

4.3.6.1. *Shewanella oneidensis* MR-1

EPPG elektrodu üzerindeki *S. oneidensis* MR-1 bakteri filmi için kaplanma kesri değerleri EIS ölçümlerinin yardımı ile değerlendirilmiştir. Burada, elektrot destek elektrolit çözeltisine daldırıldığı zaman ara yüzeyde bir elektriksel çift tabaka oluşur. Hem elektrot üzerinde hem de elektrolitte yük birikiminden dolayı bir çift tabaka kapasitansı meydana gelir. Eşitlik 4.6' ya göre, kapasitans değeri, ara yüzeyde biriken yük, elektrot/çözelti ara yüzey alanı ile ilişkilendirilir.

$$C_{dt} = \frac{\epsilon \epsilon^{\circ} A}{\lambda} \quad (4.6)$$

Bu eşitlikte, λ kapasitörün paralel tabakalar arasındaki uzaklığını, ϵ ve ϵ° , sırasıyla, çevre ve vakum altında dielektrik sabitlerini ve A yüzey alanını ifade etmektedir.

Kaplanma kesri (θ), inhibitörsüz ve inhibitör eklenmiş koşullar için elektrot/çözelti ara yüzeyinin kapasitans değerlerine göre belirlenebilir. C_{dt} değeri doğrudan çözelti ile temasta bulunan metalin yüzey alanı ile ilgilidir. Kaplanma kesri aşağıdaki eşitlikten elde edilebilir. C_{dt}° ve C_{dt} kapasitans değerleri sırasıyla inhibitör yokluğunda ve varlığında hesaplanabilir ve θ kaplanma kesrini verir (Eşitlik 4.7).

$$\frac{C_{dt}}{C_{dt}^{\circ}} = \frac{A_{inh}}{A^{\circ}} = \frac{1-\theta}{1} \quad (4.7)$$

Yüzeyde bakteri filmi olduğu takdirde metal/çözelti etkileşim alanı azalabilir. Bu nedenle, kapasitans değerlerinden belirlenen θ değeri inhibisyon etkinliğinin doğrudan ölçümünü verebilir. EPPG için hesaplanan θ değerinin 24 saat yükleme zamanı için 0,53 olduğu bulunmuştur. Yükleme süresi 48 saat olduğu zaman elektrot yüzeyinin %66,15' inin kaplanması sağlanabilmiştir. Sonuçlardan da anlaşılacağı

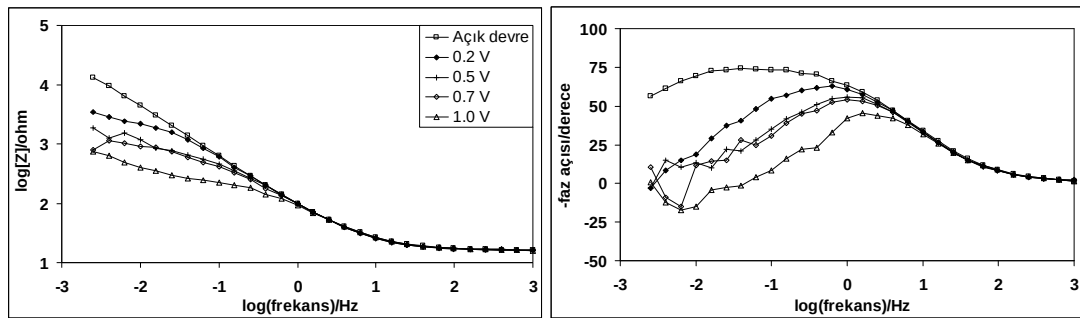
gibi, daha uzun bir zaman diliminde yapılan yükleme kaplanma kesrinde önemli bir fark yaratmamıştır. Bu nedenle, sonraki EIS çalışmalarında yükleme için 24 saatlik süre yeterli görülmüştür. Bakteri filminin kararlılığı uygulama potansiyeline karşı test edilmiş ve farklı potansiyeller altında EIS ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla bakteri filmi 24 saat boyunca sabit bir potansiyel altında EPPG yüzeyine yüklenmiştir. Sonra, anodik potansiyellere doğru farklı potansiyellerde EIS ölçümleri alınmıştır. Çizelge 4.4' te ve Şekil 4.37' de sonuçlar verilmiştir. Bakteri yüklü elektrodun açık devre potansiyelinde kapasitans değeri bakterisiz koşullardaki kapasitans değerinden daha düşük çıkmıştır. Elektrot anodik potansiyellere maruz kaldığında kapasitans değeri bakteri filminin parçalanmasından dolayı artmıştır. Bu, yüzey alanı ve kapasitans arasındaki ilişkiye göre, açık elektrot yüzey alanının artmasından kaynaklanmaktadır. Bakteri filminin tam olarak +0,7 V (Ag/AgCl' e karşı) potansiyelde parçalandığı belirtilebilir.

Çizelge 4.4. *S. oneidensis* MR-1 için farklı potansiyellerde ve açık devre için kapasitans değerleri

E _{başlangıç}	Kapasitans (F)
Açık devre*	0,00321
Açık devre**	0,00151
0,2 V**	0,00158
0,5 V**	0,00164
0,7 V**	0,00322
1,0 V**	0,00714

* bakterisiz destek elektrolitte

** elektrot yüzeyine adsorblanmış *S. oneidensis* MR-1 bakteri filmi



Şekil 4.37. *S. oneidensis* MR-1 yüklü EPPG örnekleri için 0,2; 0,5; 0,7 ve 1,0 V sabit anodik potansiyellerde EIS sonuçları

4.4.6.2. *Geobacter metallireducens*

EPPG elektrodu üzerindeki *G. metallireducens* bakteri filmi için yüzey kaplanma kesri de EIS ölçümlerinin yardımı ile değerlendirilmiştir.

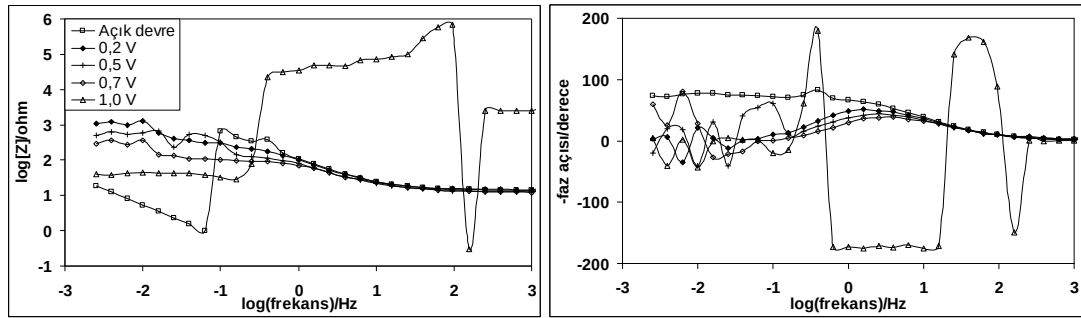
24 saat yükleme zamanında EPPG için hesaplanan θ değeri 0,46 olarak bulunmuştur. Bakteri filminin kararlılığını uygulama potansiyeline karşı belirlemek için 24 saat boyunca sabit bir potansiyel altında EPPG yüzeyine bakteri yüklenmiş ve farklı anodik potansiyeller altında EIS ölçümleri alınmıştır. Çizelge 4.5 ve Şekil 4.38’ de sonuçlar verilmiştir. Bu sonuçlara göre, bakteri yüklü elektrodun açık devre potansiyelinde kapasitans değeri bakterisiz koşullardaki kapasitans değerinden daha düşüktür. Elektrot anodik potansiyellere maruz kaldığında kapasitans değeri bakteri filminin parçalanmasından dolayı artmaktadır. Bu, yüzey alanı ve kapasitans arasındaki ilişkiye göre açık elektrot yüzey alanının artmasından kaynaklanmaktadır. Yüzeydeki *G. metallireducens* bakteri filminin tam olarak +0,5 V (Ag/AgCl’ e karşı) potansiyelde parçalandığı belirtilebilir.

Çizelge 4.5. *G. metallireducens* için farklı potansiyellerde ve açık devre için kapasitans değerleri

$E_{\text{başlangıç}}$	Kapasitans (F)
Açık devre*	0,00321
Açık devre**	0,00172
0,2 V**	0,00189
0,5 V**	0,00259
0,7 V**	0,00304
1,0 V**	0,00000

* bakterisiz destek elektrolitte

** elektrot yüzeyine adsorblanmış *G. metallireducens* bakteri filmi



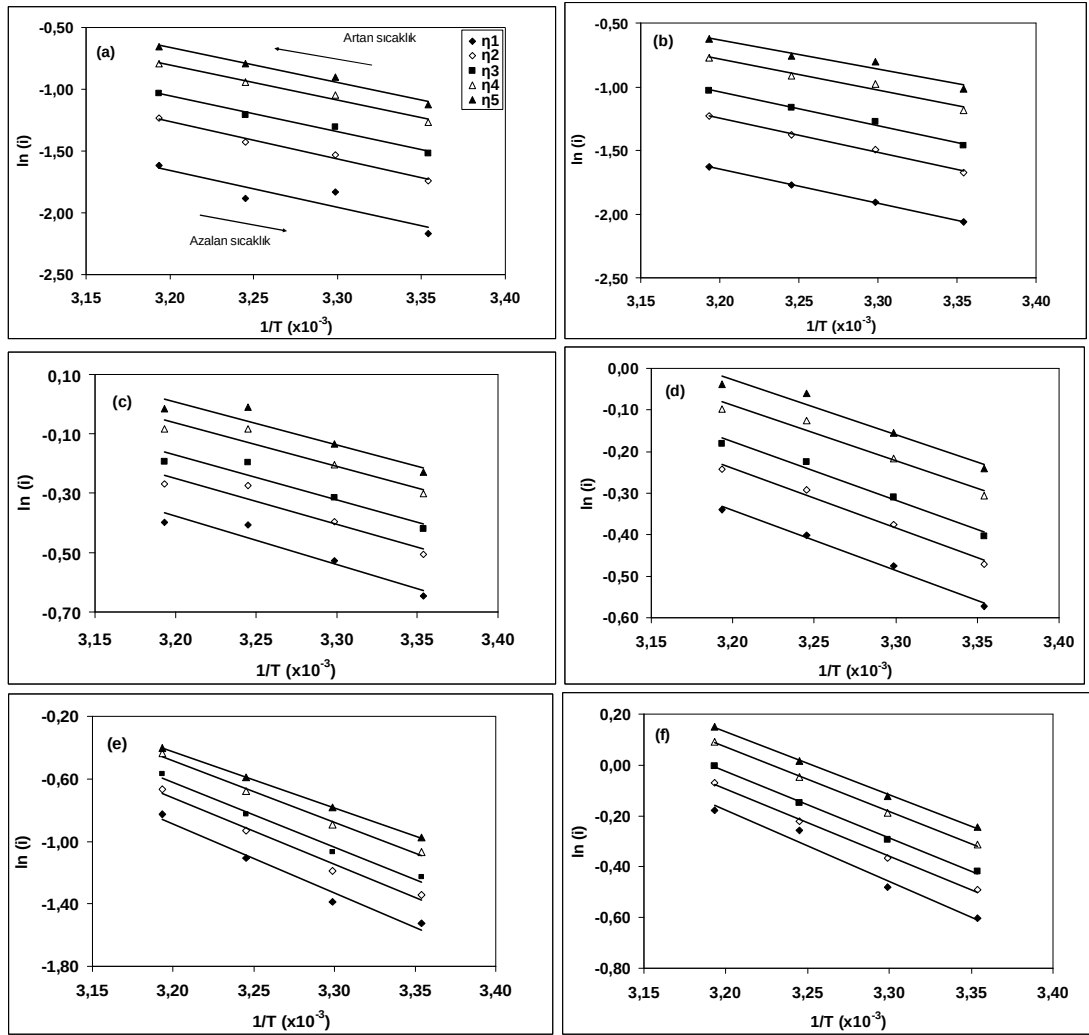
Şekil 4.38. *G. metallireducens* yüklü EPPG örnekleri için 0,2; 0,5; 0,7 ve 1,0 V sabit anodik potansiyellerde EIS sonuçları

4.3.7. Destek Elektrolitte Bakteri Yokluğunda ve Varlığında Pt ve EPPG Elektrotlarda Hidrojen Gazı Oluşumuna Sıcaklığın Etkisi

4.3.7.1. *Shewanella oneidensis* MR-1

Bu bölümde, Pt ve EPPG elektrotlarda bakteri yokluğunda ve varlığında hidrojen oluşum reaksiyonu voltametre yardımıyla farklı sıcaklıklarda incelenmiştir.

Beklenildiği gibi, hidrojen oluşumu için başlangıç potansiyelleri farklı sıcaklıklarda biraz farklılık göstermiştir (Bk. Ek-B: Destek Elektrolitte ve *S. oneidensis* MR-1 İçeren Destek Elektrolitte Farklı Sıcaklıklarda Kaydedilen Voltamogramlar). Aktivasyon enerjilerini (E_a) belirlemek için, farklı sabit aşırı gerilim değerleri (25-100 mV) seçilmiş ve hidrojen üretim hızına karşı ilgili akım yoğunluğu değerleri farklı sabit reaksiyon sıcaklıklarında kaydedilmiştir. Bakteri yokluğunda ve varlığında Pt ve EPPG elektrotlarda hidrojen üretimi için E_a değerlerini belirlemede Arrhenius eşitliğinden yararlanılmıştır. Şekil 4.39' da $1/T'$ ye karşı $\ln i'$ nin ğrisi gösterilmektedir.



Şekil 4.39. Destek elektrolitte ve *S. oneidensis* MR-1 içeren destek elektrolitte çalışma ve/veya karşı elektrot olarak Pt ve EPPG elektrotların Arrhenius eğrileri (a) Pt/Pt, bakterisiz; (b) Pt/Pt, bakterili; (c) EPPG/Pt, bakterisiz; (d) EPPG/Pt bakterili; (e) EPPG/EPPG, bakterisiz; (f) EPPG/EPPG, bakterili

Hidrojen oluşum reaksiyonu için aktivasyon enerjisi her bir elektrot çifti için hesaplanmış ve Çizelge 4.6' da verilmiştir. Bu tablodaki verilen E_a değerleri, her sabit aşırı gerilim değeri için hesaplanan bir E_a değeri vardır anlamını taşımaktadır. Bu sayede, gerçek E_a değeri üzerinde aşırı gerilimin etkisi elimine edilmiştir. Bu değer reaksiyon türü ile kontrol edilir ve mekanizmadaki değişiklikler hakkında bilgi sağlamaktadır. Önemli bir noktayı vurgulamak gerekir ki, hem Pt hem de EPPG elektrotlar için E_a değeri bakterinin etkisi ile azalmaktadır. Ancak, Pt ile kıyaslandığında, EPPG elektrot üzerinde aktivasyon enerjisinin azalışı çok daha

büyüktür. EPPG elektrot yüzeyi bakteri ile örtüldüğünde reaksiyon mekanizmasının farklı olduğu açıktır. Elektrot ve hidronyum iyonları arasındaki yük transferi bakteri filmine karşı meydana gelebilir. Aksine, doğrudan yük transferinin açık yüzeyde hala olabildiği düşünülmektedir.

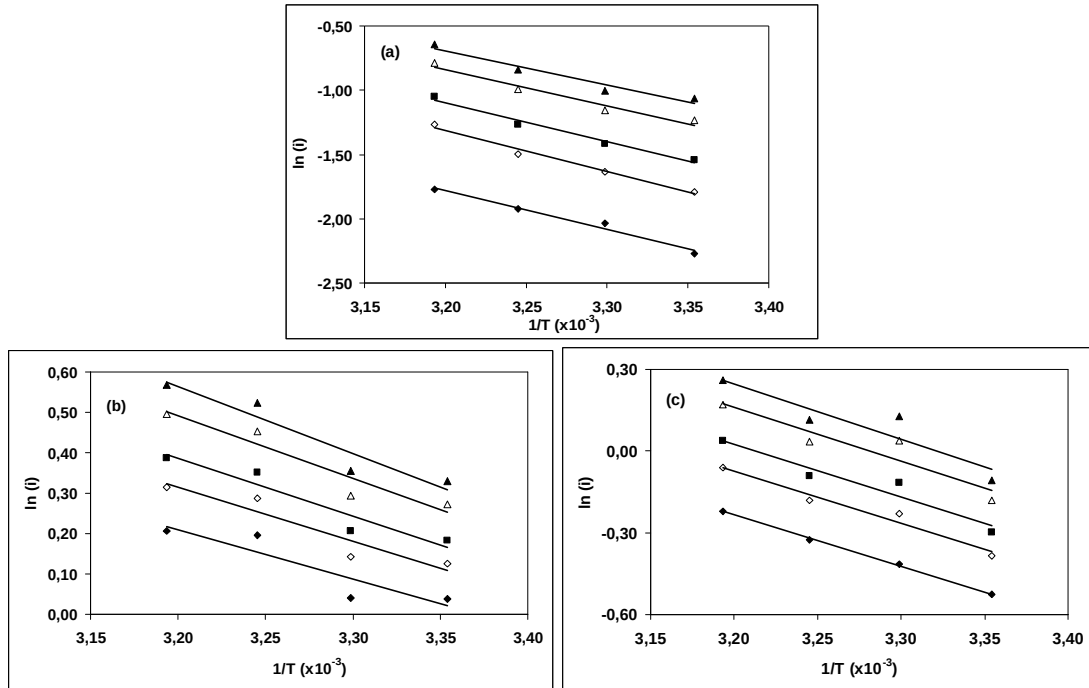
Çizelge 4.6. Destek elektrolitte ve *S. oneidensis* MR-1 içeren destek elektrolitte çalışma ve/veya karşı elektrot olarak Pt ve EPPG elektrotlarda hidrojen oluşum reaksiyonu için hesaplanan aktivasyon enerjileri

Elektrotlar		Aktivasyon Enerjisi (kJ/mol)	
Çalışma Elektrodu	Karşı Elektrot	Bakterisiz	Bakterili
Pt	Pt	24,2 ± 0,7	21,2 ± 1,4
EPPG	Pt	12,6 ± 0,5	11,6 ± 0,3
EPPG	EPPG	33,7 ± 2,7	21,7 ± 1,1

4.3.7.2. *Geobacter metallireducens*

Bu çalışmada, destek elektrolite *G. metallireducens* aşılansarak da Pt ve EPPG elektrotlarda hidrojen oluşum reaksiyonu voltametre yardımıyla farklı sıcaklıklarda incelenmiştir.

Elektrolitte bu bakterinin varlığında da hidrojen oluşumu için başlangıç potansiyelleri farklı sıcaklıklarda biraz farklılık göstermiştir (Bk. Ek-B: *G. metallireducens* İçeren Destek Elektrolitte Farklı Sıcaklıklarda Kaydedilen Voltamogramlar). Aktivasyon enerjileri Bölüm 4.3.7.1’ de anıldığı şekilde belirlenmiştir. Şekil 4.40’ da *G. metallireducens* için $1/T$ ’ ye karşı $\ln i$ ’ nin grafiği gösterilmektedir.



Şekil 4.40. Destek elektrolitte ve *G. metallireducens* içeren destek elektrolitte çalışma ve/veya karşı elektrot olarak Pt ve EPPG elektrotların Arrhenius eğrileri (a) Pt/Pt, (b) EPPG/Pt, (c) EPPG/EPPG

Farklı elektrot çiftleri için hesaplanan hidrojen oluşum reaksiyonunun aktivasyon enerjileri Çizelge 4.7' de verilmiştir.

Çizelge 4.7. *G. metallireducens* içeren destek elektrolitte çalışma ve/veya karşı elektrot olarak Pt ve EPPG elektrotlarda hidrojen oluşum reaksiyonu için hesaplanan aktivasyon enerjileri

Elektrotlar		Aktivasyon Enerjisi (kJ/mol)	
Çalışma Elektrodu	Karşı Elektrot	Bakterisiz	Bakterili
Pt	Pt	24,2 ± 0,7	24,5 ± 1,2
EPPG	Pt	12,3 ± 0,3	11,9 ± 1,0
EPPG	EPPG	33,7 ± 2,7	16,2 ± 0,3

Buna göre, standart elektrolit çözeltisinde bakteri varlığında platin elektrotta hidrojen oluşum reaksiyonu için $E_a = 24,4 \pm 1,4$ kJ/mol' dür. Bu değer, sadece destek elektrolitte hesaplanan aktivasyon enerjisine ($24,1 \pm 0,6$ kJ/mol) oldukça yakındır. Buna göre, platin elektrot kullanıldığında bu bakterinin varlığı aktivasyon enerjisinde önemli bir fark yaratmamaktadır. Benzer bir sonuç, Pt karşı elektroduna karşı

EPPG' nin kullanıldığı koşullarda da alınmıştır. EPPG/EPPG elektrot çiftinin kullanıldığı koşullarda ise, destek elektrolitte bakteri varlığında aktivasyon enerjisi 33,1 kJ/mol' den 16,3 kJ/mol' e düşmüştür. Hatta Pt ile kıyaslandığında, bakterili koşullarda aktivasyon enerjisi çok daha düşüktür. Bu durum, EPPG yüzeyindeki mikroorganizmaların elektrolitik ortamda hidrojen oluşum reaksiyonun mekanizmasını değiştirdiğinin de göstergesidir. Ayrıca, bu bakteri kültürü *S. oneidensis* MR-1' e kıyasla aktivasyon enerjisini biraz daha fazla düşürmüştür. Daha önceki voltametre çalışmalarında da bu bakterinin, *S. oneidensis* MR-1' e göre, hidrojen üretimi üzerinde daha etkili olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar önceki çalışmaları desteklemektedir.

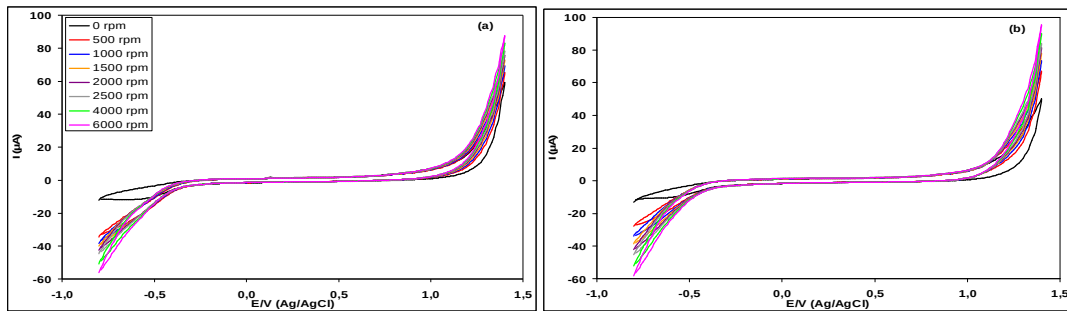
4.3.8. Döner Disk Elektrot Sistemi ile Pirolize Grafit Yüzeyde Elektrokimyasal Uygulamalar

Döner disk elektrot, üç elektrotlu sistemde kullanılan hidrodinamik bir çalışma elektrodudur (Bard ve Faulkner, 2001). Bu elektrot, elektrotta analit akışını içeren deneyler sırasında döndürülür. Bu çalışma elektrotları, redoks kimyası ile ilgili ve/veya diğer kimyasal olaylar arasındaki reaksiyon mekanizmaları araştıran elektrokimyasal çalışmalarda kullanılır. Bu çalışmada, döner disk elektrot sistemi kullanılarak, önceki çalışmalarımızda kullanılan *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* bakteri kültürleri ile katalitik hidrojen oluşum mekanizması bir pirolize grafit (kenar düzlemlili) disk elektrotta (PGE) voltametrik tekniklerle incelenmiştir.

Redoks aktif türlerin elektron transfer kinetikleri ve akım cevabı çalışma elektrodunun yüzeyinin durumundan etkilenebilir. Bu nedenle elektrot yüzeyine bir ön işlem tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için gerekebilir. Blanford ve Armstrong (2006) yaptıkları bir çalışmada pirolize grafitin kenar yüzeyi cilalandığı zaman, büyük iç yüzey alanı sahip pek çok gözenekli materyalden daha büyük ve daha kolay elde edilebilir bir yüzeye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu sayede, uygun yüzey modifikasyonları ile sağlanan daha geniş elektrot yüzey alanının verimli bir adsorpsiyon ve bağlanma sağladığı gibi, elektrokimyasal çalışmalardaki sinyali de

oldukça geliştirdiği ifade edilmiştir. Bu nedenle, öncelikle çalışmalarımızda PGE yüzeyi iki farklı cilalama materyali kullanılarak cilalanmış ve bu şekilde elektrokimyasal ölçümlerdeki oluşabilecek farklılıklar kıyaslanmıştır. Bu amaçla alümina (0,05 μm) ve kumlu zımpara (P1200) elektrot yüzeyini cilalamada kullanılmıştır.

Şekil 4.41, PGE' nin deney öncesinde alümina ve P1200 zımpara ile cilalandıktan sonra bakteri içermeyen destek elektrolitte, sabit bir tarama hızında (50 mV/s), geniş bir potansiyel aralığında farklı dönme hızlarında alınan ileri ve geri yöndeki taramalara ait voltamogramları göstermektedir. Dönme hızı arttıkça hem anodik hem de katodik akım artmıştır. Ancak elektrot yüzeyinin farklı cilalama malzemeleri ile cilalanması elde edilen anodik ve katodik sinyallerde önemli bir fark yaratmamıştır.

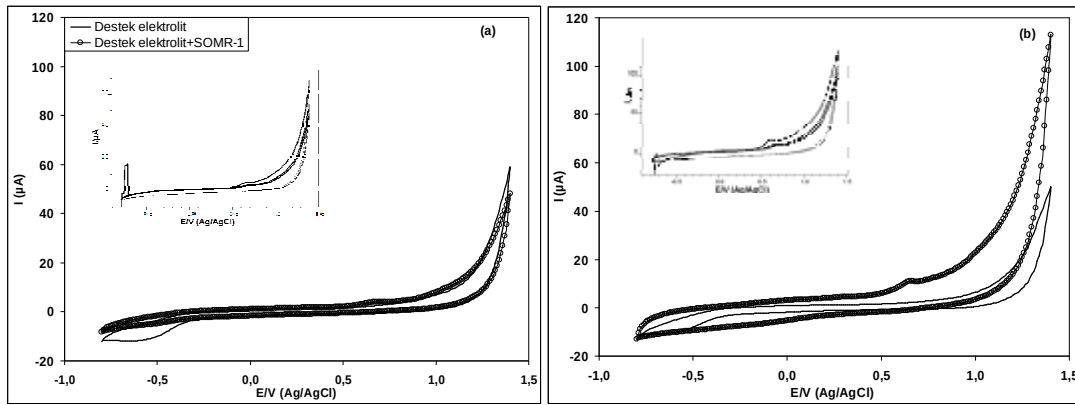


Şekil 4.41. PGE çalışma elektrodunun farklı dönme hızlarında, 50 mV/s tarama hızında, oda sıcaklığında destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramları. (a) Alümina (b) Kumlu zımpara (P1200) ile cilalama

4.3.8.1. *Shewanella oneidensis* MR-1

Benzer koşullarda bir çalışma destek elektrolite *S. oneidensis* MR-1 bakteri kültürü aşılanarak da yapılmıştır. Şekil 4.42' daki voltamogram çalışma elektrodu döndürülmeksizin, oda sıcaklığında elde edilmiştir. Buna göre, yüzey kumlu zımpara ile cilandığında daha büyük anodik ve katodik akımlar elde edilmiştir (Şekil 4.42b). Yüzeyde bakterinin varlığı +0,65 V' ta gözlenen anodik pik ile karılanmaktadır. Şekil 4.42b' deki voltamogramdaki ek grafikte ilk döngüde bakterinin yükseltgenme pikinin büyüklüğü çok daha dikkat çekicidir. Ancak sonraki döngülerde bu pikin

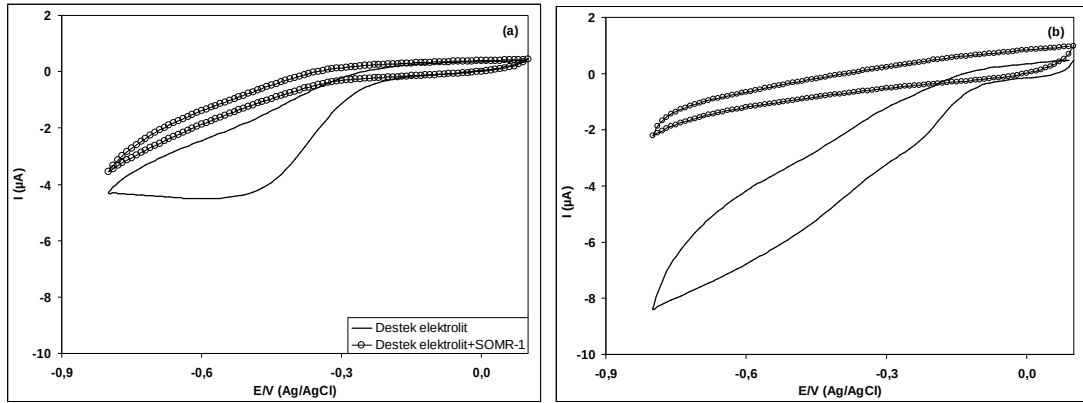
büyüklüğü azalmakla birlikte üst üste çakışmaktadır. Ayrıca, katodik indirgenme bölgesinde (H_2 oluşumu) yaklaşık -0,60 V civarında destek elektrolitte gözlenen katodik pik bakteri varlığında kaybolmuştur. Bu durum, bakterinin elektrot yüzeyini kapattığının bir göstergesi olabileceği gibi, yüzeyde elektron taşınımını değiştirerek bakteri varlığında hidrojen oluşumunun farklı bir mekanizma üzerinden yürüdüğü de işareti olabilir.



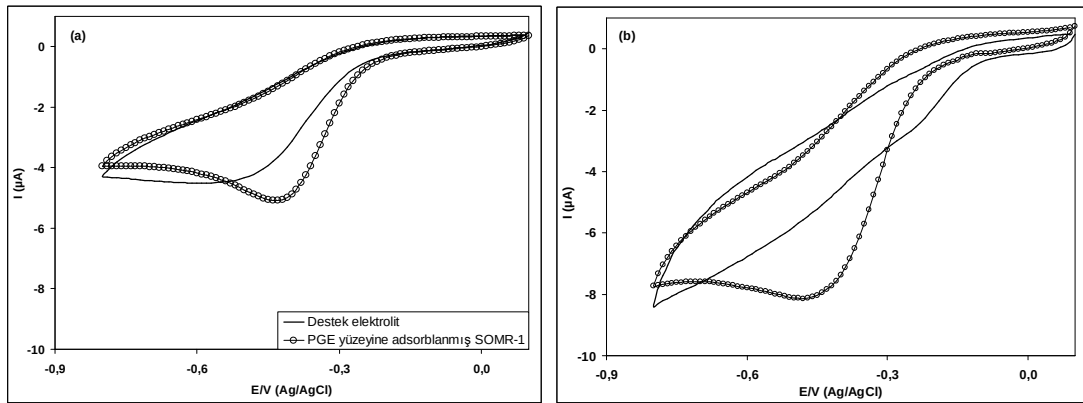
Şekil 4.42. PGE çalışma elektrodunun taze destek elektrolitte ve *S. oneidensis* MR-1 (SOMR-1) aşılansmış destek elektrolitte, 50 mV/s tarama hızında, döndürme yapılmaksızın kaydedilen dönüşümlü voltamogramları. (a) Alümina (b) Kumlu zımpara (P1200) ile cilalama. Voltamogramlardaki ek grafikler benzer koşullarda alınan üst üste çakıştırılmış döngüleri göstermektedir.

PGE' nin bakterili destek elektrolitte, 10 mV/s tarama hızında, döndürme yapılmaksızın katodik yönde alınan voltamogramlarında da fark olduğu görülmektedir (Şekil 4.43). Destek elektrolitte bakteri varken katodik yönde bakteriye ilişkin herhangi bir indirgenme ya da yükseltgenme piki gözlenmemiştir. Bakteri varlığı sadece katodik akımdaki azalış ile ifade edilebilir. Şekil 4.44' ten de görüldüğü üzere, PGE' ye adsorblansmış bakteri, durumu biraz daha farklılaştırmaktadır. Bu ölçüm, bakteri sabit bir katodik potansiyelde (-0,4 V, Ag/AgCl' e karşı), bir saat boyunca, PGE 1000 rpm' de döndürülerek yükleme yapıldıktan sonra bakterisiz, taze destek elektrolitte kaydedilmiştir. Elde edilen bu kararlı hal voltamogramları potansiyelin bir fonksiyonu olarak döngü sayısının grafiğidir ve bu grafiğin şekli ve büyüklüğü aktif bölgenin farklı redoks

basamaklarının indirgenme potansiyelleri hakkında bilgi verir (Lger ve ark., 2002). Buna göre, elektrot yüzeyine adsorblanmış *S. oneidensis* MR-1 -0,43 V' ta indirgeyici dalga (katodik akım) oluşturmaktadır. Herhangi bir yükseltgeyici bir pike (anodik akım) rastlanmamıştır. Bu sonuçlar, yükleme esnasında çalışma elektrodunun döndürülmesinin PGE yüzeyinde daha düzenli bir yığılmayı sağladığını da düşündürmektedir.



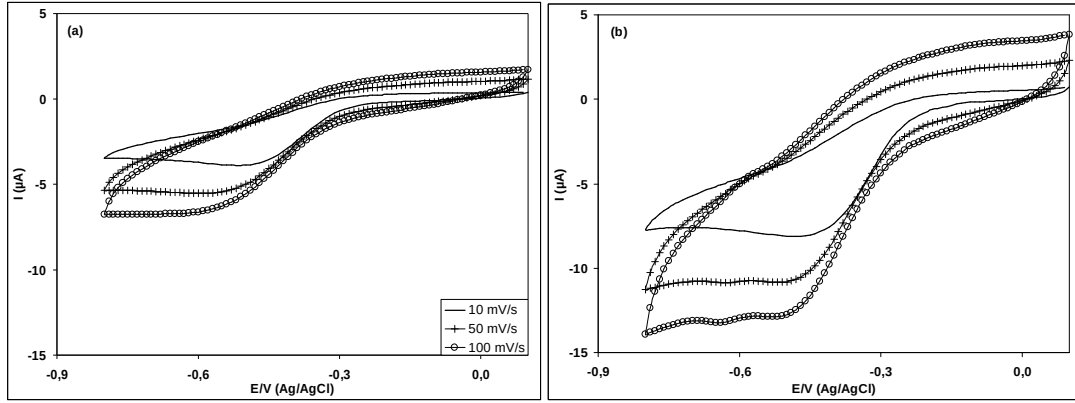
Şekil 4.43. PGE çalışma elektrodunun taze destek elektrolitte ve *S. oneidensis* MR-1 aşılans destek elektrolitte, 10 mV/s tarama hızında, döndürme yapılmaksızın, katodik yönde kaydedilen dönüşümlü voltamogramları. (a) Alümina (b) Kumlu zımpara (P1200) ile cilalama



Şekil 4.44. PGE yüzeyine adsorblanmış *S. oneidensis* MR-1' in bakterisiz taze destek elektrolitte elektrodu döndürmeksizin katodik yönde 10 mV/s tarama hızında kaydedilen dönüşümlü voltamogramları (a) Alümina (b) Kumlu zımpara (P1200) ile cilalama

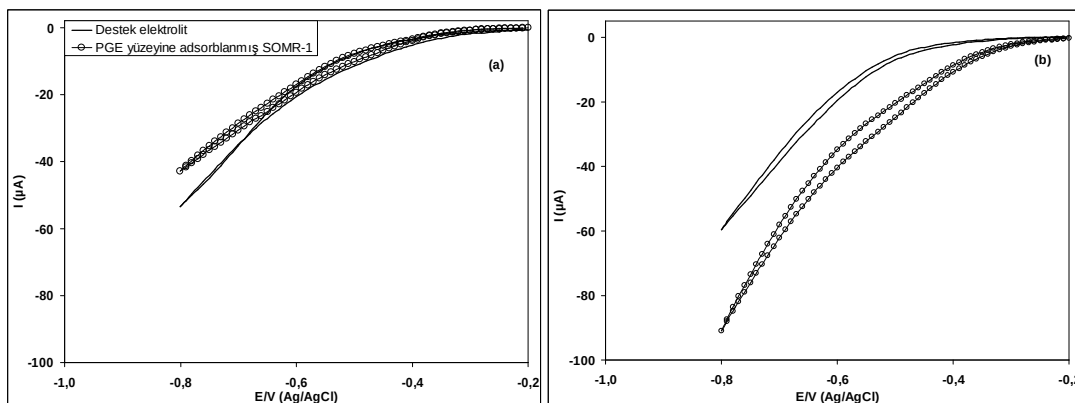
Farklı tarama hızlarında aynı koşullarda katodik yönde alınan dönüşümlü voltamogramlarda tarama hızı arttıkça akım değerlerinin arttığı gözlenmektedir

(Şekil 4.45). Ancak daha yüksek tarama hızlarında dikkat çeken bir başka oksitlenmiş ya da indirgenmiş türe rastlanmamıştır.



Şekil 4.45. Bakteri yüklü PGE elektrodun farklı tarama hızlarında katodik yönde destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramları (a) Alümina (b) Kumlu zımpara (P1200) ile cilalama

6000 rpm dönme hızı ve 3 mV/s tarama hızında PGE yüzeyine adsorblanmış bakterinin taze destek elektrolitte alınan katodik voltamogramlarında (Şekil 4.46) H_2 oluşturmak için katalitik H^+ indirgemenin nasıl olduğu N_2 atmosferinde araştırılmıştır. Bu olay, elektrot dönme hızına önemli ölçüde bağlıdır. Bu bağıllık, substratın (H^+ durumunda) eldesi ve tüketiminden dolayı değildir, ama ürünün (H_2) dağılımdan kaynaklanabilir (Lger ve ark. 2003).



Şekil 4.46. 6000 rpm dönme hızı ve 3 mV/s tarama hızında destek elektrolitte ve bakteri yüklü PGE elektrodun destek elektrolitte katodik yönde alınan dönüşümlü voltamogramlar (a) Alümina (b) P1200 ile cilalama

Buna göre, yüzey alümina ile cilalandığında akımda önemli bir değişiklik olmadığı gibi gözlenen voltamogramın dalga şeklinde de dikkate değer bir farklılık yoktur (Şekil 4.46a). Ancak yüzey kumlu zımpara ile cilalandığında PGE yüzeyinde oluşturulan bakteri filmi katodik akımı oldukça arttırmıştır (Şekil 4.46b). Şekil 4.44 ile kıyaslandığında, indirgenme reaksiyon ürünü (H_2) elektrodun döndürülmesinden dolayı yüzeyden sürüklenerek dağıldığı için yükseltgeyici ve indirgeyici pikler kaybolmuştur. Kural olarak, akım yüksek potansiyellerde sınır değere (i_{lim}) ulaşabilir. Bu sınır akım, tam olarak indirgenmiş türün aktivitesine karşılık gelir (Lger ve ark., 2002). Akımın rotasyon hızına bağlılığını ifade eden bu analizler için, -0,8 V' ta (Ag/AgCl' e göre) kaydedilen akımın sınır değere yakın olduğu yaklaşımını yapabiliriz ($i_{lim} \approx i_{-800}$). Voltamogramda gözlenen eğrinin eğimi büyüktür. Burada akım düşük potansiyellerde sınır değerde düzleşmemiştir. Yani akım lineer bir artış ve dolayısıyla büyük bir eğim göstermektedir. Eğim katalitik aktivite ve yüzeyler arası elektron transfer hızı arasındaki yarışmayı yansıtır (Lger ve ark. 2003). Lineerlikteki artış yüzeyler arası elektron transferi için daha düşük aktivasyon enerjisi anlamında yorumlanabilir. Bu da elektron transferinin ve dolayısıyla ürün (H_2) oluşumunun yüzeyde bakteri varlığında daha hızlı olacağını kanıtlamaktadır. Burada düşük tarama hızı, katalitik kararlı halin sürdürülmesini sağlamak ve arka plan (background) akımını azaltmak için kullanılmıştır. Potansiyel tarama aralığı ise bakterideki aktif bölgenin aktif olmayan forma dönüşümünü ve bakterinin yüzeyden uzaklaşmasını engellemek için daha negatif potansiyeller ile sınırlandırılmıştır. Dönme hızı, kütle taşınımından kaynaklanabilecek sınırlamayı azaltmak için yüksek tutulmuştur ($\omega=6000$ rpm).

Sabit bir katodik potansiyel uygulandığında dönme hızı arttırıldıkça akım negatif yönde artmaktadır. Dönme hızı azaltıldığında ise, akım değerleri yeniden negatif yönde azalmakta ve giderek sıfıra yaklaşmaktadır. Dönme hızının kareköküne karşı akım değerleri grafiğe geçirildiğinde bu durum daha anlaşılır olmaktadır. Dönme hızının karekökünün tersi akımla ilişkilendirildiğinde ise lineer bir eğri elde edilmektedir. Dönme hızı arttırıldığında kütle transferi ile kontrollü daha büyük akımlar oluşmaktadır. Kütle transfer kontrollü bu akımlar Levich eşitliği ile ifade edilir (Eşitlik 4.8) ve sınır akım dönme hızının karesi ile lineer değişim gösterir.

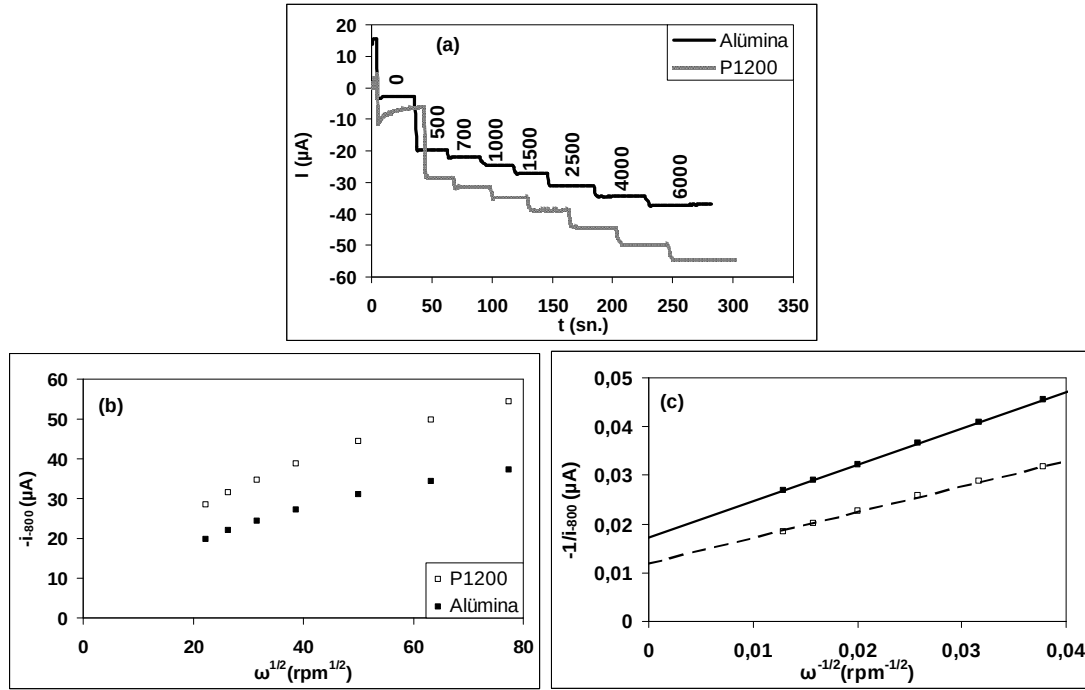
$$I = \frac{nFADc}{Z_D} \quad Z_D = \frac{0,642\nu^{1/6}D^{1/3}}{\omega^{1/2}} \quad (4.8)$$

Yukarıdaki eşitliklerde "I" Levich akımını, "n" yarı hücre reaksiyonunda transfer edilen elektron sayısını, "F" Faraday sabitini, "A" elektrot alanını, "D" difüzyon katsayısını, "c" analit derişimini, "Z_D" difüzyon tabakası kalınlığını, "ν" kinematik viskoziteyi ve "ω" rotasyon hızını ifade etmektedir. Levich eşitliğine göre, dönme hızı ile gösterilen akımın değişimi üzerinde difüzyon tabakasının kalınlığı da etkili olmaktadır (Bard ve Faulkner, 2001). Yukarıda bahsettiğimiz gibi, bakteri yüklü PGE elektrot ile -0,8 V' ta kaydedilen proton indirgeme akımı elektrot dönme hızının artması ile artmaktadır (Şekil 4.47a). Böyle bir durum normal olarak, çözeltiden elektrot yüzeyine substratın (proton) artan akışı ile sonuçlanmaktadır. Levich eşitliğine göre, kütle taşınımının kontrollü reaksiyonu için akım rotasyon hızının karekökü (ω^{1/2}) ile orantılıdır. Bu koşullar altında, Şekil 4.47b' deki ğriye göre, yüksek rotasyon hızlarında katalitik akım düzleşmeye başlamaktadır ve bu, aktivitenin sadece biraz kütle taşınım kontrollü olduğunu göstermektedir. Daha uyumlu sonuçlar Koutecky-Levich eşitliği (Eşitlik 4.9) ile elde edilir. Bu eşitlik, sonsuz rotasyon hızında sonsuz akıma ekstrapolasyona imkan verir.

$$\frac{1}{-i_{lim}} = \frac{1}{-i_{lim}^{\omega=\infty}} + \frac{1}{0,62nFAD^{2/3}\nu_s^{-1/6}[H^+]\omega^{1/2}} \quad (4.9)$$

Eşitlikte, [H⁺] protonun bilinen konsantrasyonunu, n redoks reaksiyonundaki elektron sayısını, F Faraday sabitini, A elektrot alanını, D difüzyon katsayısını ve ν_s çözeltinin kinematik viskozitesini temsil etmektedir (Bard ve Faulkner, 2001). Sınır akımının rotasyon hızına bağıllığı elektrot yüzeyine yakın substrat (proton) tüketiminden dolayıdır. Ancak ω^{-1/2}, nin fonksiyonu olarak lineer dğişim kütle taşınım prosesinin etkili olduğunu göstermektedir (Şekil 4.47c). Bu da elektrot yüzeyinden çözeltiye H₂' nin dğılımının çok uygun olduğunu gösterir. Ayrıca PGE yüzeyinde farklı cilalama ürünlerinin kullanımı bu sonuçlar üzerinde biraz değişiklik

yaratmaktadır. Buna göre, kumlu zımpara kullanıldığında etkinliğin daha iyi olduğu görülmektedir.

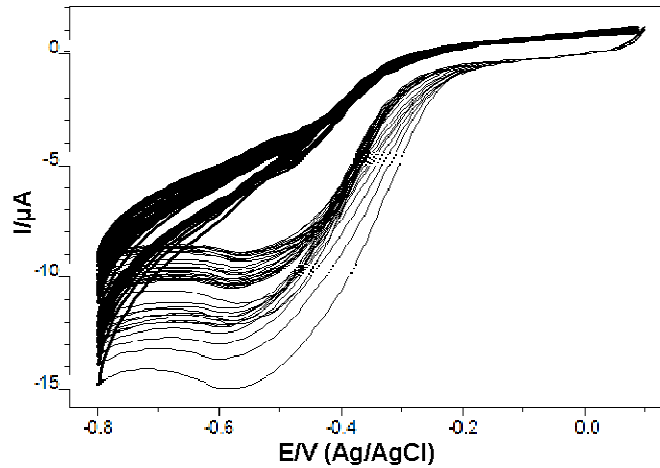


Şekil 4.47. Elektrot dönme hızına proton indirgeme akımının bağılılığı. (a) Akım/dönme hızı/zaman ilişkisi (b) Levich eğrisi, (c) Koutecky-Levich eğrisi (elektrot dönme hızının karekökünün tersine karşı akımın tersi). PGE alümina (düz çizgi ve ■) ve kumlu zımpara-P1200 (kesikli çizgi ve □) ile cilalanmıştır. Sonuçlar pH=7' de, N₂ atmosferinde ve sabit bir katodik potansiyelde (-0,8 V Ag/AgCl' ye karşı) elde edilmiştir.

Yüzeyi cilalamak, pürüzlü ve oksitlenmiş bir yüzey sağladığı için kovalent olmayan adsorpsiyon için etkili olmaktadır (Armstrong ve ark., 2009). Yapılan bir çalışmada, PGE yüzeyinin kumlu zımpara (P800) cilalanıp sadece su ile yıkandıktan sonra çok sayıda oldukça küçük parçalarla örtüldüğü ifade edilmiştir. Daha büyük partiküller ise analizden önce su ile yıkanarak uzaklaştırılabilmiştir. Ayrıca kumlu zımpara ile aşındırma, çok sayıda geniş açılı hendekler bırakan tabakaların bir kısmını yerinden çıkarmıştır. İnce alümina parçaları ile cilalamak, grafit levhanın kenarlarını neredeyse görünmez kılan bir yüzey sağlayabilmiştir. Ancak, yüzey suda sonikasyon yapılmasına ve yine su ile yıkanmasına rağmen yüzeyin bir kısmının hala alümina ile örtüldüğü sonucu çıkarılmıştır. Buna göre, farklı cilalama teknikleri, çok

farklı yüzey yapılarına ve olasılıkla farklı miktarlarda adsorplanan türlere meydan verebilir (Blanford ve Armstrong, 2006). Bu bilgiler ve bizimde elde ettiğimiz sonuçlar ışığında sonraki çalışmalarda PGE yüzeyi sadece kumlu zımpara (P1200) ile cilalanarak çalışmalara devam edilmiştir.

Elektrot yüzeyinde adsorblanmış bakterinin kararlılığını test etmek için, PGE elektroda bakteri yüklendikten sonra katodik yönde elektrot döndürülmeksizin, N₂ atmosferinde 50 döngü alınmıştır (Şekil 4.48). Yükleme işlemi, bir saat boyunca, elektrot 1000 rpm’ de döndürülerek, oda sıcaklığında, sabit bir potansiyelde (-0,4 V) bakterili destek elektrolitte gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara göre, -0,50 V civarında gözlenen indirgeyici dalgaının (katodik akım) şekli ardışık taramalarda bozulmamakta sadece akım giderek azalmaktadır. Bu da bize oluşan biyofilmin PGE yüzeyini kolaylıkla terk etmediğini ve kararlılığını koruduğunu kanıtlamaktadır.



Şekil 4.48. 1000 rpm’ de bir saatlik yükleme sonunda PGE yüzeyinde oluşan *S. oneidensis* MR-1 biyofilminin destek elektrolitteki kararlılığı. Dönme hızı: 0 rpm, tarama hızı: 10 mV/s

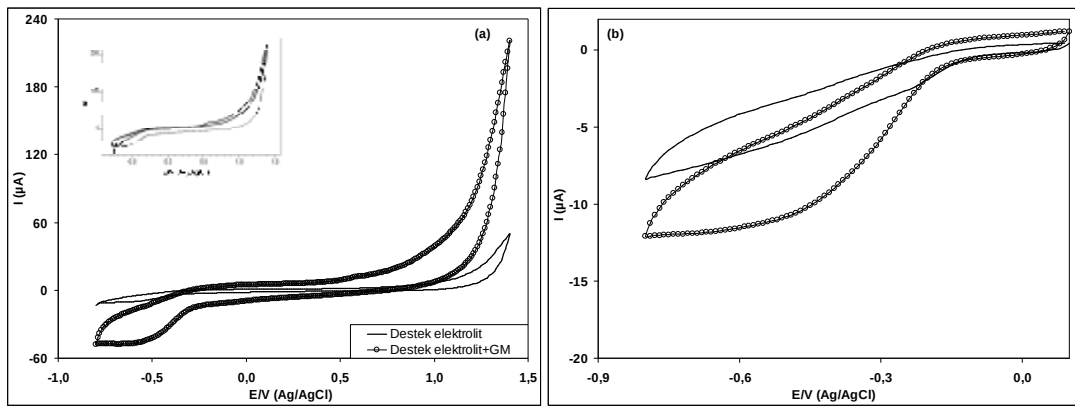
PGE elektrot çok hızlı yapay bir redoks partneri olarak çalışmaktadır (Pershad ve ark., 1999). Bu, eş zamanlı olarak katalitik prosesin etkisini ve kinetiğini çalışmak için yeni ve alternatif fırsatlar sunmaktadır (Lger ve ark., 2002). Çalışmanın bu kısmında *S. oneidensis* MR-1’ in hidrojen oluşum mekanizması üzerine odaklanılmıştır. Belirgin katalitik indirgeyici akımlar N₂ atmosferi altında

ölçülmüştür (Şekil 4.44). Çözeltiden elektrot yüzeyine türlerin difüzyonunu arttırmak için elektrot döndürülerek kullanılmaktadır (Pershad ve ark., 1999; Sucheta ve ark., 1993; Bard ve Faulkner, 2001; Heering ve ark., 1998) (Şekil 4.46). Bu durumda, elektrodun döndürülmesinden, ürün dağılımını kontrol etmek ve incelemek için faydalanılmaktadır (Lger ve ark., 1999). Katodik yönde yapılan çalışmalar ışığında, *S. oneidensis* MR-1 PGE yüzeyinde indirgenerek indirgeyici akım oluşturmaktadır. *S. oneidensis* MR-1' in $\dot{H}$ indirgenmesi için aktif bir katalizör olduğu söylenebilir. Bakteri filminin, belirli bir rotasyonda döndürülerek PGE yüzeyinde adsorblanması sağlanmış ve bu sayede daha düzgün bir film tabakası oluşturulmuştur. Yüksek dönme hızlarında oksidasyon pikinin kaybolduğu gözlenmiştir. Çünkü yüksek dönme hızında H^+ ve H_2 ' nin yüzey konsantrasyonun çözeltiye geçi kolaylaşacaktır. Bu nedenle H_2 oksidasyon piki kaybolmaktadır (Hambourger ve ark., 2008). Sınır akımın dönme hızına bağlılığı elektrot yüzeyi yakınındaki protonun tüketimindendir ve bu durum rotasyon hızının karesinin bir fonksiyonu olarak lineer değişim gösterir. Bu bize kütle taşınım prosesinin etkili olduğunu ve elektrot yüzeyinden çözeltiye hidrojen dağılımının muhtemel olduğunu göstermektedir (Lger ve ark., 2002). *S. oneidensis* MR-1 ile yapılan bu çalışmada da rotasyon hızının karesi akımla lineer bir değişim gösterdiği için kütle taşınım prosesinin etkili ve elektrot yüzeyinden çözeltiye hidrojen gazı dağılımının olası olduğundan söz edilebilir.

4.3.8.2. *Geobacter metallireducens*

Şekil 4.49, *G. metallireducens* destek elektrolite aşılandıktan sonra döndürme yapılmaksızın N_2 atmosferinde alınan voltametrik ölçümleri göstermektedir. Şekil 4.68a' da döndürme yapılmaksızın alınan voltamogramlarda anodik ve katodik yönde bakteri varlığında akımın oldukça arttığı görülmektedir. Katodik ileri yöndeki taramada yaklaşık -0,50 V' ta indirgeyici bir dalga gözlenmektedir (Şekil 4.49b). Yaklaşık +0,25 V' tan sonra anodik akım giderek artmaktadır ve +0,58 V' ta bir yükseltgeyici dalga (anodik akım) gözlenmektedir (Şekil 4.49a). Bu anodik akım ilk döngüde daha belirgindir (Şekil 4.49a' da ek grafik). Destek elektrolitle kıyaslandığında, gözlenen bu farklılıklar elektrot yüzeyinde bakteri varlığını

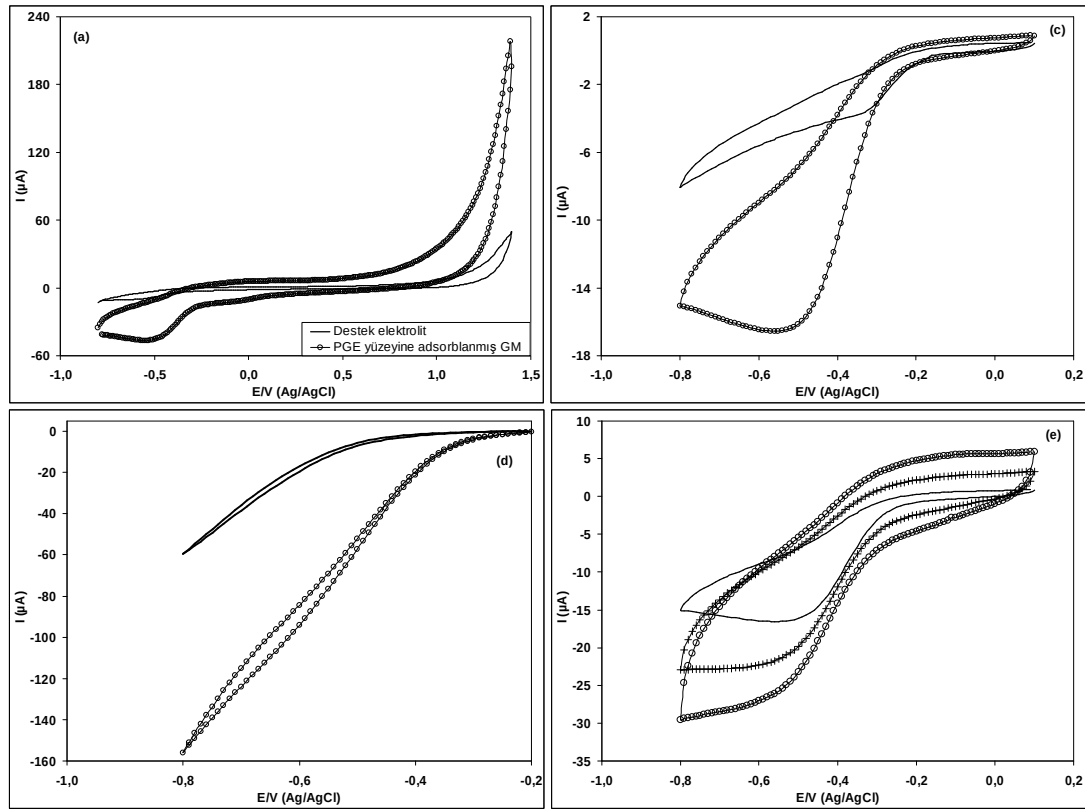
kanıtlamaktadır. Ayrıca, aynı anodik ve katodik akımda gözlenen potansiyeller bakteri varlığında oldukça azalmıştır ve bu durum aşırı gerilimin de azalmasına sebep olur. Katodik yönde, 10 mV/s' de döndürme yapılmaksızın, N₂ atmosferinde ve oda sıcaklığında alınan voltamogram Şekil 4.49b' de görülmektedir. Buna göre, destek elektrolitte bakteri varlığında yaklaşık -0,50 V' ta indirgeyici bir dalga (katodik akım) gözlenmektedir ve bu indirgeyici dalga düşük tarama hızında daha ayırt edilebilir. Bu indirgeyici dalga elektrot tarafından bakterinin indirgenmesi ile ilgilidir. Ters yöndeki taramada yükseltgeyici bir sinyale (pozitif akım) rastlanmamıştır.



Şekil 4.49. PGE çalışma elektrodunun taze destek elektrolitte ve *G. metallireducens* (GM) aşılantı destek elektrolitte, döndürme yapılmaksızın kaydedilen dönüşümlü voltamogramları. (a) -0,8 ve +1,4 V potansiyel aralığı, 50 mV/s tarama hızı (b) +0,2 ve -0,8 V potansiyel aralığı, 10 mV/s tarama hızı. (a)' daki voltamogramda ek grafik benzer koşullarda alınan üst üste çakıştırılmış döngüleri göstermektedir.

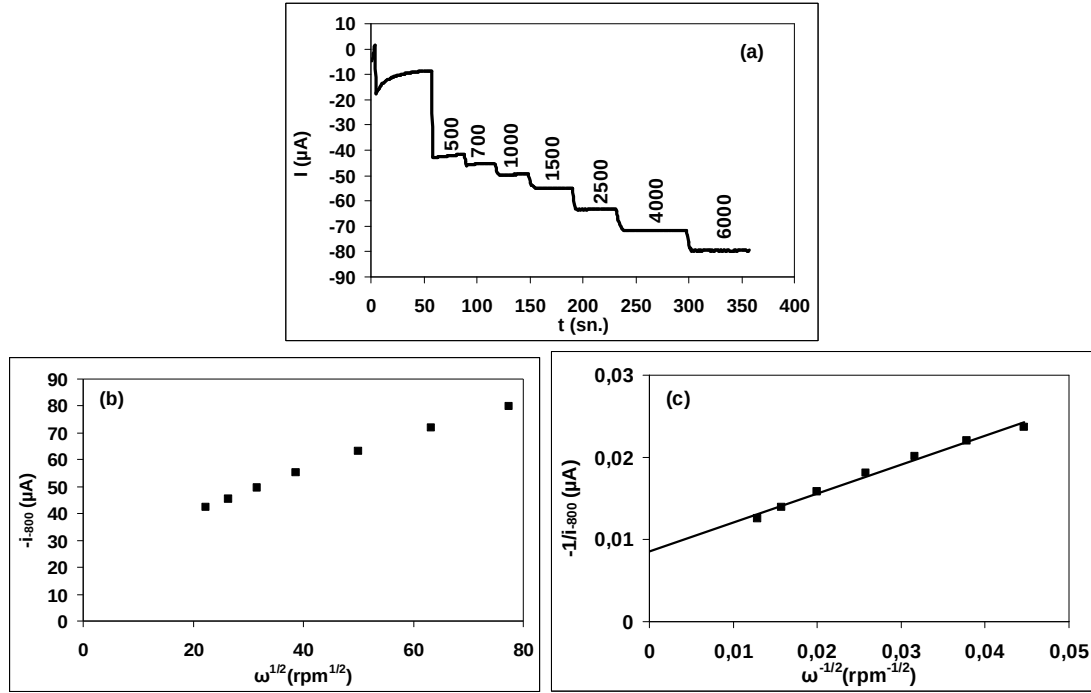
PGE yüzeyinde biyofilm oluşturulduktan sonra taze destek elektrolitte yapılan voltametrik çalışmalar Şekil 4.50' de gösterilmiştir. Biyofilm oluşturma, oda sıcaklığında ve sabit bir katodik potansiyelde (-0,4 V) elektrot bir saat boyunca 1000 rpm' de döndürülerek gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.50a' da gösterilen voltamogram elektrot döndürülmeksizin kaydedilmiştir. Buna göre, anodik ve katodik yönde akım değerleri artmaktadır. Bu sonuç, Şekil 4.49a ile benzerlik göstermektedir. Ancak çözeltide bakteri varlığında +0,58V' ta gözlenen oksidasyon piki yüklenme yapıldığında kaybolmuştur. Katodik ileri yöndeki taramada -0,48V' ta indirgeyici bir dalga (katodik akım) gözlenmektedir (Şekil 4.50b). Ters yöndeki taramada herhangi

bir yükseltgenme ürünü oluşmamıştır. Döndürme uygulanarak yapılan yükleme sonucunda PGE yüzeyinde daha düzenli bir yığılmanın olduğu düşünülmektedir. Çünkü yüzeyde film varken alınan kararlı hal voltamogramında indirgeyici dalga daha belirgin görülmektedir. 6000 rpm’ de yapılan proton indirgeme çalışmasında ise, elektrot yüzeyindeki bakteri filminin akımı oldukça arttırdığı görülmektedir. (Şekil 4.50c). Voltamogramda gözlenen eğrinin eğimi büyüktür. Burada akım düşük potansiyelerde sınır değerde düzleşmemiştir. Yani akım lineer bir artış ve dolayısıyla büyük bir eğim göstermektedir. Eğim katalitik aktivite ve yüzeyler arası elektron transfer hızı arasındaki yarışmayı yansıtır (Lger ve ark., 2003). Lineerlikteki artış yüzeyler arası elektron transferi için daha düşük aktivasyon enerjisi anlamında yorumlanabilir. Bu da elektron transferinin ve dolayısıyla ürün (H_2) oluşumunun yüzeyde bakteri varlığında daha hızlı olacağını kanıtlamaktadır. Tarama hızı arttırıldığında ileri ve geri yöndeki taramalarda farklı bir indirgenmiş ya da yükseltgenmiş bir türe rastlanmamıştır (Şekil 4.50d). Bu nedenle, akımın -0,8 V’ ta ($Ag/AgCl$ ’ ye karşı) sınır değere ulaştığı düşünülmüş ve bu potansiyele kadar ölçümler alınmıştır.



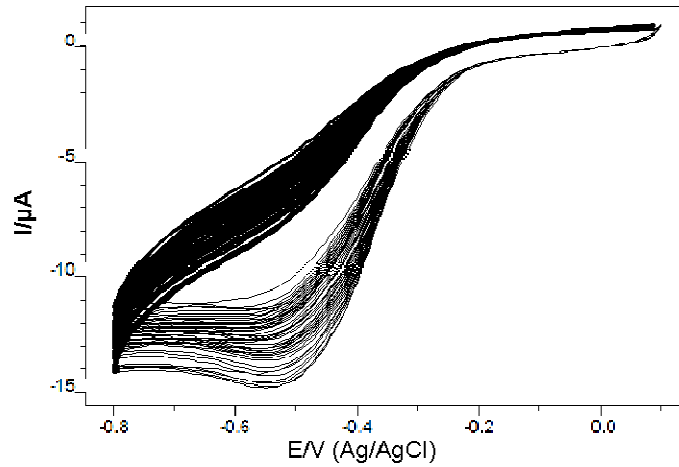
Şekil 4.50. PGE yüzeyine adsorblanmış *G. metallireducens*' ın destek elektrolitte kaydedilen dönüşümlü voltamogramları. (a) -0,8 ve +1,4 V potansiyel aralığı, $v = 50$ mV/s, $\omega = 0$ rpm, (b) +0,2 ve -0,8 V potansiyel aralığı, $v = 10$ mV/s, $\omega = 0$ rpm, (c) Proton indirgeme, $v = 3$ mV/s, $\omega = 6000$ rpm (d) +0,1 V' tan -0,8 V' $v = 10$ (-), 50 (+), 100 ($\circ$) mV/s, $\omega = 0$ rpm (e) +0,1 V' tan -1,2 V' $v = 10$ (-), 50 (+), 100 ($\circ$) mV/s, $\omega = 0$ rpm

Şekil 4.51a' da gösterilen proton indirgeme akımı sabit bir pH' da elektrodun dönme hızı artırılarak -0,8 V' da (Ag/AgCl' ye kıyasla) kaydedilmiştir. Dönme hızı artırıldığında akım da katodik yönde giderek artmaktadır. Elde edilen Levich eğrisine göre de, katalitik akım rotasyon hızı ile artmaktadır (Şekil 4.51b). Bu durum, çözeltiden elektrot yüzeyine substratın (H^+) artan akışı ile sonuçlanır ve Levich eğrisinden alınan sonuca göre, bu bakterinin aktivitesi oldukça kütle taşınım kontrollüdür. Şekil 4.51c' de gösterilen Koutecky-Levich eğrisi $\omega^{-1/2}$ ' in fonksiyonu olarak lineer bir değişim göstermiştir. Buna göre, kütle taşınım prosesi etkilidir ve elektrot yüzeyinden çözeltiye H_2 ' nin dağılımı oldukça olasıdır.



Şekil 4.51. Elektrot dönme hızına proton indirgeme akımının bağıllığı. (a) Akım/dönme hızı/zaman ilişkisi, (b) Levich eğrisi, (c) Koutecky-Levich eğrisi (elektrot dönme hızının karekökünün tersine karşı akımın tersi)

PGE yüzeyindeki bakteri filminin kararlılığını test etmek için, PGE elektroda bakteri yüklendikten sonra katodik yönde elektrot döndürülmeksizin, N_2 atmosferinde taze destek elektrolitte 50 döngü alınmıştır (Şekil 4.52). Yükleme işlemi, bir saat boyunca, elektrot 1000 rpm' de döndürülerek, oda sıcaklığında, sabit bir potansiyelde (-0,4 V) bakterili destek elektrolitte gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara göre, -0,50 V civarında gözlenen indirgeyici dalgaının (katodik akım) şekli ardışık taramalarda bozulmamakta sadece akım giderek azalmaktadır. Bu da bize oluşan biyofilmin PGE yüzeyini kolaylıkla terk etmediğini ve kararlılığını koruduğunu kanıtlamaktadır.



Şekil 4.52. 1000 rpm’ de bir saatlik yükleme sonunda PGE yüzeyinde oluşan *G. metallireducens* biyofilminin destek elektrolitteki kararlılığı. Dönme hızı: 0 rpm, tarama hızı: 10 mV/s

S. oneidensis MR-1 ve *G. metallireducens* bakterileri kullanılarak döner disk PGE’ de yapılan voltametrik ve kronoamperometrik çalışma sonuçları kıyaslanacak olursa, her iki bakteride PGE yüzeyine yüklendiğinde bir katodik akım oluştururken anodik akım göstermemektedir. Bu, her iki organizmanın da PGE yüzeyinde indirgenebildiğini göstermektedir (Şekil 4.44b ve 4.50b). İki organizma da anodik bölgede anodik akım oluşturmakta ve anodik aşırı gerilimi oldukça düşürmektedir (Şekil 4.42b ve 4.50a). Ancak, katodik yönde (negatif potansiyel) yüzeye bakteri yükleme işlemi yapılmadan bile *G. metallireducens* elektrot yüzeyinde indirgenebilmekte ve akımı oldukça arttırabilmektedir. Proton indirgeme çalışmasında da yüzeyde *G. metallireducens*’ in varlığı akımı lineer bir şekilde arttırmakta ve dolayısıyla yüzeyler arası elektron transferinin ve H_2 oluşumunun daha hızlı olacağını göstermektedir (Şekil 4.50c). Ayrıca, Levich eğrisine göre de katalitik akım dönme hızı ile giderek artmakta, artan dönme hızında bir düzleşme göstermemektedir (Şekil 4.51b). Bu da bu organizma ile kütle taşınım prosesinin daha etkili olduğunu göstermektedir. Özetle diyebiliriz ki, *G. metallireducens* ile elektrot/çözelti arasındaki elektron transferinin daha hızlı olduğu düşünülmektedir. Bu sayede akım katodik olarak artmakta ve bu organizmanın elektron aktarımının yanı sıra proton aktarımını da hızlandırabileceğini ve hidrojen oluşumunu daha etkin hale getirebileceğini göstermektedir.

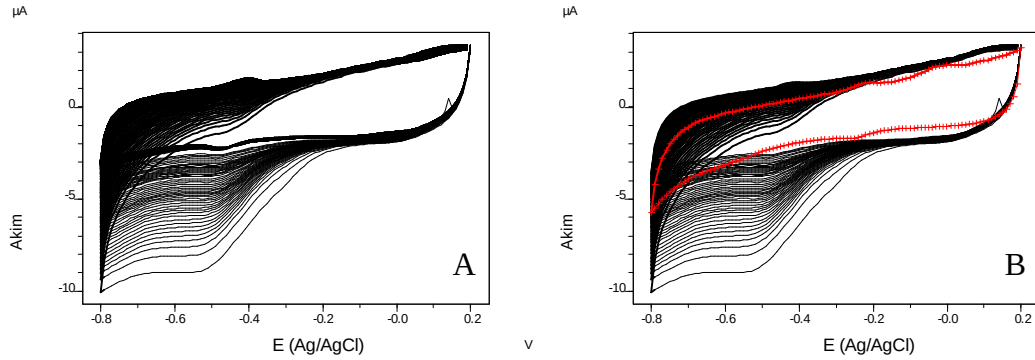
4.3.9. Elektrokimyasal H₂ Üretimi için Katalizör Olarak *Shewanella oneidensis* MR-1 ve *Geobacter metallireducens*

Bu çalışmada *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* bakterilerinin dönüşümlü voltametre tekniği ile PGE elektrotta protonlardan direkt hidrojen üretimini katalizlemedeki etkinliği ve katalitik aktivitesi incelenmiştir. Katalitik akım üzerinde dönme hızı, katodik potansiyel artışı, tarama hızı ve döngü tekrarı gibi parametrelerin etkisi döner disk elektrot sistemi kullanılarak araştırılmıştır. Bu sistemde, elektron transferi, karakteristik potansiyeller ve elektron sayısını içeren hız belirleyici basamakları belirlemede kullanılan potansiyel etkili kataliz araştırılabilmektedir. (Sucheta ve ark., 1993; Armstrong ve ark., 1997; Heering ve ark., 1997; Heffron ve ark., 2001; Leger ve ark., 2001; Armstrong, 2002; Jeuken ve ark., 2002). Çalışmalarda bakteriler PGE yüzeyine tutturulmuştur. Döner disk PG elektrot ile bakterilerin redoks özellikleri herhangi bir substrat olmaksızın belirlenmeye çalışılmıştır. Tüm ölçümler Ag/AgCl referans elektroda (doymuş KCl' de) karşı alınmıştır. Destek elektrolit olarak 0,1 M fosfat tamponu (pH 7) kullanılmıştır. N₂ atmosferinde ve 30°C' de çalışılmıştır. Grafiklerdeki oklar ileri (→) ve geri (←) yönlü taramayı ifade etmektedir.

4.3.9.1. *Shewanella oneidensis* MR-1

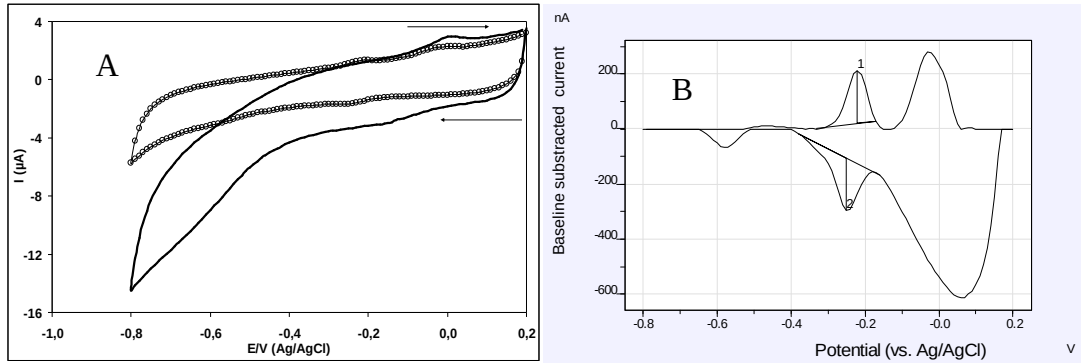
S. oneidensis MR-1' in PGE elektrotta adsorpsiyonu pH=7, 0,1 M fosfat tamponunda tekrarlı potansiyel taraması ile (+0,2 ↔ -0,8V, Ag/AgCl' e karşı) gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.53A). Ardışık taramalarda akım giderek azalmış ve biyofilm oluşmaya başlamıştır. -0,40 V civarında yükseltgenme ve indirgenme bölgelerinde zamanla bir pik oluşumu gözlenmiş ve bu pikin büyüklüğü giderek artmıştır. Yükleme sonrasında biyofilm, bakterili elektrolit çözeltisinden çıkarılıp saf su ile dikkatlice yıkandıktan sonra taze tamponda çalışılmıştır. Yüklü elektrot taze tampon çözeltiye taşındığında, yükleme esnasında alınan son döngülerle kıyaslandığında, katodik akım biraz artmıştır (Şekil 4.53B, kırmızı renkli

voltamogram). Bu, adsorpsiyon prosesi sırasındaki katodik akımın bir sonucu olarak elektrot yüzeyinde biriken H_2 'nin yüzeyden ayrılabilmesinden kaynaklanmaktadır.



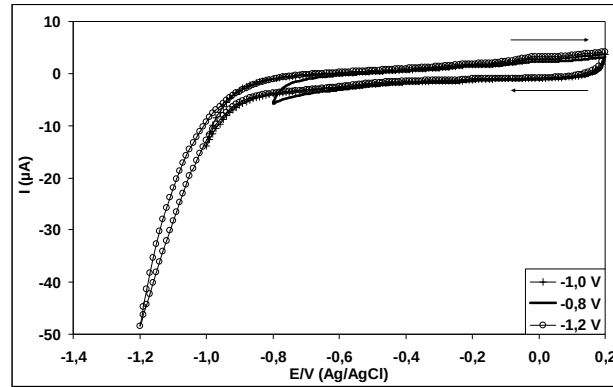
Şekil 4.53. (A) PGE elektrotta tekrarlı potansiyel taraması (+0,2 ve -0,8V) ile *S. oneidensis* MR-1' in adsorpsiyonu. (B) Adsorblanan filmin taze tamponundaki voltamogramı (kırmızı çizgi). $v=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi, $\omega=0 \text{ rpm}$

Şekil 4.54A' da PGE elektrotta *S. oneidensis* MR-1 filminin dönüşümlü voltamogramı gösterilmiştir. Burada ortamda herhangi bir indirgeyici ya da yükseltgeyici substrat kullanılmamıştır. Bu saf bakteri kültürü substratsız tek bir kararlı sinyal göstermiştir. İndirgenme potansiyeli -0,28 V (Ag/AgCl' e karşı) olarak belirlenmiştir. -0,22 V' da adsorblanan bakteriye ilişkin bir yükseltgenme piki de mevcuttur. Ana çizginin (baseline) çıkarıldığı voltamogramda gözlenen pikler oldukça simetriktir (Şekil 4.54B). Buna göre, döner disk elektrot, *S. oneidensis* MR-1 ve elektrot yüzeyi arasında yüzeyler arası kolay elektron transferine yol açabilmektedir.



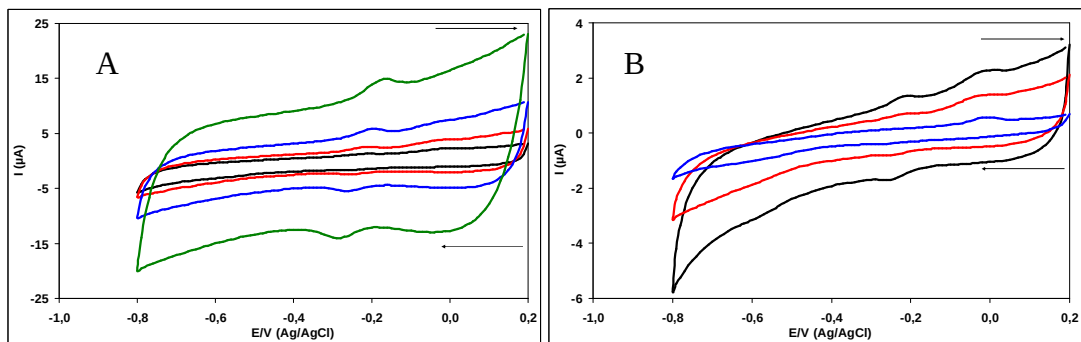
Şekil 4.54. PGE elektrotta adsorblanmış *S. oneidensis* MR-1' in (A) katalitik ve (B) ana çizginin (baseline) çıkarıldığı voltamogramları. 0,1 M fosfat tamponu (pH 7), $\nu=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi

Şekil 4.55' te, durgun PGE elektrotta adsorblanmış *S. oneidensis* MR-1 filminin fosfat tamponunda, potansiyelin negatif olarak artırılması (0,2V' tan -0,8V→-1,0V→-1,2V' a) ile anan dönüşümlü voltamogramları gösterilmiştir. Burada bakterinin yükseltgenme pikinin (-0,22V) büyüklüğü sabit kalmakta ve farklı bir yükseltgenme pikine de rastlanmamaktadır. Aslında, daha negatif potansiyel taramaları esnasında üretilen H_2 miktarı daha fazla olacaktır. Bu da elektrot yüzeyinde daha kalın bir H_2 yığın tabakası yaratacaktır. Bunun bir sonucu olarak, elektrottan uzakta H_2 difüzyon hızı azalacak ve daha çok H_2 geri tarama esnasında ve uzun süre yükseltgenebilecektir. Bu etki, H_2 ' nin yükseltgenme pikinin büyüklüğünü arttıracaktır. (Hambourger ve ark., 2008). Ancak PGE yüzeyindeki *S. oneidensis* MR-1 daha katodik potansiyellerde akımı oldukça arttırmaktadır ve PGE yüzeyinde bakteri varlığında hidrojen çıkışının yaklaşık 1,00 V' tan sonra başladığı söylenebilir. Bu nedenle, bakteri filmi ile kaplı elektrot yüzeyinde H_2 birikimi azalmakta ve H_2 çözeltiye dağılmaktadır. Yüzeyde yeterli H_2 birikimi sağlanamadığı için H_2 ' nin yükseltgenme piki de gözlenememektedir.



Şekil 4.55. PGE elektrotta *S. oneidensis* MR-1 filminin artan negatif potansiyellerdeki dönüşümlü voltamogramları. 0,1 M fosfat tamponu (pH 7), $\nu=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi, $\omega=0 \text{ rpm}$

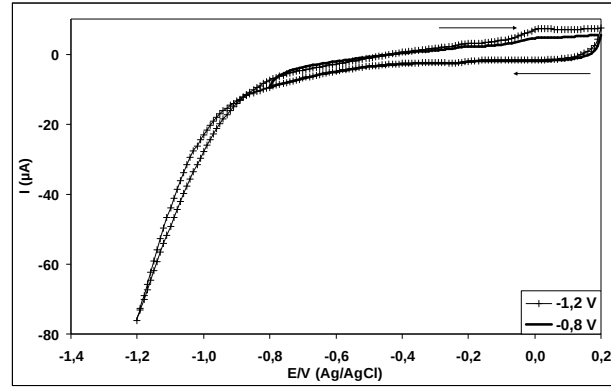
PGE elektroda adsorblanmış *S. oneidensis* MR-1 filminin Şekil 4.56' da gösterilen voltamogramı, doymuş N_2 atmosferinde, pH 7 fosfat tamponunda (0,1M), farklı tarama hızlarında alınmıştır. Şekil 4.56A' da tarama hızları 50 (siyah), 100 (kırmızı), 200 (mavi) ve 500 (yeşil) mVs^{-1} dir. 50 (siyah), 35 (kırmızı) ve 10 (mavi) mVs^{-1} tarama hızlarındaki voltamogram da Şekil 4.56B' de gösterilmiştir. Tarama hızı arttırıldığında bakterinin yükseltgenme piki biraz daha pozitif potansiyellere kaymakta ve anodik pik büyüklüğü (yükseltgenme akımı) artmaktadır. Daha hızlı tarama hızında PGE yüzeyindeki bakterinin geri taramanın anodik bölgesinde daha fazla yükseltgenebildiği söylenebilir.



Şekil 4.56. PGE elektrodada adsorblanmış *S. oneidensis* MR-1 filminin farklı tarama hızlarında, N_2 atmosferinde pH 7 fosfat tamponunda (0,1 M) kaydedilen voltamogramları. (A) 50, 100, 200 ve 500 mVs^{-1} ; (B) 10, 35 ve 50 mVs^{-1}

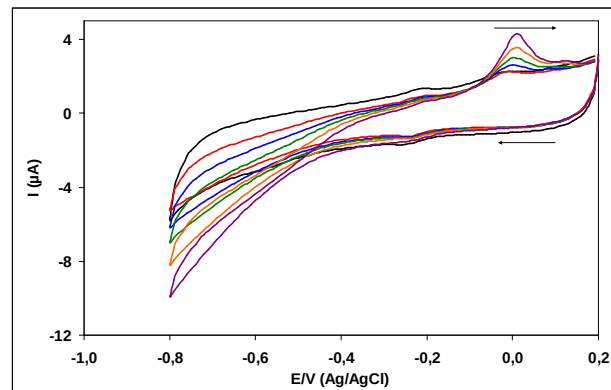
Şekil 4.57, N_2 ile doyumlanmış tamponda PGE/*S. oneidensis* MR-1 biyofilm elektrot için kaydedilen voltamogramlardır. Burada -1,2 V' luk daha negatif bir

potansiyelde bile katodik sınırlayıcı akım gözlenmemiştir. Bu etki, hem heterojen bir yüzeyi hem de proton indirgeme yönünde yüksek hızlı bir dönüşümü göstermektedir.



Şekil 4.57. PGE/S. *oneidensis* MR-1 elektrot için N₂ atmosferinde, 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7) kaydedilen voltamogramlar. $v=100 \text{ mV s}^{-1}$, $\omega= 000 \text{ rpm}$

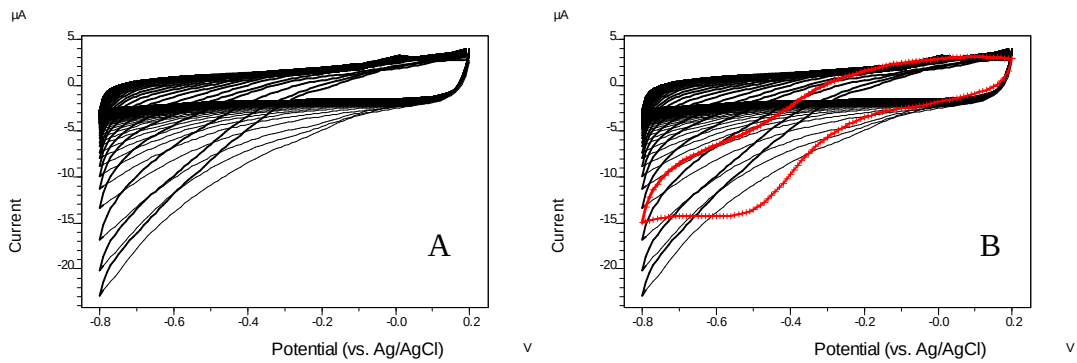
Şekil 4.58, farklı rotasyon hızlarında N₂ ile doymuş tamponda PGE elektroda adsorblanmış *S. oneidensis* MR-1 filminin voltamogramlarını göstermektedir. N₂ ile doymuş çözeltide önemsiz bir yükseltgenme akımı vardır (0 rpm’ de ters tarama hariç). Artan rotasyon hızı ile katodik akım artmaktadır. Bu sonuç, büyük olasılıkla tampon çözeltideki H⁺ tüketiminin herhangi bir etkisinden çok elektrottan uzakta H₂ ürününün dağılımındandır.



Şekil 4.58. PGE elektroda adsorblanmış *S. oneidensis* MR-1 filminin farklı dönme hızlarında, 50 mVs^{-1} tarama hızında, N₂ ile doymuş 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7) kaydedilen voltamogramları. [0 rpm (siyah), 200 rpm (kırmızı), 500 (mavi), 1000 (yeşil), 2000 (turuncu), 4000 (mor) rpm]

4.3.9.2. *Geobacter metallireducens*

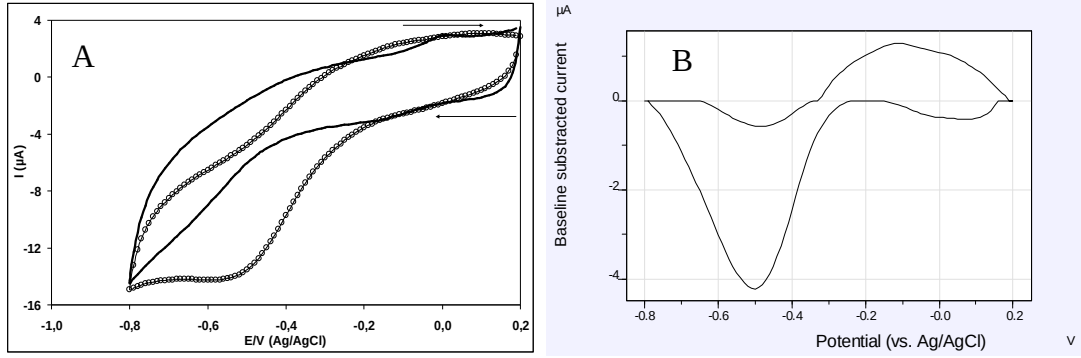
G. metallireducens' in PGE elektrotta adsorpsiyonu da 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7) tekrarlı potansiyel taraması ile (+0,2 ile -0,8V, Ag/AgCl' e karşı) gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.59A). Ardışık taramalarda akım giderek azalmış ve biyofilm oluşmaya başlamıştır. Biyofilmin oluştuğu -0,25 ve -0,03 V' ta anodik pik ve -0,27 V' ta katodik pik oluşumları ile gözlenmiş ve bu piklerin büyüklüğü zamanla artmıştır. Yükleme sonrasında biyofilm, bakterili elektrolit çözeltisinden çıkarılıp saf su ile dikkatlice yıkandıktan sonra taze tamponda çalışılmıştır. Yüklü elektrot taze tampon çözeltiye taşındığında, yükleme esnasında alınan son döngülerle kıyaslandığında, katodik akım oldukça artmıştır (Şekil 4.59B, kırmızı renkli voltamogram). Bu, adsorpsiyon prosesi sırasındaki katodik akımın bir sonucu olarak elektrot yüzeyinde biriken H₂' nin yüzeyden ayrılabilmesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, *S. oneidensis* MR-1 ile kıyaslandığında, bu potansiyelde gözlenen akım biraz daha iyidir ve hidrojen gazının yüzeyi daha kolay terk edebileceği söylenebilir.



Şekil 4.59. (A) PGE elektrotta tekrarlı potansiyel taraması (+0,2 ve -0,8V) ile *G. metallireducens*' in adsorpsiyonu. (B) Adsorblanan filmin taze tamponundaki voltamogramı (kırmızı çizgi). $v=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N₂ atmosferi, $\omega = 0 \text{ rpm}$

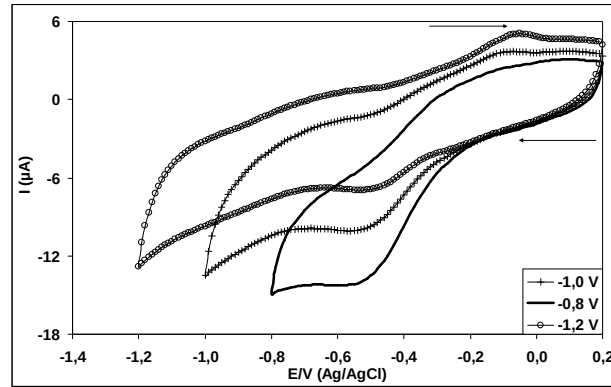
Şekil 4.60A' da, PGE elektroda adsorblanmış *G. metallireducens* filminin dönüşümlü voltamogramı gösterilmiştir. Burada da ortamda herhangi bir indirgeyici ya da yükseltgeyici substrat kullanılmamıştır. Bu saf bakteri kültürü substratsız tek bir kararlı sinyal göstermiştir. İndirgenme potansiyeli -0,50 V (Ag/AgCl' e karşı) olarak belirlenmiştir. Herhangi bir yükseltgenme pikine rastlanmamıştır. Ana

çizginin (baseline) çıkarıldığı voltamogramda gözlenen pikler simetriktr (Şekil 4.60B). Buna göre, döner disk elektrot, *G. metallireducens* ve elektrot yüzeyi arasında da yüzeyler arası kolay elektron transferine yol açabilmektedir.



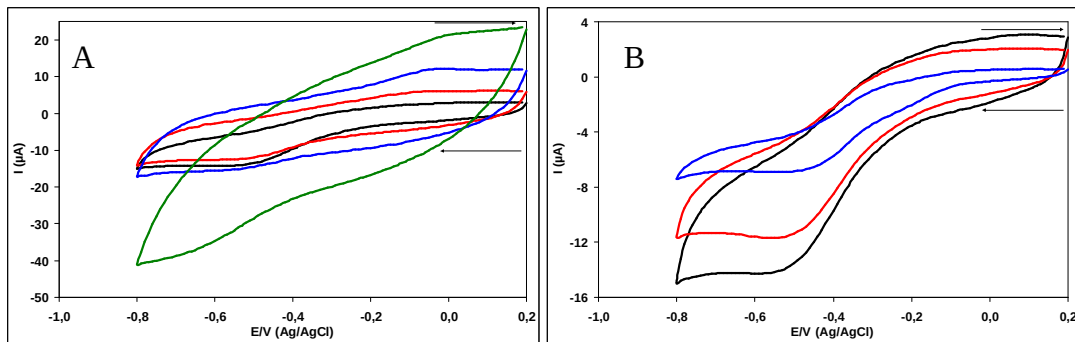
Şekil 4.60. PGE elektrotta adsorblanmış *G. metallireducens*' in (A) katalitik ve (B) ana çizginin (baseline) çıkarıldığı voltamogramları. 0,1 M fosfat tamponu (pH 7), $\nu=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi

Şekil 4.61' de, potansiyel artan bir şekilde negatif potansiyellere kaydırıldığında (0,2V' tan -0,8V→-1,0V→-1,2V' a) durgun PGE elektrotta adsorblanmış *G. metallireducens* filminin dönüşümlü voltamogramları gösterilmiştir. Burada katodik potansiyel arttırıldıkça katodik akım azalmakta ve H^+ indirgenme piki daha pozitif potansiyellere kaymaktadır (-1,20 V' ta -0,50 V' tan -0,47 V' a). Ayrıca, anodik potansiyel de artmakta ve anodik bir yükseltgenme piki (-0,10 V) gözlenmektedir. Bu anodik yükseltgenme pikinin büyüklüğü artmakta ve katodik potansiyel aralığı arttırıldığında, daha pozitif potansiyellere kaymaktadır (1,20 V' ta -0,06 V). Bu etki, yüzeyde adsorbe bakteri filmi ile ilişkilendirilmektedir.



Şekil 4.61. PGE elektrotta *G. metallireducens* filminin artan negatif potansiyellerdeki dönüşümlü volatamogramları. 0,1 M fosfat tamponu (pH=7), $v=50 \text{ mVs}^{-1}$, %100 N_2 atmosferi, $\omega=0 \text{ rpm}$

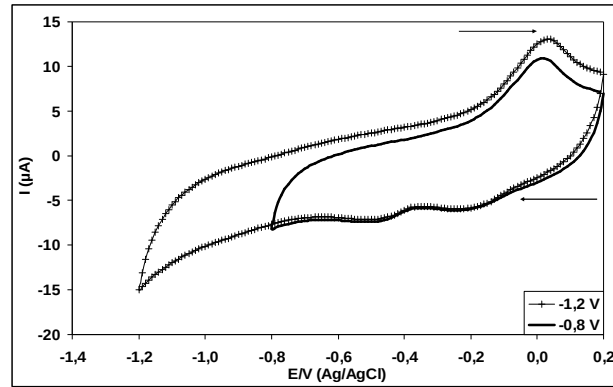
PGE elektroda adsorblanmış *G. metallireducens* filminin Şekil 4.62' de gösterilen voltamogramı, N_2 atmosferinde, pH 7 fosfat tamponunda (0,1M), farklı tarama hızlarında alınmıştır. Şekil 4.62A' da tarama hızları 50 (siyah), 100 (kırmızı), 200 (mavi) ve 500 (yeşil) mV s^{-1} , dir. 50 (siyah), 35 (kırmızı) ve 10 (mavi) mV s^{-1} tarama hızlarındaki voltamogram da Şekil 4.62B' de gösterilmiştir. Burada, tarama hızı arttırıldıkça bakteriye ilişkin indirgenme ve yükseltgenme pikleri kaybolmaktadır (Şekil 4.62A). Tarama hızı azaltıldığında ise H^+ indirgenme piki biraz pozitif potansiyellere kaymaktadır.



Şekil 4.62. PGE elektroda adsorblanmış *G. metallireducens* filminin farklı tarama hızlarında, N_2 atmosferinde pH 7 fosfat tamponunda (0,1 M) kaydedilen voltamogramları. (A) 50, 100, 200 ve 500 mVs^{-1} ; (B) 10, 35 ve 50 mVs^{-1}

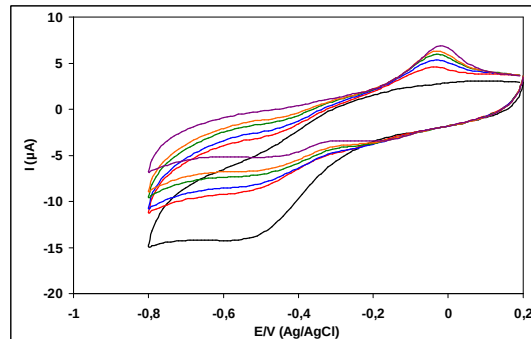
Şekil 4.63, N_2 ile doyurulmuş tamponda PGE/*G. metallireducens* biyofilm elektrot için kaydedilen voltamogramlardır. Buna göre, -1,2 V' luk daha negatif bir potansiyelde bile katodik sınırlayıcı akım gözlenmemiştir. Bu etki, hem heterojen bir

yüzey hem de proton indirgeme yönünde yüksek hızlı bir dönüşüm sağlamaktadır. Ayrıca, -0,2 ve -0,5 V' ta iki indirgenme pikine rastlanmıştır. Yaklaşık 0,0 V civarında anodik pik gözlenmekte ve pikin büyüklüğü tarama potansiyeli negatif olarak arttırıldığında hem biraz daha pozitif kaymakta hem de pik büyüklüğü artmaktadır. Bu etki, yüzeye adsorbe bakteri filminin daha katodik potansiyel taramaları sırasında da yükseltgenebildiğini göstermektedir.



Şekil 4.63. PGE/*G. metallireducens* elektrot için N_2 atmosferinde, 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7) kaydedilen voltamogramlar. $v=100 \text{ mVs}^{-1}$, $\omega=2000 \text{ rpm}$

Şekil 4.64, farklı rotasyon hızlarında N_2 ile doymuş tamponda PGE elektroda adsorblanmış *G. metallireducens* filminin voltamogramıdır. N_2 ile doymuş çözeltide dikkat çeken bir yükseltgenme akımı vardır. Ayrıca, artan dönme hızı ile katodik akım azalmaktadır. Bu, yüzeyde adsorbe bakteri filmi ile ilişkilendirilmektedir.



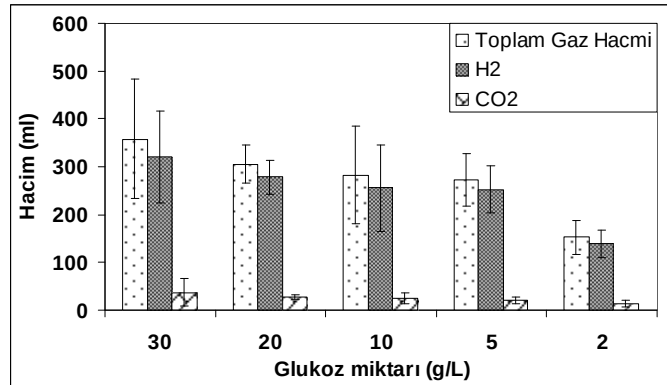
Şekil 4.64. PGE elektroda adsorblanmış *G. metallireducens* filminin farklı dönme hızlarında, 50 mVs^{-1} tarama hızında, N_2 ile doymuş 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7) kaydedilen voltamogramları. [0 rpm (siyah), 200 rpm (kırmızı), 500 (mavi), 1000 (yeşil), 2000 (turuncu), 4000 (mor) rpm]

4.4. EPPG/Ekzoelektrojenik Bakteri Kombine Elektrotlarının ve Model Substratın Kullanıldığı Mikrobiyal Elektroliz Deneyleri

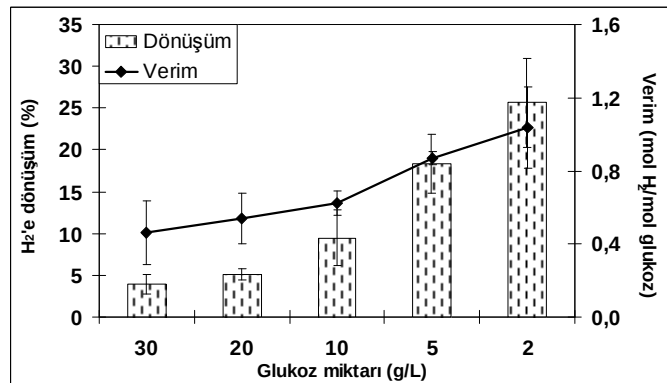
4.4.1. Mikrobiyal Elektrolize Substrat Miktarının Etkisi

Bu çalışma mikrobiyal elektroliz deneylerinde kullanılacak olan minimum ve/veya maksimum substrat miktarını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Deneylerde substrat olarak yalnızca glukoz ve ekzoelektrojenik bakteri olarak da *S. oneidensis* MR-1 kullanılmıştır.

Glukoz miktarına bağlı olarak toplam gaz hacmi ve gaz bileşimindeki değişikliklerin yanı sıra, glukozun H_2 gazına dönüşüm yüzdesi ve 1 mol glukozdan elde edilen hidrojenin miktarı (verim) sırasıyla Şekil 4.65 ve 4.66’ da verilmektedir.



Şekil 4.65. Glukoz miktarına bağlı olarak toplam gaz hacmi ile H_2 ve CO_2 gaz hacimlerindeki değişim



Şekil 4.66. Glukoz miktarına bağlı olarak, glukozun H_2 gazına dönüşüm yüzdesi ve H_2 verimi

Şekil 4.65' e göre, glukoz miktarının artmasıyla toplam gaz hacmi de artmaktadır. Ancak H_2 ' e dönüşüm yüzdesi ve H_2 verimi elektroliz çözeltisindeki glukoz miktarı azaldıkça artmaktadır (Şekil 4.66). Bu sonuç, çözeltiye eklenen yüksek miktarlarda (30 g/L, 20 g/L gibi) glukozun tamamının elektrolizde kullanılmadığını ve miktar azaldıkça glukoz tüketiminin giderek arttığını göstermektedir. Deney öncesinde ve sonrasında yapılan sulu çözelti analizlerinde de glukoz miktarı arttırıldığında başlangıçta eklenen miktarın tamamının tükenmediği belirlenmiştir. Sonuçlara ilişkin veriler Çizelge 4.8' de gösterilmektedir.

Çizelge 4.8. Glukoz miktarına bağlı olarak elde edilen toplam gaz hacmi ve gaz bileşimi, H_2 ' e dönüşüm yüzdesi ve H_2 verimi*

Glukoz miktarı (g/L)	Toplam gaz hacmi (ml)	Gaz bileşimi (ml)		Dönüşüm (%)		Y (mol H_2 /mol glukoz)	Tüketilen glukoz miktarı (g)
		H_2	CO_2	H_2	CO_2		
30	358±124	321±96	37±28	4,0±1,2	0,9±0,7	0,5±0,2	5,6±3,6
20	305±40	278±35	26±4	5,2±0,7	1,0±0,2	0,5±0,1	3,8±0,5
10	282±101	256±90	25±11	9,5±3,3	1,9±0,8	0,6±0,1	2,9±0,7
5	272±55	252±49	20±7	18,3±3,6	2,9±1,0	0,9±0,03	2,1±0,3
2	153±34	139±28	14±6	25,7±5,3	5,0±2,2	1,0±0,2	1,0±0,0

* Glukoz çözeltilerinin her birinden 500 mL elektroliz edilmiştir.

Bu sonuçlara göre, toplam gaz hacmi glukoz miktarı 2,0 g/L olduğunda 153 ± 34 ml olarak belirlenmiştir. Glukoz miktarı azaldığı için toplam gaz hacmi de azalmıştır. Toplam gazın bileşiminde yalnızca H_2 ve CO_2 gazları tespit edilmiştir. Bu gazın bileşiminde en fazla H_2 gazına rastlanmıştır (örneğin 2,0 g/L için 139 ± 28 ml H_2). 2,0 g/L glukoz ile çalışıldığında H_2 ' e dönüşüm yüzdesi en büyük değerde çıkmıştır (%25,7 $\pm$ 5,3). H_2 verimi açısından en iyi sonuç 2,0 g/L glukoz kullanılarak yapılan elektroliz deneyi sonucunda elde edilmiştir ($1,0 \pm 0,0$). Buna göre, bundan sonra devam edilen elektroliz çalışmalarında glukoz miktarı 2,0 g/L olarak tercih edilmiştir. Tabloda dikkat çeken bir başka nokta da paralel deneylerde saptanan gaz hacimlerindeki sapmaların oldukça yüksek oluşudur. Bu sapmaların paralel deneylerde farklı kesikli üretimle elde edilen bakteri çözeltilerinin kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Elektroliz deneyleri öncesinde ve sonrasında alınan sulu çözeltinin bileşimi, glukozun hangi ürünlere dönüştüğü ve elektroliz süresince harcanan glukoz miktarı

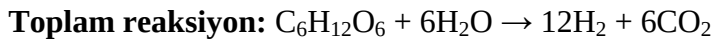
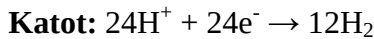
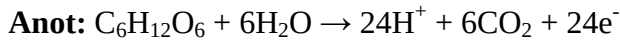
HPLC analizleri ile tespit edilmiştir. 2,0 g/L glukoz kullanıldığında elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9’ da özetlenmiştir.

Çizelge 4.9. Glukozun mikrobiyal elektrolizi sonrasında çözeltide kalan ara ürünlerin analizi*

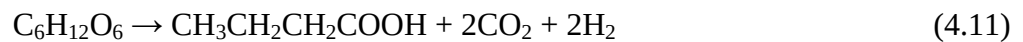
Oluşan ürünler	Miktar (mmol)
Laktik Asit	0,6±0,2
Formik Asit	4,7±0,5
Asetik Asit	4,0±0,5
Propionik Asit	0,7±0,1
Bütirik Asit	4,7±0,1

*11.1 mM (2,0 g/L) glukoz çözeltisinden 500 mL elektroliz edilmiştir.

Mikrobiyal elektrolizde 2,0 g/L glukoz kullanıldığında glukozun neredeyse tamamı elektroliz süresince tüketilmektedir (kalan miktar: $5,0 \pm 3,5 \times 10^{-5}$ mmol). Elektroliz sonucunda sulu ortamda yalnızca laktik asit, formik asit, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asidin oluştuğu belirlenmiştir. Kullanılan diğer glukoz miktarları ile yapılan elektrolizde de benzer ürünlerin oluştuğu tespit edilmiştir. Elektrolizde glukoz kullanıldığında anot ve katotta gerçekleşen reaksiyonların



şeklinde olması beklenmektedir. Bu toplam reaksiyona göre, sitokiyometrik olarak 1 mol glukozdan maksimum 12 mol H_2 elde edilmesi gerekir. Ancak yan ürünlerin oluşmasından dolayı olası reaksiyonlar aşağıdaki gibi olabilir (Eşitlik 4.10 ve 4.11) (Angenent ve ark., 2004).



Bu reaksiyonlardan da görüleceği gibi, glukozdan asetik asit ve/veya bütirik asit gibi ürünlerin oluşması ile teorik maksimum hidrojen verimi sırasıyla 4 mol H₂/mol glukoz ve 2 mol H₂/mol glukoz' a gerilemektedir. Bu yan ürünlerin oluşumu hidrojen verimini azaltmaktadır. Bu organik asit ara ürünlerinin parçalanması ile H₂ üretimi ise endotermik reaksiyonlarla gerçekleşmektedir. Bu nedenle, bu reaksiyonların aktivasyon enerjilerini düşürerek organik asitlerin parçalanma olasılıklarını arttırmak gerekmektedir. İşte bu noktada ekzoelektrojenik bakterilerin bu işlevi yerine getirmesi beklenmektedir (Logan ve ark., 2008). Çalışmanın bu kısmında *S. oneidensis* MR-1 kullanılarak mikrobiyal elektroliz ile hidrojen üretimi sağlanmıştır. Ancak elde edilen sonuçlara göre, glukozun anotta oksidasyonu sonucunda oluşan organik asit ara ürünlerinin oksidasyon sonucu anotta parçalanmaya karşı dirençlerinin mevcut mikrobiyal elektroliz ortamında yüksek olduğu anlaşılmakta ve bu hidrojen verimini azalmaktadır.

4.4.2. Mikrobiyal Elektrolizde Farklı Bakteri Kültürleri İçin Optimum Elektroliz Potansiyelinin Belirlenmesi

4.4.2.1. *Shewanella oneidensis* MR-1

Çalışmanın bu bölümünde, *S. oneidensis* MR-1 ile farklı potansiyellerde elektroliz deneyleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen hidrojen gazına ait deneysel veriler göz önünde bulundurularak optimum çalışma koşulu belirlenmiştir.

Deneyler sırasıyla 0,5; 0,7 V ve 1,0 V uygulama potansiyellerinde gerçekleştirilmiştir. *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü santrifüj edildikten sonra elektroliz çözeltisine doğrudan eklenmiştir. Elektroliz deneylerinde uygulanan elektroliz potansiyeline bağlı olarak elde edilen deney sonuçları Çizelge 4.10' da özetlenmiştir.

Çizelge 4.10. *S. oneidensis* MR-1 ile yapılan elektroliz deneylerinde uygulanan potansiyele bağlı olarak elde edilen toplam gaz hacmi, gaz bileşimi, glukozun H₂ ve CO₂' e dönüşüm yüzdeleri ve H₂ verimi*

Potansiyel (V)	Toplam gaz hacmi (ml)	Gaz bileşimi (ml)		Dönüşüm (%)		Y _{H2} (mol H ₂ /mol glukoz)
		H ₂	CO ₂	H ₂	CO ₂	
0,5	152,5±34,6	138,9±28,6	13,6±6,0	25,7±5,3	5,0±2,2	1,0±0,2
0,7	172,5±41,7	154,4±39,3	18,1±2,5	28,5±7,3	6,7±0,9	1,1±0,3
1,0	142,5±36,1	129,4±34,8	13,1±1,3	23,9±6,4	4,8±0,5	0,9±0,2

*Çözeltiler 500ml standart ortam çözeltisine *S. oneidensis* MR-1 bakteri kültürü ve 1,0 g glukoz eklenerek hazırlanmıştır. Gaz miktarları 500 ml çözelti için hesaplanmıştır.

Çizelge 4.10' da özetlenen deney sonuçlarına göre, 0,7 V potansiyel uygulandığında elde edilen gaz hacmi (172 ml), 0,5 ve 1,0 V' ta elde edilen gaz hacimlerine (sırasıyla 152,5 ve 142,5 ml) göre daha yüksektir. Dolayısıyla, tükenen 1 mol glukozu karşı oluştan H₂ gazının mol sayısında da bir artış gözlenmiştir (1,1 mol H₂/mol glukoz). Teoride, elektroliz sonucunda 1 mol glukozun tükenmesiyle oluştan H₂' nin mol sayısı stokiyometrik olarak 12' dir. Ancak biyolojik koşullarda oluşabilecek yan ürünler (bunlar ürünler asetik asetik, propiyonik asit, bütirik asit gibi organik asitlerdir) sebebiyle hidrojen verimi azalır. Asetik asit oluşumu baskın olduğunda 1 mol glukozdan oluşacak hidrojen gazının miktarı maksimum 4 mol' dür (Hawkes ve ark., 2007). Bu duruma açıklık getirmek için, deney sonrası sulu çözelti bileşimi HPLC ile belirlenmiş ve sulu çözelti bileşiminde bütirik asit, asetik asit, laktik asit gibi yan ürünlere rastlanmıştır (Çizelge 4.11). Bu ürünlerin oluşumunun elektroliz deneylerinde hidrojen veriminin azalışına neden olduğu açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.11. *S. oneidensis* MR-1 ile farklı potansiyellerinde yapılan elektroliz sonucunda analiz edilen sulu çözelti bileşimi (2,0 g/L glukoz kullanıldığında)

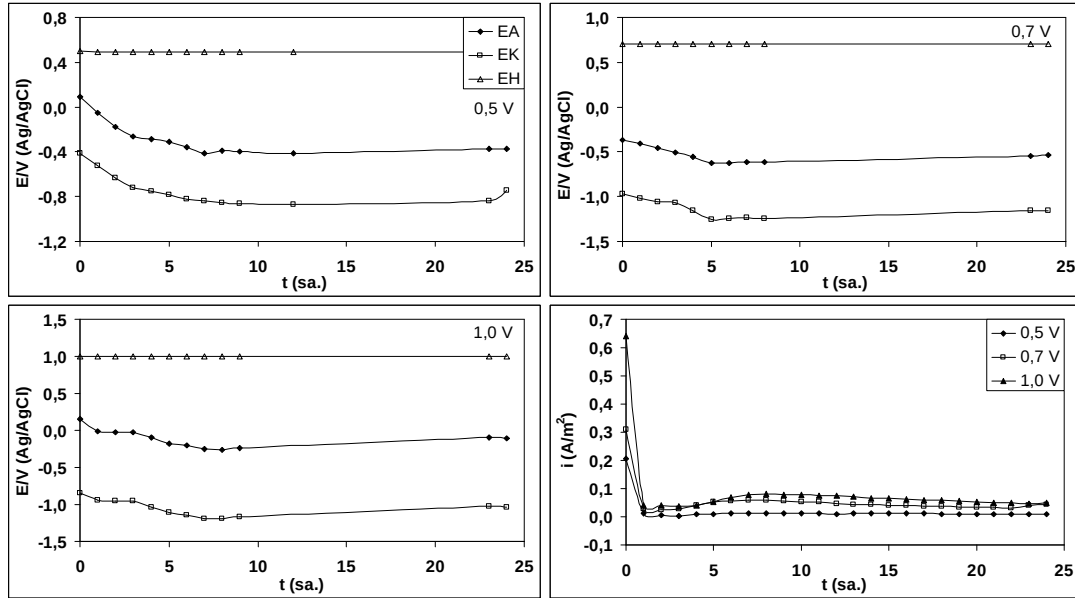
Oluştan ürünler (mmol)	Uygulama potansiyeli (V)		
	0,5	0,7	1,0
Laktik asit	0,6±0,2	-	0,3±0,5
Formik asit	4,7±0,5	4,4±1,2	5,8±1,1
Asetik asit	4,0±0,5	4,7±0,6	5,4±0,9
Propionik asit	0,7±0,1	0,6±0,1	0,9±0,2
Butirik asit	4,7±0,1	4,1±0,0	4,7±0,1

Elektroliz süresi boyunca anot, katot ve hücre potansiyelleri de zamana karşı dijital bir multimetre kullanılarak ölçülmüş ve grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.67). Buna göre, her uygulama potansiyelinde ölçülen hücre potansiyeli değeri sabit kalmaktadır. Ancak katot potansiyeli zamanla negatif yönde artarken anot potansiyeli azalmıştır. İyon halindeki bir hidrojen atomunun katotta hidrojen gazı molekülü haline gelmesi şu reaksiyon kademelerinden geçer:

- Çözelti içinde bulunan H^+ iyonlarının elektrot yüzeyine kadar gelmeleri gerekir.
- Bu olay difüzyon ile gerçekleşir.
- Elektrot yüzeyine gelen H^+ iyonları buradan elektron alarak hidrojen atomu haline geçerler. Oluşan (H) atomları metal yüzeyinde adsorbe edilir.
- Elektrot yüzeyi hidrojen atomları ile doygun hale gelince, hidrojen atomları birbiri ile birleşerek hidrojen molekülü haline dönüşürler.
- Hidrojen molekülü yüzeyde tutulamayacak kadar fazlalaşınca, kabarcıklar halinde gaz çıkışı meydana gelir.

Bu reaksiyonlardan herhangi biri yavaşlarsa, katotta harcanan elektron sayısı azalır ve bunun sonucu olarak katot potansiyeli negatif yönde artar. Bizim çalışmamızda da zamanla katot potansiyelinin artması (negatif yönde) katotta harcanan elektron sayısının azaldığını düşündürmektedir. Şekil 4.67’ deki zamana karşı çizilen potansiyel grafiklerinde yaklaşık 10. saatten sonra hem anot hem de katot potansiyellerinde önemli bir değişim olmamaktadır. Bu sonuç da, hidrojen veriminin düşük olmasını desteklemektedir. Akım yoğunluğu-zaman grafiğine göre (Şekil 4.67), akım yoğunluğu başlangıçta hızla azalırken zamanla sabit kalmaktadır. Bu, başlangıçta çözelti ve elektrot ara yüzeyi arasındaki konsantrasyon değişiminden kaynaklanmaktadır. Glukozun oksidasyonu ve gaz üretimi gerçekleşmeye başladığında ise, akım yoğunluğu zamanla bir miktar artarken oksidasyon tamamlandığı ve gaz üretimi yavaşlamaya başladığında akım yoğunluğu azalış göstermektedir. Son olarak, elektrolizde uygulanan potansiyel arttırıldıkça akım

yoğunluğu da artmaktadır. Ancak 0,7 ve 1,0 V potansiyellerinde ölçülen akım yoğunlukları önemli bir fark göstermemektedir.



Şekil 4.67. Farklı uygulama potansiyellerinde *S. oneidensis* MR-1 saf bakteri kültürü ile yapılan elektroliz çalışmaları sonucunda zamana karşı ölçülen anot (EA), katot (EK), hücre (EH) potansiyelleri ve akım yoğunluğu-zaman grafikleri

4.4.2.2. *Geobacter metallireducens*

Çalışmanın bu bölümünde, bu kez *G. metallireducens* ile farklı potansiyellerde elektroliz deneyleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen hidrojen gazına ait deneysel veriler göz önünde bulundurularak optimum çalışma koşulu belirlenmiştir.

Deneyler sırasıyla 0,5; 0,7 V ve 1,0 V uygulama potansiyellerinde gerçekleştirilmiştir. Elektroliz deneylerinde uygulanan elektroliz potansiyeline bağlı olarak elde edilen deney sonuçları Çizelge 4.12’ de gösterilmiştir. Çizelge 4.12’ de özetlenen deney sonuçlarına göre, 1,0 V uygulama potansiyelinde elde edilen gaz hacmi (229,5 ml), 0,5 ve 0,7 V’ ta elde edilen gaz hacimlerine (sırasıyla 140,5 ve 210,0 ml) göre daha yüksektir. Dolayısıyla tükenen 1 mol glukozu karşı oluşturan H_2 gazının mol sayısında da bir artmıştır (1,5 mol H_2 /mol glukoz). Deney sonrasında sulu çözelti bileşiminde yine bütirik asit, asetik asit, laktik asit gibi yan ürünlere

rastlanmıştır (Çizelge 4.13). Yine bu ürünlerin oluşumunun elektroliz deneylerinde hidrojen verimini azalttığı görülmektedir.

Çizelge 4.12. *G. metallireducens* ile yapılan elektroliz deneylerinde uygulanan potansiyele bağlı olarak elde edilen toplam gaz hacmi, bileşimdeki gaz hacimleri, H_2 ’ e dönüşüm yüzdesi ve H_2 verimi*

Potansiyel (V)	Toplam gaz hacmi (ml)	Gaz bileşimi (ml)		Dönüşüm (%)		Y_{H_2} (mol H_2 /mol glukoz)
		H_2	CO_2	H_2	CO_2	
0,5	140,5±33,2	129,1±34,5	11,4±1,3	23,8±6,4	4,2±0,5	1,0±0,3
0,7	210,0±82,0	188,7±66,3	21,3±15,7	34,9±12,3	7,9±5,8	1,3±0,3
1,0	229,5±24,7	210,7±24,4	18,8±0,4	38,9±4,5	6,9±0,1	1,5±0,2

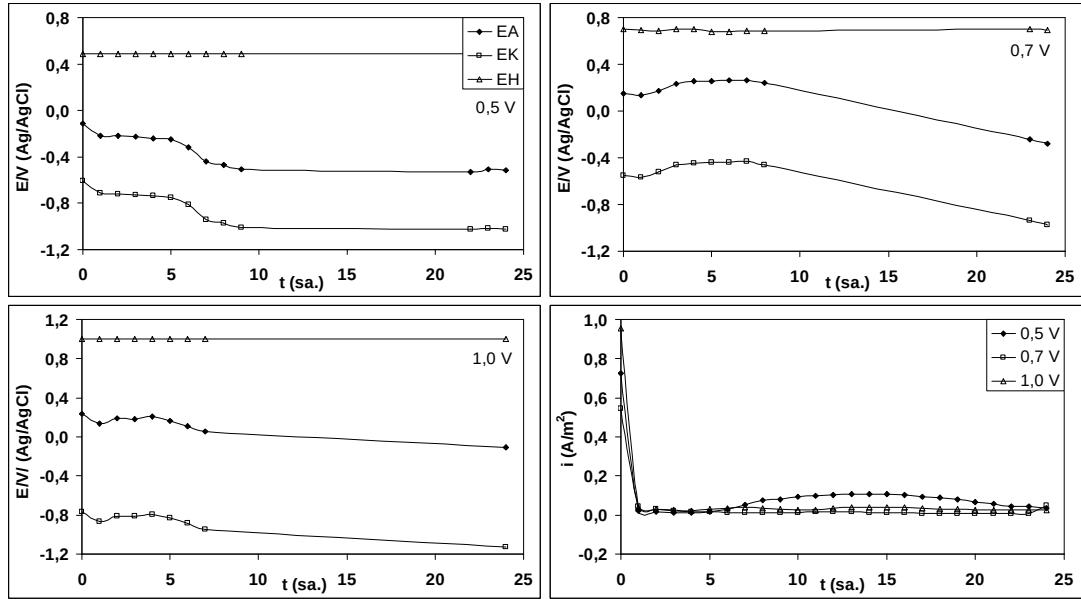
*Çözeltiler 500ml standart ortam çözeltisine *G. metallireducens* bakteri kültürü ve 1,0 g glukoz eklenerek hazırlanmıştır. Gaz miktarları 500 ml çözelti için hesaplanmıştır.

Çizelge 4.13. *G. metallireducens* ile farklı potansiyellerinde yapılan elektroliz sonucunda analiz edilen sulu çözelti bileşimi (2,0 g/L glukoz kullanıldığında)

Oluşan ürünler (mmol)	Uygulama potansiyeli (V)		
	0,5	0,7	1,0
Laktik asit	0,3±0,4	1,1±1,5	-
Formik asit	3,2±2,7	2,0±0,2	2,5±1,0
Asetik asit	8,4±0,5	3,9±1,2	5,3±3,2
Propionik asit	1,3±0,1	0,7±0,1	0,4±0,4
Butirik asit	4,1±0,4	5,0±0,0	4,8±0,1

Elektroliz çalışmaları esnasında anot, katot ve hücre potansiyelleri de zamana karşı ölçülmüş ve grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.68). Buna göre, her uygulama potansiyelinde ölçülen hücre potansiyeli değeri önemli bir değişim göstermemektedir. Katot potansiyeli zamanla negatif yönde artmaktadır. Ancak 0,5 V uygulama potansiyelinde ilk 5 saate kadar katot potansiyelinde önemli bir değişim gözlenmezken, bu zamandan 10. saate kadar potansiyel negatif yönde artmakta ve 10. saatten sonra deney bitene kadar sabit kalmaktadır. 0,7 ve 1,0 V uygulama potansiyellerinde ise katot potansiyeli önce negatif yönde azalmakta ve sonra deney bitene kadar aynı yönde artmaktadır. Anot potansiyeli de tüm uygulama potansiyellerinde benzer bir davranış göstermektedir. Bu sonuçlara göre, 0,7 ve 1,0 V uygulama potansiyellerinde katot potansiyelinin negatif yönde azalışı katotta

yürüyen reaksiyon için elektron sayısının arttığını ve dolayısıyla oluşan hidrojen gaz ürününün miktarının da artabileceği sonucuna varılabilir. Çalışmamızda da bu potansiyellerde elde edilen gaz ürünü miktarının ve veriminin artışı bu sonuçlarla paralellik göstermektedir. Akım yoğunluğu-zaman grafiğine (Şekil 4.68) göre, akım yoğunluğu başlangıçta hızla azalırken zamanla sabit kalmaktadır. Bu daha önce de bahsettiğimiz gibi başlangıçta çözelti ile elektrot ara yüzeyi arasındaki konsantrasyon farkından kaynaklanmaktadır. Son olarak, elektrolizde uygulanan potansiyel arttırıldıkça akım yoğunluğu da artmaktadır. Ancak 0,7 ve 1,0 V potansiyellerinde ölçülen akım yoğunlukları önemli bir fark göstermemektedir. Buna rağmen, 0,5 V’ ta ölçülen akım yoğunluğu değerleri diğer potansiyellerde ölçülen değerlere göre daha yüksektir. Buna rağmen, 0,7 ve 1,0 V’ ta elde edilen hidrojen gazının miktarı daha fazladır.



Şekil 4.68. Farklı uygulama potansiyellerinde *G. metallireducens* saf bakteri kültürü ile yapılan elektroliz çalışmaları sonucunda zamana karşı ölçülen anot (EA), katot (EK), hücre (EH) potansiyelleri ve akım yoğunluğu-zaman grafikleri

4.4.3. Optimum Koşullarda Melas Atık Suyu ile Mikrobiyal Elektroliz

Farklı bakteri kültürleri ile farklı potansiyellerde uygulanan mikrobiyal elektroliz deneylerinde *S. oneidensis* MR-1 için 0,7 V ve *G. metallireducens* için 1,0 V optimum elektroliz koşulu olarak belirlenmiştir. Bu potansiyellerde melas atık suyu ile mikrobiyal elektroliz gerçekleştirilmiştir (Atık suyu içeren elektroliz çözeltisi hacmi 578 ml' dir). *S. oneidensis* MR-1 ile yapılan elektroliz çalışmasında elde edilen toplam gaz hacmi $158 \pm 4,2$ ml' dir. Bu gazın kompozisyonunda sadece $145,9 \pm 2,2$ ml H_2 gaz ürünü ve $12,1 \pm 2,1$ ml CO_2 gaz ürünü tespit edilmiştir. 24 saatlik deney süresince harcanan COD miktarı $2155,5 \pm 499,9$ mg/L' dir. Buna göre, hesaplanan verim (Y_{H_2}) $3,2 \times 10^{-3} \pm 0,0$ g H_2 /gCOD' dir. *G. metallireducens* ile yapılan elektroliz çalışmasında ise elde edilen toplam gaz hacmi $112,5 \pm 10,6$ ml' dir. Bu gazın kompozisyonunda sadece $106,5 \pm 8,3$ ml H_2 gaz ürünü ve $6,0 \pm 2,3$ ml CO_2 gaz ürünü tespit edilmiştir. 24 saatlik deney süresince harcanan COD miktarı (ΔCOD) $2105,5 \pm 197,3$ mg/L' dir. Buna göre, hesaplanan verim (Y_{H_2}) $2,4 \times 10^{-3} \pm 0,0$ g H_2 /gCOD' dir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, EPPG elektrodun mikrobiyal elektroliz mekanizması Pt elektrotla kıyaslanarak karakterize edilmiş ve optimum koşulda mikrobiyal elektroliz deneyleri organikçe zengin atık suya uygulanarak hidrojen gazı elde edilmeye çalışılmıştır.

Dönüşümlü voltametre tekniği ile destek elektrolitte Pt ve EPPG elektrotlar hem oda koşullarında hem de azot atmosferinde, farklı tarama hızlarında karakterize edilmeye çalışılmıştır. Öncelikle, her iki koşulda da kullanılan atmosferik koşullara bağlı olarak bu elektrotların kinetikleri hakkında önemli farklılıklar görülmemiştir. Pt elektrotlar literatürde bilinen anodik ve katodik karakteristik pikleri göstermiştir. EPPG elektrot kullanıldığında hidrojen gazının oluşumu -0,80 V elektrot potansiyeline kadar gözlenememiştir. Aksine, oksijen oluşumu neredeyse Pt elektrotla yakın potansiyelde gerçekleşebilmektedir. Ayrıca her iki elektrodun destek elektrolitte hem ileri hem de geri yöndeki taramalarında akım yoğunlukları tarama hızı ile düzenli bir şekilde artmıştır.

Pt ve EPPG elektrotta hidrojen oluşumu reaksiyon kinetiğini anlamak için katodik ve anodik potansiyellerde ayrı olarak çalışılmıştır. Pt, literatürde tanımlanmış hidrojen oluşum reaksiyon mekanizması için karakteristik pikler göstermiştir. EPPG elektrotta ise tarama esnasında -2,0 V' a ulaşıldığı zaman yoğun hidrojen gaz üretimi başlamaktadır. Buna göre, EPPG elektrotta hidrojen üretimi için bu potansiyelin daha üzerinde bir potansiyele gereksinim duyulduğu açıkça görülmektedir. Aynı zamanda, hidrojen üretiminin iki basamaklı mekanizmasında gösterilen pikler gözlenmemiştir. Bu, EPPG elektrotta hidrojen oluşum mekanizmasının farklı olduğu fikrini beraberinde getirmektedir.

DeneySEL H_2 ve O_2 gazının oluşum potansiyelleri ve ayrışma gerilimleri, Pt çifti ile kıyaslandığında, EPPG elektrotlarda daha yüksek bulunmuştur. Hem anot hem de katot aşırı gerilimleri EPPG elektrotlarda artmaktadır. Ayrıca, farklı atmosferler (oda koşulları ve N_2 atmosferi) kullanıldığı zaman önemli farklılıklar görülmemiştir. Pt' nin çalışılan pH' da aşırı geriliminin düşük olması, H_2 ve O_2 gazlarının elektrot yüzeyinden daha kolay ayrılmasını sağlamakta ve bu da Pt' nin

hidrojen gazı oluşumunda etkin bir elektrot olduğunu kanıtlamaktadır. Kısaca, aşırı gerilimlerin oluşumunda enerji kayıpları sistemin tüm etkinliğini büyük ölçüde etkilediği için, EPPG' nin hidrojen oluşumu için Pt ile yarışamayacağı söylenebilir.

S. oneidensis MR-1 ve *G. metallireducens* varlığında ve yokluğunda yapılan dönüşümlü ve doğrusal taramalı voltametre çalışmalarına göre, destek elektrolitte bakteri varlığında Pt ve EPPG elektrotlarda hidrojen oluşum reaksiyonunun farklı bir mekanizma yürüdüğünü ve hızı azaltmadığını göstermektedir. Katodik yönde yapılan çalışmalarda, destek elektrolitteki *S. oneidensis* MR-1 EPPG elektrotta (EPPG elektroda karşı) hidrojen gazı oluşumunda aşırı gerilimi artırırken *G. metallireducens* azaltmaktadır. Ancak Pt elektrot ile kıyaslandığında, EPPG elektrotlarda hidrojen gazı oluşumu daha yüksek katodik potansiyellerde başlamaktadır. Buna göre, EPPG elektrotlar kullanıldığında hidrojen gazının oluşumu için daha katodik potansiyellere ihtiyaç vardır. *G. metallireducens* varlığında hem Pt hem de EPPG elektrotlarda aşırı gerilimi düşmesine rağmen, hala EPPG elektrotlarda aşırı gerilim Pt' e kıyasla daha yüksektir. Bu nedenle, EPPG elektrotlarda aşırı gerilimin Pt' e kıyasla daha yüksek olması (neredeyse 5 kat) katotta hidrojen çıkışını zorlaştırarak hidrojen verimini düşürebilir.

Pt ve EPPG elektrot yüzeyinde *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens* biyofilmlerinin oluşturulması ve bu filmin kararlılığı üzerine yapılan çalışmalar ise her iki mikroorganizmanın da elektrot yüzeyine kolaylıkla tutunabildiğini göstermiştir. Ancak *G. metallireducens* yüzeyde daha kararlı bir film oluşturabilmektedir.

EPPG elektrotlarda yapılan 24 saatlik yükleme sonucunda EIS ölçümleri ile *S. oneidensis* MR-1 ve *G. metallireducens*' in yüzeyin %53 ve %46' ını kapladığı belirlenmiştir. Ancak *S. oneidensis* MR-1 +0,7 V' a (Ag/AgCl' e kıyasla) kadar, *G. metallireducens* ise +0,5 V' a (Ag/AgCl' e kıyasla) kadar yüzeyde korunabilmektedir.

Pt ve EPPG elektrotlarda bakteri yokluğunda ve varlığında hidrojen oluşum reaksiyonu voltametre yardımıyla farklı sıcaklıklarda da incelenmiştir. Buna göre, Pt/Pt ve EPPG/Pt çifti kullanıldığında bakteri varlığı hidrojen oluşum reaksiyonunda aktivasyon enerjisini önemli ölçüde değiştirmezken bakteri varlığında EPPG/EPPG elektrot çifti kullanıldığında oldukça düşürmektedir. Bu elektrotlarda bakteri

yokluğunda aktivasyon enerjisi 33,7 kJ/mol iken, *S. oneidensis* MR-1 varlığında 21,7 kJ/mol ve *G. metallireducens* varlığında 16,2 kJ/mol olarak hesaplanmıştır. Buna göre, ortamda bakteri varlığı katotta yürüyen reaksiyonu katalizleyebildiği ve reaksiyon mekanizmasını değiştirebildiği açıktır.

S. oneidensis MR-1 ve *G. metallireducens* bakterileri kullanılarak döner disk PGE' de yapılan voltametrik ve konoamperometrik çalışma sonuçlarına göre, her iki bakteri de PGE yüzeyine yüklendiğinde bir katodik akım oluştururken anodik akım göstermemektedir. Bu, her iki organizmanın da PGE yüzeyinde indirgenebildiğini göstermektedir. İki organizma da 0,0 V' tan sonra anodik bölgede giderek artan bir anodik akım oluşturmakta ve anodik aşırı gerilimi oldukça düşürmektedir. Ancak katodik yönde (negatif potansiyel) yüzeye bakteri yükleme işlemi yapılmadan bile *G. metallireducens* elektrot yüzeyinde indirgenebilmekte ve akımı oldukça arttırabilmektedir. Proton indirgeme çalışmasında ise yüzeyde *G. metallireducens*' in varlığı akımı lineer bir şekilde arttırmakta ve dolayısıyla yüzeyler arası elektron transferinin ve H₂ oluşumunun daha hızlı olacağını göstermektedir. Ayrıca Levich eğrisine göre de katalitik akım dönme hızı ile giderek artmaktadır. Bu da bu organizma ile kütle taşınım prosesinin daha etkili olduğunu göstermektedir. Özetle diyebiliriz ki, *G. metallireducens* ile elektrot/çözelti arasındaki elektron transferinin daha hızlı olduğu düşünülmektedir. Bu sayede akım katodik olarak artmakta ve elektron aktarımının yanı sıra proton aktarımı da hızlanmakta ve hidrojen oluşumunu daha etkin hale getirebileceği düşünülmektedir.

S. oneidensis MR-1 ve *G. metallireducens* bakterilerinin dönüşümlü voltametre tekniği ile PGE elektrotta protonlardan direkt hidrojen üretimini katalizlemedeki etkinliği ve katalitik aktivitesi de incelenmiştir. Katalitik akım üzerinde dönme hızı, katodik potansiyel artışı, tarama hızı ve döngü tekrarı gibi pek çok parametrenin etkisi döner disk elektrot sistemi kullanılarak araştırılmıştır. Bu çalışmalarda bakteriler PGE yüzeyine tutturulmuştur. Döner disk PG elektrot ile bakterilerin redoks özellikleri herhangi bir substrat olmaksızın belirlenmeye çalışılmıştır. Buna göre, her iki bakteri de PGE elektroda yüklenebilmekte ve elektrokimyasal olarak karakterize edilebilmektedir. Her iki bakteri de hidrojen üretimine katalitik etki göstermektedir. İki bakteri de substratsız tek bir kararlı sinyal

göstermiştir. Döner disk elektrot, her iki bakteri ile elektrot yüzeyi arasında yüzeyler arası kolay elektron transferine yol açabilmektedir. Farklı rotasyon hızlarında dalga şekli bakterilerin katalitik aktivitesi ile ilgilidir ve katotta proton indirgeme için karakteristiktir.

Mikrobiyal elektroliz çalışmalarında karbon kaynağı olarak glukoz kullanıldığı için bu elektrotlarda glukozun oksidasyonuna yönelik çalışmalar da yapılmıştır. Hem Pt hem de EPPG elektrot glukozu karşı elektrokatalitik aktivite göstermiştir. Ayrıca destek elektrolitte glukoz varlığı her iki elektrotta da hidrojen gazı oluşumu için olumsuz bir etki göstermemiştir. Pt elektrotta, destek elektrolitteki glukoz derişimi arttıkça glukozu ait oksidasyon pikinin şiddeti artmıştır. Glukoz derişiminin artırılması hidrojen gazı oluşumuna negatif bir etki yaratmamıştır. EPPG elektrot da glukozun farklı derişimlerine cevap vermiş ve glukoz derişimi arttıkça oksidasyon pikinin akım yoğunluğu giderek artmıştır. Destek elektrolitte glukoz derişimindeki artış EPPG elektrotta hidrojen gazı oluşumunu da olumsuz bir etki yaratmamıştır.

Elektroliz çalışmalarında kullanılan glukoz miktarı dikkate alınarak Pt ve EPPG elektrotlarda +0,75 V sabit potansiyelde 4 saat boyunca kronoamperometrik bir çalışma da yapılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, Pt ve EPPG elektrotların deney sonrasında herhangi bir yan ürün oluşturmadığı, dolayısıyla glukozun oksidasyonun kolaylıkla sağlanamadığı hem elektrokimyasal hem de kromatografik olarak kanıtlanmıştır. Buna göre, çalışılan elektrotlar ile bakteri yokluğunda glukozun kolaylıkla parçalanamadığı söylenebilir. Glukoz gibi organik maddeler elektrot yüzeyine adsorbe olarak elektrot yüzeyini zehirleyebilir ve oksidasyon süresince aşırı gerilime neden olabilir. Ancak bu elektrotlar ile yapılan katodik çalışmalarda glukozun böyle bir etki yaratmadığı görülmektedir.

Mikrobiyal elektroliz deneyleri öncelikle standart bir elektroliz çözeltisinde model bileşik (substrat ve/veya karbon kaynağı) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Model bileşik olarak glukoz tercih edilmiş ve mikrobiyal elektroliz çalışmalarında kullanılacak glukoz miktarı, standart elektroliz çözeltisinde farklı miktarlarda kullanılan glukoz ile 0,5 V' ta 24 saat boyunca sürdürülen elektroliz deneyleri ile belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, toplam gazın bileşiminde yalnızca H₂ ve CO₂

gazları tespit edilmiştir. Glukoz miktarı azaltıldığında toplam gaz hacmi ve dolayısıyla gaz bileşimindeki H_2 ve CO_2 gazlarının hacimleri de azalmıştır. Ancak bu azalış azanla glukoz miktarı ile orantılı değildir. Toplam gaz hacmi glukoz miktarı 2,0 g/L olduğunda 153 ± 34 ml olarak belirlenmiştir. Gaz bileşimindeki H_2 gazı miktarı 139 ± 28 ml' dir. H_2 e dönüştürme yüzdesi en büyük değerdedir (%25,7 $\pm$ 5,3). H_2 verimi açısından en iyi sonuç elde edilmiştir (1,0 $\pm$ 0,0). Buna göre, bundan sonraki elektroliz çalışmalarında glukoz miktarı 2,0 g/L olarak seçilmiştir.

S. oneidensis MR-1 ile glukozun (2,0 g/L) kullanıldığı mikrobiyal elektroliz deneyleri farklı potansiyellerde (0,5; 0,7 V ve 1,0 V) gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlara göre optimum çalışma koşulu belirlenmiştir. Buna göre, 0,7 V potansiyel uygulandığında elde edilen gaz hacmi (172 ml), 0,5 ve 1,0 V' ta elde edilen gaz hacimlerine (sırasıyla 152,5 ve 142,5 ml) göre daha yüksektir. Bu potansiyelde tükenen 1 mol glukozu karşı oluşan H_2 gazının mol sayısı da artmıştır (1,1 mol H_2 /mol glukoz). Buna göre, *S. oneidensis* MR-1 ile yapılan elektroliz deneylerinde optimum koşul 0,7 V olarak belirlenmiş ve bu koşulda melas atık suyu ile çalışılmıştır. Sonuçta, elde edilen toplam gaz hacmi $158 \pm 4,2$ ml' dir. Bu gazın kompozisyonunda $145,9 \pm 2,2$ ml H_2 gaz ürünü bulunmaktadır. 24 saatlik deney sonunda hesaplanan verim (Y_{H_2}) $3,2 \times 10^{-3} \pm 0,0$ g H_2 /gCOD' dir.

G. metallireducens ile glukozun (2,0 g/L) kullanıldığı mikrobiyal elektroliz deneyleri de farklı potansiyellerde (0,5; 0,7 V ve 1,0 V) gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlara göre optimum çalışma koşulu belirlenmiştir. Buna göre, 1,0 V potansiyel uygulandığında elde edilen gaz hacmi (229,5 ml), 0,5 ve 0,7 V' ta elde edilen gaz hacimlerine (sırasıyla 140,5 ve 210,0 ml) göre daha yüksektir. Bu potansiyelde tükenen 1 mol glukozu karşı oluşan H_2 gazının mol sayısı da artmıştır (1,5 mol H_2 /mol glukoz). Buna göre, *S. oneidensis* MR-1 ile yapılan elektroliz deneylerinde optimum koşul 0,7 V olarak belirlenmiş ve bu koşulda melas atık suyu ile çalışılmıştır. Sonuçta, elde edilen toplam gaz hacmi $112,5 \pm 10,6$ ml' dir. Bu gazın kompozisyonunda $106,5 \pm 8,3$ ml H_2 gaz ürünü bulunmaktadır. 24 saatlik deney sonunda hesaplanan verim (Y_{H_2}) $2,4 \times 10^{-3} \pm 0,0$ g H_2 /gCOD' dir.

S. oneidensis MR-1 ve *G. metallireducens* ile yapılan elektroliz deneylerinde, glukozun anotta oksidasyonu sonucunda oluşan organik asit ara ürünlerinin

oksidasyon sonucu anotta parçalanmaya karşı dirençlerinin mevcut mikrobiyal elektroliz ortamında yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Bu durum hidrojen veriminin azalmasına sebep olmuştur. Ayrıca, protonun katotta hidrojen molekülü haline gelmesi bir takım ara reaksiyonlarla kademeli olarak gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonlardan herhangi biri yavaşlarsa, katotta harcanan elektron sayısı azalır ve bunun sonucu olarak katot potansiyeli negatif yönde artar. *S. oneidensis* MR-1 ile elektroliz deneylerinde zamanla katot potansiyeli negatif yönde artmıştır. Bu durumda katotta harcanan elektron sayısı azalacağından hidrojen molekülünün oluşumunun da azalacağı kaçınılmazdır ve elde edilen sonuçlar bunu desteklemektedir. *G. metallireducens* ile elektroliz deneylerinde ise 0,7 V' dan daha pozitif potansiyellerde zamanla katot potansiyeli negatif yönde azalmıştır. Bu durumda katotta harcanan elektron sayısı artacağından hidrojen gazının oluşumu da artacaktır. Buna göre, elde edilen sonuçlar bu yargıyı desteklemektedir.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, *G. metallireducens*' in *S. oneidensis* MR-1' e göre hidrojen gazı oluşumunda daha etkili bir bakteri olduğu hem mekanizma üzerine yapılan çalışmalar hem de elektroliz çalışmaları ile kanıtlanmıştır.

KAYNAKLAR

- ABBOUD, R., POPA, R., SOUZA-EGIPSY, V., GIOMETTI, C. S., TOLLAISEN S., MOSHER, J. J., FINDLAY, R. H., NEALSON, K. H., 2005. Low-temperature growth of *Shewanella oneidensis* MR-1. Applied and Environmental Microbiology, 71, 2, 811-816.
- ADAMS. R. N, 1969. Electrochemistry at solid electrodes. Decker, New York.
- ANGENENT, L. T., KARIM, K., AL-DAHMAN, M. H., WRENN, B. A., DOMIGUEZ-ESPINOSA, R., 2004. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. Trends in Biotechnology, 22, 477-485.
- ARGUN, H., KARGI, F., KAPDAN, I. K., OZTEKIN, R., 2008. Biohydrogen production by dark fermentation of wheat powder solution: Effects of C/N and C/P ratio on hydrogen yield and formation rate. International Journal of Hydrogen Energy, 33, 1813-1819.
- ARMSTRONG, F. A., BELSEY, N. A., CRACKNELL, J. A., GOLDET, G., PARKIN, A., REISNER, E., VINCENT K. A., WAIT, A. F., 2009. Dynamic electrochemical investigations of hydrogen oxidation and production by enzymes and implications for future technology. Chemical Society Reviews, 38, 36– 51.
- ARMSTRONG, F. A., HEERING, H. A., HIRST, J., 1997. Reactions of complex metalloproteins studied by protein-film voltammetry. Chemical Society Reviews, 26, 3, 169-179.
- BANKS, C. E., COMPTON, R. G. 2006. New electrodes for old: from carbon nanotubes to edge plane pyrolytic graphite. Analyst, 131, 15-21.
- BARD, A. J., FAULKNER, L. R., 2001. Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications. Second Edition. John Wiley and Sons, New York.
- BARON, D., LABELLE, E., COURSOLE, D., GRALNICK, J. A., BOND, D. R., 2009. Electrochemical measurement of electron transfer kinetics by *Shewanella oneidensis* MR-1. The Journal of Biological Chemistry, 284, 42, 28865– 28873.

- BELAFI BAKO, K., BUCSU, D., PIENKA, Z., BALINT, B., HERBEL, Z., KOVACS, K. L., WESSLING, M., 2006. Integration of biohydrogen fermentation and gas separation processes to recover and enrich hydrogen. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31, 1490-1495.
- BELIAEV, A. S., KLINGEMAN, D. M., KLAPPENBACH, J. A., WU, L., ROMINE, M. F., TIEDJE, J. M., NEALSON, K. H., FREDRICKSON, J. K., ZHOU, J., 2005. Global transcriptome analysis of *Shewanella oneidensis* MR-1 exposed to different terminal electron acceptors. *Journal of Bacteriology*, 187, 7138– 7145.
- BERGEL, A., FERON, D., MOLLICA, A., 2005. Catalysis of oxygen reduction in PEM fuel cell by seawater biofilm. *Electrochemistry Community*, 7, 900-904.
- BLANFORD, C. F., ARMSTRONG, F. A., 2006. The pyrolytic graphite surface as an enzyme substrate: microscopic and spectroscopic studies. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 10, 826– 832.
- BOND, D. R., AND LOVLEY, D. R., 2003. Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 1548-1555.
- BOND, D. R., HOLMES, D. E., TENDER, L. M., LOVLEY, D. R., 2002. Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science*, 295, 483-485.
- BRETTAR, I., MOORE, E. R. B., HOFLE, M. G., 2001. Phylogeny and abundance of novel denitrifying bacteria isolated from the water column of the Central Baltic Sea. *Microbial Ecology*, 42, 295-305.
- CALL, D. F., WAGNER, R. C., LOGAN, B. E., 2009. Hydrogen production by *Geobacter* species and a mixed consortium in a microbial electrolysis cell. *Applied And Environmental Microbiology*, 75, 24 7579– 7587.
- CALL, D., LOGAN, B. E., 2008. Hydrogen production in a single chamber microbial electrolysis cell (MEC) lacking a membrane. *Environmental Science and Technology*, 42, 3401– 3406.

- CHAE, K. J., CHOI, M. J., KIM, K. Y., AJAYI, F. F., CHANG, I. S., KIM, I. S., 2009. A solar-powered microbial electrolysis cell with a platinum catalyst-free cathode to produce hydrogen. *Environmental Science and Technology*, 43, 24, 9525– 9530.
- CHAMPINE, J. E., UNDERHILL, B., JOHNSTON, J. M., LILLY, W. W., GOODWIN, S., 2000. Electron transfer in the dissimilatory iron-reducing bacterium *Geobacter metallireducens*. *Anaerobe, Physiology/Structural Biology*, 6, 187-196.
- CHAUDHURI, S. K., LOVLEY, D. R., 2003. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nature Biotechnology*, 21, 1229-1232.
- CHENG, S., LIU, H., LOGAN, B. E. Power densities using different cathode catalysts (Pt and CoTMPP) and polymer binders (Nafion and PTFE) in single chamber microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40, 364-369.
- CHENG, S., LOGAN, B. E., 2007a. Ammonia treatment of carbon cloth anodes to enhance power generation of microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 9, 492– 496.
- CHENG, S., LOGAN, B. E., 2007b. Sustainable and efficient biohydrogen production via electrohydrogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 18871– 18873.
- CLAUWAERT, P., RABAEY, K., AELTERMAN, P., DE SCHAMPHELAIRE, L., PHAM, T. H., BOECKX, P., BOON, N., VERSTRAETE, W., 2007. Biological denitrification in microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*, 41, 3354– 3360.
- CLAUWAERT, P., TOLEDO, R., VAN DER HA, D., CRAB, R., VERSTRAETE, W., HU, H., UDERT, K. M. AND K. RABAEY, 2008. Combining biocatalyzed electrolysis with anaerobic digestion, *Water Science and Technology*, 57, 4, 575-579.

- COATES, J. D., ELLIS, D. J., BLUNT-HARRIS, E. L., GAW, C. V., RODEN, E. E., LOVLEY, D. R., 1998. Recovery of humic-reducing bacteria from a diversity of environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 1504-1509.
- DAS, D., VEZIROGLU, T. N., 2001. Hydrogen production by biological processes: A survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, 26, 13– 28.
- DELONG, E. F., CHANDLER, P. Power from the deep. *Nature Biotechnology*, 2002, 20, 788-789.
- DITZIG, J., LIU, H., LOGAN, B. E., 2007. Production of hydrogen from domestic wastewater using a bioelectrochemically assisted microbial reactor (BEAMR). *International Journal of Hydrogen Energy*, 32, 2296– 2304.
- DORIAN, J. P., FRANSSEN, H. T., SIMBECK, D. R., 2006. Global challenges in energy. *Energy Policy*, 34, 1984– 91.
- EWING, W. H., 1986. Edwards and Ewing' s identification of *Enterobacteriaceae*. Forth Edition. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
- FAN, Y., HU, H., LIU, H., 2007. Sustainable power generation in microbial fuel cells using bicarbonate buffer and proton transfer mechanisms. *Environmental Science and Technology*, 41, 8154– 8158.
- FANG, H. H. P., LIU, H., ZHANG, T., 2005. Phototrophic hydrogen production from acetate and butyrate in wastewater. *International Journal of Hydrogen Energy*, 30, 785– 793.
- FARMER, J., 1999. *Enterobacteriaceae*: Introduction and identification. In: Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., (Editors). *Manuel of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- FILHOL, J. S., NEUROCK M., 2006. Elucidation of the electrochemical activation of water over Pd by first principles. *Angewte and Chemie International Edition* , 45, 402– 406.
- FREGUIA, S., RABAEY, K., YUAN, Z., KELLER, J., 2007. Non-catalyzed cathodic oxygen reduction at graphite granules in microbial fuel cells. *Electrochimica Acta*, 53, 598– 603.

- GENNERO DE CHIALVO M. R, CHIALVO A. C., 1994. Hydrogen evolution reaction: Analysis of the Volmer-Heyrovsky-Tafel mechanism with a generalized adsorption model. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 372, 209– 223.
- HALLENBECK, P. C., BENEMANN, J. R., 2002. Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 27, 1185– 1193.
- HAMBOURGER, M., GERVALDO, M., SVEDRUŽIĆ, D., KING, P. W., GUST, D., GHIRARDI, M., MOORE, A. L., MOORE, T. A., 2008. [FeFe]-Hydrogenase-catalyzed H₂ production in a photoelectrochemical biofuel cell. *Journal of American Chemical Society*, 130, 2015-2022.
- HAWKES, F. R., HUSSY, I., KYAZZE, G., DINSDALE, R., HAWKES, D. L., 2007. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: Principles and progress. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32, 172– 184.
- HEERING, H. A., HIRST, J., AND ARMSTRONG, F. A., 1998. Interpreting the catalytic voltammetry of electroactive enzymes adsorbed on electrodes. *The Journal of Physical Chemistry B*, 102, 35, 6889-6902.
- HEERING, H. A., WEINER, J. H., ARMSTRONG, F. A., 1997. Direct detection and measurement of electron relays in a multicentered enzyme: Voltammetry of electrode-surface films of *E. coli* fumarate reductase, an iron-sulfur flavoprotein. *Journal of American Chemical Society*, 119, 11628-11638.
- HEFFRON, K., LEGER, C., ROTHERY, R. A., WEINER, J. H., ARMSTRONG, F. A., 2001. Determination of an optimal potential window for catalysis by *e. coli* dimethyl sulfoxide reductase and hypothesis on the role of Mo(V) in the reaction pathway. *Biochemistry*, 40, 10, 3117-3126.
- HERNANDEZ, M. E., NEWMAN, D. K., 2001. Extracellular electron transfer. *Cellular and Molecular Life Science*, 58, 1562-1571.
- HOLMES, D. E., BOND, D. R., LOVLEY, D. R., 2004a. Electron transfer by *Desulfobulbus propionicus* Fe(III) and graphite electrodes. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 1234-1237.

- HOLMES, D. E., BOND, D. R., O' NEIL, R. A., REIMERS, C. E., TENDER, L. R., LOVLEY, D. R., 2004b. Microbial communities associated with electrodes harvesting electricity from a variety of aquatic sediments. *Microbial Ecology*, 48, 178-190.
- HOLT, J., KRIEG, N., SNEATH, P., STALEY, J., WILLIAMS, S., 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Ninth Edition, Williams and Wilkins, Baltimore, Md.
- HOOGERS, G., 2003. Ed. *Fuel Cell Technology Handbook*; CRC Press, Boca Raton, FL.
- HOUGHINS, J.P., 1984. The physiology and biochemistry of hydrogen metabolism in cyanobacteria. *Biochimica et Biophysica Acta*, 768, 227-255.
- HRAPOVIC, S., MANUEL, M. F., LUONG, J. H. T., GUIOT, S. R., TARTAKOVSKY, B., 2010. Electrodeposition of nickel particles on a gas diffusion cathode for hydrogen production in a microbial electrolysis cell. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35, 7313-7320.
- HU, H., FAN, Y., LIU, H., 2008. Hydrogen production using single-chamber membrane-free microbial electrolysis cells. *Water Research*, 42, 4172– 4178.
- IVY, J. 2004. Summary of electrolytic hydrogen production: Milestone completion report; National Renewable Energy Laboratory (NREL), Golden, CO.
- JANG, J. K., PHAM, T. H., CHANG, I. S., KANG, K. H., MOON, H., CHO, K. S., KIM, B. H., 2004. Construction and operation of a novel mediator- and membrane-less microbial fuel cell. *Process Biochemistry*, 39, 1007-1012.
- KAPDAN, I. K., KARGI, F., 2006. Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 569– 582.
- KIEFT, T. L., FREDRICKSON, J. K., ONSTOTT, T. C., GORBY, Y. A., KOSTANDARITHES, H. M., BAILEY, T. J., KENNEDY, D. W., LI, S. M., PLYMALE, A. E., SPADONI, C. M. AND GRAY, M. S., 1999. Dissimilatory reduction of Fe(III) and other electron acceptors by a *Thermus* isolate. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3, 1214-1221.

- KIM, B. H., KIM, H. J., HYUN, M. S., PARK, D. H., 1999. Direct electrode reaction of Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. Journal of Microbiology and Biotechnology, 9, 127-131.
- KIM, H. J., PARK, H. S., HYUN, M. S., CHANG, I. S., KIM, M., KIM, B. H., 2002. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. Enzyme and Microbial Technology, 30, 145-152.
- KIM, J., DEC, J., BRUNS, M. A., LOGAN, B. E., 2008. Odor removal from swine wastewater using microbial fuel cells. Applied and Environmental Microbiology, 74, 2540– 2543.
- KINOSHITA, K., 1992. Electrochemical oxygen technology. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- LARMINIE, J., DICKS, A., 2000. Fuel cell systems explained. John Wiley and Sons, Chichester.
- LEE, H. S., TORRES, C. I., PARAMESWARAN, P., RITTMANN, B. E., 2009. Fate of H₂ in an upflow single-chamber microbial electrolysis cell using a metal-catalyst-free cathode. Environmental Science and Technology, 43, 20, 7971–7976.
- LEE, J. Y., PHUNG, N. T., CHANG, I. S., KIM, B. H., SUNG, H. C., 2003. Use of acetate for enrichment of electrochemically active microorganisms and their 16S rDNA analyses. FEMS Microbiology Letters, 223, 185-191.
- LGER, C., ELLIOTT, S. J., HOKE, K. R., JEUKEN, L. J. C., JONES, A. K., ARMSTRONG, F. A., 2003. Enzyme electrokinetics: Using protein film voltammetry to investigate redox enzymes and their mechanisms. Biochemistry, 42, 29, 8653-8662.
- LGER, C., HEFFRON, K., PERSHAD, H. R., MAKLASHINA, E., LUNA-CHAVEZ, C., CECCHINI, G., ACKRELL, B. A. C., ARMSTRONG, F. A., 2001. Enzyme electrokinetics: Energetics of succinate oxidation by fumarate reductase and succinate dehydrogenase. Biochemistry, 40, 11234-11245.

- LGER, C., JONES, A. K., ROSEBOOM, W., ALBRACHT, S. P. J., ARMSTRONG, F. A., 2002. Enzyme Electrokinetics: Hydrogen Evolution and Oxidation by *Allochromatium vinosum* [NiFe]-Hydrogenase Biochemistry, , 41, 52, 15736-15746.
- LI, C. and FANG, H. H. P., 2007. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 37, 1, 1– 39.
- LIU, H., CHENG, S., LOGAN, B. E., 2005a. Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration. Environmental Science and Technology, 39, 5488– 5493.
- LIU, H., GROT, S., LOGAN, B. E., 2005b. Electrochemically assisted microbial production of hydrogen from acetate. Environmental Science and Technology, 39, 4317– 4320.
- LIU, H., LOGAN, B. E., 2004. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. Environmental Science and Technology, , 38, 4040-4046.
- LIU, W.-Z., WANG, A.-J., REN, N.-Q., ZHAO, X.-Y., LIU, L.-H., YU, Z.-G., LEE, D.-J., 2008. Electrochemically assisted biohydrogen production from acetate. Energy and Fuels, 22, 159– 163.
- LOGAN, B. E., 2004. Extracting hydrogen and electricity from renewable resources. Environmental Science and Technology, 38, 160A– 167A.
- LOGAN, B. E., 2008. Microbial fuel cells. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, NJ.
- LOGAN, B. E., AELTERMAN, P., HAMELERS, B., ROZENDAL, R., SCHROEDER, U., KELLER, J., FREGUIAC, S., VERSTRAETE, W., RABAEY, K., 2006a. Microbial fuel cells: methodology and technology. Environmental Science and Technology, 40, 5181– 5192.
- LOGAN, B. E., CALL, D., CHENG, S., HAMELERS, H. V. M., SLEUTELS, T. H. J. A., JEREMIASSE, A. W., AND ROZENDAL, R. A., 2008. Microbial electrolysis cells for high yield hydrogen gas production from organic matter. Environmental Science and Technology, 42, 23, 8630-8640.

- LOGAN, B. E., CHENG, S., WATSON, V., ESTADT, G., 2007. Graphite fiber brush anodes for increased power production in air-cathode microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*, 41, 3341– 3346.
- LOGAN, B. E., GROT, S. A., 2005. Bioelectrochemically assisted microbial reactor (BEAMR) that generates hydrogen gas. U.S. Patent Application. 60/588, 022.
- LOGAN, B. E., HAMELERS, B., ROZENDAL, R., SCHRÖDER, U., KELLER, J., FREGUÍA, S., AELTERMAN, P., VERSTRAETE, W., RABAEY, K., 2006b. Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environmental Science and Technology*, 40, 5181-5192.
- LOGAN, B. E., REGAN, J. M., 2006. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. *Trends in Microbiology*, 14, 512-518.
- LOVLEY, D. R., 2006. Bug juice: Harvesting electricity with microorganisms. *Nature Reviews Microbiology*, 4, 497-508.
- LOVLEY, D. R., ANDERSON, R. T., 2000. Influence of dissimilatory metal reduction on the fate of organic and metal contaminants in the subsurface. *Hydrogeology Journal*, 8, 77-88.
- LOVLEY, D. R., COATES, J. D., BLUNT-HARRIS, E. L., PHILLIPS, E. J., WOODWARD, J. C., 1996. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*, 382, 445-448.
- LOVLEY, D. R., GIOVANNONI, S. J., WHITE, D. C., CHAMPINE, J. E., PHILLIPS, E. J., GORBY, Y. A., GOODWIN, S., 1993. *Geobacter metallireducens* gen. nov. sp. nov., a microorganism capable of coupling the complete oxidation of organic compounds to the reduction of iron and other metals. *Archives of Microbiology*, 159, 4, 336-344.
- LOVLEY, D. R., HOLMES, D. E., NEVIN, K. P., 2004. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Advances in Microbial Physiology*, 49, 219-286.
- LOVLEY, D. R., LONERGAN, D. J., 1990. Anaerobic oxidation of toluene, phenol, and p-cresol by the dissimilatory iron-reducing organism, GS-15. *Applied and Environmental Microbiology*, 56, 1858-1864.

- LOVLEY, D. R., PHILLIPS, E. J., 1988. Novel mode of microbial energy metabolism: organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese. *Applied and Environmental Microbiology*, 54, 1472-1480.
- LOVLEY, D. R., PHILLIPS, E. J., GORBY, Y. A., LANDA, E. R., 1991. Microbial reduction of uranium. *Nature*, 350, 413-416.
- LOVLEY, D. R., STOLZ, J. F., NORD, G. L., PHILLIPS, E. J., 1987. Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism. *Nature*, 330, 252-254.
- LYBERATOS, G., GAVALA, H., KORAROS, M., STAMATELATOU, K., MIZUNO, O., OHARA, T., SHINYA, M., NOIKE, T., 2000. Characteristics of hydrogen production from bean curd manufacturing waste by anaerobic microflora. *Water Science and Technology*, 42, 345.
- MACFADDIN, J. F., 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Williams and Wilkins, Baltimore, Md.
- MARSILI, E., BARON, D. B., SHIKHARE, I. D., COURSOLE, D., GRALNICK, J. A., BOND, D. R., 2008. *Shewanella secretes* flavins that mediate extracellular electron transfer. *Proceedings of the National Academy of Science*, 105, 10, 3968-3973.
- MESHULAM-SIMON, G., BEHRENS, S., CHOO, A.D., AND SPORMANN, A. M., 2007. Hydrogen metabolism in *Shewanella oneidensis* MR-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 1153– 1165.
- NEVIN, K. P., LOVLEY, D. R., 2002. Mechanisms for accessing insoluble Fe(III)oxide during dissimilatory Fe(III) reduction by *Geothrix fermentans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 2294-2299.
- NEWMAN, D. K., KOLTER, R. A., 2000. Role for excreted quinones in extracellular electron transfer. *Nature*, 405, 94-97.
- OH, S.-E., VANGINKEL, S., LOGAN, B. E., 2003. The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. *Environmental Science and Technology*, 37, 5186– 5190.

- PARK, D. H., ZEIKUS, J. G., 2000. Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 1292-1297.
- PARK, H. S., KIM, B. H., KIM, H. S., KIM, H. J., KIM, G. T., KIM, M., CHANG, I. S., PARK, Y. K., CHANG, H. I., 2001. A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to *Clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell. *Anaerobe*, 7, 297-306.
- PENNER, S. S., 2006. Steps toward the hydrogen economy. *Energy*, 31, 33– 43.
- PERRY, K. A., KOSTKA, J. E., LUTHER, G. W., NEALSON, K. H., 1993. Mediation of sulfur speciation by a Black Sea facultative anaerobe. *Science*, 259, 801-803.
- PERSHAD, H. R., DUFF, J. L. C., HEERING, H. A., DUIN, E. C., ALBRACHT, S. P. J., ARMSTRONG, F. A., 1999. Catalytic electron transport in *Chromatium vinosum* [NiFe]-hydrogenase: Application of voltammetry in detecting redox-active centers and establishing that hydrogen oxidation is very fast even at potentials close to the reversible H^+/H_2 value. *Biochemistry*, 38, 8992-8999.
- PHAM, C. A., JUNG, S. J., PHUNG, N. T., LEE, J., CHANG, I. S., KIM, B. H., YI, H., CHUN, J. A., 2003. Novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to *Aeromonas hydrophila* isolated from a microbial fuel cell. *FEMS Microbiology Letters*, 223, 129-134.
- POTTER, M. C., 1911. Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. *Proceedings of the Royal Society London Series B*, 84, 260-276.
- RABAEY, K., BOON, N., HOFTE, M., VERSTRAETE, W., 2005a. Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. *Environmental Science and Technology*, 39, 3401-3408.
- RABAEY, K., BOON, N., SICILIANO, S. D., VERHAEGE, M., VERSTRAETE, W., 2004. Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 5373-5382.

- RABAEY, K., LISSENS, G., SICILIANO, S. D., AND VERSTRAETE, W., 2003. A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnology Letters*, 25, 1531-1535.
- RABAEY, K., VERSTRAETE, W., 2005b. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology*, 23, 291– 298.
- REIMERS, C. E.; TENDER, L. M.; FERTIG, S.; WANG, W., 2001. Harvesting energy from the marine sediment-water interface. *Environmental Science and Technology*, 35, 192-195.
- REN, Z., WARD, T. E., REGAN, J. M., 2007b. Electricity production from cellulose in a microbial fuel cell using a defined binary culture and an undefined mixed culture. *Environmental Science and Technology*, 41, 13, 4781– 4786.
- RISMANI-YAZDI, H., CHRISTY, A. D., DEHORITY, B. A.; MORRISON, M., YU, Z., TUOVINEN, O. H., 2007. Electricity generation from cellulose by rumen microorganisms in microbial fuel cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 97, 1398– 1407.
- ROSENBAUM, M., COTTA, M. A., ANGENENT, L. T., 2010. Aerated *Shewanella oneidensis* in continuously fed bioelectrochemical systems for power and hydrogen production. *Biotechnology and Bioengineering*, 105, 5, 880-888.
- ROZENDAL, R. A. 2007. Ph. D. Thesis, Wageningen University, <http://library.wur.nl/wda/dissertations/dis4283.pdf> (accessed October 22, 2008).
- ROZENDAL, R. A., HAMELERS, H. V. M., AND BUISMAN, C. J. N. 2006a. Effects of Membrane Cation Transport on pH and Microbial Fuel Cell Performance. *Environmental Science and Technology*, 40, 17, 5206-5211.
- ROZENDAL, R. A., HAMELERS, H. V. M., EUVERINK, G. J. W., METZ, S. J., BUISMAN, C. J. N., 2006b. Principle and perspectives of hydrogen production through biocatalyzed electrolysis. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31, 1632– 1640.

- ROZENDAL, R. A., HAMELERS, H. V. M., RABAEY, K., KELLER, J., BUISMAN, C. J. N., 2008a. Towards practical implementation of bioelectrochemical wastewater treatment. *Trends in Biotechnology*, 26, 450–459.
- ROZENDAL, R. A., JEREMIASSE, A. W., HAMELERS, H. V. M., BUISMAN, C. J. N., 2008b. Hydrogen production with a microbial biocathode. *Environmental Science and Technology*, 42, 629– 634.
- ROZENDAL, R. A., SLEUTELS, T. H. J. A., HAMELERS, H. V. M., BUISMAN, C. J. N., 2008c. Effect of the type of ion exchange membrane on performance, ion transport, and pH in biocatalyzed electrolysis of wastewater. *Water Science and Technology*, 57, 1757– 1762.
- ROZENDAL, R. A.; BUISMAN, C. J. N., 2005. Process for producing hydrogen. Patent WO2005005981.
- ROZENDAL, R., HAMELERS, H. V. M., MOLENKAMP, R. J., BUISMAN, C. J. N., 2007. Performance of single chamber biocatalyzed electrolysis with different types of ion exchange membranes. *Water Research*, 41, 1984– 1994.
- SAMMES, N. M., SMIRNOVA, A., VASYLYEV, O., 2005. *Fuel Cell Technologies: State and Perspectives*, Nato Science Series, II. Mathematics, Physics and Chemistry, 202, Springer, Netherlands.
- SCOTT J., NEALSON, K., 1994. A biochemical study of the intermediary carbon metabolism of *Shewanella putrefaciens*. *Journal of Bacteriology*, 176, 3408–3411.
- SELEMBO, P. A., PEREZ, J. M., LLOYD, W. A., LOGAN, B. E., 2009. High hydrogen production from glycerol or glucose by electrohydrogenesis using microbial electrolysis cells. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 5373– 5381.
- STAMS, A. J. M., DE BOK, F. A. M., PLUGGE, C. M., VAN EEKERT, M. H. A., DOLFING, J., SCHRAA, G., 2006. Exocellular electron transfer in anaerobic microbial communities. *Environmental Microbiology*, 8, 371–382.
- STRAUB, K. L., BENZ, M., SCHINK, B., 2001. Iron metabolism in anoxic environments at near neutral pH. *FEMS Microbiology Ecology*, 34, 181–186.

- SUCHETA, A., CAMMACK, R., WEINER, J., ARMSTRONG, F. A., 1993. Reversible voltammetry of fumarate reductase immobilized on electrode surface. *Biochemistry*, 32, 5455-5465.
- SUN, M., SHENG, G. P., ZHANG, L., XIA, C. R., MU, Z. X., LIU, X. W., WANG, H. L., YU, H. Q., QI, R., YU, T., YANG, M. I. N., 2008. An MEC-MFC-coupled system for biohydrogen production from acetate. *Environmental Science and Technology*, 42, 21, 8095– 8100.
- TANAKA, K., VEGA, C. A., TAMAMUSHI, R. 1983b. Mediating effects of ferric chelate compounds in microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 11, 135-143.
- TANAKA, K., VEGA, C. A., TAMAMUSHI, R., 1983a. Thionine and ferric chelate compounds as coupled mediators in microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 11, 289-297.
- TARTAKOVSKY, B., MANUEL, M. F., NEBURCHILOV, V., WANG, H., GUIOT, S. R. 2008a. Biocatalyzed hydrogen production in a continuous flow microbial fuel cell with a gas phase cathode. *Journal of Power Sources*, 182, 291– 297.
- TARTAKOVSKYA, B., MANUELA, M. F., WANG, H., GUIOT, S. R., 2008b. High rate membrane-less microbial electrolysis cell for continuous hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 1– 6.
- TAYLOR, B., GARDNER, T., 2007. Presented at the AWA Queensland 2007 Regional Conference, Sunshine Coast, Australia, November, 9-11.
- TCHOBANOGLIOUS, G., BURTON, F. L., STENSEL, H. D., 2003. *Wastewater Engineering, Treatment and Reuse*, Metcalf and Eddy, Inc., Forth Edition, McGraw-Hill, Boston.
- TENDER, L. M., REIMERS, C. E., STECHER, H. A., HOLMES, D. E., BOND, D. R., LOWY, D. A., PILOBELLO, K., FERTIG, S. J., LOVLEY, D. R., 2002. Harnessing microbially generated power on the seafloor. *Nature Biotechnology*, 20, 821-825.

- TER HEIJNE, A., HAMELERS, H. V. M., DE WILDE, V., ROZENDAL, R. A., BUISMAN, C. J. N., 2006. A bipolar membrane combined with ferric iron reduction as an efficient cathode system in microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*, 40, 5200-5205.
- TOBLER, N., HOFSTETTER, T. B., SCHWARZENBACH, R., 2008. Carbon and hydrogen isotope fractionation during anaerobic toluene oxidation by *Geobacter metallireducens* with different Fe(III) phases as terminal electron acceptors. *Environmental Science and Technology*, 42, 21, 7786– 7792.
- TURNER, J. A., 2004. Sustainable hydrogen production. *Science*, 305, 5686, 972– 974.
- VENTER, J. C., REMINGTON, K., HEIDELBERG, J. F., HALPERN, A. L., RUSCH, D., J. A. EISEN, WU, D., PAULSEN, I., NELSON, K. E., NELSON, W., FOUTS, D. E., LEVY, S. A. H., KNAP, M., LOMAS, W., NEALSON, K., WHITE, O., PETERSON, J., HOFFMAN, J., PARSONS, R., BADEN-TILLSON, H., PFANNKUCH, C., ROGERS, Y. H., SMITH, H. O., 2004. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 304, 66-74.
- VIELSTICH W. 2003. Cyclic voltammetry. In: Vielstich W, Gasteiger HA, Lamm A, editors. *Handbook fuel cells: Fundamentals, Technology and Applications* 2, Electrocatalysis, John Wiley and Sons, Ltd, New York, 153-62.
- VOGEL, B. F., VENKATESWARAN, K., SATOMI, M., GRAM, L., 2005. Identification of *Shewanella baltica* as the most important H₂S-producing species during iced storage of Danish marine fish. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 11, 6689– 6697.
- VON CANSTEIN, H., OGAWA, J., SHIMIZU, S., LLOYD J. R., 2008. Secretion of flavins by *Shewanella* species and their role in extracellular electron transfer. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 3, 615-623.
- WESTERMANN, P., JØRGENSEN, B., LANGE, L., AHRING, B. K., CHRISTENSEN, C. H., 2007. Maximizing renewable hydrogen production from biomass in a gas-biocatalytic refinery. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32, 4135-4141.

- XU, M., WANG, P., WANG, F., XIAO, X., 2005. Microbial diversity at a deep station of the Pacific nodule province. *Biodiversity and Conservation*, 14, 3363-3380.
- ZHAO, F., HARNISCH, F., SCHRÖDER, U., SCHOLZ, F., BOGDANOFF, P., HERRMANN, I., 2006. Challenges and constraints of using oxygen cathodes in microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*, 40, 5193-5199.
- ZHAO, F., HARNISCH, F., SCHRÖDER, U., SCHOLZ, F., BOGDANOFF, P., HERRMANN, I., 2005. Application of pyrolysed iron(II) phthalocyanine and CoTMPP based oxygen reduction catalysts as cathode materials in microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 7, 1405-1410.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Adana’da doğdu. İlköğrenimini Kasım Sacide Ener İlkokulu’nda, orta öğrenimini okul birincisi olarak Sıtkı Kulak Ortaokulu’nda ve lise öğrenimini Ahmet Kurttepelı Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi’nde tamamladı. 2000 yılında Çukurova Üniversitesi Kimya Bölümü’nde başladığı lisans eğitimini 2004 yılında tamamladı. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü yüksek lisans programına kaydoldu. 2007 yılında yüksek lisansını tamandılandıktan sonra ara vermeden aynı üniversite ve enstitünün doktora programına kaydoldu.

EKLER

EK-A

HESAPLAMALAR

$$1. V_{H_2} = V_t \times \frac{x_{H_2}}{100}$$

V_{H_2} : Oluşan hidrojen gazının hacmi (L)

V_t : Toplam gaz hacmi (L)

x_{H_2} : Oluşan hidrojen gazının % mol değeri

$$2. Y_{H_2} \left[\frac{mol H_2}{mol S} \right] = \frac{V_{H_2} \times P \times M_S}{R \times T \times \Delta C_S}$$

Y_{H_2} : 1 mol substrattan (glukoz) oluşan hidrojenin mol değeri (hidrojen verimi)

S : Substrat (glukoz)

P : Ortam basıncı (atm)

M_S : Substratın mol kütlesi (g/mol)

R : İdeal gaz sabiti (0,08314 L atm/K mol)

T : Sıcaklık (K)

ΔC_S : Belirli bir zaman periyodunda tüketilen substrat miktarı (g)

$$3. \text{Dönüşüm (\%)} = \frac{n_{H_2}(\text{Deneyssel})}{n_{H_2}(\text{Teorik})} \times 100$$

$n_{H_2}(\text{Teorik})$: 1 mol substrattan oluşan max. hidrojen gazı miktarı (mol)

$$4. n_{H_2}(\text{Deneyssel}) = \frac{P \times V_{H_2}}{R \times T}$$

$$5. Y_{H_2} \left[\frac{g H_2}{g COD} \right] = \frac{V_{H_2} \times P \times M_{H_2}}{R \times T \times \Delta COD}$$

Y_{H_2} : COD-kütle temelli hidrojen verimi

P : Ortam basıncı (atm)

M_{H_2} : Hidrojen molekül kütlesi (2g/mol)

R : İdeal gaz sabiti (0,08314 L atm/K mol)

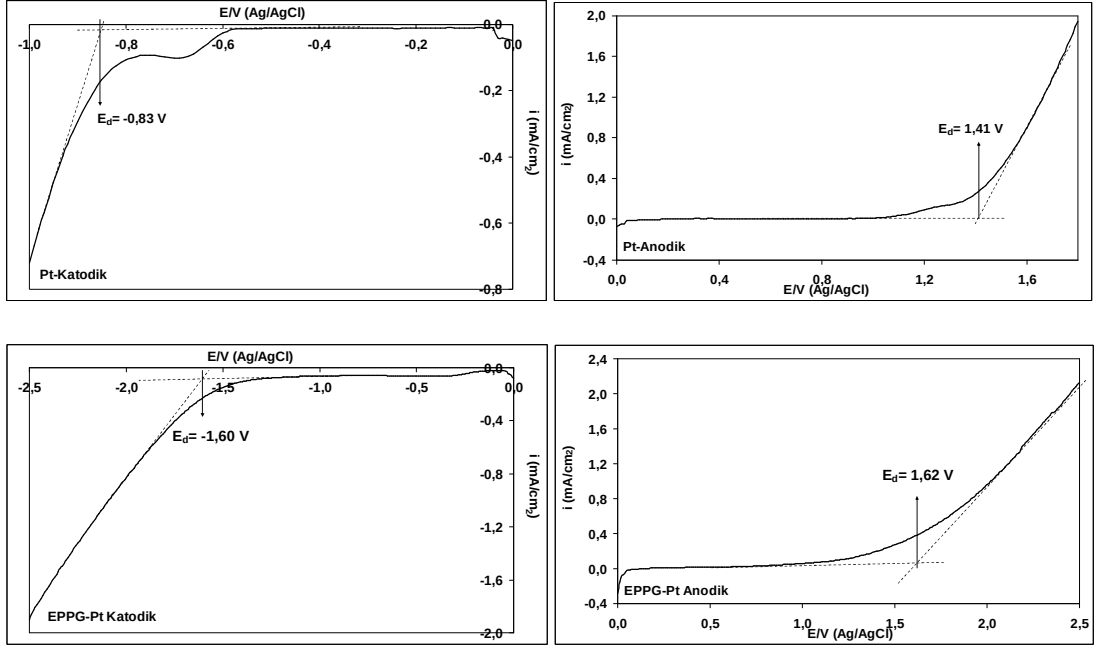
T : Sıcaklık (K)

ΔC_S : Belirli bir zaman periyodunda tüketilen kümülatif COD değeri (g)

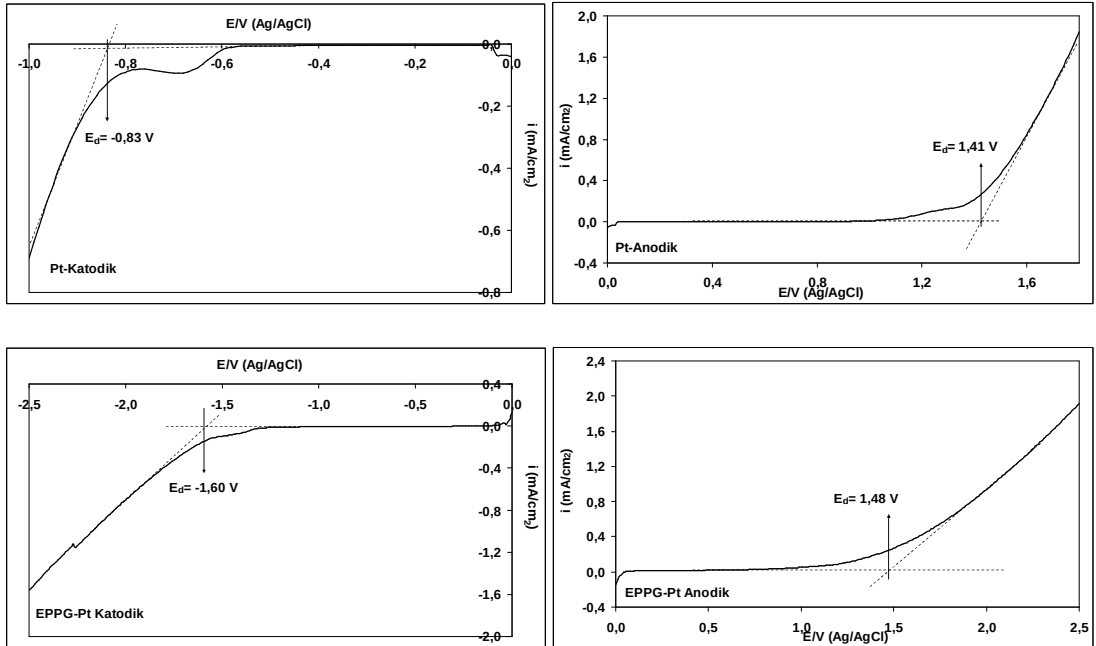
EK-B

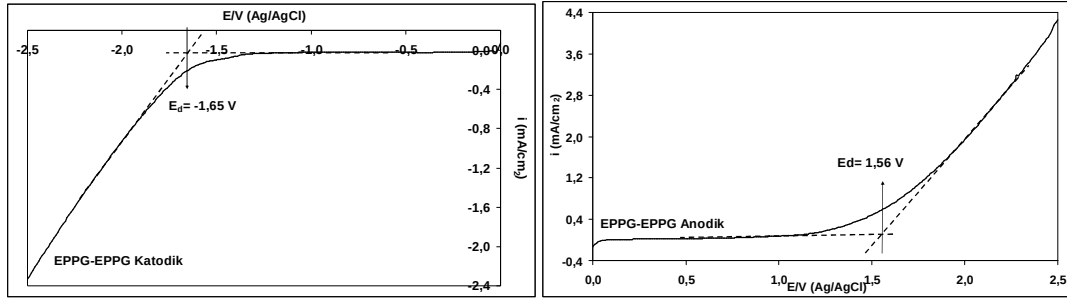
Pt ve EPPG Elektrotların Destek Elektrolitte Deneysel Ayrışma Potansiyellerinin Belirlendiği Doğrusal Taramalı Voltamogramlar

Oda koşulları

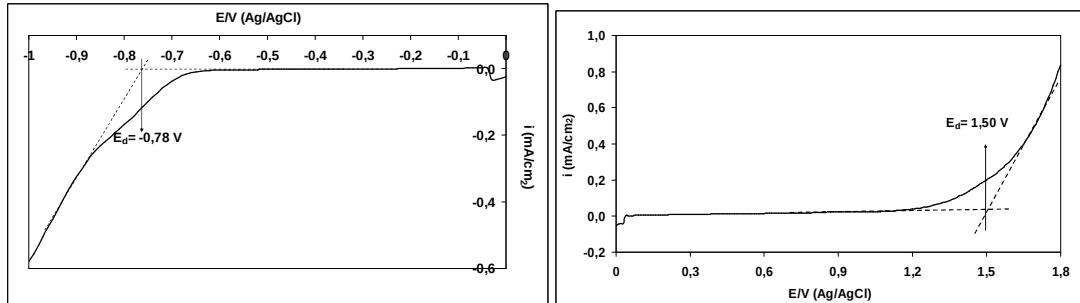


N₂ atmosferi

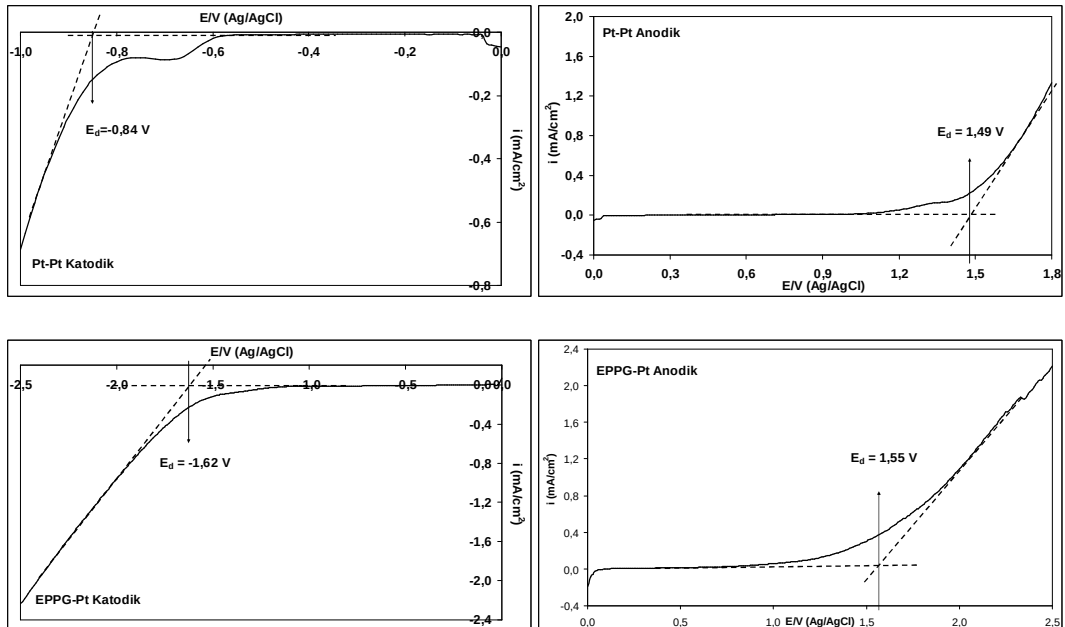


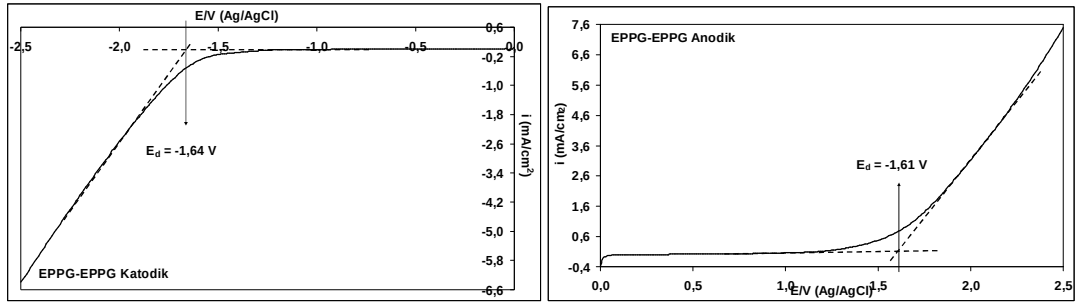


Destek Elektrolitte (Organik İçerikli) *S. oneidensis* MR-1 Varlığında Pt Elektrottaki Katodik ve Anodik Deneysel Ayrışma Potansiyellerinin Belirlenmesi

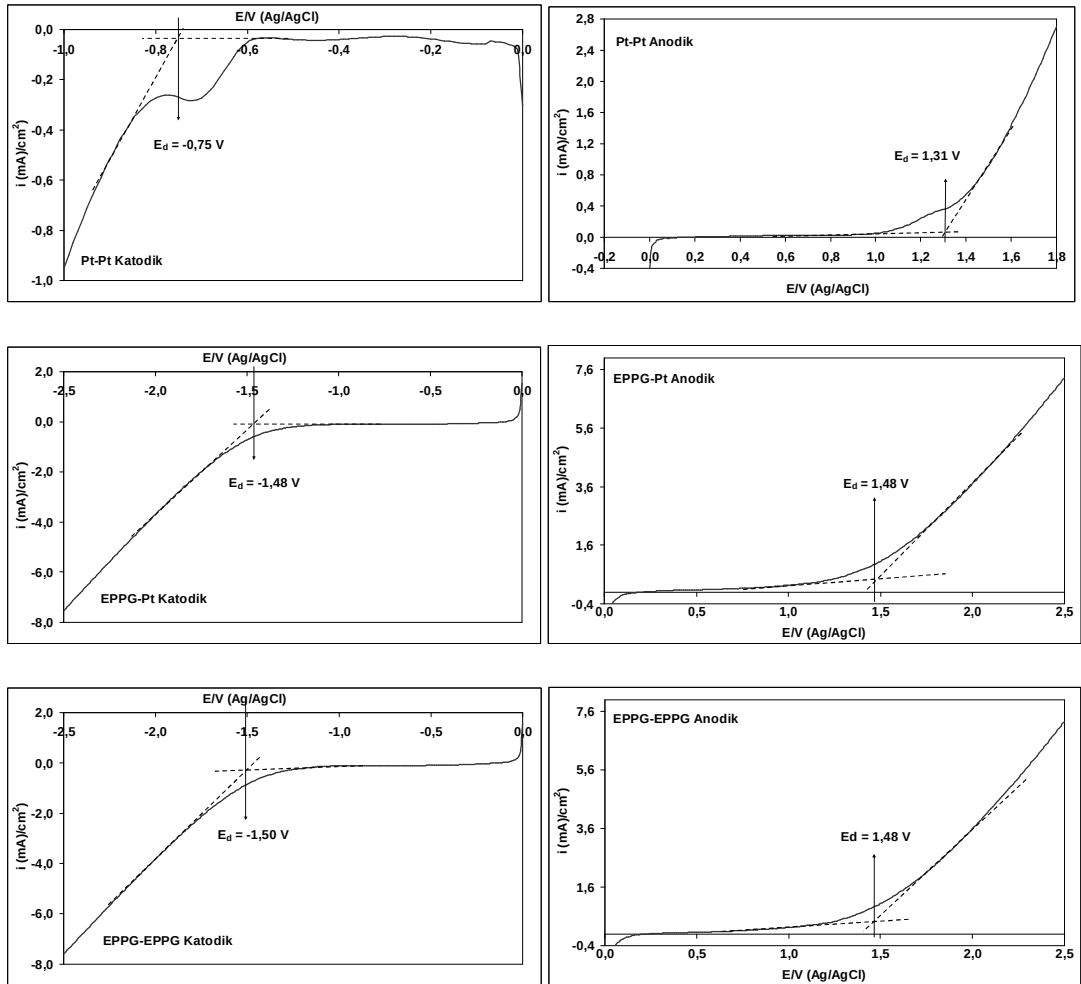


Destek Elektrolitte *S. oneidensis* MR-1 Varlığında Pt ve EPPG Elektrotlardaki Katodik ve Anodik Deneysel Ayrışma Potansiyellerinin Belirlenmesi

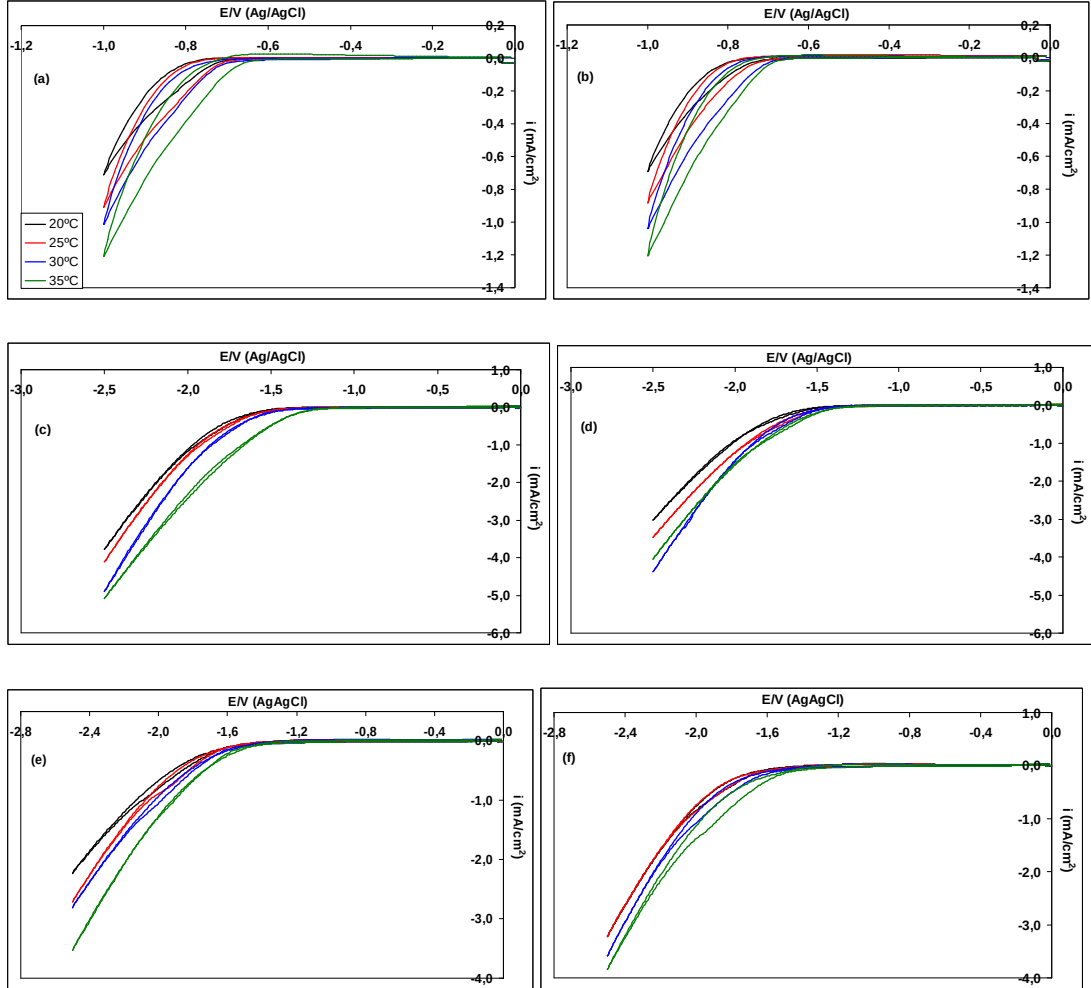




Destek Elektrolitte *G. metallireducens* Varlığında Pt ve EPPG Elektrotlardaki Katodik ve Anodik DeneySEL Ayrışma Potansiyellerinin Belirlenmesi



Destek elektrolitte ve *S. oneidensis* MR-1 içeren destek elektrolitte farklı sıcaklıklarda kaydedilen voltamogramlar (a) Pt/Pt, bakterisiz; (b) Pt/Pt, bakterili (c) EPPG/Pt, bakterisiz ; (d) EPPG/Pt, bakterili. (e) EPPG/EPPG, bakterisiz ; (f) EPPG/EPPG, bakterili.



***G. metallireducens* içeren destek elektrolitte farklı sıcaklıklarda kaydedilen voltamogramlar (a) Pt/Pt, (b) EPPG/Pt, (c) EPPG/EPPG.**

