

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΧΑΤΖΗΤΑΚΗΣ

MSc. ΧΗΜΙΚΟΣ, Α.Π.Θ.

**ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ ΜΕΣΩ
ΦΩΤΟΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΩΝ-ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ
ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2013



Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος II. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΧΑΤΖΗΤΑΚΗΣ

MSc. ΧΗΜΙΚΟΣ, Α.Π.Θ.

**ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ ΜΕΣΩ
ΦΩΤΟΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΩΝ-ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ
ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

που εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Φυσικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Ημερομηνία προφορικής εξέτασης: 23 Οκτωβρίου 2013

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καθηγητής ΙΩΑΝΝΗΣ ΠΟΥΛΙΟΣ - (Επιβλέπων Καθηγητής)

Αναπλ. Καθηγητής ΣΩΤΗΡΗΣ ΣΩΤΗΡΟΠΟΥΛΟΣ - (Μέλος συμβουλευτικής επιτροπής)

Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΛΕΝΗ ΝΙΚΟΛΑΚΑΚΗ - (Μέλος συμβουλευτικής επιτροπής)

Καθηγητής ΜΙΧΑΛΗΣ ΣΤΟΥΚΙΔΗΣ - (Τμ. Χημικών Μηχανικών Α.Π.Θ.)

Καθηγητής ΔΙΟΝΥΣΗΣ ΜΑΝΤΖΑΒΙΝΟΣ – (Τμ. Χημικών Μηχανικών του Πολυτεχνείου Πάτρας)

Αναπλ. Καθηγητής ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ ΑΝΑΣΤΟΠΟΥΛΟΣ-ΤΖΑΜΑΛΗΣ – (Τμ. Χημείας Α.Π.Θ.)

Επικ. Καθηγητής ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΤΣΙΠΛΑΚΙΔΗΣ – (Τμ. Χημείας Α.Π.Θ.)

Η επταμελής εξεταστική επιτροπή που ορίστηκε για την κρίση της Διδακτορικής Διατριβής του Χατζητάκη Αθανάσιου, Χημικού, συνήλθε σε συνεδρίαση στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης την 23^η Οκτωβρίου 2013, όπου παρακολούθησε την υποστήριξη της διατριβής με τίτλο «Παραγωγή υδρογόνου μέσω φωτοηλεκτροχημικών-φωτοσυνθετικών διεργασιών». Η επιτροπή έκρινε ομόφωνα ότι η διατριβή είναι πρωτότυπη και αποτελεί ουσιαστική συμβολή στην πρόοδο της Επιστήμης.

ΤΑ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Καθηγητής ΙΩΑΝΝΗΣ ΠΟΥΛΙΟΣ

Αναπλ. Καθηγητής ΣΩΤΗΡΗΣ ΣΩΤΗΡΟΠΟΥΛΟΣ

Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΛΕΝΗ ΝΙΚΟΛΑΚΑΚΗ

Καθηγητής ΜΙΧΑΛΗΣ ΣΤΟΥΚΙΔΗΣ

Καθηγητής ΔΙΟΝΥΣΗΣ ΜΑΝΤΖΑΒΙΝΟΣ

Αναπλ. Καθηγητής ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ ΑΝΑΣΤΟΠΟΥΛΟΣ-ΤΖΑΜΑΛΗΣ

Επικ. Καθηγητής ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΤΣΙΠΛΑΚΙΔΗΣ



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
ΥΠΟΧΡΩΜΑΤΙΣΜΟΣ ΔΙΑ ΤΗΝ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΗΜΑΤΙΚΗ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος II. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

© Αθανάσιος Ε. Χατζητάκης

© Α.Π.Θ.

Παραγωγή υδρογόνου μέσω φωτοηλεκτροχημικών-φωτοσυνθετικών διεργασιών
ISBN

«Η έγκριση της παρούσης Διδακτορικής Διατριβής από το Τμήμα Χημείας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέως» (Ν. 5343/1932, άρθρο 202, παρ. 2).

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η διδακτορική διατριβή με θέμα «Παραγωγή υδρογόνου μέσω φωτοηλεκτροχημικών-φωτοσυνθετικών διεργασιών» πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυσικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης από τον Ιανουάριο του 2009 ως τον Αύγουστο του 2013.

Σκοπός της ήταν η ανάπτυξη μιας νέας μεθοδολογίας, η οποία συνδυάζει την ενζυματική παραγωγή υδρογόνου με τη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση οργανικών ρύπων. Πρόκειται για μια μέθοδο τεχνητής φωτοσύνθεσης, η οποία έχει τη δυνατότητα να αξιοποιεί την ηλιακή ακτινοβολία για την αντιμετώπιση της περιβαλλοντικής ρύπανσης, με ταυτόχρονη παραγωγή ενός καθαρού καυσίμου, όπως είναι το υδρογόνο.

Η παρούσα διατριβή δε θα είχε πραγματοποιηθεί χωρίς τη συνεχή καθοδήγηση του επιβλέποντα Καθηγητή κ. Ιωάννη Πούλιου και την καθημερινή ενασχόλησή του όλα αυτά τα χρόνια με το συγκεκριμένο αντικείμενο. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω ιδιαίτερα για τα 10 χρόνια άριστης συνεργασίας μας μέσα σε ένα άνετο, ευχάριστο και αποτελεσματικό περιβάλλον, καθώς και για το γεγονός ότι αποτέλεσε τον καταλύτη για την ενασχόλησή μου με την έρευνα.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Σωτήρη Σωτηρόπουλο, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για την πολύτιμη βοήθεια και συμβολή του στην αντιμετώπιση προβλημάτων, αλλά και στην ενίσχυση της αντίληψής μου για πολλές πτυχές της συγκεκριμένης μεθόδου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ελένη Νικολακάκη, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για τις ανεκτίμητες επιστημονικές συμβουλές στα θέματα βιοχημείας και τη συνεχή και ουσιαστική βοήθειά της, ώστε να πραγματοποιηθεί η παρούσα διατριβή. Θερμές ευχαριστίες και στον Αναπλ. Καθ. Θωμά Γιαννακούρο, καθώς και στις Μαρία, Ιωάννα και Μακρίνα.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής, Καθηγητή κ. Μ. Στουκίδη, Καθηγητή Δ. Μαντζαβίνο, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Α. Αναστόπουλο-Τζαμάλη και Επίκουρο Καθηγητή Δ. Τσιπλακίδη για τις υποδείξεις τους κατά τη διάρκεια της συγγραφής και όλα τα μέλη του Εργαστηρίου για τη δυνατότητα εργασίας σε ένα φιλικό περιβάλλον.

Για την οικονομική υποστήριξη θα ήθελα να ευχαριστήσω το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (Ι.Κ.Υ.) και το Πρόγραμμα Δια Βίου Μάθησης «Ηράκλειτος II».

Ευχαριστίες στο συνάδελφο και πολύ καλό φίλο κ. Νίκο Φιλιππίδη για τα πολύ σημαντικά αποτελέσματα στη φωτοηλεκτροχημεία των ημιαγωγών, τα οποία αξιοποίησα στην παρούσα διατριβή, καθώς επίσης και για τις υπέροχες ώρες που περάσαμε συγγράφοντας προτάσεις για επιστημονικούς διαγωνισμούς.

Ευχαριστίες στη συνάδελφο και φίλη Βάσω Κίτσιου, με την οποία περάσαμε τα τελευταία έξι χρόνια στο εργαστήριο, για την άφογη συνεργασία.

Ευχαριστώ επίσης, το Θάνο, τη Χρυσάνθη, τη Σοφία, την Ιωάννα και τη Χριστιάννα, όπως και όλα τα μέλη του εργαστηρίου Φυσικής Χημείας για τη συνεργασία και την υποστήριξη.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στους γονείς μου, Λευτέρη και Νίκη, την αδερφή μου Λία και τη φίλη μου Ελένη Χατζάκη για την αμέριστη συμπαράσταση, υπομονή και βοήθεια σε κάθε επίπεδο.

Περιεχόμενα

Περιεχόμενα	1
Συντμήσεις.....	3
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
1.1 Σκοπός και αντικείμενο έρευνας	12
2. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	13
2.1 Φωτοσύνθεση.....	13
2.2 Φωτοσύνθεση υδρογόνου	18
2.2.1 Ένζυμα Υδρογενάσης.....	20
2.3 Παραγωγή υδρογόνου από τα άλγη <i>Chlamydomonas Reinhardtii</i>	23
2.4 Μεταβολικά μονοπάτια και πηγές ηλεκτρονίων στην παραγωγή υδρογόνου από τα <i>Chlamydomonas</i>	25
2.5 Τεχνητή φωτοσύνθεση και φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού.	28
2.6 Επαφή ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη απουσία και παρουσία φωτός	30
2.6.1 Η επαφή ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη απουσία φωτός	30
2.6.2 Κάμψη ζωνών στη διεπιφάνεια ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη	32
2.6.3 Παρουσία φωτός.....	38
2.7 Αρχές και αντιδράσεις στη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού.....	41
2.8 Τύποι φωτοηλεκτροχημικών κυψελών για τη διάσπαση του νερού.....	46
2.8.1 Φωτοηλεκτρολυτική κυψέλη.....	47
2.8.2 Φωτο-βοηθούμενη ηλεκτρολυτική κυψέλη.....	47
2.8.3 Φωτοβολταϊκή ηλεκτρολυτική κυψέλη.....	47
2.9 Φωτοηλεκτροχημική απόδοση μετατροπής της ηλιακής ενέργειας προς υδρογόνο (ΗΕΠΥ).....	47
2.10 Μελλοντικοί στόχοι στη φωτοηλεκτροκαταλυτική διάσπαση του νερού.....	60
2.11 Φωτοκαταλυτική διάσπαση οργανικών ρύπων	61
2.11.1 Ετερογενής φωτοκαταλυτική οξείδωση οργανικών ρύπων	63
2.11.2 Κινητική της φωτοκαταλυτικής οξείδωσης.....	66
2.11.3 Ημιαγώγιμα υλικά-καταλύτες.....	68
2.11.4 Παράγοντες και συνθήκες που επηρεάζουν την ετερογενή φωτοκαταλυτική οξείδωση.....	72
2.12 Φωτοηλεκτροκαταλυτική οξείδωση οργανικών ρύπων	73
2.12.1 Παράγοντες και συνθήκες που επηρεάζουν τη φωτοηλεκτροκαταλυτική οξείδωση	79
2.13 Φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική υβριδική κυψέλη.....	79
3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	83
3.1 Αντιδραστήρια-Υλικά	83
3.1.1 <i>Chlamydomonas Reinhardtii</i> CC-124	83
3.1.2 Διοξείδιο του Τιτανίου (TiO ₂)	84
3.1.3 Άλλα αντιδραστήρια.....	84
3.1.4 Υλικά: φωτοηλεκτροχημικές κυψέλες και φλάσκες ανάπτυξης των άλγων	85
3.2 Όργανα και συσκευές.....	88
3.3 Μέθοδοι.....	89
3.3.1. Προετοιμασία της φωτοανόδου TiO ₂	89
3.3.2 Ανάπτυξη καλλιέργειών των άλγων <i>Chlamydomonas Reinhardtii</i>	90

3.3.3 Πειραματική διαδικασία στη φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική κυψέλη	91
3.3.4 Προσδιορισμός δραστηριότητας των ενζύμων υδρογένεσης	92
3.3.5 Προσδιορισμός αριθμού κυττάρων	92
3.3.6 Διατήρηση και κρυο-διατήρηση των κυττάρων των άλγεων	92
3.3.7 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)	93
3.3.8 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης μετά από αντίδραση αντίστροφης τρανσκριπτάσης (Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)	94
3.4 Ρύποι μοντέλα	96
3.4.1 Χλωραμφενικόλη	96
3.4.2 Imidacloprid	96
3.5 Αναλυτικές μέθοδοι	97
3.5.1 Αέριος χρωματογραφία	97
3.5.2 Ολικός οργανικός άνθρακας (TOC), διαλυμένος οργανικός άνθρακας (DOC)	98
3.5.3 Φασματοφωτομετρία	98
3.5.4 Χημική ακτινομετρία	99
3.5.5 SEM (ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης)	101
3.5.6 Εξίσωση-ανάλυση Mott-Schottky	102
3.5.7 Αρχική φαινόμενη απόδοση φωτονίων	104
3.5.8 Μετρήσεις ρεύματος-δυναμικού ηλεκτροδίου γραφίτη σε υδατικό διάλυμα MV^{+2} ..	104
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	107
4.1 Άνοδος	107
4.1.1 Μικροσκοπικός χαρακτηρισμός της επιφάνειας της ανόδου	108
4.1.2 Ηλεκτροχημική συμπεριφορά της ανόδου TiO_2	110
4.1.3 Φωτοηλεκτροχημική συμπεριφορά της ανόδου TiO_2	112
4.1.4 Φωτοηλεκτροκαταλυτική οξειδωση του αντιβιοτικού Χλωραμφενικόλη. Επίδραση του εφαρμοζόμενου δυναμικού	115
4.1.5 Επίδραση του pH του διαλύματος στη φωτοηλεκτροκαταλυτική οξειδωση της Χλωραμφενικόλης	119
4.1.6 Επίδραση της συγκέντρωσης της Χλωραμφενικόλης	122
4.2 Κάθοδος	125
4.2.1 Θρεπτικό υλικό Sueoka	126
4.2.2 Θρεπτικό υλικό TAP	128
4.2.3 Σύγκριση θρεπτικών υλικών ανάπτυξης	129
4.3 Φωτοηλεκτροκαταλυτική-ενζυματική υβριδική κυψέλη	130
4.3.1 Παραγωγή υδρογόνου και οξείδωση του φυτοφαρμάκου Imidacloprid	131
4.3.2 Παραγωγή υδρογόνου και οξείδωση του αντιβιοτικού Χλωραμφενικόλη	136
4.3.2.1 Επίδραση του θρεπτικού υλικού TAP-SF στην παραγωγή υδρογόνου. Οξείδωση της Χλωραμφενικόλης	136
4.3.2.2 Επίδραση της συγκέντρωσης των άλγεων στην παραγωγή υδρογόνου	138
4.3.2.3 Επίδραση της συγκέντρωσης του απορρυπαντικού Triton X 100 στην παραγωγή υδρογόνου	143
4.3.2.4 Επίδραση της συγκέντρωσης του MV^{+2} στην παραγωγή υδρογόνου	146
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	155
5.1 Γενικά συμπεράσματα	155
5.2 Περαιτέρω έρευνα	158
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	159
7. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ, ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ-ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ, ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ	191

Συντμήσεις

ADP	Αδενοσινοδιφωσφορικό οξύ
ads	Προσροφημένο είδος
ATP	Αδενοσινοτριφωσφορικό οξύ
CoA ή CoASH	Συνένζυμο A
Cyt b/f	Σύμπλοκο κυτοχρωμάτων b/f
DCMU	3-(3',4'-διχλωροφαίνυλο)-1,1 διμέθυλοουρία
DOC	Διαλυμένος οργανικός άνθρακας
E_{bg}	Ενεργειακό χάσμα
E_{m7}	Δυναμικό μέσου σημείου σε pH=7
E_{redox}	Ενέργεια οξειδοαναγωγικού ζεύγους
fb	Κατάσταση μηδενικού φορτίου
FDX	Φερρεδοξίνη
FRS	Αναγωγική ουσία της Φερρεδοξίνης
HER	Ημιαντίδραση έκλυσης υδρογόνου
HYDA1	Υδρογενάση A1
HYDA2	Υδρογενάση A2
HYDA3	Υδρογενάση A3
IHP	Εσωτερική στοιβάδα Helmholtz
IPCE	Εξωτερική κβαντική απόδοση
I_{photo}	Φωτο-ρεύμα
KEO	Κέντρο έκλυσης οξυγόνου
KHY	Κανονικό ηλεκτρόδιο υδρογόνου
MV^{+2}	Methyl Viologen
NAD	Νικοτιναμιδο-αδενοδινουκλεοτίδιο
NADP	Φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενοδινουκλεοτίδιο
N_D	Αριθμός δοτών
NPQR	Οξειδουρεκτάση της πλαστοκινόνης
OER	Ημιαντίδραση έκλυσης οξυγόνου
OHP	Εξωτερική στοιβάδα Helmholtz
ox.	Οξειδωμένο είδος
PAR	Photosynthetically active radiation
$PC(Cu^{+2})$	Πλαστοκυανίνη
PFR	Οξειδουρεκτάση του πυροσταφυλλικού οξεός
PQ	Πλαστοκινόνη
PQH_2	Πλαστοκινόλη
PSII/PSI και P680/P700	Φωτοσύστημα II/I
RC	Κέντρο αντίδρασης

red.	Ανηγγμένο είδος
redox	Οξειδοαναγωγικό σύστημα
Rubisco	Καρβοξυλάση/οξυγενάση της διφωσφορικής ριβουλόζης
SC	Ημιαγωγός
TAP	Tris-Acetate-Phosphate
TAP-SF	Tris-Acetate-Phosphate Sulphur free
E_F	Ενέργεια Fermi
ZA	Ζώνη αγωγιμότητας
ZΣ	Ζώνη σθένους
HEPY ή STH	Ηλιακή ενέργεια προς υδρογόνο
ΚΗΚ	Κανονικό ηλεκτρόδιο καλομέλανα
ΦΗΚ	Φωτοηλεκτροχημική ή Φωτοηλεκτροκαταλυτική κυψέλη
ΦΗΚ _{αν.}	Ανοδος Φωτοηλεκτροκαταλυτικής κυψέλης
ΦΗΚ _{καθ.}	Κάθοδος Φωτοηλεκτροκαταλυτικής κυψέλης

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

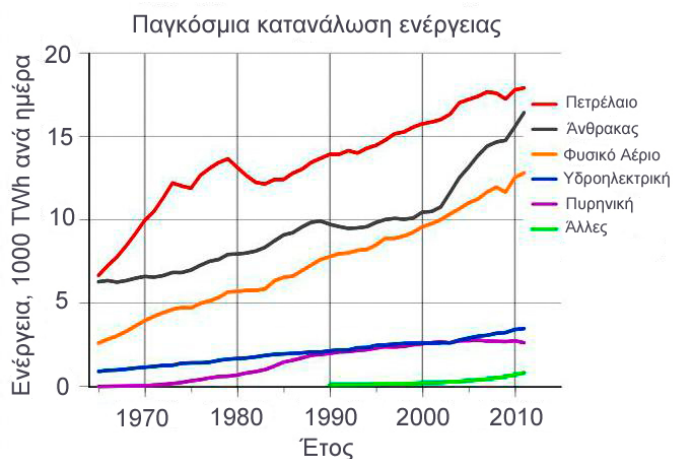
Η συνεχής μείωση των συμβατικών ενεργειακών αποθεμάτων και η ποιοτική υποβάθμιση του περιβάλλοντος είναι δύο από τα σημαντικότερα προβλήματα που αντιμετωπίζει η ανθρωπότητα τα τελευταία 50 χρόνια. Η έντονη βιομηχανική και αγροτική δραστηριότητα καθώς και η αλόγιστη καθημερινή χρήση έχουν αυξήσει την παγκόσμια ζήτηση σε ενέργεια [1, 2]. Η χρησιμοποίηση δε των ορυκτών καυσίμων για την κάλυψη των ενεργειακών απαιτήσεων, έχει δημιουργήσει σοβαρά προβλήματα στο περιβάλλον λόγω της έκλυσης των αερίων υπεύθυνων για το φαινόμενο του “εκτεταμένου θερμοκηπίου”. Οι ίδιες πρακτικές έχουν επιφέρει επίσης την συγκέντρωση μεγάλων ποσοτήτων αποβλήτων των οποίων η απευθείας ρίψη στους φυσικούς αποδέκτες έχει επιβαρύνει σημαντικά την ποιότητα του περιβάλλοντος. Μακροπρόθεσμα, τα γεγονότα αυτά μπορούν να οδηγήσουν σε απρόβλεπτες μεταβολές τόσο στις υπάρχουσες ισορροπίες των οικοσυστημάτων σε πλανητική κλίμακα, όσο και σε ανατροπές των κοινωνικών δομών παγκοσμίως [3]. Για τους προαναφερθέντες λόγους είναι επιτακτική η ανάγκη εύρεσης εναλλακτικών, αποδοτικότερων και περισσότερο φιλικών προς το περιβάλλον μεθόδων παραγωγής ενέργειας, όπως και η πιο σφύρα διαχείριση των ήδη υπαρχόντων αποθεμάτων. Αναγκαία είναι επίσης η εύρεση αποδεκτών και βιώσιμων λύσεων στην όλο και αυξανόμενη ρύπανση του περιβάλλοντος, ιδιαίτερα στις σημερινές συνθήκες έντονης οικονομικής και περιβαλλοντικής κρίσης.

Η ενέργεια είναι το θεμελιώδες συστατικό της παραγωγικότητας και της ανάπτυξης και είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τη ζωή. Η ανακάλυψη και η χρήση νέων πηγών ενέργειας οδήγησαν στην τεχνολογική πρόοδο αλλά και στην αύξηση του ανθρώπινου πληθυσμού. Η μετάβαση από το ξύλο στον άνθρακα (coal) πυροδότησε την βιομηχανική επανάσταση του 18^{ου} και του 19^{ου} αιώνα. Αντίστοιχα, η μετάβαση από τον άνθρακα στο πετρέλαιο, μια αλλαγή από στερεά σε υγρά καύσιμα, βοήθησε στη ραγδαία τεχνολογική ανάπτυξη η οποία αύξησε τα επίπεδα ζωής κατά το δεύτερο μισό του 20^{ου} αιώνα [4].

Στον 21^ο αιώνα, μια από τις σημαντικότερες προκλήσεις είναι η παραγωγή ενέργειας η οποία να ικανοποιεί τα σημερινά επίπεδα διαβίωσης. Αυτή τη στιγμή η όλο και αυξανόμενη κατανάλωση πετρελαίου αντιστοιχεί σε 1000 βαρέλια το δευτερόλεπτο, κάτι που σημαίνει περίπου 2 λίτρα ανά μέρα για κάθε άνθρωπο. Αν εκφραστούν αυτές οι ποσότητες σε ενέργεια που καταναλώνεται παγκοσμίως από περίπου 7 δισεκατομμύρια ανθρώπους, θα βρεθεί μια αντιστοιχία των 15 Terawatts (TW), δηλαδή μια σταθερή ζήτηση σε ενέργεια ίση με 15 τρισεκατομμύρια watts [1, 5-7].

Αναμένεται πως μέχρι το 2050 τα περίπου 9 δισεκατομμύρια ανθρώπων θα καταναλώνουν ενέργεια ίση με 30 TW. Τα ορυκτά καύσιμα, τα οποία παρέχουν το 85% των σημερινών ενεργειακών απαιτήσεων, δεν θα μπορέσουν να ανταποκριθούν στην αύξηση αυτή, γιατί πολύ απλά τα αποθέματα τους βρίσκονται σε πεπερασμένες ποσότητες. Σύμφωνα με τους σημερινούς ρυθμούς κατανάλωσης τα εκτιμώμενα αποθέματα του άνθρακα

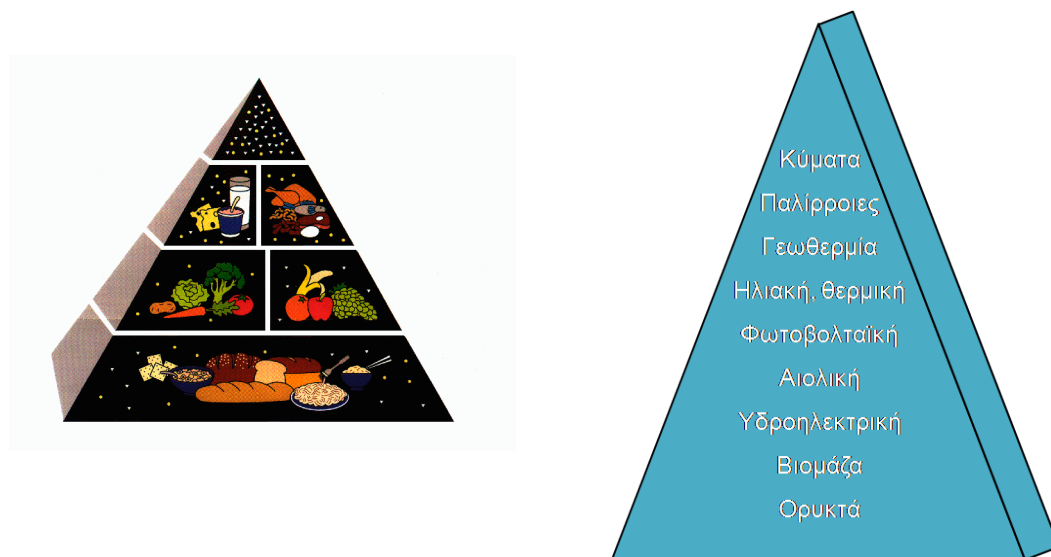
κυμαίνονται μεταξύ 150 με 400 χρόνια, του πετρελαίου 40-80 και του φυσικού αερίου 60-160. Η μείωση τους όμως θα γίνει αισθητή αρκετά νωρίτερα διότι η ανάκτηση των διαθέσιμων αποθεμάτων θα γίνεται όλο και πιο δύσκολη. Στοιχεία της Διεθνούς Αντιπροσωπείας Ενέργειας (International Energy Agency) αναφέρουν πως η παραγωγή του «εύκολα» ανακτώμενου πετρελαίου έφτασε το μέγιστο ρυθμό της το 2006. Δεν είναι λοιπόν τυχαίο πως η τιμή του πετρελαίου αυξήθηκε κατακόρυφα ήδη από το 2001 και είναι απίθανο να γυρίσει στα επίπεδα πριν από αυτό [5].



Σχήμα 1.1: Παγκόσμια ζήτηση σε ενεργειακές πρώτες ύλες τα τελευταία 40 χρόνια.

Η αυξημένη όμως χρήση των ορυκτών καυσίμων έχει δημιουργήσει σοβαρά προβλήματα στον πλανήτη. Οι πετρελαιοκηλίδες απειλούν το υδάτινο περιβάλλον και τη ζωή των φυτών, επιμολύνουν τις παραλίες και το έδαφος, ενώ προκαλούν τη διάβρωση μεγάλων εδαφικών εκτάσεων. Ο κυριότερος όμως προβληματισμός έχει να κάνει με την έκλυση των αερίων του θερμοκηπίου, κυρίως του CO_2 , και την συνεισφορά τους στην υπερθέρμανση του πλανήτη [8]. Το 1896 ο Arrhenius [1896 Arrhenius Philosophical magazine] έθεσε πρώτος το ζήτημα πως το CO_2 που εκλύεται από την καύση των ορυκτών καυσίμων θα μπορούσε να αυξήσει την αντανάκλαση της υπέρυθρης ακτινοβολίας με αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας της Γης. Το CO_2 είναι αέριο του «θερμοκηπίου» και παγιδεύει την ακτινοβολία μεγάλου μήκους κύματος (θερμότητα) η οποία εκπέμπεται από τη Γη. Επομένως, περισσότερο CO_2 στην ατμόσφαιρα και η θερμοκρασία αυξάνεται, λιγότερο CO_2 και η θερμοκρασία μειώνεται [4]. Από την εποχή της βιομηχανικής επανάστασης, τα επίπεδα CO_2 στην ατμόσφαιρα έχουν αυξηθεί από 280 στα 394 mg L^{-1} (Μάιος 2011), και προς το παρόν αυξάνουν κατά 2 mg L^{-1} το χρόνο. Η κρίσιμη συγκέντρωση σύμφωνα με το Διεθνές Πλαίσιο της Κλιματικής Αλλαγής (International Panel on Climate Change-IPCC) είναι τα 450 mg L^{-1} , η οποία εμπεριέχει σοβαρό κίνδυνο υπερθέρμανσης του πλανήτη κατά 2 $^{\circ}\text{C}$, γεγονός που θα επιφέρει δραματικές αλλαγές στα οικοσυστήματα και στις ανθρώπινες κοινωνίες. Πολλές μελέτες αναφέρουν πως η δεκαετία 2010-2020 είναι ιδιαίτερα κρίσιμη και εάν δεν μειωθεί δραστικά η έκλυση του CO_2 , τότε η υπέρβαση του ορίου των 450 mg L^{-1} CO_2 θεωρείται δεδομένη [5]. Με την σταδιακή εξαφάνιση των περισσότερων μη ανανεώσιμων πηγών

ενέργειας, η «ενεργειακή πυραμίδα» αποτελείται από ανανεώσιμες πηγές όπως είναι η ηλιακή, η αιολική, η ενέργεια των κυμάτων και διάφορες πηγές ενέργειας από βιομάζα [8]. Όπως η «διατροφική πυραμίδα» αντιπροσωπεύει την ισορροπημένη προσέγγιση μιας υγιούς διατροφής, έτσι και η «ενεργειακή πυραμίδα» αντιπροσωπεύει μια ισορροπημένη προσέγγιση στην κατανάλωση των ανανεώσιμων και μη ενεργειακών πόρων (σχήμα 1.2).



Σχήμα 1.2: Ενεργειακή Πυραμίδα σε αντιστοιχία με την διατροφική αλυσίδα.

Αν τώρα δεν ληφθεί υπόψη η ενέργεια που προέρχεται από τον ήλιο, η Γη είναι ένα κλειστό σύστημα. Σύμφωνα με το δεύτερο νόμο της θερμοδυναμικής, όλα τα κλειστά συστήματα εμπίπτουν σε συγκεκριμένους περιορισμούς ενεργειακών μετασχηματισμών, οι οποίοι δεν μπορούν να ξεπεραστούν. Προφανώς πολύ οικονομολόγοι δεν γνωρίζουν την απλή αυτή αρχή και ξεχνούν πως η οικονομία που έχει δημιουργηθεί από τον άνθρωπο βασίζεται εξ ολοκλήρου στο φυσικό «κεφάλαιο» του πλανήτη. Ευτυχώς όμως, το «κεφάλαιο» αυτό αναγεννάται χωρίς κόστος άμεσα ή έμμεσα από την δράση της ηλιακής ακτινοβολίας, δηλαδή μιας ενέργειας έξω από το κλειστό σύστημα της Γης. Αν όμως ξεπεραστεί αυτή η ικανότητα αναγέννησης του φυσικού κεφαλαίου οδηγούμαστε σε κατάρρευσή του. Τη δεκαετία του '60 οι απαιτήσεις της ανθρωπότητας αντιστοιχούσαν στο 70% της ικανότητας της βιόσφαιρας να αναγεννήσει το φυσικό «κεφάλαιο», τη δεκαετία του 80 στο 100% και το 1999 στο 120% [1, 9]. Είναι φανερό πως αυτή τη στιγμή ζούμε πέρα από τα όρια των δυνατοτήτων μας και η εύρεση πιο βιώσιμων και αποτελεσματικότερων ενεργειακών πρακτικών είναι εντονότερη από ποτέ.

Πως θα μπορούσε να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα της ενέργειας; Η απάντηση βρίσκεται και πάλι στην εξωτερική αυτή ενέργεια, δηλαδή, την ηλιακή ενέργεια. Η αξιοποίησή της αποτελεί ελκυστική και προφανή λύση, η οποία εκτός του ότι είναι η μόνη ανανεώσιμη

πηγή ενέργειας που μπορεί να ανταποκριθεί στις ανάγκες της ανθρωπότητας (178,000 TW ανά έτος, που είναι 13,500 φορές περισσότερη από την ενέργεια που απαιτείται αυτή τη στιγμή) [10-12], βρίσκεται σε αφθονία και είναι άμεσα διαθέσιμη (πίνακας 1.1). Θα πρέπει όμως πρώτα να συλλεχθεί και να μετατραπεί σε ωφέλιμη για τον άνθρωπο ενέργεια, όπως είναι η θερμική, ηλεκτρική και η χημική ενέργεια (κυψέλη καυσίμου). Ειδικότερα η δημιουργία ενός «ηλιακού καυσίμου», εύκολο στην αποθήκευση και μετακίνησή του θα αποτελούσε μια σημαντική πρόοδο στο ενεργειακό πρόβλημα [1, 13]. Ένα τέτοιο καύσιμο θα πρέπει να προέρχεται από φθηνά και σε αφθονία υλικά, όπως είναι το νερό, το οποίο μπορεί να διασπαστεί σε οξυγόνο και υδρογόνο. Το υδρογόνο συχνά θεωρείται ως το ιδανικό καύσιμο μιας και καίγεται προς παραγωγή νερού και η χρήση του ως καύσιμο για τα μέσα μεταφοράς και την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας αποτελεί μια ελκυστική επιλογή για βιώσιμη ανάπτυξη. Πολλά όμως είναι τα προβλήματα που πρέπει να ξεπεραστούν με στόχο την ευρεία χρήση του, και σχετίζονται με την παραγωγή του, την αποθήκευσή του και την μεταφορά του [14, 15].

Πίνακας 1.1: Περίληψη της ενεργειακής απόδοσης των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας [5].

Πηγή ενέργειας	Ισχύς (TW)	Παρατηρήσεις
Ηλιακή	>20	Απαιτεί την κάλυψη του 0.16% της επιφάνειας της Γης με ηλιακά κελιά απόδοσης 10%
Υδροηλεκτρική	1-2	Η εναπομένουσα ανεκμετάλλευτη ικανότητα είναι 0.5 TW
Κυμάτων (Ωκεανών, Παλιρροιακών)	<2	-
Γεωθερμική	12	Μόνο ένα μικρό τμήμα της μπορεί να αξιοποιηθεί
Βιομάζα	10	Απαιτεί την κάλυψη του 10% του εδάφους της Γης με switchgrass
Πυρηνική	10	Απαιτεί την εγκατάσταση υποδομών 1-GW κάθε 35 ώρες για τα επόμενα 40 χρόνια

Παρόλο που το υδρογόνο βρίσκεται σε αφθονία ως συστατικό πλήθους χημικών ενώσεων, είναι πολύ δύσκολο να παραχθεί σε μεγάλες ποσότητες. Ελεύθερο μπορεί να βρεθεί μόνο σε ίχνη και για αυτό το λόγο θα πρέπει να παραχθεί από τις ενώσεις του. Σε μικρές ποσότητες μπορεί να παραχθεί εργαστηριακά (αντίδραση οξέων με μέταλλα, αντιδράσεις των υδριδίων των μετάλλων, αντίδραση μεταξύ μιας ισχυρής βάσης σε υδατικό διάλυμα παρουσία στερεού Αλουμινίου), ενώ για μεγαλύτερες ποσότητες έχουν αναπτυχθεί βιομηχανικές μέθοδοι, οι οποίες εξαρτώνται από τοπικούς παράγοντες, αλλά και από τη διαθεσιμότητα σε πρώτες ύλες. Οι κυριότερες βιομηχανικές μέθοδοι παραγωγής υδρογόνου δίνονται στη συνέχεια [8]:

1. Παραγωγή υδρογόνου από ορυκτά καύσιμα
 - 1.1. Αεριοποίηση του άνθρακα και θερμική αναμόρφωση του φυσικού αερίου μέσω ατμού
 - 1.2. Μερική οξειδωση υδρογονανθράκων
 - 1.3. Θερμική διάσπαση ή θερμική αποσύνθεση του μεθανίου
 - 1.4. Διεργασίες διύλισης πετρελαίου
2. Αφυδρογόνωση αμμωνίας
3. Ηλεκτρόλυση του νερού

Όλες οι παραπάνω μέθοδοι παραγωγής υδρογόνου βασίζονται στα ορυκτά καύσιμα με το 48% της συνολικής παραγωγής να προέρχεται από το φυσικό αέριο, το 30% από το πετρέλαιο, το 18% από τον άνθρακα και το υπόλοιπο 4% από την ηλεκτρόλυση του νερού. Όμως, οποιοδήποτε ρεαλιστικό και βιώσιμο ενεργειακό σύστημα βασισμένο στο υδρογόνο, επιβάλλει την παραγωγή υδρογόνου από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Στο πλαίσιο αυτό η παραγωγή υδρογόνου από το νερό και την ηλιακή ενέργεια αποτελεί την ιδανική επιλογή [4]. Η μετατροπή του νερού προς υδρογόνο με αξιοποίηση της ηλιακής ενέργειας, αλλά και με άλλων ανανεώσιμων πηγών ενέργειας μπορεί να γίνει μέσω:

- Φωτοηλεκτροχημικής διάσπασης του νερού [16-18]
- Φωτοκαταλυτικής διάσπασης του νερού [19-21]
- Φωτοβιολογικής διάσπασης του νερού [22-28]
- Θερμοχημικής μετατροπής [29-32]
- Συνδυασμένων φωτοβολταϊκών-ηλεκτρολυτικών συστημάτων [33-36]
- Πλάσματος-χημικής μετατροπής [37-39]
- Μηχανοκατάλυσης, ραδιόλυσης, κτλ. [40-44]

Είναι πολύ πιθανό πως όλες οι παραπάνω διεργασίες θα συμβάλλουν μελλοντικά στην παραγωγή υδρογόνου, όμως ο συνδυασμός της φωτοβιολογικής με την φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού είναι ίσως το κλειδί για την ανάπτυξη της οικονομίας υδρογόνου [5].

Η αποθήκευση και μεταφορά του υδρογόνου γίνονται σε συνθήκες συμπίεσης ή συμπύκνωσης του ως αέριο ή υγρό. Λόγω της χαμηλής του ενέργειας ανά μονάδα όγκου, η υγροποίηση του υδρογόνου πραγματοποιείται στους $-253\text{ }^{\circ}\text{C}$. Επομένως, απαιτείται επιπλέον κατανάλωση ενέργειας για την τελική διάθεσή του, όπως επίσης και ιδιαίτερες συνθήκες ασφάλειας και χειρισμού. Προς το παρόν, δυο είναι οι εναλλακτικές λύσεις για την αποθήκευση του υδρογόνου [4].

- Υγρό υδρογόνο
- Υδρίδια των μετάλλων

Από την μια μεριά η υγροποίηση του υδρογόνου είναι μια πολύ ακριβή διεργασία μιας και απαιτείται εξοπλισμός για την ψύξη του αερίου στους $-253\text{ }^{\circ}\text{C}$, ενώ από την άλλη τα υδρίδια των μετάλλων είναι ακριβά, έχουν μεγάλο βάρος και μικρό χρόνο ζωής. Παρουσιάζουν επίσης μείωση στην χωρητικότητά τους ύστερα από την επαναλαμβανόμενη αποθήκευση υδρογόνου. Γίνεται φανερό πως χρειάζεται περαιτέρω έρευνα και στον τρόπο αποθήκευσης του υδρογόνου, χρησιμοποιώντας χημικές ενώσεις που θα μπορούν να μεταφέρονται εύκολα και με ασφάλεια [4].

Ο σύγχρονος τρόπος ζωής τους τελευταίους 2 αιώνες καθώς και η ανάπτυξη της βιομηχανίας με την παραγωγή νέων προϊόντων, εκτός των προβλημάτων της ενέργειας και της υπέρμετρης κατανάλωσης καυσίμων, έχουν οδηγήσει στην αύξηση του όγκου και της ανθεκτικότητας των στερεών, υγρών και αερίων ρύπων, ενώ ταυτόχρονα έχουν αυξήσει σημαντικά την κατανάλωση νερού. Το νερό αποτελεί το βασικό στοιχείο ανάπτυξης και διατήρησης της ζωής στον πλανήτη, καθώς επίσης και το βασικό υλικό για τη σύγχρονη βιομηχανική ανάπτυξη. Οι φυσικές και χημικές του ιδιότητες αποτελούν τη βάση των βιολογικών κύκλων, ενώ οι θερμικές του ιδιότητες ελέγχουν τις κλιματολογικές συνθήκες και στηρίζουν το μέγιστο των δραστηριοτήτων του ανθρώπου και της βιομηχανίας.

Περίπου το 70% της επιφάνειας της Γης σκεπάζεται με νερό, αλλά μόνο το 0,003% είναι άμεσα διαθέσιμο υπό μορφή υγρασίας στο έδαφος, εκμεταλλεύσιμου υπόγειου νερού, υδρατμών, λιμνών και υδατορευμάτων. Το 97% βρίσκεται στους ωκεανούς, ενώ από το υπόλοιπο 3% το 2,997% είναι παγιδευμένο σε παγετώνες και παγόβουνα ή βρίσκεται βαθιά στη Γη. Είναι ζωτικός πόρος για τη γεωργία, τη βιοτεχνία, τις μεταφορές και άλλες αμέτρητες ανθρώπινες δραστηριότητες. Το διαθέσιμο νερό συνεχώς συγκεντρώνεται, καθαρίζεται και ανακυκλώνεται κατά τον υδρολογικό κύκλο. Η διαδικασία αυτή παρέχει αρκετές ποσότητες νερού, υπό τις προϋποθέσεις ότι α) δε ρυπαίνεται με τοξικές, μη αποικοδομήσιμες ή με βραδέως αποικοδομήσιμες ενώσεις, οι οποίες βαθμιαία θα συγκεντρώνονται και κάποτε θα φτάσουν σε απαγορευτικά επίπεδα, και β) δεν αντλείται από τα υπόγεια αποθέματα με ρυθμό μεγαλύτερο από όσο αυτά επαναφορτίζονται. Δυστυχώς, σήμερα συμβαίνουν και τα δύο, με αποτέλεσμα το πόσιμο νερό να μειώνεται συνεχώς και η κατάσταση να έχει γίνει ιδιαίτερα δραματική, αφού ο μισός πληθυσμός της Γης δεν έχει πρόσβαση σ' αυτό [45, 46].

Η διασφάλιση του νερού αναμένεται να οδηγήσει σε διαμάχες και συγκρούσεις μεταξύ γειτονικών χωρών, δεδομένου ότι το 40% των κατοίκων της Γης ζει σήμερα σε περισσότερες από 200 διακρατικές υδρολογικές λεκάνες, μοιράζεται δηλαδή τα νερά των ίδιων ποταμών και λιμνών. Σύμφωνα με τα στοιχεία του Ο.Η.Ε., 232 εκατ. άνθρωποι από 26 χώρες του τρίτου κόσμου πλήττονται από λειψυδρία και αδυνατούν να καλύψουν βασικές καθημερινές ανάγκες σε νερό, ενώ 18 χώρες στην Αφρική και στην Ασία απειλούνται άμεσα διότι βρίσκονται σε οριακή κατάσταση από άποψη υδατικών αποθεμάτων. Το 2050 ο πληθυσμός της Γης αναμένεται να είναι γύρω στα 9 δις. και ένας στους τρεις κατοίκους του πλανήτη αναμένεται ότι είτε θα ζει σε καθεστώς λειψυδρίας, είτε θα κινδυνεύει άμεσα από αυτήν. Σήμερα περίπου 10 εκατ. άνθρωποι στον κόσμο πεθαίνουν, κάθε χρόνο, από ασθένειες που έχουν σχέση με

την ρύπανση του νερού. Λόγω της συνεχούς αύξησης του πληθυσμού της Γης, παρατηρείται συνεχής μείωση των κατά κεφαλήν διαθέσιμων υδατικών πόρων, με αντίστοιχη συνεχή αύξηση των κατά κεφαλήν απαιτούμενων πόρων διαβίωσης, εντατικοποίηση των ρυθμών ανάπτυξης και της εφαρμογής υδροβόρων τεχνολογικών μεθόδων.

Οι ρυπογόνες ουσίες μπορεί να προέρχονται από βιομηχανικές δράσεις (βιομηχανία πετρελαίου ή βαφεία κ.τ.λ.) ή από οικιακές και αγροτικές χρήσεις του ύδατος (φυτοφάρμακα, αντιβιοτικά, λιπάσματα, απορρυπαντικά, κτλ). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως οι ουσίες αυτές, αν και ανιχνεύονται σε μικρές συγκεντρώσεις, θεωρούνται υπεύθυνες τόσο για τη διαταραχή του οικοσυστήματος, όσο και για την εμφάνιση μεταλλάξεων, καρκινογένεσεων ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να αποβούν θανατηφόρες [46]. Ως επί το πλείστον οι ουσίες αυτές είναι επίσης τοξικές και μη-βιοδιασπώμενες, και οι συμβατικές μέθοδοι επεξεργασίας (βιολογικοί καθαρισμοί, χλωρίωση κ.α.) δεν είναι σε θέση να τις αντιμετωπίσουν αποτελεσματικά.

Η αύξηση του όγκου των υγρών αποβλήτων και της δυσκολίας στην επεξεργασία τους, έχει οδηγήσει την επιστημονική κοινότητα στην εύρεση νέων και αποτελεσματικότερων μεθόδων αντιρρύπανσης, όπως επίσης και στη βελτίωση των ήδη υπαρχουσών. Ο στόχος επεξεργασίας ενός λύματος δεν είναι πάντα η πλήρης οξειδωση των ρύπων προς διοξείδιο του άνθρακα και ανόργανα ιόντα (ανοργανοποίηση), αλλά πολλές φορές αρκεί η μετατροπή τους σε ενώσεις λιγότερο επικίνδυνες.

Οι συμβατικές μέθοδοι επεξεργασίας περιλαμβάνουν θερμικές, φυσικοχημικές (π.χ. κροκίδωση, καταβύθιση, προσρόφηση, διήθηση, κ.α.), χημικές και βιολογικές διεργασίες [47]. Παρουσιάζουν αρκετά μειονεκτήματα, όπως είναι η εκπομπή επικίνδυνων αέριων ρύπων ή η αδυναμία επεξεργασίας τοξικών ουσιών ακόμα και όταν αυτές ανιχνεύονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις [48]. Στις περισσότερες περιπτώσεις μεταφέρουν το πρόβλημα από τη μία φάση στην άλλη (υγρό σε στερεό ή αέριο κ.τ.λ.) χωρίς την οριστική επίλυση του. Από την άλλη μεριά, οι βιολογικές διεργασίες είναι αργές, απαιτούν μεγάλους χρόνους παραμονής, ενώ αδυνατούν να επεξεργαστούν απόβλητα που περιέχουν τοξικές ή μη βιοαποικοδομήσιμες ουσίες. Επίσης χρειάζονται εξειδικευμένο προσωπικό, απαραίτητο για τη συνεχή παρακολούθηση των παραμέτρων λειτουργίας τους. Η αντιμετώπιση των παραπάνω προβλημάτων που παρουσιάζουν οι συμβατικές μέθοδοι επεξεργασίας, μπορεί να επιτευχθεί μέσω της εφαρμογής χημικών μεθόδων οξειδωσης [49], που όμως απαιτούν τη χρησιμοποίηση υψηλών συγκεντρώσεων χημικών αντιδραστηρίων, κάτι που τις καθιστά ακόμη οικονομικά ασύμφορες.

Η σύγχρονη κυρίαρχη τάση στη μεθοδολογία επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων είναι η ανάπτυξη συνδυασμένων συστημάτων, τα οποία μέσω αξιοποίησης των επιμέρους πλεονεκτημάτων τους είναι ικανά να αντιμετωπίσουν σχεδόν όλα τα είδη ρύπανσης. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται αύξηση της αποτελεσματικότητας των επιμέρους μεθόδων επεξεργασίας αλλά και μείωση στο κόστος λειτουργίας τους [50]. Ένα χαρακτηριστικό

παράδειγμα αποτελεί ο συνδυασμός μίας χημικής μεθόδου με μία βιολογική. Η χημική προκατεργασία οξειδώνει μερικώς τα μακρομόρια προς μικρότερες χημικές ενώσεις μεγαλύτερης βιοαποικοδομησιμότητας και χαμηλότερης τοξικότητας. Στη συνέχεια, τα θραύσματα που προέκυψαν αποικοδομούνται ευκολότερα και ταχύτερα από την ακολουθούμενη βιολογική διεργασία. Κατά αυτόν τον τρόπο μειώνεται το κόστος λειτουργίας του συστήματος αφού, α) οι συγκεντρώσεις των αντιδραστηρίων της χημικής μεθόδου είναι χαμηλότερες, εφόσον δεν απαιτείται πλήρης οξείδωση και β) επέρχεται μείωση του χρόνου βιολογικής επεξεργασίας, λόγω αύξησης της βιοαποικοδομησιμότητας των συστατικών των αποβλήτων.

1.1 Σκοπός και αντικείμενο έρευνας

Ο σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η ανάπτυξη μιας μεθοδολογίας, η οποία θα συνδυάζει την αποικοδόμηση οργανικών ρύπων ταυτόχρονα με την παραγωγή ενέργειας. Στόχος είναι η δημιουργία ενός υβριδικού συστήματος διττής σημασίας, το οποίο μακροπρόθεσμα θα αξιοποιεί την ηλιακή ενέργεια για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων, με την ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου ως καυσίμου.

Για το σκοπό αυτό, συνδυάστηκαν οι *φωτοσυνθετικές* με τις *φωτοηλεκτροχημικές* μεθόδους. Οι δυο αυτές μέθοδοι τροποποιήθηκαν κατάλληλα έτσι ώστε να αξιοποιηθούν επιμέρους ιδιότητές τους. Πιο συγκεκριμένα, έγινε αξιοποίηση της ικανότητας των πράσινων άλγεων *Chlamydomonas Reinhardtii* CC-124 να παράγουν υδρογόνο φωτοσυνθετικά, και η ικανότητα του ημιαγωγίμου υλικού TiO_2 να διασπά μη εκλεκτικά οργανικούς υγρούς ρύπους υπό την επίδραση κατάλληλης ακτινοβολίας.

Η βασική ιδέα της καινοτομίας του συστήματος αυτού είναι η αντικατάσταση των πολύπλοκων φυσικών συστημάτων συλλογής και μεταφοράς ηλεκτρονίων των φωτοσυνθετικών συστημάτων (PSII, PSI, FDX) από ένα απλό, ανόργανο, ημιαγωγίμο ηλεκτρόδιο. Με τον τρόπο αυτό ήταν δυνατή η συμβατότητα των δυο μεθόδων και η ανάπτυξη μιας νέας μεθοδολογίας. Μακροπρόθεσμα, η υλοποίηση της προτεινόμενης μεθόδου μπορεί να οδηγήσει στη κατασκευή αυτόνομων συστημάτων καθαρισμού αποβλήτων και παραγωγής ενέργειας μέσω της αξιοποίησης της ηλιακής ακτινοβολίας.

2. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

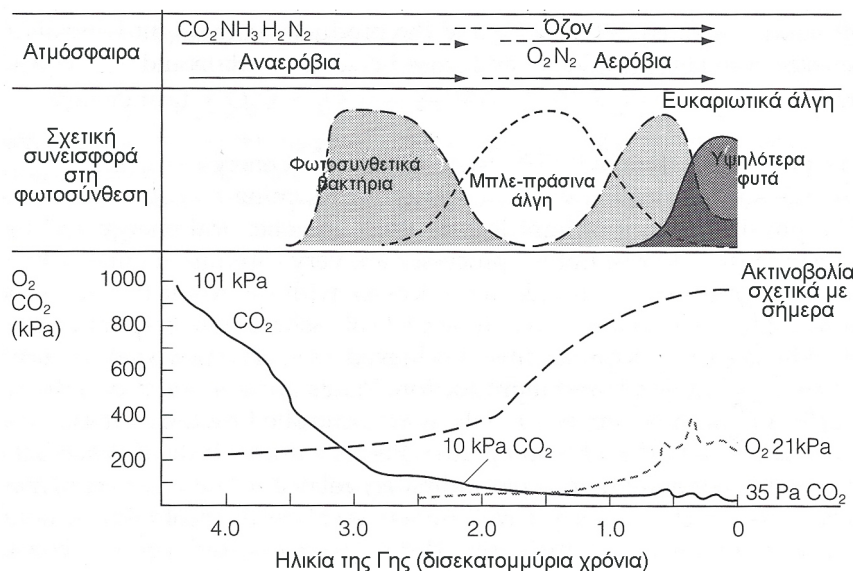
2.1 Φωτοσύνθεση

Το φαινόμενο της φωτοσύνθεσης είναι το σπουδαιότερο φαινόμενο της ζωής στη Γη. Όλη η ελεύθερη ενέργεια που καταναλώνουν τα βιολογικά συστήματα προέρχεται από την ηλιακή ενέργεια που δεσμεύεται με τον φωτοσυνθετικό μηχανισμό. Ουσιαστικά όλη η ζωή στη Γη εξαρτάται άμεσα ή έμμεσα από την φωτοσύνθεση. Η διεργασία της φωτοσύνθεσης έχει να κάνει με τον βιολογικό κύκλο του άνθρακα στην βιόσφαιρα, ο οποίος πραγματοποιείται από την συνεχή παροχή ηλιακής ενέργειας. Αυτή η ενέργεια αποθηκεύεται σε ανηγμένες ενώσεις του άνθρακα στα κύτταρα των φυτών και άλλων φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών και βρίσκεται σε άμεση σχέση με την παραγωγή οξυγόνου από τη διάσπαση του νερού. Αυτή η διαθεσιμότητα σε οξυγόνο επιτρέπει την αποτελεσματική ανακύκλωση της αποθηκευμένης ενέργειας μέσω της κυτταρικής αναπνοής. Τα ορυκτά καύσιμα, τα οποία αποτελούν την περισσότερο χρησιμοποιούμενη πηγή ενέργειας, δεν είναι τίποτα άλλο παρά γεωλογικά αποθηκευμένα προϊόντα 2.5 δισεκατομμυρίων ετών φωτοσύνθεσης [51, 52].

Η Γη σχηματίστηκε πριν από περίπου $4.6 \cdot 10^9$ χρόνια και για τα πρώτα $0.5 \cdot 10^9$ χρόνια ψύχονταν και στερεοποιούνταν. Η αρχική ατμόσφαιρα ήταν αναγωγική με αέρια όπως CH_4 , H_2 , H_2S , CO_2 , CO , NH_3 κτλ και δεν υπήρχε ελεύθερο οξυγόνο. Οι αρχικές συνθήκες στη Γη ήταν ανοξικές. Το γεγονός αυτό θεωρείται σημαντικό για την ανάπτυξη ζωής αφού το οξυγόνο καταστρέφει τα οργανικά μόρια, ενώ δεν υπήρχε και το όζον, το οποίο σήμερα σχηματίζει ένα λεπτό, προστατευτικό στρώμα που απορροφά την υπεριώδη ακτινοβολία (UV). Αυτή η ακτινοβολία, μαζί με τις υψηλές θερμοκρασίες και τα αέρια λόγω της έντονης ηφαιστειακής δραστηριότητας δημιούργησαν τις προϋποθέσεις για την σύνθεση οργανικών μορίων. Η εικόνα του πώς σχηματίστηκαν οι πρώτοι αυτό-αναπαραγόμενοι βιολογικοί οργανισμοί είναι ακόμα θολή, όμως βρέθηκαν σε βράχους $3.5 \cdot 10^9$ ετών οργανισμοί οι οποίοι θυμίζουν σύγχρονα βακτήρια και στο μέγεθος αλλά και στη κυτταρική δομή. Επίσης, υπάρχουν ενδείξεις για έναν πρωτόγονο οργανισμό που ενδεχομένως να μπορούσε να συνθέσει με την επίδραση του φωτός ATP μέσω μιας αντλίας πρωτονίων όπως συνθέτει το βακτήριο *Halobacterium halobium* [53].

Όπως ήδη αναφέρθηκε η ατμόσφαιρα κατά την πρώιμη φωτοσύνθεση, μέχρι δηλαδή πριν από $3.5 \cdot 10^9$ χρόνια, ήταν αναγωγική διότι δεν γινόταν διάσπαση του νερού με αποτέλεσμα να μην εκλύεται οξυγόνο. Στοιχεία δείχνουν πως το νερό ξεκίνησε να δρα ως αναγωγικό μέσο (δηλαδή το ίδιο να οξειδώνεται) μεταξύ $3.5 \cdot 10^9$ και $3 \cdot 10^9$ χρόνια πριν, με αποτέλεσμα η ποσότητα του οξυγόνου στην ατμόσφαιρα να αυξάνει. Τελικά, επικράτησαν αερόβιες συνθήκες περίπου $1.5 \cdot 10^9$ με $1 \cdot 10^9$ χρόνια πριν όταν η πίεση του οξυγόνου στην ατμόσφαιρα ξεπέρασε το 1kPa. Τότε περίπου σχηματίστηκε και το στρώμα του όζοντος, το οποίο απορροφά την υπεριώδη ακτινοβολία γεγονός που οδήγησε στην ανάπτυξη υψηλότερων μορφών ζωής όπως επίσης και τη ζωή στη στεριά. Το οξυγόνο, το οποίο δρα ως

ο τελικός δέκτης στη διεργασία της αναπνοής, αύξησε πολύ το ποσό της ενέργειας που μπορούσε να αποκτηθεί από την παραγωγή των οργανικών ενώσεων. Οι περισσότεροι από τους σύγχρονους οργανισμούς, μαζί και του ανθρώπου οφείλουν την ύπαρξή τους όχι μόνο στην αξιοποίηση της ηλιακής ενέργειας από τα φυτά αλλά και από το παραπροϊόν της φωτοσύνθεσης (οξυγόνο) [52, 54].



Σχήμα 2.1: Πιθανή εξέλιξη της φωτοσύνθεσης και η σχέση της με μερικές άλλες βιολογικές διεργασίες. Τροποποιημένο από [53].

Σε όλους τους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς η φωτοσύνθεση περιλαμβάνει:

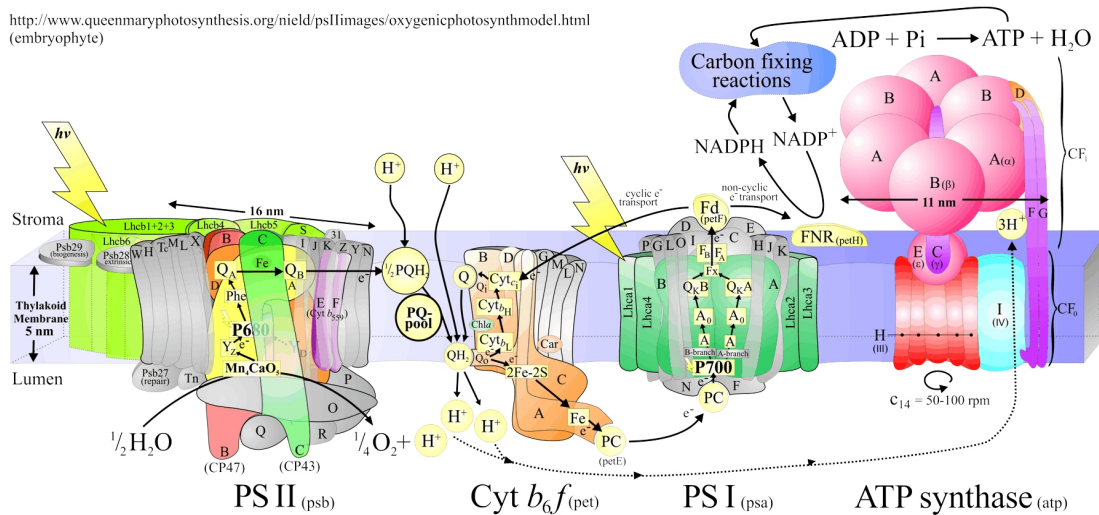
1. Τη συλλογή ενέργειας ενός φωτονίου από χρωστικές ουσίες (χλωροφύλλες)
2. Τη δημιουργία μιας διεγερμένης ηλεκτρονικής κατάστασης και χρήση αυτού του «διεγερμένου ηλεκτρονίου» στην αναγωγή μιας ουσίας δέκτη και παραγωγή «ενεργειακά-πλούσιων» μορίων

Οι ανηγμένες ενώσεις και τα «ενεργειακά-πλούσια» μόρια χρησιμοποιούνται για την δημιουργία άλλων, περισσότερο πολύπλοκων οργανικών ενώσεων. Ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός είναι ένας γενικότερος μηχανισμός αξιοποίησης της ηλιακής ενέργειας και μπορεί να χρησιμοποιήσει τόσο διαφορετικούς δότες, όσο και διαφορετικούς δέκτες ηλεκτρονίων (σχήμα 2.2) [53, 55].

Ο γενικός μηχανισμός αποτελείται από δυο κύριες φάσεις, ανάλογα εάν απαιτείται ή όχι η παρουσία φωτός: τις φωτοεξαρτώμενες ή φωτεινές αντιδράσεις και τις μη φωτοεξαρτώμενες ή σκοτεινές. Θα πρέπει να σημειωθεί πως και οι δυο αντιδράσεις πραγματοποιούνται παρουσία φωτός, μόνο που στην περίπτωση των σκοτεινών αντιδράσεων αυτές μπορούν να λάβουν χώρα και στο σκοτάδι με την προϋπόθεση πως οι φωτεινές αντιδράσεις έχουν επιτελέσει το σκοπό τους.

Στις φωτεινές αντιδράσεις η ηλιακή ενέργεια απορροφάται στα θυλακοειδή των χλωροπλαστών από συγκεκριμένες φωτοσυνθετικές μονάδες, οι οποίες αποτελούν διάταξη μορίων, μεταξύ των οποίων και χλωροφυλλών, όπου η ενέργεια του ορατού φάσματος ακτινοβολιών απορροφάται και μεταδίδεται σε ένα συγκεκριμένο ζεύγος μορίων χλωροφύλλης.

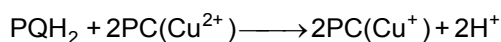
<http://www.queensmaryphotosynthesis.org/nield/psIIimages/oxygenicphotosynthmodel.html>
(embryophyte)



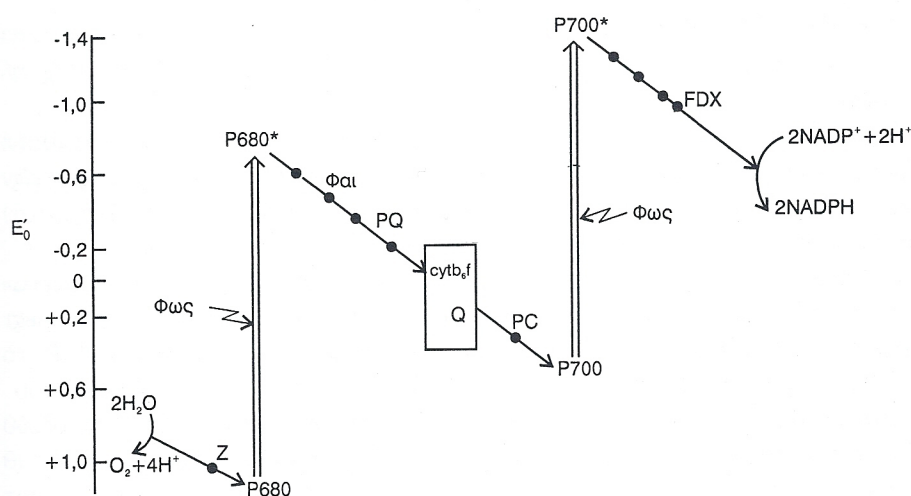
Σχήμα 2.2: Λεπτομερής αναπαράσταση του φωτοσυνθετικού μηχανισμού, η οποία περιέχει πληροφορίες για την οργάνωση των πρωτεϊνικών συμπλόκων που συμμετέχουν στην μεταφορά ηλεκτρονίων και πρωτονίων μέσα στη θυλακοειδή μεμβράνη. Η εικόνα αυτή εμφανίζεται στην ιστοσελίδα http://macromol.sbcs.qmul.ac.uk/resources/AllComplexes_25Nov2011_1800px.gif και ανήκει στον Jon Nield.

Οι ειδικές αυτές χλωροφύλλες αποτελούν τμήματα των λεγόμενων «κέντρων αντίδρασης» και είναι οι μόνες που συμμετέχουν στη μετατροπή της φωτεινής ενέργειας σε χημική. Στη φάση αυτή πραγματοποιούνται ηλεκτροχημικές αντιδράσεις, οι οποίες παράγουν 2 «ενεργειακά-πλούσιες» βιολογικές ενώσεις: ATP και NADPH. Ως παραπροϊόν εκλύεται οξυγόνο, το οποίο ελευθερώνεται στην ατμόσφαιρα. Πρόκειται ουσιαστικά για ένα φωτοβολταϊκό σύστημα (φωτοσύστημα) της φύσης στο οποίο συμβαίνει μετατροπή της ηλιακής ενέργειας σε ηλεκτρική, με την τελευταία να αποθηκεύεται στην κυτταρική μεμβράνη. Οι φωτοεξαρτώμενες αντιδράσεις απαιτούν τη συνεργασία δυο φωτοσυστημάτων (PSI και PSII), τα οποία λειτουργούν σε σειρά και «φορτίζουν» την κυτταρική μεμβράνη φωτοχημικά [56]. Τα PSI και PSII αποτελούνται από διαφορετικές αναλογίες χλωροφύλλης α και χλωροφύλλης β, ενώ μόνο το PSI περιέχει επιπλέον σύμπλοκα χλωροφύλλης α με πρωτεΐνες, τα οποία απορροφούν σε μακρά μήκη κύματος και τα οποία λείπουν από το PSII. Για αυτό το λόγο το PSII είναι γνωστό και ως P680, αφού διεγείρεται από φως μέχρι 680 nm, ενώ το PSI είναι γνωστό ως P700, αφού διεγείρεται με φως μέχρι 700 nm. Τα δύο φωτοσυστήματα συνδέονται μεταξύ τους με μια σειρά μεταφορέων ηλεκτρονίων, στους οποίους συμπεριλαμβάνεται το σύμπλοκο κυτοχρωμάτων b/f και η πρωτεΐνη πλαστοκυανίνη

(PC(Cu²⁺)). Η πλαστοκυανίνη είναι μια χαλκοπρωτεΐνη της οποίας ο ρόλος είναι να μεταφέρει τα ηλεκτρόνια από την πλαστοκινόλη (PQH₂) στο PSI, μεταφορά που καταλύεται από το σύμπλοκο κυτοχρωμάτων b₆f. Όλες αυτές οι διεργασίες δημιουργούν μια ροή ηλεκτρονίων και μια ηλεκτροχημική διαβάθμιση κατά μήκος των θυλακοειδών μεμβρανών, όπως φαίνεται και στο σχήμα 2.3.



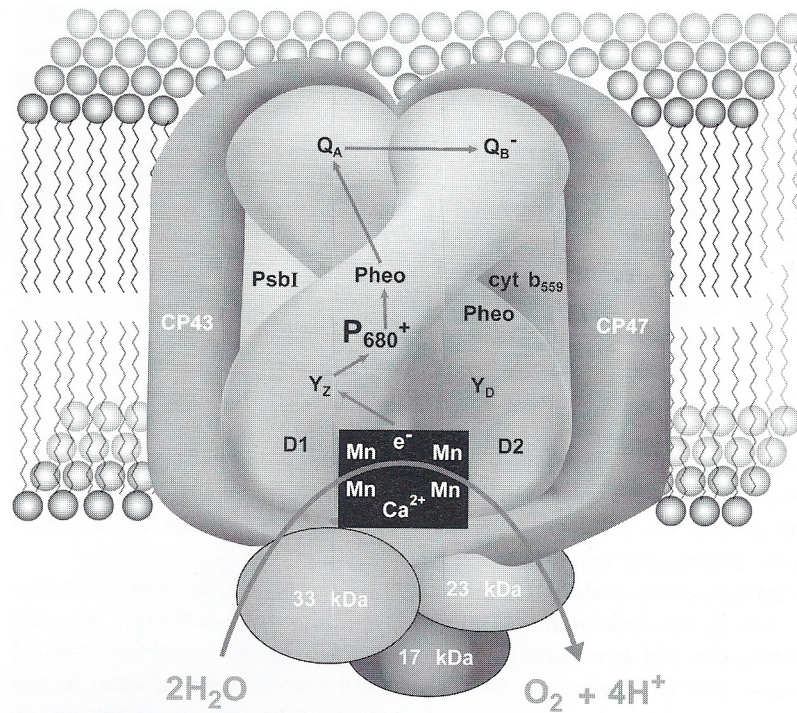
2.1



Σχήμα 2.3: Διαγραμματική αναπαράσταση της ροής των ηλεκτρονίων κατά τη φωτοσύνθεση. Z-μηχανισμός φωτοσύνθεσης. Όπου Z: ρίζα τυροσίνης, λεπτά βέλη: ροή ηλεκτρονίων, κενά βέλη: διέγερση ηλεκτρονίων. Τροποποιημένο από [55].

Το ηλεκτρόνιο από τη διέγερση του PSI αποδίδεται σε μια ουσία που ανάγει τη φερρεδοξίνη (FDX), μια χαμηλού βάρους πρωτεΐνη που περιέχει σίδηρο. Η ουσία αυτή, γνωστή ως FRS (Ferredoxin reducing substance), αποδίδει το ηλεκτρόνιο στη FDX, ενώ στη συνέχεια 2 FDX οξειδώνονται μεταφέροντας τα ηλεκτρόνια τους στο NADP⁺ προς αναγωγή του σε NADPH. Το PSII από την άλλη μεριά εκτελεί δυο διεργασίες. Από τη μια έχει ένα κέντρο αντίδρασης που διεγείρεται από την απορρόφηση της ορατής ακτινοβολίας και με τη σειρά του μεταφέρει ηλεκτρόνια σε υψηλότερες ενεργειακές στάθμες. Τα ηλεκτρόνια τα παραλαμβάνει από την οξείδωση του νερού και τα αποδίδει σε μόρια πλαστοκινόνης (PQ). Η δεύτερη διεργασία του PSII είναι η παραγωγή οξυγόνου και πάλι από τη διάσπαση του νερού. Τα απαραίτητα ηλεκτρόνια προέρχονται επίσης από την διάσπαση του νερού, αντίδραση που αποτελεί την βασικότερη πηγή βιο-ενεργών ηλεκτρονίων που χρησιμοποιούν οι ζωντανοί οργανισμοί. Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται στην περιοχή έκλυσης οξυγόνου (Κέντρο Έκλυσης Οξυγόνου – ΚΕΟ), που βρίσκεται στο PSII. Όλοι οι αερόβιοι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί μοιράζονται έναν κοινό «πυρήνα» πρωτεϊνικών μεμβρανών, οι οποίες περιέχουν

το D1-D2 πρωτεϊνικό κέντρο αντίδρασης (RC) και τις εσωτερικές πρωτεΐνες σύνδεσης-χλωροφύλλης α. Το κέντρο αντίδρασης D1-D2 περιέχει το ειδικό φωτο-οξειδούμενο ζεύγος χλωροφυλλών P680, όπως επίσης και χρωστικές που συνδέονται με την διαφοροποίηση του φορτίου κατά μήκος των θυλακοειδών μεμβρανών, λόγω απορρόφησης του φωτός (σχήμα 2.4). Το D1 πεπτίδιο φαίνεται να σχετίζεται και με το καταλυτικό σύμπλοκο Mn, στο οποίο οφείλεται η διάσπαση του νερού [56-58].

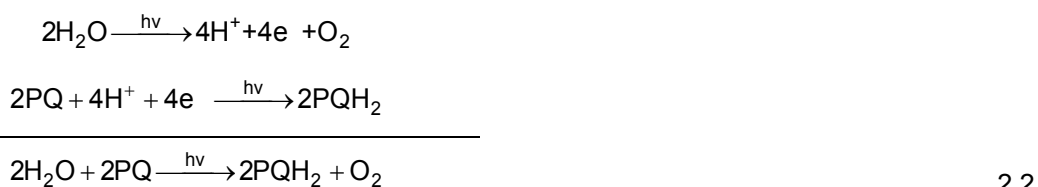


Σχήμα 2.4: Σχηματική αναπαράσταση του PSII [56].

Η οξείδωση του νερού περιλαμβάνει τα παρακάτω τρία βήματα, με το κάθε ένα να λειτουργεί με απόδοση κοντά στα θεωρητικά όρια, φαινόμενο που κανένα τεχνητό σύστημα δεν έχει ακόμα καταφέρει:

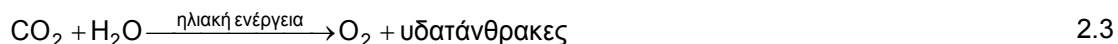
1. Απορρόφηση του φωτός από τις χλωροφύλλες και γρήγορη μεταφορά του φορτίου προς το κέντρο αντίδρασης (P680), με αποτέλεσμα την οξείδωση του προς P680⁺
2. Ταχεία προσφορά του ηλεκτρονίου στο P680⁺ από μια ρίζα τυροσίνης που εντοπίζεται σε μια πρωτεΐνη του ΚΕΟ (τυροσίνη 161, Y_z, στο D1 πεπτίδιο) και η οποία σταθεροποιεί το διαχωρισμό του φορτίου στο PSII
3. Οξείδωση του νερού προς μοριακό οξυγόνο στο ΚΕΟ. Αυτή είναι η πιο ενεργειακά απαιτητική αντίδραση στη φύση και χρειάζεται ένα οξειδοαναγωγικό δυναμικό τουλάχιστον 0.8 V. Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό που αναπτύσσεται από το P680⁺ είναι της τάξης των 1.2 V

Το σύμπλοκο Mn-Ca, το οποίο αποτελεί την καρδιά του ΚΕΟ, είναι το αποδοτικότερο ανοδικό «ηλεκτρολυτικό» σύστημα στη φύση. Λειτουργεί σε ήπιες συνθήκες πίεσης, θερμοκρασίας, pH και ηλεκτρολυτικού υποστρώματος. Η λειτουργία του βρίσκεται κοντά στο θερμοδυναμικό όριο για την αντίδραση παραγωγής μοριακού οξυγόνου. Πρόκειται για μια οξειδοαναγωγική αντίδραση 4 ηλεκτρονίων που καταλύεται από το σύμπλοκο Mn-Ca. Τελικά, η στοιχειομετρία της αντίδρασης οξείδωσης του νερού έχει ως εξής [55]:



Το οξυγόνο παίζει βασικό ρόλο στην οξείδωση του PSII. Το φωτόςύστημα προσβάλλεται μη αντιστρεπτά λόγω φωτο-οξείδωσης μετά από περίπου 20 ώρες σε συνθήκες υψηλής ακτινοβολίας, γεγονός που απαιτεί την εκ νέου σύνθεση της πρωτεΐνης D1. Το φαινόμενο αυτό της καταστροφής της D1 είναι ιδιαίτερης σημασίας στην φωτοβιολογική παραγωγή υδρογόνου, όπως θα συζητηθεί λίγο παρακάτω.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, στις σκοτεινές αντιδράσεις δεν είναι αναγκαία η παρουσία φωτός. Σε αυτές τα ATP και NADPH, τα οποία είναι προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων, χρησιμοποιούνται από τα κύτταρα για την παραγωγή υδατανθράκων (γλυκόζης) από την αναγωγή του CO₂ μέσω μιας σειράς βιοχημικών διεργασιών (κύκλος Calvin). Το ένζυμο κλειδί που καταλύει την προσθήκη του CO₂ στη διφωσφορική ριβουλόζη είναι το Rubisco, το οποίο βρίσκεται σε αφθονία στη φύση. Αυτή η διεργασία είναι πολύ σημαντική διότι καταλύει την σταδιακή δημιουργία των υδατανθράκων από το CO₂ και το νερό. Η συνεχής κατανάλωση νερού σε αυτή τη φάση είναι απολύτως απαραίτητη για την σύνθεση των υδατανθράκων και αντιπροσωπεύει ένα μικρό μόνο κλάσμα της συνολικής ποσότητας νερού που απαιτείται για την ανάπτυξη των φυτών. Τα προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων είναι επίσης απαραίτητα για την σύνθεση λιπιδίων και άλλων βασικών συστατικών των φυτών. Η συνολική αντίδραση της διεργασίας της φωτοσύνθεσης δίνεται από την παρακάτω εξίσωση:



2.2 Φωτοσύνθεση υδρογόνου

Η ικανότητα μερικών μικροοργανισμών να μεταβολίζουν μοριακό H₂ παρατηρήθηκε για πρώτη φορά τον 19^ο αιώνα από τους Horre και Seyler [59]. Σήμερα, ένα μεγάλο εύρος μικροβιακών διεργασιών είναι γνωστό πως μπορούν να παράγουν H₂. Οι περισσότερες από αυτές χρησιμοποιούν α) την ηλιακή ακτινοβολία ως πηγή ενέργειας, β) διάφορα

υποστρώματα για την αξιοποίηση ηλεκτρονίων και γ) έναν καταλύτη (υδρογενάσες) ο οποίος μπορεί να συνδυάσει τα ηλεκτρόνια με πρωτόνια. Η ηλιακή ενέργεια επιτρέπει στους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς να «παίρνουν» ηλεκτρόνια από συστήματα υψηλής οξειδοαναγωγικής ισχύος, όπως είναι το νερό (στην αερόβια φωτοσύνθεση) ή από οργανικά οξέα (στην αναερόβια φωτοσύνθεση), να παράγουν ενέργεια με τη μορφή ATP και να δημιουργούν αναγωγικά υποστρώματα χαμηλής οξειδοαναγωγικής ισχύος, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για παραγωγή υδρογόνου είτε από τα ένζυμα της υδρογενάσης, είτε από τα ένζυμα της νιτρογενάσης.

Η πρώτη ιδέα για ηλιακά βιοφωτολυτικά συστήματα για παραγωγή υδρογόνου δόθηκε στις αρχές της δεκαετίας του '70 από τους Hollaender [60] και Gibbs [61]. Η ιδέα αυτή στηρίχθηκε στις παρατηρήσεις του Gaffron και του συνεργάτη του, Rubin, [25, 62, 63] σχετικά με την αντιστρεπτή δραστηριότητα μιας υδρογενάσης σε πράσινα φωτοσυνθετικά άλγη, τα οποία μπορούσαν να παράγουν αλλά και να καταναλώνουν μοριακό H₂. Αυτή η ανακάλυψη έρχεται να ισχυροποιήσει το γενικότερο σχήμα του van Niel το οποίο συνδέει τη φωτοσύνθεση στα φυτά με την πρώιμη φωτοσύνθεση στα βακτήρια



όπου [CH₂O] είναι ένας υδατάνθρακας, H₂A είναι ένα αναγωγικό μέσο (π.χ. το νερό ή ένα οργανικό οξύ) και το A είναι το οξειδωμένο συστατικό. Συγκεκριμένα, ο Gaffron πρότεινε πως σε μερικά άλγη ως αναγωγικό μέσο (H₂A) μπορεί να χρησιμοποιηθεί το υδρογόνο για την παραγωγή υδατανθράκων.

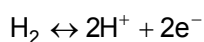
Η βασική διαφορά μεταξύ της αερόβιας και της αναερόβιας φωτοσύνθεσης βρίσκεται στο γεγονός ότι η αερόβια φωτοσύνθεση χρησιμοποιεί το νερό ως πηγή ηλεκτρονίων για την αναγωγή του άνθρακα ή για την παραγωγή υδρογόνου. Από την άλλη μεριά, η αναερόβια χρησιμοποιεί πλούσια ενεργειακά υποστρώματα, όπως άμυλο και οξικό οξύ. Ο διαχωρισμός αυτός είναι πολύ σημαντικός, μιας και η ταυτόχρονη παραγωγή οξυγόνου με την αναγωγή του άνθρακα είναι μια ενδόθερμη αντίδραση, ενώ η αφυδρογόνωση ενεργειακά πλούσιων υποστρωμάτων από βακτήρια δεν είναι [64].

Τα πράσινα άλγη και τα κυανοβακτήρια είναι φωτό-αυτοτροφικοί οργανισμοί, οι οποίοι μπορούν να αναπτυχθούν χωρίς οργανικές πηγές άνθρακα, παρά μόνο με την ηλιακή ακτινοβολία και CO₂. Φωτοσυνθέτουν σύμφωνα με το Z-μηχανισμό της φωτοσύνθεσης και μετατρέπουν την ηλιακή ενέργεια σε χημική. Η διανομή των αναγωγικών μέσων για τη σύνθεση πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων, υδατανθράκων και/ή λιπιδίων επιτυγχάνεται όπως είδαμε από την ενσωμάτωση διαφόρων μεταβολικών μονοπατιών, τα οποία ελέγχονται από πολύπλοκους βιολογικούς μηχανισμούς, που ρυθμίζουν τα προϊόντα της φωτοσύνθεσης. Το γεγονός αυτό ισχύει και για τη φωτοσυνθετική παραγωγή υδρογόνου, η οποία ιστορικά έχει παρατηρηθεί μόνο ως ένα μεταβατικό στάδιο και διαρκεί από μερικά δευτερόλεπτα μέχρι μερικά λεπτά. Το φωτοσυνθετικά παραγόμενο οξυγόνο δρα ως ισχυρός ανασταλτικός

παράγοντας του ενζύμου υδρογενάσης [65, 66] και ως γονιδιακός καταστολέας του γονιδίου έκφρασης της HYDA [67-69]. Αυτή η ασυμβατότητα της ταυτόχρονης παραγωγής υδρογόνου και οξυγόνου έχει εμποδίσει την προσπάθεια διερεύνησης των υποκείμενων βιοχημικών διεργασιών, ώστε να αναπτυχθεί και να ενισχυθεί η διεργασία αυτή. Ωστόσο, η ικανότητα των πράσινων φωτοσυνθετικών άλγερων να λειτουργούν τόσο σε αερόβιες συνθήκες όσο και σε αναερόβιες και να φωτο-παράγουν υδρογόνο έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών, λόγω της θεωρητικής και πρακτικής σπουδαιότητά της [70].

2.2.1 Ένζυμα Υδρογενάσης

Τα ένζυμα υδρογενάσης ή νιτρογενάσης καταλύουν την παραγωγή υδρογόνου σε φωτοσυνθετικούς οργανισμούς. Οι νιτρογενάσες δεν εμφανίζονται σε ευκαριωτικούς οργανισμούς και για το λόγο αυτό βαρύτητα θα δοθεί στις υδρογενάσες. Οι υδρογενάσες χωρίζονται σε δυο τάξεις και ο ρόλος τους είναι να καταλύουν την αντιστρεπτή αντίδραση οξειδωσης του μοριακού υδρογόνου.



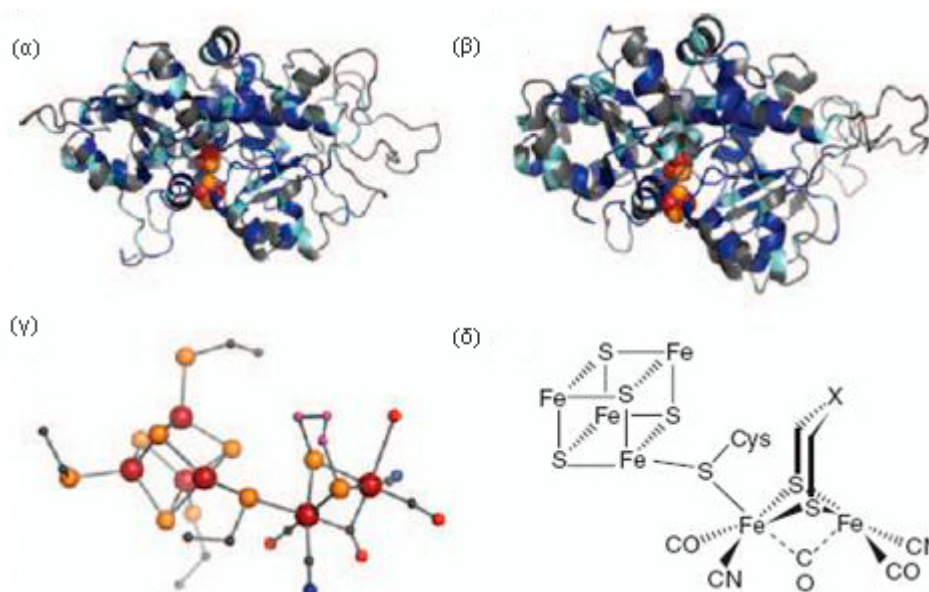
2.5

Αυτά τα ένζυμα ονομάζονται συνήθως [NiFe]- ή [FeFe]-υδρογενάσες, αναλόγως με το μέταλλο που υπάρχει στο ενεργό κέντρο τους. Οι [FeFe]-υδρογενάσες απαντούν στα πράσινα φωτοσυνθετικά άλγη, ενώ μόνο [NiFe]-υδρογενάσες υπάρχουν στα κυανοβακτήρια [71].

Παρόλο που τα ένζυμα αυτά δεν σχετίζονται γενετικά, οι ενζυμικές τους τάξεις ενοποποιούνται στο ότι α) τα ενεργά τους κέντρα περιέχουν CO και CN⁻ ως περιφερειακούς υποκαταστάτες (ligands) στο σύμπλοκο με τον Fe και β) κάθε ενεργό κέντρο περιέχει ένα διπυρηνικό μεταλλικό κέντρο. Γενικά, οι [NiFe]-υδρογενάσες καταλύουν την οξειδωση του μοριακού υδρογόνου, ενώ οι [FeFe]-υδρογενάσες την παραγωγή υδρογόνου [72]. Επιπλέον, η συχνότητα αναστροφής των [FeFe]-υδρογενασών είναι 10-100 φορές μεγαλύτερη από αυτή των [NiFe]-υδρογενασών, καθιστώντας τις πρώτες ανάμεσα στους αποτελεσματικότερους καταλύτες παραγωγής υδρογόνου. Παρόλο που οι υδρογενάσες είναι μεταξύ των αρχαιότερων ενζύμων, αντιπροσωπεύουν μια νέα «τάξη» καταλυτών-σμπλόκων της πρώτης σειράς των μεταβατικών μετάλλων, οι οποίες ενδεχομένως να παρουσιάζουν δραστηριότητα παρόμοια με αυτήν του Pt, ως προς την αναγωγή των H⁺ προς H₂ [73]. Αυτός είναι και ένας από τους βασικούς λόγους που στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκαν οι [FeFe]-υδρογενάσες των *Chlamydomonas Reinhardtii*, με στόχο τη φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική παραγωγή υδρογόνου.

Οι [FeFe]-υδρογενάσες βρίσκονται σε βακτήρια (*Clostridium* και *Desulfovibrio*), σε αρκετά αναερόβια πρωτόζωα (*Trichomonas* και *Nyctotherus*) και σε μερικά πράσινα άλγη (*Chlamydomonas* και *Scenedesmus*) [74] και απαντούν σε μονομερή ή σε ετερομερή σύμπλοκα. Το καταλυτικό κέντρο των [FeFe]-υδρογενασών είναι γνωστό ως σύμπλεγμα-H₂ και αποτελείται από ένα σύμπλοκο [4Fe-4S] προσανατολισμένο προς 4 κυστεΐνες και

ενωμένο με ένα μοναδικό διπυρηνικό κέντρο 2 ατόμων Fe, μέσω γέφυρας θειολικής κυστεΐνης (σχήμα 5γ και 5δ). Τα τελικά ligands CO και CN⁻ ενώνονται με το κάθε άτομο Fe του διπυρηνικού κέντρου και ένα τρίτο ligand CO δημιουργεί γέφυρα μεταξύ των δυο ατόμων Fe στη βασική κατάσταση του ενζύμου. Έχει επίσης προταθεί πως ένα μη-πρωτεϊνικό διθειολικό ligand, το οποίο είναι είτε η δι(θειομέθυλο)αμίνη, είτε το διθειολοπτοπένιο [75], γεφυρώνει και αυτό τα 2 άτομα Fe του ενεργού κέντρου. Το ασυνήθιστο αυτό ligand συμπληρώνει την λειτουργία του συμπλέγματος-H₂, σταθεροποιώντας τις χαμηλότερες οξειδοαναγωγικές καταστάσεις του Fe, οι οποίες διευκολύνουν το μηχανισμό της αντιστρεπτής οξειδωσης του υδρογόνου.



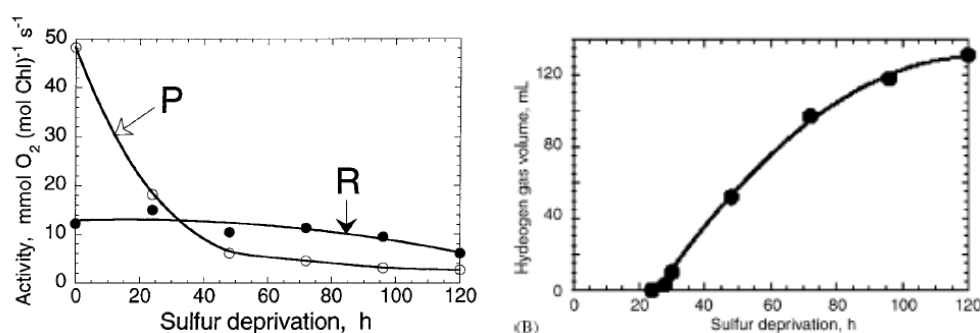
Σχήμα 2.5: Δομικά μοντέλα των ενζύμων υδρογενάσης στα *Chlamydomonas*. HYDA1 (α), HYDA2 (β), αναπαράσταση του ενεργού κέντρου του συμπλέγματος-H₂ με το μοντέλο σφαίρες-ραβδιά (γ), σχηματική αναπαράσταση του συμπλέγματος-H₂ της [FeFe]-υδρογενάσης. Τα άτομα στο (γ) αντιστοιχούν σε σίδηρο (σκούρο κόκκινο), θείο (πορτοκαλί), άνθρακα (μαύρο), άζωτο (μπλε) και οξυγόνο (ανοιχτό κόκκινο). Τα 3 ελαφρά άτομα του διθειολικού ligand δίνονται με ροζ (σχήμα από [76], σχεδιασμένο από τους David W. Mulder και John W. Peters, Montana State University).

Αυτή τη στιγμή, όλα τα γονίδια των [FeFe]-υδρογενασών που έχουν αναφερθεί σε άλγη, κωδικοποιούν μονομερείς πρωτεΐνες βάρους περίπου 48kD, οι οποίες είναι μεταξύ των μικρότερων [FeFe]-υδρογενασών που έχουν χαρακτηριστεί. Στις περισσότερες βακτηριακές [FeFe]-υδρογενάσες έχουν βρεθεί επιπλέον σύμπλοκα FeS, τα οποία θεωρητικά χρειάζονται για την μεταφορά ηλεκτρονίων από και προς οξειδοαναγωγικούς διαμεσολαβητές φορτίου. Οι [FeFe]-υδρογενάσες άλγων στερούνται αυτών των μεταλλικών συμπλόκων και η λογική λειτουργία αυτών των ημιτελών [FeFe]-υδρογενασών, οι οποίες έχουν βρεθεί μόνο στα άλγη, δεν έχει ακόμα εξηγηθεί. Πράσινα άλγη τα οποία εμφανίζουν δραστικότητα υδρογενασών, συνήθως περιέχουν 2 ισομερείς μορφές των [FeFe]-ενζύμων (68% ταυτότητα, 74% ομοιότητα), οι οποίες αναφέρονται ως HYDA1 και HYDA2 [69, 77]. Η ακριβής συνεισφορά

των ενζύμων αυτών στην παραγωγή υδρογόνου από άλγη δεν έχει ακόμα ξεκαθαριστεί. Μια τρίτη πρωτεΐνη της ομολογίας των [FeFe]-υδρογενασών (αναφέρεται ως HYDA3) έχει επίσης κωδικοποιηθεί στα *Chlamydomonas*. Ο ρόλος της πιστεύεται πως είναι η δημιουργία του συμπλόκου FeS σε μερικούς ευκαριωτικούς οργανισμούς και δεν παρουσιάζει λειτουργία υδρογενάσης.

Δραστικότητα υδρογενασών, οπότε και έκφραση των ενζύμων αυτών, εμφανίζεται στα *Chlamydomonas* σε συνθήκες ανοξίας [68, 69, 78-81]. Το γεγονός αυτό έρχεται σε διαφωνία με τα ευρήματα των Roessler και Lien [82], που παρατήρησαν έκφραση των ενζύμων (ανενεργών) σε αερόβιες συνθήκες, τα οποία ενεργοποιούνται πολύ γρήγορα κατά τη μετάβαση σε αναερόβιες συνθήκες. Παρόμοια αποτελέσματα με αυτά των Roessler και Lien λήφθησαν σε πειράματα έκφρασης των ενζύμων στη παρούσα διατριβή, όπως θα δούμε στα αποτελέσματα και συζήτηση. Οι υδρογενάσες των *Chlamydomonas* συνθέτονται στα κυτοσολικά ριβοσώματα [82] και στην συνέχεια εντοπίζονται στο στρώμα των χλωροπλαστών, όπου παρατηρείται και η δραστικότητά τους [83]. Στο εργαστήριο η έκφραση των ενζύμων υδρογενάσης μπορεί να επιτευχθεί σε καλλιέργειες άλγων με διάφορες τεχνικές, μερικές εκ των οποίων περιλαμβάνουν την απαέρωση με ευγενή αέρια, την παροχή αναγωγικών υποστρωμάτων ή/και την κατανάλωση μέσω κυτταρικής αναπνοής του διαλυμένου οξυγόνου. Με την επίτευξη αναερόβιων συνθηκών, οι καλλιέργειες των άλγων σφραγίζονται αεροστεγώς για τον αποκλεισμό του ατμοσφαιρικού οξυγόνου. Καλλιέργειες που αναπτύσσονται σε πλήρη θρεπτικά υλικά θα πρέπει να συντηρούνται στο σκοτάδι ή σε πολύ χαμηλής έντασης φως προς αποφυγή συσσώρευσης φωτοσυνθετικά εκλυόμενου οξυγόνου. Υψηλός αρχικός ρυθμός φωτο-παραγωγής υδρογόνου παρατηρείται από αναερόβια κύτταρα που αναπτύχθηκαν στο σκοτάδι, όμως σύντομα επέρχεται μείωση του αρχικού ρυθμού παραγωγής υδρογόνου λόγω έκλυσης οξυγόνου, διότι τα επίπεδα της φωτοσύνθεσης αυξάνουν και σταδιακά οι καλλιέργειες περνούν σε αερόβιες συνθήκες.

Άλγη μπορούν να συντηρηθούν για μεγαλύτερους χρόνους σε κατάσταση ανοξίας, όταν βρίσκονται σε συνθήκες έλλειψης θείου.



Σχήμα 2.6: Απόλυτη δραστικότητα της οξυγονικής φωτοσύνθεσης (P) και της οξειδωτικής αναπνοής (R) σε κύτταρα *Chlamydomonas Reinhardtii*, τα οποία βρίσκονται σε θρεπτικό υλικό έλλειψης θείου (αριστερά). Παραγωγή υδρογόνου κάτω από συνθήκες έλλειψης θείου (δεξιά). Διαγράμματα από [22].

Καλλιέργειες ελλείπεις σε θείο παρουσιάζουν πολύ χαμηλή φωτοσυνθετική δραστηριότητα, τέτοια ώστε η παραγωγή οξυγόνου (P) να παραμένει σε χαμηλότερα επίπεδα από την κατανάλωση μέσω της αναπνοής (R) των κυττάρων (σχήμα 2.6) [22, 84].

Ως αποτέλεσμα, σε καλλιέργειες άλγεων απουσία οξυγόνου και θείου παρατηρείται μετάβαση σε αναερόβιες συνθήκες ύστερα από 15-40 ώρες προσαρμογής και παραγωγή υδρογόνου σε σχετικά έντονες συνθήκες φωτισμού για αρκετές ημέρες [22, 84]. Η ανακάλυψη αυτή είναι ιδιαίτερης σπουδαιότητας και έδωσε ώθηση στη μελέτη των άλγεων για τη φωτοσυνθετική παραγωγή υδρογόνου. Αποτελεί επίσης βασική αρχή για την ανάπτυξη της παρούσας μεθοδολογίας, επιτρέποντας την έκφραση και την αξιοποίηση των αρχέγονων αυτών ενζύμων.

Παρόλα αυτά, οι υδρογενάσες των *Chlamydomonas* είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στο οξυγόνο και απενεργοποιούνται μη αντιστρεπτά, μέσα σε μερικά μόλις λεπτά αφότου εκτεθούν σε ατμοσφαιρικά επίπεδα οξυγόνου [65, 85-89]. Όταν το κύτταρο χρησιμοποιεί κατά προτίμηση μεταβολικά μονοπάτια, τα οποία οδηγούν σε υψηλότερου ενεργειακού περιεχομένου προϊόντα (υδατάνθρακες, λιπίδια κ.α.) και στα οποία το οξυγόνο είναι ο τελικός δέκτης ηλεκτρονίων [90], οι υδρογενάσες εξέλιξαν μια υπερευαίσθησία προς στο οξυγόνο ώστε να εξασθενεί η δραστηριότητά τους.

Ιδανική θα ήταν η ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και οξυγόνου κατά την φωτοσυνθετική διάσπαση του νερού στο PSII. Για το λόγο αυτό γίνεται πολύ μεγάλη ερευνητική προσπάθεια στην ανάπτυξη ενζύμων υδρογενάσης ανθεκτικών στο οξυγόνο. Αν και η συζήτηση αυτή είναι πέρα από τους σκοπούς της συγκεκριμένης διατριβής, αναφέρεται πως οι προσπάθειες στη σύνθεση ανθεκτικών στο οξυγόνο υδρογενασών εντοπίζονται στη μοριακή σχεδίαση [FeFe]-υδρογενασών υποκατεστημένες με αμινοξέα, τα οποία θα αποτρέπουν τη διάχυση οξυγόνου στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Το γεγονός αυτό απαιτεί τη λεπτομερή διερεύνηση και κατανόηση των πρωτεϊνικών κοιλοτήτων και καναλιών που διευκολύνουν τη διάχυση του οξυγόνου προς το ενεργό κέντρο.

2.3 Παραγωγή υδρογόνου από τα άλγη *Chlamydomonas Reinhardtii*

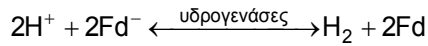
Άλγη σε συνθήκες απουσίας οξυγόνου και θείου μπορούν να παράγουν, παρουσία ορατής ακτινοβολίας, υδρογόνο για αρκετές ημέρες [22]. Υπό την επίδραση ορατής ακτινοβολίας υψηλής έντασης ($\sim 200 \mu\text{E min}^{-1} \text{m}^{-2}$) επέρχεται μερική και αντιστρεπτή αναστολή του PSII των κυττάρων σε συνθήκες έλλειψης θείου, η οποία έχει μικρή επίδραση στην κυτταρική αναπνοή, επηρεάζει όμως τη λειτουργία της πρωτεΐνης D1 (βλέπε κεφάλαιο 2.1). Η D1 αποτελεί πρωτεΐνη κλειδί του PSII και είναι απαραίτητη στην φωτοσύνθεση. Σε έντονες συνθήκες φωτισμού και έλλειψης θείου δε μπορεί να αναγεννηθεί, με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η λειτουργία της και, λόγω συνεχούς φώτο-προσβολής, να επέρχεται σταδιακή μείωση έκλυσης οξυγόνου. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα PSII και PSI είναι υπεύθυνα για την ενεργειακή διαφοροποίηση της απορροφουμένης φωτεινής ενέργειας, η οποία λαμβάνει χώρα στις χρωστικές ουσίες των φυσικών συστημάτων, όπως είναι οι χλωροφύλλες. Στην

πραγματικότητα, τα δύο φωτοσυστήματα έχουν την ικανότητα να καλύπτουν την ενεργειακή διαφορά μεταξύ της διάσπασης του νερού και της αναγωγής των υδρογονοκατιόντων, η οποία οδηγεί από τη μία μεριά στην έκλυση του οξυγόνου (PSII), ενώ από την άλλη, μέσω των ανηγμένων μορφών των FDX και NADPH από τον κύκλο του Calvin, στη βιοσύνθεση υδατανθράκων από την αναγωγή του CO₂ (PSI, Rubisco). Όταν τώρα ο ρυθμός αναπνοής γίνει μεγαλύτερος από το ρυθμό έκλυσης οξυγόνου, δημιουργούνται αναερόβιες συνθήκες οι οποίες προκαλούν τα παρακάτω φαινόμενα [91]:

1. Ενεργοποίηση των HYDA1 και HYDA2 [69]
2. Μετρήσιμες ποσότητες εκλυόμενου υδρογόνου ξεκινούν ύστερα από μερικές ώρες [92]
3. Σταματάει η συσσώρευση αμύλου και ξεκινάει η κατανάλωσή του [93, 94], ενώ εκκρίνονται στο θρεπτικό υλικό προϊόντα αναερόβιας χώνευσης, όπως φορμικό και οξικό οξύ [93, 95]
4. Η κατανάλωση του αμύλου οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα αναγωγικών μέσων για την παραγωγή υδρογόνου, καθώς και μετατροπή του πυροσταφυλικού οξέος (pyruvate) προς οξικό, φορμικό οξύ [68, 93, 96] και σε ορισμένες περιπτώσεις προς αιθανόλη [77, 96]

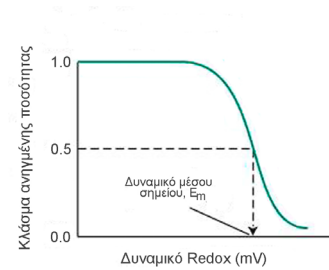
Σε αναερόβιες συνθήκες δεν λαμβάνει χώρα σύνθεση υδατανθράκων στους χλωροπλάστες, λόγω πρόωρης αναστολής του ενζύμου Rubisco [94], αλλά οι υδρογενάσες (HYDA1, HYDA2) απουσία οξυγόνου ανακατευθύνουν/μεταβάλλουν το μονοπάτι μεταφοράς ηλεκτρονίων προς παραγωγή υδρογόνου για αρκετές ημέρες. Η αρχική συσσώρευση αμύλου και η μετέπειτα κατανάλωσή του παρέχει το υπόστρωμα για τη μείωση του οξυγόνου μέσω της κυτταρικής αναπνοής και για τη μετάβαση σε αναερόβιες συνθήκες. Η όλη διεργασία περιγράφεται από τις εξής πέντε φάσεις: την αερόβια, τη φάση κατανάλωσης του οξυγόνου, την αναερόβια, τη φάση παραγωγής υδρογόνου και τη φάση τερματισμού και εξάντλησης του φυσικού συστήματος. Η συνήθης μέθοδος για παραγωγή υδρογόνου σε συνθήκες έλλειψης θείου είναι αρχικά η ανάπτυξη των άλγεων σε αερόβιες φωτοετεροτροφικές συνθήκες, ακολουθούμενη από έλλειψη θείου στο θρεπτικό υλικό και επιβολή αναερόβιων συνθηκών στις καλλιέργειες.

Συνολικά, η αντίδραση παραγωγής υδρογόνου περιλαμβάνει το κέντρο οξειδωσης του PSII, όπου τα πράσινα άλγη μπορούν να αποσπάσουν ηλεκτρόνια από τα μόρια του νερού ($E_{m7}=+820$ mV vs KHY) και να τα μεταφέρουν στην Fe-S πρωτεΐνη της φερρεδοξίνης ($E_{m7}=-450$ mV vs KHY) [FDX], που αποτελεί το αναγωγικό κέντρο του PSI. Όπου E_{m7} είναι το δυναμικό μέσου σημείου σε pH 7, είναι δηλαδή το δυναμικό εκείνο που η μισή συγκέντρωση της ουσίας βρίσκεται σε ανηγμένη μορφή και η άλλη μισή στην οξειδωμένη (σχήμα 2.7). Στη συνέχεια, οι αντιστρεπτές υδρογενάσες δέχονται τα ηλεκτρόνια από την ανηγμένη FDX προς παραγωγή ενός μορίου υδρογόνου από δυο υδρογονοκατιόντα.



2.6

Το δυναμικό οξείδωσης E_{m7} του υδρογόνου είναι -420 mV vs KHY και αυτό της φερρεδοξίνης είναι -450 mV. Επομένως, η σταθερά ισορροπίας της παραπάνω εξίσωσης (2.6) είναι κοντά στη μονάδα και για το λόγο αυτό, ο όρος «αντιστρεπτή υδρογενάση» αποδόθηκε στη λειτουργία της υδρογενάσης αυτής [22]. Η παραγωγή υδρογόνου σταματάει τελικά, πιθανότατα λόγω γενικότερης επίδρασης της έλλειψης θείου στο μεταβολισμό του κυττάρου.



Σχήμα 2.7: Δυναμικό μέσου σημείου

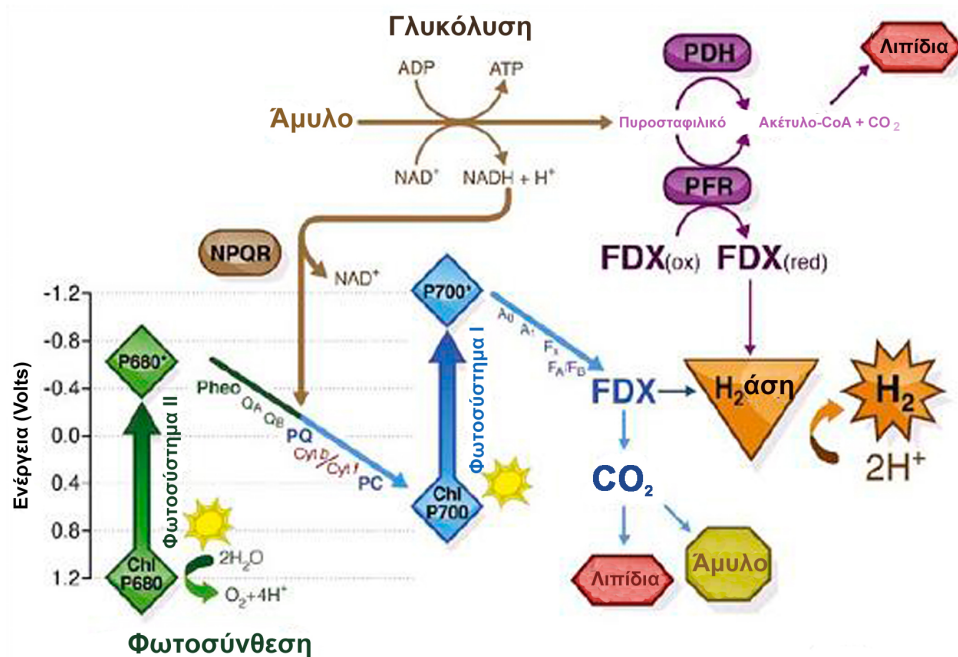
Η φωτοσυνθετική παραγωγή υδρογόνου στα πράσινα άλγη μπορεί να λειτουργήσει με απόδοση, η οποία ορίζεται ως το ποσοστό της ηλιακής ακτινοβολίας που μετατρέπεται σε ενέργεια υδρογόνου, κοντά στο 100% της συνολικής απορρόφησης φωτονίων [97, 98]. Όμως, η μέγιστη απόδοση του συστήματος των πράσινων φωτοσυνθετικών άλγεων είναι περίπου 10-13% [99]. Η μείωση αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι ο ρυθμός απορρόφησης φωτονίων από τις χλωροφύλλες στα φωτοσυστήματα είναι πολύ μεγαλύτερος από το ρυθμό που μπορούν αυτά να χρησιμοποιηθούν στη φωτοσύνθεση. Η περίσσεια φωτονίων δε μπορεί να αποθηκευτεί στο φωτοσυνθετικό μηχανισμό και «χάνεται» με τη μορφή θερμότητας ή φωσφορισμού.

Για βιώσιμη μεταφορά της μεθόδου σε εμπορική κλίμακα απαιτείται απόδοση τουλάχιστον 10%, όμως πρόσφατη ανάλυση από τον Amos [100] έδειξε πως σε εφαρμοζόμενα συστήματα βιώσιμη απόδοση μπορεί να συμβεί και σε χαμηλότερα ποσοστά, ανάλογα με τα υλικά και το κόστος των αντιδραστήρων. Ο Hahn και οι συνεργάτες του [101] διερεύνησαν διάφορες παραμέτρους που επηρεάζουν τη διεργασία (ένταση ακτινοβολίας, όγκος του αντιδραστήρα, θερμοκρασία, συγκέντρωση των άλγεων, pH κτλ) και κατέληξαν πως ο λόγος της επιφάνειας του αντιδραστήρα που φωτίζεται προς το μήκος το οποίο το φως διανύει είναι μεγάλης σημασίας για εφαρμογές μεγάλης κλίμακας. Στο συμπέρασμα αυτό, ο Melis σημειώνει πως τα κύτταρα στην επιφάνεια του αντιδραστήρα είναι αυτά που κυρίως απορροφούν την ηλιακή ακτινοβολία, ενώ αυτά στο εσωτερικό του αντιδραστήρα είναι αποκλεισμένα ([56] σελίδες 229-240). Άλλες παράμετροι που μελετήθηκαν [102] έχουν να κάνουν με τις συγκεντρώσεις διαφόρων συστατικών του θρεπτικού υλικού ανάπτυξης των άλγεων (N, S και P). Περαιτέρω ενίσχυση της παραγωγής υδρογόνου σε συνθήκες έλλειψης θείου θα εξαρτηθούν κυρίως από την καλύτερη κατανόηση του μηχανισμού αυτού, αλλά και από την κατανόηση των διάφορων ρυθμιστικών και μεταβολικών διεργασιών που συμβαίνουν σε αυτές τις συνθήκες.

2.4 Μεταβολικά μονοπάτια και πηγές ηλεκτρονίων στην παραγωγή υδρογόνου από τα *Chlamydomonas*

Υπάρχουν τρία μεταβολικά μονοπάτια παραγωγής υδρογόνου στα άλγη *Chlamydomonas* (σχήμα 2.8). Δυο από αυτά έχουν να κάνουν με παραγωγή υδρογόνου σε συνθήκες φωτισμού και ένα σε συνθήκες σκότους. Το *πρώτο* από τα φωτεινά μονοπάτια, το οποίο είναι γνωστό και ως άμεση βιοφωτόλυση, εξαρτάται από τα ενεργά κέντρα και των δυο φωτοσυστημάτων. Έτσι, πραγματοποιείται διάσπαση του νερού στο PSII, τα ηλεκτρόνια που παράγονται μεταφέρονται στο PSI, όπου διεγείρονται σε υψηλότερες ενεργειακές στάθμες για την αναγωγή της FDX, που αποτελεί τον φυσιολογικό δότη ηλεκτρονίων προς τις υδρογενάσες [82, 87]. Το *δεύτερο* φωτεινό μονοπάτι, γνωστό ως έμμεση βιοφωτόλυση, περιλαμβάνει τη μη φωτοεξαρτώμενη αναγωγή της PQ. Χρησιμοποιεί τα ηλεκτρόνια από το NAD(P)H που προέρχονται από τον καταβολισμό του αμύλου και ακολουθείται από τη φωτοεξαρτώμενη αναγωγή της FDX από το PSI. Αυτό το μονοπάτι είναι ανεξάρτητο του PSII και εξαρτάται από την δραστικότητα της NPQR [83, 103-106]. Το φαινόμενο αυτό αποδείχθηκε από τους Ben-Amotz και Gibbs το 1975, οι οποίοι παρατήρησαν παραγωγή υδρογόνου σε εκχυλίσματα ενζύμων, που είχαν επεξεργαστεί με DCMU, μόριο το οποίο αναστέλλει την μεταφορά ηλεκτρονίων από το PSII στην PQ.

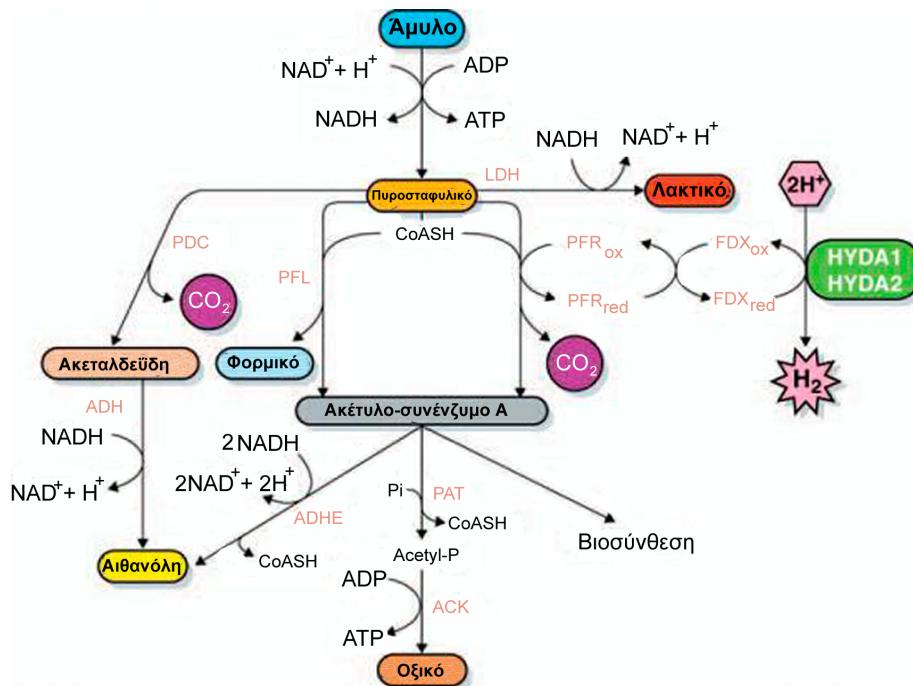
Η άμεση βιοφωτόλυση συμβάλλει κατά 50-90% στη συνολική προσφορά ηλεκτρονίων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή υδρογόνου, όπως προσδιορίστηκε με DMCU αναστολή [96], η οποία όμως ποικίλλει με το είδος των άλγεων. Επίσης, και για τα δυο φωτεινά μονοπάτια η συνεισφορά του PSI είναι μικρή [96, 107].



Σχήμα 2.8: Απλοποιημένο σχήμα των φυσιολογικών βιοχημικών μονοπατιών παραγωγής υδρογόνου ή υδατανθράκων/λιπιδίων στα *Chlamydomonas*. Τροποποιημένο από [108].

Το σκοτεινό (μη φωτοεξαρτώμενο) μεταβολικό μονοπάτι παραγωγής υδρογόνου στα *Chlamydomonas* συνδέεται με τον καταβολισμό του συσσωρευμένου αμύλου (σχήμα 2.9)

κατά την αερόβια ανάπτυξη του [109-111]. Παρόλο που δεν έχει μελετηθεί σε βάθος, πιστεύεται πως είναι παρόμοιο με εκείνο της παραγωγής υδρογόνου από βακτήρια [112] και αμιτοχονδριακούς ευκαριωτικούς οργανισμούς [113]. Αυτοί οι οργανισμοί συνδέουν την οξειδωση του πυροσταφυλικού οξέος με την αναγωγή της FDX μέσω του ενζύμου PFR (σχήμα 2.9). Το PFR οξειδώνει το πυροσταφυλικό προς ακέτυλο-συνένζυμο A και CO_2 , με την ανηγμένη FDX να είναι ο δότης ηλεκτρονίων προς τις υδρογενάσες. Πρόσφατα ευρήματα από τους Chochois [114] και Antal [115] αποκάλυψαν πως, μέσω προσθήκης διαφόρων ανασταλτικών παραγόντων, το έμμεσο μονοπάτι είναι πιθανότερο να αποτελεί μειονότητα ακόμα και στην έκφραση της υδρογενάσης. Είναι επίσης πιθανότερο το έμμεσο μονοπάτι να λαμβάνει χώρα μέσω του PFR, παρά από μια «φωτεινή» αναγωγή της FDX. Παρόλο που η διεργασία αυτή δεν έχει ακόμα αποδειχτεί, ένα PFR γονίδιο έχει διαπιστωθεί πως εκφράζεται στα *Chlamydomonas Reinhardtii* [79, 116, 117]. Ένας μεγάλος αριθμός [2Fe-2S] φερρεδοξινών μεταφέρουν ηλεκτρόνια στις υδρογενάσες και τα κύτταρα κωδικοποιούν αρκετές ομόλογες [2Fe-2S] φερρεδοξίνες. Είναι όμως ασαφές εάν συγκεκριμένες ισόμορφες FDX προτιμούνται από μια ή και από τις δυο υδρογενάσες, όπως επίσης και εάν συγκεκριμένες FDX εμπλέκονται ειδικά στη φωτοεξαρτώμενη ή μη παραγωγή υδρογόνου (σχήμα 2.9). Τέλος, υπάρχουν ενδείξεις πως η οξειδωση του NADH κατά τη γλυκολυτική οδό μπορεί να παρέχει έμμεσα αναγωγικές ενώσεις προς τις υδρογενάσες [112, 113].



Σχήμα 2.9: Έμμεσο ή σκοτεινό μονοπάτι παραγωγής υδρογόνου που στηρίζεται στα προϊόντα μεταβολισμού σε αναερόβιες και σκοτεινές συνθήκες. Τροποποιημένο από [76].

Αν και η κυρίαρχη άποψη είναι πως ο άμεσος μηχανισμός συνεισφέρει στο μεγαλύτερο ποσοστό [84, 90, 96, 118-121], παρόλα αυτά κανένα γνωστό μονοπάτι παροχής

και μετακίνησης ηλεκτρονίων δεν πρέπει να αποκλειστεί, διότι φαίνεται πως η φωτοσυνθετική παραγωγή υδρογόνου περιλαμβάνει μια περίπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ διαφόρων πηγών και «δεξαμενών» ηλεκτρονίων [121]. Κρίνεται λοιπόν ιδιαίτερα σημαντική η ακριβής γνώση του ρυθμιστικού και του μεταβολικού περιβάλλοντος για την κατανόηση, αλλά και αντιμετώπιση των επί του παρόντος περιορισμών στην παραγωγή υδρογόνου.

2.5 Τεχνητή φωτοσύνθεση και φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού.

Η φωτοσύνθεση είναι ουσιαστικά μια μορφή φωτοηλεκτρόλυσης του νερού [122], με φωτο-δυναμικό να δημιουργείται λόγω της μοριακής δομής των θυλακοειδών μεμβρανών, το οποίο οδηγεί από τη μια μεριά στην διάσπαση του νερού και από την άλλη στην αναγωγή του CO₂. Η ιδέα της δημιουργίας μιας τεχνητής συσκευής ικανή να μετατρέπει την ηλιακή ενέργεια σε ενέργεια χρήσιμη για τον άνθρωπο είναι η κινητήριος δύναμη στη παγκόσμια έρευνα της τεχνητής φωτοσύνθεσης [56].

Η διεργασία της μεταφοράς ηλεκτρονίων στη φωτοσύνθεση και την κυτταρική αναπνοή μπορεί να περιγραφεί με όρους βιοχημικών ημιαντιδράσεων. Η εφαρμογή των αρχών της φωτοσύνθεσης στα ανθρωπογενούς προέλευσης συστήματα αποδεικνύει πως το νερό είναι μια άριστη πηγή ηλεκτρονίων, λόγω της χαμηλής περιεχόμενης ενέργειάς του, της αφθονίας του και της παραγωγής οξυγόνου, το οποίο μπορεί να αντιδράσει με προϊόντα αναγωγής προς απελευθέρωση ενέργειας. Η αλληλομετατροπή του οξυγόνου προς νερό δίνεται από την παρακάτω ημιαντίδραση:



$E^\circ = (1.23 - 0.0591\text{pH}) \text{ V}$ ως προς το ΚΗΥ,

όπου E° είναι το κανονικό δυναμικό αναγωγής.

Η άλλη ημιαντίδραση περιλαμβάνει την αναγωγή του NADP⁺ ή του CO₂ και είναι θερμοδυναμικά ισοδύναμη με την παραγωγή υδρογόνου:



$E^\circ = (0.00 - 0.0591\text{pH}) \text{ V}$ ως προς το ΚΗΥ

Στη φωτοσύνθεση οι αντίστοιχες αντιδράσεις 2.7 και 2.8 λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα για να δώσουν τη συνολική αντίδραση που δίνεται από την εξίσωση 2.9.



$\Delta E^\circ = -1.23 \text{ V} \quad 2.10$

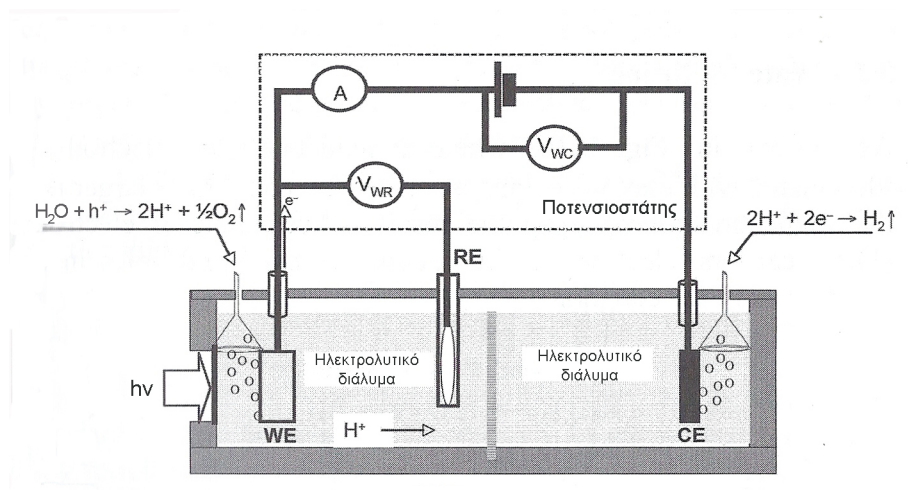
$$\Delta G^{\circ}=474 \text{ kJ mol}^{-1}$$

2.11

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ηλιακή ενέργεια εξυπηρετεί την κάλυψη των θερμοδυναμικών και κινητικών ενεργειακών απαιτήσεων της εξίσωσης 2.9. Το καύσιμο που παράγεται, υδρογόνο σε αυτή τη περίπτωση, το οποίο ισοδυναμεί με NADPH και υδατάνθρακες, μπορεί να αποθηκευτεί. Η αντίδραση τώρα του αποθηκευμένου αυτού καυσίμου με το οξυγόνο μπορεί να παράξει ενέργεια ίση με την ενέργεια της αντίστροφης αντίδρασης της εξίσωσης 2.9, παράγοντας ένα δυναμικό $\Delta E^{\circ}=1.23 \text{ V}$ και ποσό ενέργειας $\Delta G^{\circ}=-474 \text{ kJ mol}^{-1}$.

Οι ίδιες ηλεκτροχημικές αντιδράσεις μπορούν να αντιγραφούν και σε ένα τεχνητό σύστημα ενεργειακών μετατροπών. Ένα τεχνητό σύστημα, το οποίο μπορεί μέσω φωτοεξαρτώμενων ηλεκτροχημικών διεργασιών να μετατρέψει την ηλιακή ενέργεια σε ενέργεια χρήσιμη για τον άνθρωπο, ονομάζεται Φωτοηλεκτροχημική Κυψέλη (ΦΗΚ). Σε μια ΦΗΚ ρεύμα και δυναμικό παράγονται συνεχώς μέσω απορρόφησης της ηλιακής ενέργειας από ένα ή περισσότερα ηλεκτρόδια, με ένα τουλάχιστον ηλεκτρόδιο να αποτελείται από ημιαγωγικά υλικά. Το αποτέλεσμα είναι η παραγωγή είτε ηλεκτρικής, είτε χημικής ενέργειας.

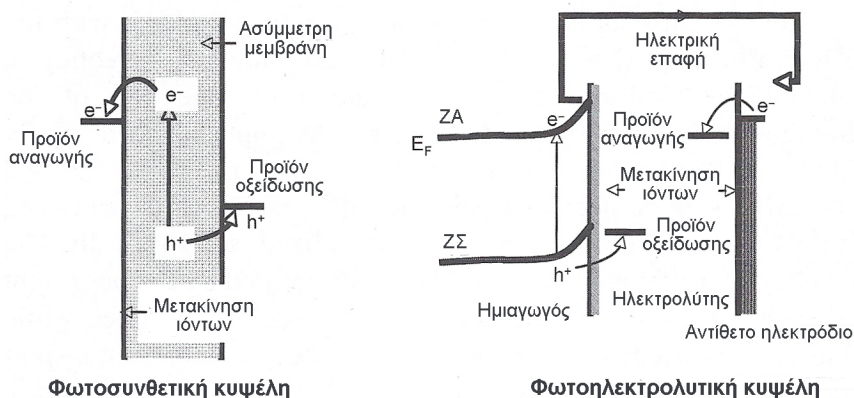
Μια τυπική ΦΗΚ για τη διάσπαση του νερού δίνεται στο σχήμα 2.10. Η κυψέλη αποτελείται από 3 ηλεκτρόδια, τα οποία είναι εμβαπτισμένα σε ηλεκτρολυτικό διάλυμα. Τα ηλεκτρόδια αυτά είναι το ηλεκτρόδιο εργασίας (WE-working electrode), το αντίθετο ηλεκτρόδιο (CE-counter electrode) και το ηλεκτρόδιο αναφοράς (RE-reference electrode). Το ηλεκτρόδιο εργασίας είναι συνήθως ένας ημιαγωγός και καλείται φωτο-ηλεκτρόδιο ή φωτοάνοδος για την περίπτωση ενός n-τύπου ημιαγωγού, μιας και στην επιφάνειά του ενεργοποιούνται φωτοεξαρτώμενες αντιδράσεις. Το αντίθετο ηλεκτρόδιο ή κάθοδος είναι συνήθως ένα μεταλλικό ηλεκτρόδιο ανθεκτικό στην διάβρωση.



Σχήμα 2.10: Σχηματική αναπαράσταση μιας τυπικής φωτοηλεκτροχημικής κυψέλης 3 ηλεκτροδίων: WE=ηλεκτρόδιο εργασίας, RE=ηλεκτρόδιο αναφοράς, CE=αντίθετο ηλεκτρόδιο. Το ηλεκτρόδιο εργασίας είναι ένας ημιαγωγός και το αντίθετο ηλεκτρόδιο ένα μέταλλο. Τροποποιημένο από [4].

Σε μια τυπική ΦΗΚ, ένας n-τύπου ημιαγωγός χρησιμοποιείται ως φωτοάνοδος, όπου με την επίδραση ακτινοβολίας παράγεται οξυγόνο, ενώ υδρογόνο παράγεται ταυτόχρονα στη μεταλλική κάθοδο. Άλλες διατάξεις είναι επίσης πιθανές, όπως μια p-τύπου ημιαγωγίμη κάθοδος ή φωτο-κάθοδος, η οποία ανάγει υπό την επίδραση ακτινοβολίας τα H^+ προς μοριακό υδρογόνο, ενώ οξυγόνο εκλύεται στη μεταλλική άνοδο. Μια ακόμη πιθανή διάταξη είναι και τα δυο ηλεκτρόδια να αποτελούνται από φωτο-ενεργούς ημιαγωγούς. Στην περίπτωση αυτή, το n-τύπου ηλεκτρόδιο αποτελεί τη φωτοάνοδο για την οξειδωση του νερού και την απελευθέρωση των H^+ , ενώ το p-τύπου ηλεκτρόδιο ανάγει τα H^+ προς H_2 .

Το σχήμα 2.11 παρουσιάζει τη σχέση μεταξύ φωτοσύνθεσης και φωτοηλεκτρόλυσης σε συνάρτηση με την ενέργεια οξειδοαναγωγής για τη διάσπαση του νερού. Σε μια φωτοσυνθετική «κυψέλη» τα ηλεκτρικά και ιοντικά ρεύματα διαπερνούν τις μεμβράνες παράλληλα. Τα ημιαγωγίμη ηλεκτρόδια αποτελούν τη βάση για τη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού, με το αντίθετο ηλεκτρόδιο να συλλέγει έναν από τους μεταφορείς φορτίου, οι οποίοι δημιουργούνται από το φωτισμό του ημιαγωγού [4].



Σχήμα 2.11: Σύγκριση μεταξύ της φωτοσύνθεσης και της φωτοηλεκτρόλυσης με όρους αντιδράσεων μεταφοράς φορτίου. Τροποποιημένο από [4].

Στο επόμενο κεφάλαιο θα δοθούν συνοπτικά οι αρχές που διέπουν την ηλεκτροχημική συμπεριφορά της διεπιφάνειας που δημιουργείται μεταξύ ημιαγωγού-ηλεκτρολυτικού διαλύματος, παρουσία και απουσία φωτισμού.

2.6 Επαφή ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη απουσία και παρουσία φωτός

2.6.1 Η επαφή ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη απουσία φωτός

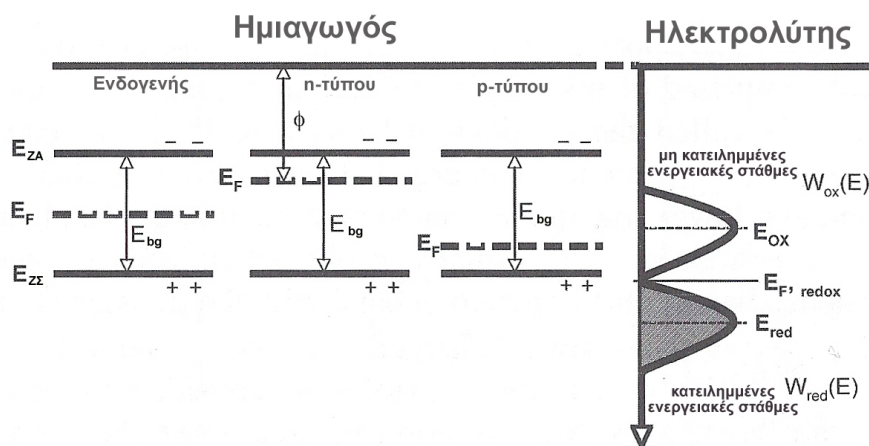
Κατά την επαφή ενός ημιαγωγίμου υλικού με ένα ηλεκτρολυτικό διάλυμα λαμβάνει χώρα προσρόφηση μορίων ή ιόντων στην επιφάνειά του. Η προσρόφηση είναι αποτέλεσμα ηλεκτροστατικών έλξεων ή και δημιουργία χημικών δεσμών, όπως είναι πολύ σύνηθες μεταξύ

ατόμων της επιφάνειας του ημιαγωγού και υδροξυλιόντων του διαλύματος. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές οδηγούν στη μεταφορά φορτίου μεταξύ των δυο φάσεων και τη δημιουργία μιας διαφασικής περιοχής με χαρακτηριστικές ιδιότητες, οι οποίες είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνες για τη ηλεκτροχημική συμπεριφορά του διαφασικού συστήματος (διεπιφάνεια ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη).

Η διεπιφάνεια ή ηλεκτροχημική διπλοστοιβάδα στην περίπτωση ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη παρουσιάζει τελείως διαφορετικές ιδιότητες από την περίπτωση επαφής μετάλλου-ηλεκτρολύτη. Αυτή η διαφορετική ηλεκτροχημική συμπεριφορά οφείλεται στο ότι η συγκέντρωση των φορέων του ηλεκτρικού ρεύματος (ηλεκτρόνια) στους ημιαγωγούς (10^{15} – 10^{18} cm⁻³) είναι μερικές τάξεις μικρότερη αυτής των μετάλλων (10^{22} cm⁻³).

Η ηλεκτρονική δομή στους ημιαγωγούς περιγράφεται συνήθως με όρους ενέργειας ζωνών, οι οποίες θεωρούνται ως ένα συνεχές ενεργειακών επιπέδων, λόγω των μικρών διαφορών στην ενέργεια των γειτονικών μοριακών τροχιακών [123, 124]. Η ενεργειακή ζώνη η οποία περιέχει κατειλημμένα μοριακά τροχιακά ονομάζεται ζώνη σθένους (ΖΣ), με το υψηλότερο ενεργειακό επίπεδο της να σημειώνεται ως E_{ZS} . Η ενεργειακή ζώνη που αποτελείται από μη-κατειλημμένα μοριακά τροχιακά ή από κενές ενεργειακές θέσεις ονομάζεται ως ζώνη αγωγιμότητας (ΖΑ), με το χαμηλότερο ενεργειακά της επίπεδο να σημειώνεται ως E_{ZA} . Η διαφορά στην ενέργεια μεταξύ του πάνω άκρου της ΖΣ και του κάτω της ΖΑ είναι το ενεργειακό χάσμα του ημιαγωγού που σημειώνεται ως E_{bg} . Ηλεκτρόνια μπορούν να διεγερθούν θερμικώς ή με τη βοήθεια ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από την ΖΣ προς τη ΖΑ, αφήνοντας κενές, θετικά φορτισμένες θέσεις στην ΖΣ, οι οποίες ονομάζονται οπές (h^+). Η ενέργεια Fermi ορίζεται ως το ενεργειακό εκείνο επίπεδο του οποίου η πιθανότητα να καταληφθεί από ένα ηλεκτρόνιο είναι $\frac{1}{2}$ [124].

Στους ενδογενείς ημιαγωγούς (καθαροί κρύσταλλοι) ο αριθμός των οπών είναι ίδιος με τον αριθμό των ηλεκτρονίων και η E_F βρίσκεται στη μέση του ενεργειακού χάσματος του ημιαγωγού (σχήμα 2.12).

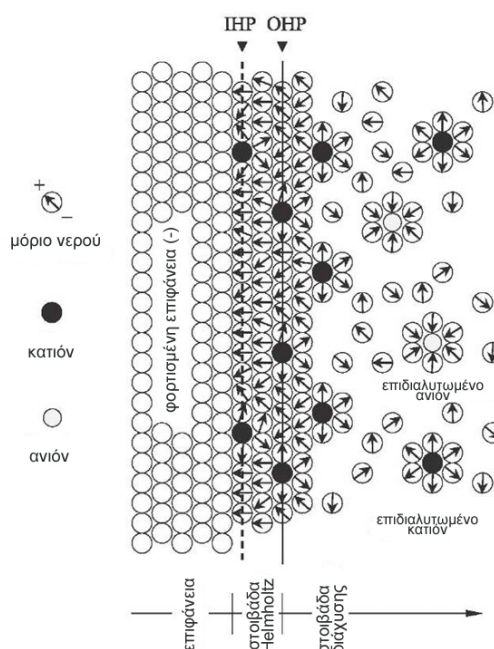


Σχήμα 2.12: Σχηματική αναπαράσταση των ενεργειακών ζωνών στους ημιαγωγούς και της ενεργειακής κατανομής σε ένα οξειδοαναγωγικό ηλεκτρολυτικό σύστημα. Τροποποιημένο από [4].

Ημιαγωγοί προσμίξεων στους οποίους οι φορείς πλειονότητας είναι τα ηλεκτρόνια αναφέρονται ως n-τύπου ημιαγωγοί, ενώ σε αυτούς που οι φορείς πλειονότητας είναι οι οπές αναφέρονται ως p-τύπου ημιαγωγοί. Όπως φαίνεται στο σχήμα 2.12, η E_F των n-τύπου ημιαγωγών βρίσκεται κάτω από τη ΖΑ του ημιαγωγού, ενώ στους p-τύπου η E_F βρίσκεται πάνω από τη ΖΣ.

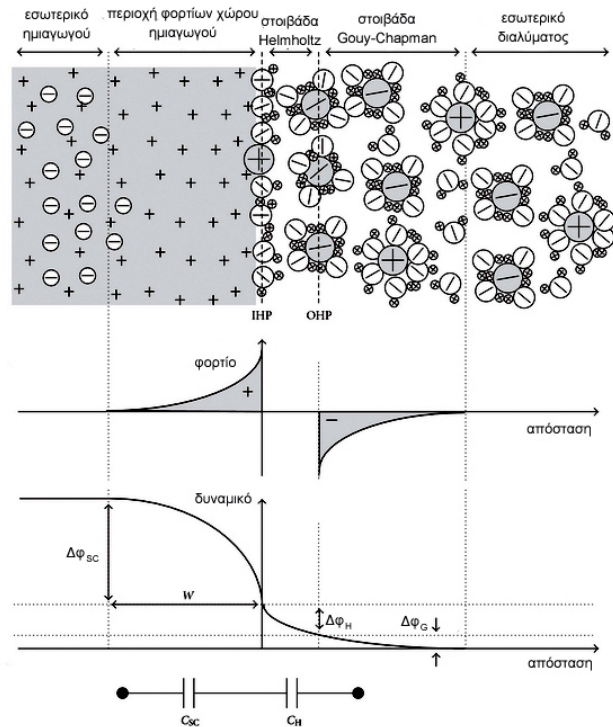
2.6.2 Κάμψη ζωνών στη διεπιφάνεια ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη

Πρώτος ο Helmholtz [125] περιέγραψε τη διαφασική συμπεριφορά μετάλλου-ηλεκτρολύτη ως πυκνωτή, ή όπως αλλιώς αναφέρεται ως «ηλεκτρική διπλοστοιβάδα». Η περίσσεια επιφανειακού φορτίου στην επιφάνεια του μετάλλου είναι διαχωρισμένη από το αντίθετο ιονικό φορτίο στο ηλεκτρολυτικό διάλυμα σε απόσταση ενός μονομοριακού στρώματος ιόντων. Στη συνέχεια, οι Gouy και Charpen ανέπτυξαν το μοντέλο της στοιβάδας διάχυσης, στην οποία το δυναμικό στην επιφάνεια μειώνεται εκθετικά λόγω των χημειοροφημένων αντίθετων ιόντων από το ηλεκτρολυτικό διάλυμα. Επομένως, η μετακίνηση αντίθετα φορτισμένων ιόντων κοντά στην επιφάνεια του μετάλλου, τα αναγκάζει να χάσουν τμήμα της στοιβάδας επιδιάλυτώς τους, και προσροφούνται «γυμνά» πάνω στην επιφάνεια του μετάλλου, όπως φαίνεται και στο σχήμα 2.13. Αυτό συμβαίνει όταν η ενέργεια των ελκτικών αλληλεπιδράσεων των «γυμνών» ιόντων με το μεταλλικό αγωγό είναι μεγαλύτερη από την ενέργεια επιδιάλυτωσης [126-128].



Σχήμα 2.13: Σχηματική αναπαράσταση της ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας που σχηματίζεται κατά την επαφή μετάλλου-ηλεκτρολύτη, όπου φαίνονται τα πλήρως προσροφημένα κατιόντα, τα πλήρως επιδιλυτωμένα ανιόντα και τα άτομα της αρνητικά φορτισμένης επιφάνειας.

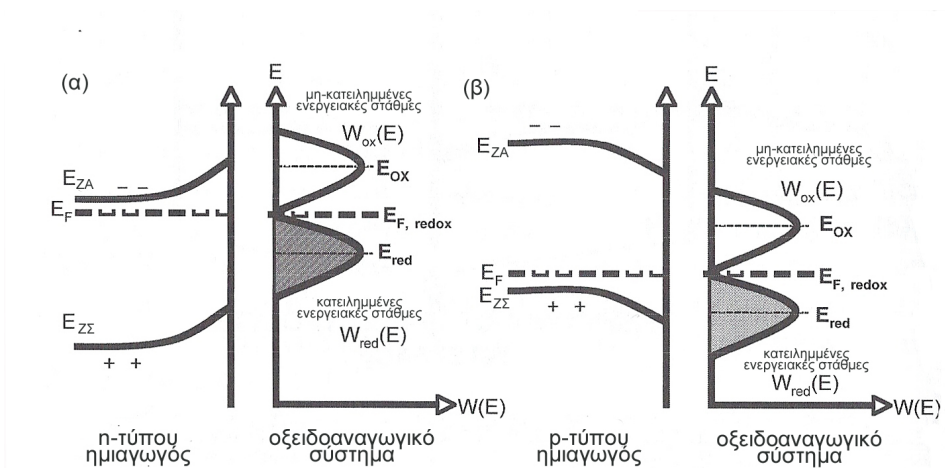
Στην περίπτωση της διαφασικής περιοχής ημιαγωγού-ηλεκτρολυτικού διαλύματος, η κατάσταση διαφέρει μόνον από τη πλευρά του ημιαγωγού, αφού η αγωγιμότητα που παρουσιάζει είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με εκείνης των ηλεκτρολυτικών διαλυμάτων, ειδικά στην περίπτωση πυκνών διαλυμάτων (σχήμα 2.14). Στη διαφορετική αυτή συμπεριφορά οφείλονται και τα φαινόμενα που χαρακτηρίζουν τα φωτοβολταϊκά, τα φωτοηλεκτροχημικά και τα φωτοκαταλυτικά στοιχεία, τα οποία εμφανίζονται μόνο στα ημιαγωγιμα υλικά [122, 129-133].



Σχήμα 2.14: Πρότυπο της ηλεκτροχημικής διπλοστοιβάδας στην επαφή n-τύπου ημιαγωγού με ηλεκτρολυτικό διάλυμα. Παρουσιάζεται επίσης, η μεταβολή του δυναμικού της ηλεκτροχημικής διπλοστοιβάδας με την απόσταση στη διαφασική περιοχή n-τύπου ημιαγωγού-ηλεκτρολυτικού διαλύματος. $\Delta\varphi_{sc}$: στοιβάδα απογύμνωσης, $\Delta\varphi_H$: στοιβάδα Helmholtz. Τροποποιημένο από [134].

Όταν ένα ημιαγωγιμο ηλεκτρόδιο εμβαπτιστεί σε ένα ηλεκτρολυτικό διάλυμα ενός οξειδοαναγωγικού ζεύγους, η περίσσεια φορτίου δε βρίσκεται στην επιφάνεια του ημιαγωγού, παρά εκτείνεται στο εσωτερικό του ηλεκτροδίου για περίπου 1 μm . Αυτή η περιοχή, που ονομάζεται ως *περιοχή φορτίων χώρου*, εισάγει την αναγκαία ασυμμετρία στο σύστημα και έτσι επιτυγχάνεται η μεταφορά φορτίου. Μεταφορά φορτίου από τον ημιαγωγό προς τον ηλεκτρολύτη οδηγεί στη φόρτιση της επιφάνειας, η οποία αντισταθμίζεται από αντίθετο φορτίο του ηλεκτρολύτη στη στοιβάδα Helmholtz. Η στοιβάδα Helmholtz δημιουργείται από προσανατολισμένα δίπολα μορίων νερού και προσροφημένα ιόντα του ηλεκτρολύτη στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Θεωρείται επίσης δεδομένο ότι σε κάθε φάση (υγρή, στερεή) υπάρχει ένα γνωστό ηλεκτροχημικό δυναμικό, το οποίο χαρακτηρίζει την ενέργεια των

ηλεκτρονίων (E_F , E_{redox}), και όταν αυτό το δυναμικό των διαφόρων φάσεων είναι το ίδιο σε κάθε σημείο, τότε το σύστημα αυτό βρίσκεται σε ισορροπία. Κατά την επαφή τώρα του ημιαγωγού με το ηλεκτρολυτικό διάλυμα, λόγω της πολύ μεγαλύτερης πυκνότητας ηλεκτρονιακών καταστάσεων του διαλύματος, η μεταφορά φορτίου δεν μεταβάλλει τη θέση της ενέργειας E_{redox} του οξειδοαναγωγικού συστήματος στο διάλυμα, ενώ επιφέρει σημαντική αλλαγή της θέσης του E_F στον ημιαγωγό. Ουσιαστικά, κατά τη δημιουργία της ηλεκτροχημικής ισορροπίας εμφανίζεται πτώση τάσης πρακτικά μόνο στην πλευρά του ημιαγωγού (σχήμα 2.15).



Σχήμα 2.15: Ενέργεια ηλεκτρονιακής διαμόρφωσης στην επαφή μεταξύ ενός ημιαγωγού και ενός ηλεκτρολυτικού διαλύματος στην ισορροπία. n-τύπου ημιαγωγός (α) και p-τύπου ημιαγωγός (β). Τροποποιημένο από [4].

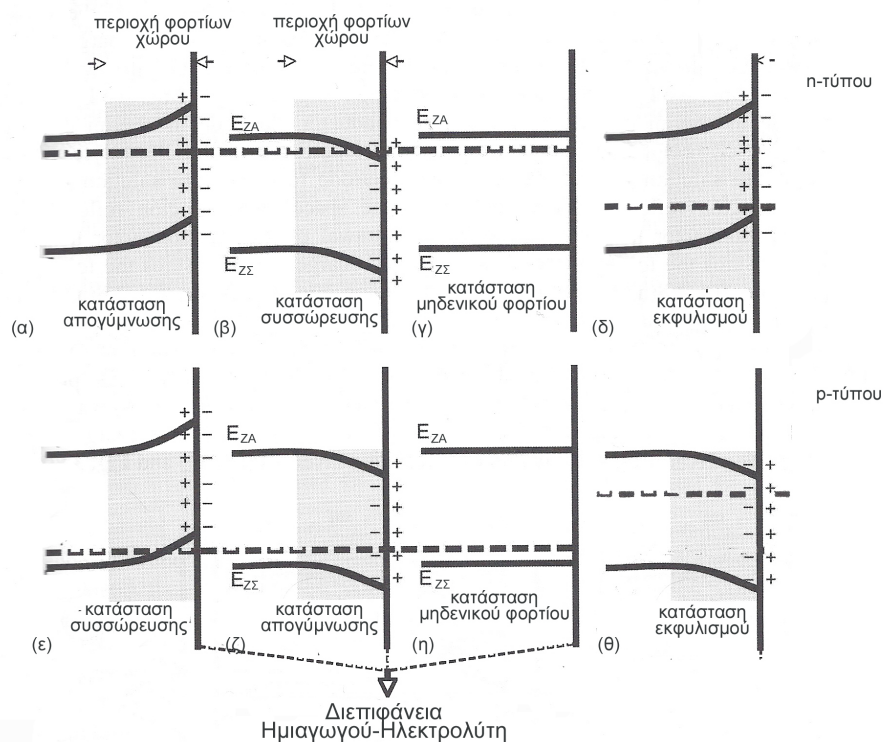
Σε ιδανικές συνθήκες, όπου η συγκέντρωση του οξειδοαναγωγικού συστήματος είναι αρκούντως υψηλή, δεν λαμβάνουν χώρα άλλες διεργασίες κατανάλωσης φορτίου (π.χ. επιφανειακές καταστάσεις, χημικές αντιδράσεις κτλ) και η μοναδική ανταλλαγή ηλεκτρονίων γίνεται μεταξύ του ημιαγωγού και του οξειδοαναγωγικού ζεύγους, η εμφανιζόμενη πτώση τάσης $\Delta\phi_{sc}$ είναι αυτή μεταξύ του εσωτερικού του ημιαγωγού και της επιφάνειάς του. Η πτώση τάσης αυτή είναι ίση με τη διαφορά $E_F - E_{redox}$ πριν από την επαφή των δυο φάσεων και σχηματικά συνοδεύεται από κάμψη των ενεργειακών ζωνών του ημιαγωγού στην περιοχή φορτίων χώρου.

Ανάλογα με την αρχική θέση που κατέχουν οι E_F και E_{redox} οδηγούμαστε σε 4 καταστάσεις ηλεκτρονικής ισορροπίας μεταξύ του ημιαγωγού και του ηλεκτρολυτικού διαλύματος (σχήμα 2.16). Για έναν n-τύπου ημιαγωγό, εάν:

1. $E_F > E_{redox}$, τότε λαμβάνει χώρα μεταφορά φορτίων από τον ημιαγωγό στο οξειδοαναγωγικό σύστημα. Η περιοχή φορτίων χώρου του ημιαγωγού είναι απογυμνωμένη από ηλεκτρόνια και το φορτίο της καθορίζεται από τους ιονισμένους φορείς (δότες στη περίπτωση των n-τύπου ημιαγωγών και δέκτες στη περίπτωση των

p-τύπου). Αυτή η κατάσταση ονομάζεται κατάσταση απογύμνωσης (depletion layer) και αποτελεί την πιο ενδιαφέρουσα περίπτωση, στην οποία στηρίζονται όλες οι φωτοηλεκτροχημικές ιδιότητες των ημιαγωγών (σχήμα 2.16α)

2. $E_F < E_{redox}$, τότε λαμβάνει χώρα μεταφορά φορτίων από το οξειδοαναγωγικό σύστημα προς τον ημιαγωγό. Έτσι, η περιοχή φορτίων χώρου είναι αρνητικά φορτισμένη και ο ημιαγωγός συμπεριφέρεται σαν ένα μεταλλικό ηλεκτρόδιο. Η κατάσταση αυτή ονομάζεται κατάσταση συσσώρευσης (accumulation layer) (σχήμα 2.16β)
3. $E_F = E_{redox}$, τότε το σύστημα βρίσκεται στην κατάσταση μηδενικού φορτίου ή κατάσταση flat band, στην οποία η διαφασική περιοχή μεταξύ του ημιαγωγού και του ηλεκτρολύτη είναι ηλεκτρικά ουδέτερη. Η ενέργεια των ηλεκτρονίων έχει την ίδια τιμή στο εσωτερικό και στην επιφάνεια του ημιαγωγού (σχήμα 2.16γ)
4. $E_F \gg E_{redox}$, τότε η στάθμη της E_F μετατοπίζεται στην περιοχή της ΖΑ, με αποτέλεσμα να επέρχεται εκφυλισμός του ημιαγωγού. Εκφυλισμένοι είναι εκείνοι οι ημιαγωγοί που, λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων e^- και h^+ ως αποτέλεσμα του υψηλού βαθμού προσμίξεων στο κρύσταλλο, συμπεριφέρονται περισσότερο ως μέταλλα παρά ως ημιαγωγοί (σχήμα 2.16δ)



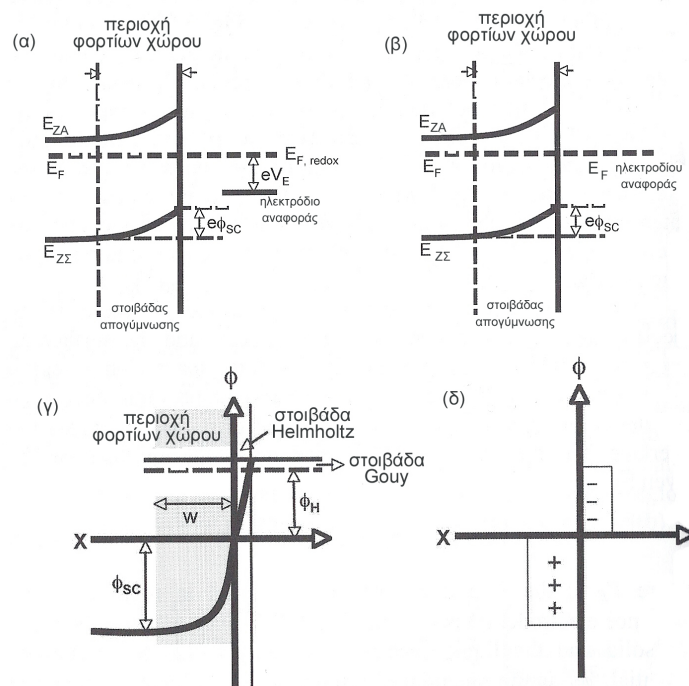
Σχήμα 2.16: Κάμψη ζωνών στην περιοχή φορτίων χώρου του ημιαγωγού στη διεπιφάνεια ημιαγωγός-ηλεκτρολύτη. Τροποποιημένο από [4].

Στους p-τύπου ημιαγωγούς οι αντίστοιχες καταστάσεις είναι ακριβώς οι αντίστροφες. Έτσι, κατάσταση συσσώρευσης ($E_F > E_{redox}$, σχήμα 2.16ε) δημιουργείται όταν περίσσεια οπών συσσωρεύεται στη διεπιφάνεια, η οποία αντισταθμίζεται από αρνητικά ιόντα του ηλεκτρολύτη.

Αντίστοιχα, κατάσταση απογύμνωσης ($E_F < E_{redox}$, σχήμα 2.16ζ) δημιουργείται όταν η περιοχή που περιέχει αρνητικά φορτία είναι απογυμνωμένη από οπές και έτσι θετικά ιόντα του ηλεκτρολύτη αντισταθμίζουν το φορτίο της διεπιφάνειας. Τέλος, όταν δεν υπάρχει περίσσεια φορτίου ($E_F = E_{redox}$, σχήμα 2.16θ) στη διεπιφάνεια, τότε δεν υπάρχει κάμψη των ζωνών, αντανακλώντας την κατάσταση δυναμικού μηδενικού φορτίου του ηλεκτροδίου. Τέλος, σε κατάσταση βαθιάς απογύμνωσης ($E_F \ll E_{redox}$, σχήμα 2.16η) επέρχεται εκφυλισμός του ημιαγωγού.

Η ακριβής κατανομή του δυναμικού και του φορτίου στο εσωτερικό και στην επιφάνεια του ημιαγωγού, ο οποίος βρίσκεται σε επαφή με κατάλληλο ηλεκτρολυτικό διάλυμα, μπορεί να εξαχθεί με τη βοήθεια της ηλεκτροστατικής θεωρίας και των νόμων της στατιστικής κατανομής των ηλεκτρονίων, μέσω επίλυσης της εξίσωσης του Poisson [4, 135].

Ας θεωρήσουμε τώρα ένα n-τύπου ημιαγωγό σε ισορροπία με ένα οξειδοαναγωγικό ζεύγος, δηλαδή $E_F = E_{redox}$, όπου έχει δημιουργηθεί η *περιοχή φορτίων χώρου* στον ημιαγωγό και οδήγησε στην κάμψη των ζωνών του, όπως φαίνεται στο σχήμα 2.17α.



Σχήμα 2.17: Ενεργειακό διάγραμμα της διεπιφάνειας ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη στην ισορροπία. Η ενέργεια Fermi είναι ίση με την ενέργεια του οξειδοαναγωγικού δυναμικού του συστήματος (α), η ενέργεια Fermi είναι ίση με την ενέργεια του ηλεκτροδίου αναφοράς (β), κατανομή δυναμικού (γ), φορτίο κατά μήκος της διεπιφάνειας. Τροποποιημένο από [4].

Ένα δυναμικό V_E έχει δημιουργηθεί μεταξύ του ημιαγωγίμου ηλεκτροδίου και του ηλεκτροδίου αναφοράς, κάτω από ποτενσιοστατικό έλεγχο. Σε μια ιδανικώς πολούμενη διεπιφάνεια, όταν δεν υπάρχει ανταλλαγή φορτίου με τον ηλεκτρολύτη, το δυναμικό στο εσωτερικό του ημιαγωγού είναι το ίδιο με το δυναμικό του οξειδοαναγωγικού συστήματος στο

ηλεκτρόδιο αναφοράς (σχήμα 2.17β). Αυτό δείχνει πως η διαφορά του δυναμικού μεταξύ του ημιαγωγού και του ηλεκτροδίου αναφοράς εξαρτάται από τη συγκέντρωση των φορέων στην περιοχή φορτίων χώρου. Εάν όπως ήδη αναφέρθηκε, δεν συμβαίνουν αντιδράσεις μεταξύ των φορτισμένων σωματιδίων και της επιφάνειας, η συνολική διαφορά δυναμικού κατά μήκος της διεπιφάνειας δίνεται από την παρακάτω εξίσωση:

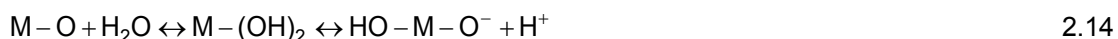
$$V_E = \phi_H + \phi_{SC} + \phi_G + C \quad 2.12$$

όπου V_E είναι το δυναμικό του ηλεκτροδίου σε σχέση με το ηλεκτρόδιο αναφοράς, ϕ_H είναι η διαφασική διαφορά δυναμικού μεταξύ της στερεής και της υγρής φάσης, η οποία συνήθως ονομάζεται δυναμικό Helmholtz, ϕ_{SC} είναι η διαφορά δυναμικού που αναπτύσσεται κατά μήκος της περιοχής φορτίων χώρου και C μια σταθερά που εξαρτάται από τη φύση του ηλεκτροδίου αναφοράς. Τέλος, ϕ_G είναι η διαφορά δυναμικού της διάχυτης στοιβάδας Gouy, η οποία μπορεί να αγνοηθεί στην περίπτωση πυκνών ηλεκτρολυτικών διαλυμάτων [4].

Μια αντιπροσωπευτική κατανομή του δυναμικού κατά μήκος της διεπιφάνειας δίνεται στο σχήμα 2.17γ, λαμβάνοντας υπόψη δυναμικό στο εσωτερικό του διαλύματος ίσο με μηδέν. Η διαφορά δυναμικού κατά μήκος της περιοχής φορτίων χώρου (ϕ_{SC}) εκτείνεται σε μεγαλύτερη απόσταση από ότι αυτή της στοιβάδας Helmholtz (ϕ_H). Για έναν ημιαγωγό n-τύπου, το δυναμικό ϕ_{SC} προκύπτει από την περίσσεια θετικά φορτισμένων σωματιδίων των ιονισμένων δοτών στο εσωτερικό της περιοχής φορτίων χώρου και το δυναμικό ϕ_H προκύπτει λόγω της συσσώρευσης (πάχος στοιβάδας ~ 1 nm) των αρνητικών ιόντων στο ηλεκτρολυτικό διάλυμα από την επιφάνεια του ηλεκτροδίου.

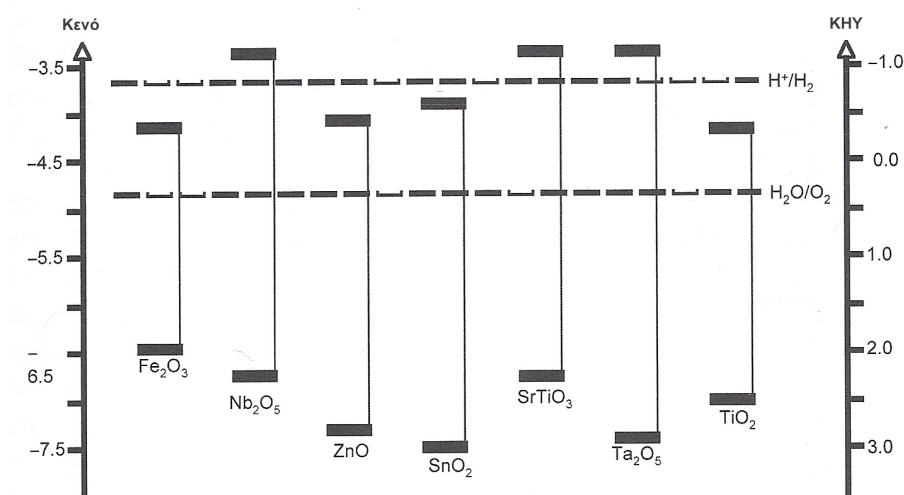
Για την περίπτωση ενός p-τύπου ημιαγωγού, η ϕ_{SC} προκύπτει από την περίσσεια αρνητικά φορτισμένων φορέων, που σχετίζονται με τους ιονισμένους δέκτες στην περιοχή φορτίων χώρου του κρυστάλλου και η ϕ_H προκύπτει λόγω της συσσώρευσης μιας στοιβάδας (περίπου 1 nm από την επιφάνεια του ημιαγωγού) θετικού φορτίου στο ηλεκτρολυτικό διάλυμα.

Ο όξινος ή βασικός χαρακτήρας της επιφάνειας του ημιαγωγού προκαλεί αντιδράσεις με τα H^+ ή τα OH^- ενός υδατικού ηλεκτρολυτικού διαλύματος:



όπου M αντιπροσωπεύει το μεταλλικό ιόν. Εφόσον η ισορροπία φορτίου κατά μήκος της διεπιφάνειας εξαρτάται από το δυναμικό, η στοιβάδα Helmholtz διαφοροποιείται με τη μεταβολή των συγκεντρώσεων των H^+ και OH^- . Εξαρτάται επομένως από το pH του διαλύματος. Αυτή η μεταβολή εκφράζεται ως εξής:

Στο επόμενο σχήμα (σχήμα 2.18) παρουσιάζεται η θέση των άκρων των ζωνών μερικών ημιαγωγικών υλικών, η οποία δίνεται σε σχέση με τα δυναμικά οξειδωσης και αναγωγής του νερού.



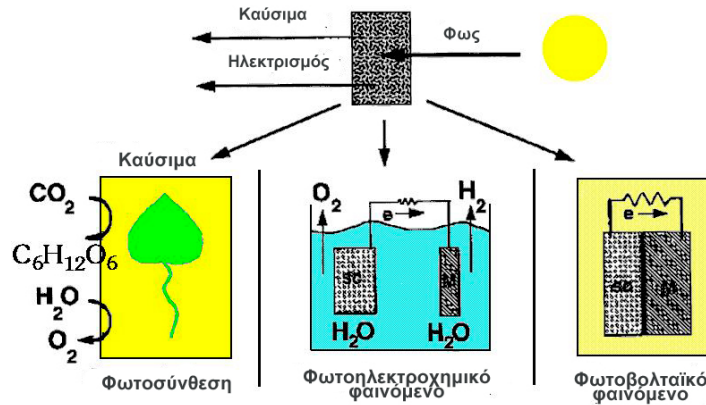
Σχήμα 2.18: Θέσεις των άκρων των ζωνών σθένους και αγωγιμότητας μερικών ημιαγωγικών οξειδίων που βρίσκονται σε επαφή με ηλεκτρολυτικό διάλυμα σε pH 7. Τροποποιημένο από [4].

2.6.3 Παρουσία φωτός

Η απορρόφηση ακτινοβολίας από έναν ημιαγωγό ενέργειας ίσης ή μεγαλύτερης από το ενεργειακό του χάσμα έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ζευγών e^-h^+ , λόγω διέγερσης των ηλεκτρονίων από τη ζώνη σθένους και μεταφορά τους στη ζώνη αγωγιμότητας. Οι σπές είναι οι θετικά φορτισμένες κενές θέσεις που αφήνουν κατά τη διέγερσή τους τα ηλεκτρόνια και θεωρούνται και αυτές ως κινούμενα σωματίδια. Για αυτό το λόγο αποτελούν το δεύτερο είδος αγωγής του ηλεκτρικού ρεύματος μέσα στον κρύσταλλο.

Εάν η διαδικασία απορρόφησης περιλαμβάνει ένα φωτόνιο, ονομάζεται άμεση μετάπτωση και λαμβάνει χώρα με κατανάλωση της ελάχιστης δυνατής ενέργειας. Στη περίπτωση που η απορρόφηση ενός φωτονίου συνοδεύεται με εκπομπή ή απορρόφηση ενός φωνονίου, η μετάπτωση είναι έμμεση. Βάσει αυτής της ιδιότητας, οι ημιαγωγοί διακρίνονται σε αυτούς με άμεσο ενεργειακό χάσμα και σε αυτούς με έμμεσο (direct and indirect band gap).

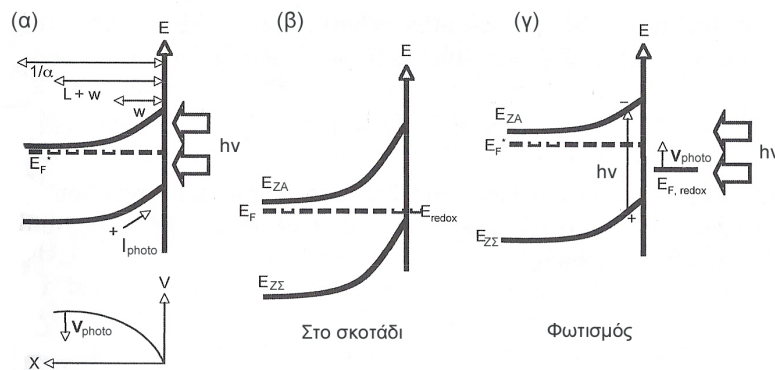
Το φαινόμενο που εμφανίζεται κατά το φωτισμό της διαφανούς περιοχής ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη ονομάζεται φωτοηλεκτροχημικό φαινόμενο και αποτελεί το πρώτο φωτοβολταϊκό φαινόμενο που παρατηρήθηκε από τον Becquerel το 1839. Το φωτοηλεκτροχημικό φαινόμενο αποτελεί επίσης έναν από τους 3 τρόπους άμεσης μετατροπής της φωτεινής ενέργειας σε ηλεκτρική ή χημική.



Σχήμα 2.19: Μετατροπή της ηλιακής ενέργειας σε ηλεκτρική και χημική ενέργεια.

Σε αντίθεση με την περίπτωση της μη φωτιζόμενης επαφής, η συμπεριφορά του συστήματος κατά το φωτισμό καθορίζεται από τους φορείς μειονότητας (e^- στην περίπτωση των p-τύπου ημιαγωγών και των h^+ στην περίπτωση των n-τύπου ημιαγωγών), αφού η συγκέντρωση των φορέων πλειοψηφίας (e^- στην περίπτωση των n-τύπου ημιαγωγών και h^+ στην περίπτωση των p-τύπου ημιαγωγών) δεν μεταβάλλεται σημαντικά με το φωτισμό.

Με την απορρόφηση ακτινοβολίας στην επιφάνεια του ημιαγωγού η ελεύθερη ενέργεια των φορέων μειονότητας, αλλά και των φορέων πλειοψηφίας, μεταβάλλεται με αποτέλεσμα τη δημιουργία συνθηκών πέρα από την κατάσταση ισορροπίας, ποσοτικοποιημένη κατά Fermi-κβαντισμένα ενεργειακά επίπεδα. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση φωτορεύματος και φωτο-δυναμικού στη διεπιφάνεια ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη [122, 133, 136].



Σχήμα 2.20: Εμφάνιση φωτο-δυναμικού λόγω διαχωρισμού ηλεκτρονίων-οπών σε ένα n-τύπου ημιαγωγό. Το φωτο-δυναμικό αυξάνει λόγω μείωσης της κάμψης των ζωνών κατά μήκος της στοιβάδας απογύμνωσης σε συνθήκες φωτισμού (α). Διαγράμματα των ενεργειακών ζωνών στη διεπιφάνεια ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη στο σκοτάδι (β) και παρουσία ακτινοβολίας (γ), με τη φωτο-παραγόμενη ελεύθερη ενέργεια σε ανοικτό κύκλωμα να δίνεται από την εξίσωση $eV_{\text{photo}} = E_{F,n}^* - E_{F,\text{redox}}$. Τροποποιημένο από [4].

Το σχήμα 2.20α δείχνει ένα n-τύπου ημιαγωγό σε επαφή με ηλεκτρολυτικό διάλυμα, όπου παρουσία φωτισμού εμφανίζεται φωτόρευμα στην περιοχή απογύμνωσης. Το φωτόρευμα ενός n-τύπου ημιαγωγού, ο οποίος απορροφά μονοχρωματική ακτινοβολία με συντελεστή απορρόφησης α , δίνεται από την επόμενη σχέση:

$$I_{\text{photo}} = eI_0 \left[1 - (1 + \alpha L_p) e^{-\alpha w} \right] \quad 2.16$$

$$\text{με } L_p = (D_p \tau_p)^{1/2} = (kT \mu_p \tau_p)^{1/2} \quad 2.17$$

όπου w (εξ. 2.18) είναι το μήκος της περιοχής φορτίων χώρου και L_p το μήκος διάχυσης των οπών (φορείς μειονότητας). τ_p είναι ο χρόνος ημιζωής των οπών, μ_p είναι η ευκινησία των οπών, D_p είναι ο συντελεστής διάχυσης των οπών και α ο συντελεστής απορρόφησης φωτός.

$$w = L_D \left[\frac{(V - V_{fb})}{kT} \right]^{1/2} \quad 2.18$$

$$L_D = \left(\frac{2\epsilon\epsilon_0 kT}{eN_D} \right)^{1/2} \quad 2.19$$

Όπου L_D είναι το μήκος Debye της περιοχής φορτίων χώρου του ημιαγωγού. Ένα βάθος ή μια απόσταση μεγαλύτερη από αυτήν οδηγεί στην επανασύνδεση ηλεκτρονίων και οπών. Επομένως, το μέγεθος της κβαντικής απόδοσης του συστήματος εξαρτάται από το βάθος διείσδυσης του φωτός, $1/\alpha$, και από το μήκος Debye, L_D [137]. Επίσης, στην περίπτωση που $1/\alpha < L_D$, το φωτόρευμα είναι ανεξάρτητο από το εφαρμοζόμενο δυναμικό, ενώ το αντίθετο συμβαίνει όταν $1/\alpha > L_D$. Στην κατάσταση δυναμικού flat band παρατηρείται ροή πεπερασμένου ρεύματος λόγω της διάχυσης των φορέων μειονότητας, παρόλο που σε αυτό το μοντέλο δεν λαμβάνονται υπόψη φαινόμενα επιφανειακής επανασύνδεσης. Τα φράγματα Schottky παίζουν ένα πολύ σπουδαίο ρόλο στο να εμποδίζουν την επανασύνδεση ηλεκτρονίων-οπών, μέσω απομάκρυνσης των φορέων πλειοψηφίας από τη διεπιφάνεια. Για τη μεταφορά του ρεύματος κατά μήκος της διεπιφάνειας ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη απαιτείται η εφαρμογή θετικού εξωτερικού δυναμικού για ένα n-τύπου ημιαγωγό και αρνητικό εξωτερικό εφαρμοζόμενο δυναμικό για ένα p-τύπου ημιαγωγό. Στην κατάσταση ισορροπίας, το αρχικό ποσό της κάμψης των ζωνών μεταξύ του εσωτερικού και της περιοχής φορτίων χώρου δίνεται από:

$$\phi_{SC,o} = E_{F,redox} - V_{fb}, \quad 2.20$$

όπου $E_{F,redox}$ είναι η ενέργεια Fermi του οξειδοαναγωγικού συστήματος, η οποία δίνεται συνήθως από την παρακάτω σχέση:

$$E_{F,\text{redox}} = -eV_{\text{redox}} + \text{const}_{\text{ref}} \text{ vs KHY}, \quad 2.21$$

όπου V_{redox} είναι το δυναμικό του οξειδοαναγωγικού συστήματος ως προς το ΚΗΥ και $\text{const}_{\text{ref}}$ είναι η ελεύθερη ενέργεια ηλεκτρονίων στο ηλεκτρόδιο αναφοράς σε σχέση με το δυναμικό στο άπειρο.

Χρησιμοποιώντας την εξίσωση 2.21, η εξίσωση 2.20 μετατρέπεται.

$$\text{Στο σκοτάδι: } \phi_{\text{SC},o} = V_{\text{redox}} - V_{\text{fb}} \quad 2.22$$

$$\text{Υπό την επίδραση ακτινοβολίας, I: } \phi_{\text{SC},I} = V_{\text{redox}} - V_{\text{fb}} \quad 2.23$$

Λόγω της σχετικά αργής μεταφοράς φορτίου μεταξύ του ημιαγωγού και του οξειδοαναγωγικού συστήματος και/ή της παγίδευσης των φορέων μειοψηφίας λόγω επιφανειακών καταστάσεων, απαιτείται μια επιπρόσθετη κινητήριος δύναμη όσον αφορά στο δυναμικό της κατάστασης απογύμνωσης για αποτελεσματική εμφάνιση φωτορεύματος. Εξιδανικευμένες καταστάσεις εμφάνισης φωτορεύματος σε ένα n-τύπου ημιαγωγό δίνονται στα σχήματα 2.20β και 2.20γ. Συσχετίζοντας αυτά τα δύο σχήματα στο σκοτάδι (κατάσταση ισορροπίας) και υπό την επίδραση ακτινοβολίας (κατάσταση μη-ισορροπίας) με τις εξισώσεις 2.22 και 2.23 αντίστοιχα, το μοντέλο Gerischer περιγράφει ένα μέγιστο όριο της έντασης της ακτινοβολίας ως την κινητήριο δύναμη για τη φωτοηλεκτρόλυση του νερού. Σε συνθήκες ανοιχτού κυκλώματος το φωτο-δυναμικό της διεπιφάνειας εκφράζεται ως:

$$V_{\text{photo}} = \frac{kT}{e} \ln \frac{I_{\text{photo}}}{I_0} \quad 2.24$$

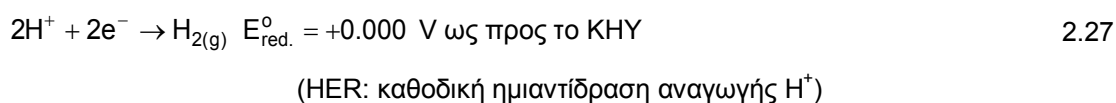
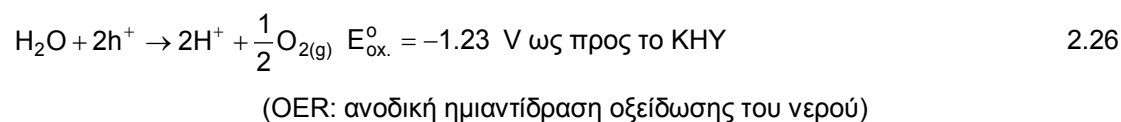
όπου I_{photo} είναι το φωτόρευμα λόγω φορέων μειοψηφίας και I_0 είναι η ροή φωτονίων.

Η εξίσωση 2.24 δείχνει τη λογαριθμική εξάρτηση της φωτο-δημιουργούμενης ελεύθερης ενέργειας με την ένταση της ακτινοβολίας σε συνθήκες ισορροπίας.

2.7 Αρχές και αντιδράσεις στη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού.

Σε μια ΦΗΚ τα απορροφούμενα φωτόνια έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ζευγών e^-h^+ στην περιοχή φορτίων χώρου του ημιαγωγού, τα οποία μπορούν να διαχωριστούν και να προάγουν δυο ημιαντιδράσεις στο διάλυμα. Πιο συγκεκριμένα, τα ηλεκτρόνια προάγουν την ημιαντίδραση έκλυσης υδρογόνου (HER-hydrogen evolution reaction) στη διεπιφάνεια της καθόδου με το ηλεκτρολυτικό διάλυμα, ενώ οι φωτο-δημιουργούμενες οπές προάγουν την ημιαντίδραση έκλυσης οξυγόνου (OER-oxygen evolution reaction) στη διεπιφάνεια της ανόδου με το ηλεκτρολυτικό διάλυμα (σχήμα 2.21). Και οι δυο ημιαντιδράσεις θα πρέπει να

συντηρούνται ταυτόχρονα, σε συνάρτηση με την ανταλλαγή ηλεκτρονίων της στερεής φάσης και τη μετακίνησης ιόντων της υγρής. Ως παράδειγμα, δίνονται οι ημιαντιδράσεις για τη διάσπαση του νερού, σε όξινο περιβάλλον, μεταξύ ανόδου και καθόδου:



όπου $E_{ox.}^{\circ}$, $E_{red.}^{\circ}$ είναι τα κανονικά δυναμικά των ημιαντιδράσεων οξειδωσης και αναγωγής, αντίστοιχα. Η συνολική αντίδραση, καθώς και η ελεύθερη ενέργεια Gibbs και το κανονικό δυναμικό της αντίδρασης ($E_{avt.}^{\circ}$), δίνονται στη συνέχεια:



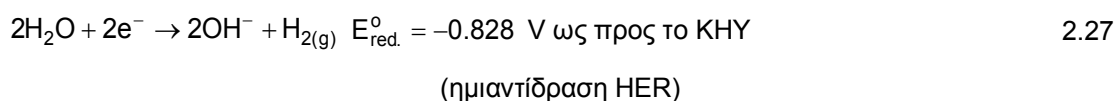
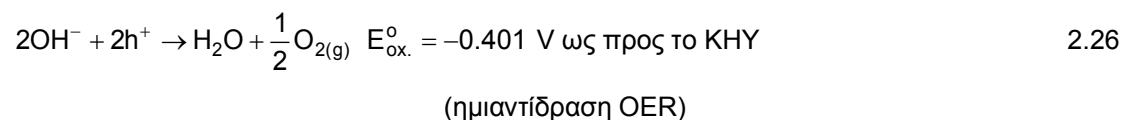
$$\Delta G^{\circ} = +237.18 \text{ kJ mol}^{-1} \quad 2.29$$

$$\Delta E_{avt.}^{\circ} = \Delta G^{\circ} / nF = 1.23 \text{ V} \quad 2.30$$

$$E_{leit.} = \Delta E_{avt.}^{\circ} + \eta_{\alpha} + \eta_{\kappa} + \eta_{\Omega} + \eta_{\sigma\sigma\sigma} \quad 2.31$$

όπου e^- είναι τα ηλεκτρόνια, h^+ είναι οι οπές, F η σταθερά Faraday και n (=2) ο αριθμός ηλεκτρονίων της αντίδρασης, $E_{leit.}$ είναι το δυναμικό πραγματικής λειτουργίας της κυψέλης, η_{α} , η_{κ} , η_{Ω} και $\eta_{\sigma\sigma\sigma}$ οι υπερτάσεις που σχετίζονται με την άνοδο, την κάθοδο, την ιονική αγωγιμότητα και τις απώλειες του συστήματος, αντίστοιχα.

Οι παραπάνω ημιαντιδράσεις μπορούν να γραφούν και σε αλκαλικό περιβάλλον:



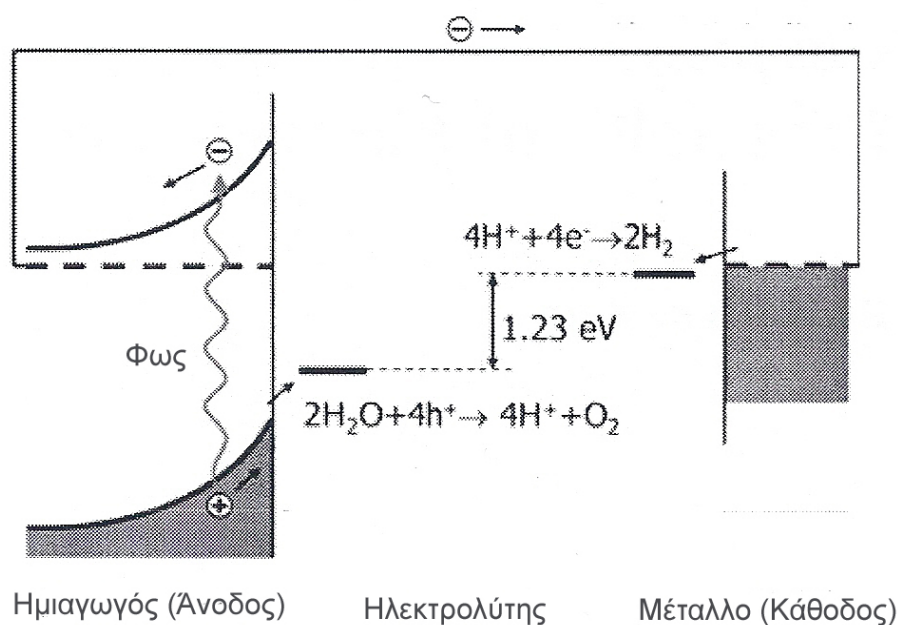


Ομοίως,

$$\Delta G^\circ = +237.18 \text{ kJ mol}^{-1} \quad 2.29$$

$$\Delta E^\circ_{\text{avt.}} = \Delta G^\circ / nF = 1.23 \text{ V} \quad 2.30$$

$$E_{\text{λειτ.}} = \Delta E^\circ_{\text{avt.}} + \eta_\alpha + \eta_\kappa + \eta_\Omega + \eta_{\text{συσ.}} \quad 2.31$$

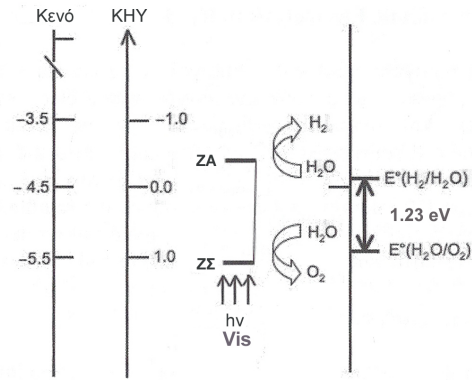


Σχήμα 2.21: Σχηματική αναπαράσταση μιας φωτοηλεκτροχημικής κυψέλης ημιαγωγού-μετάλλου καθώς και οι αντίστοιχες ενεργειακές στάθμες για τη φωτοηλεκτρόλυση του νερού. Τροποποιημένο από [5].

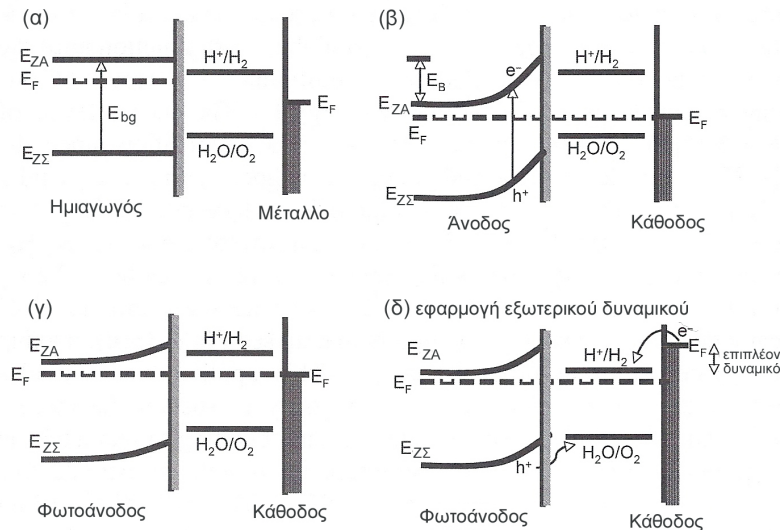
Ο μηχανισμός της αντίδρασης εξαρτάται από τη φύση των ηλεκτροδίων αλλά και του ηλεκτρολύτη. Για παράδειγμα, σε όξινα ηλεκτρολυτικά διαλύματα κυριαρχούν οι ημιαντιδράσεις που περιγράφονται με όρους ανταλλαγής H^+ , ενώ σε βασικά με όρους ανταλλαγής OH^- [138]. Σε κάθε περίπτωση, θα πρέπει να αναφερθεί πως οι ημιαντιδράσεις που περιγράφηκαν παραπάνω είναι απλοποίηση ενός περίπλοκου μηχανισμού αντιδράσεων πολλών ηλεκτρονίων. Επίσης, συμβαίνουν ανταγωνιστικές και παρασιτικές αντιδράσεις, γεγονός που επιβεβαιώνεται από το ότι τα πραγματικά συστήματα απαιτούν τελικά δυναμικό μεγαλύτερο των 1.23 V για τη διάσπαση του νερού (εξ. 2.31). Στην πραγματικότητα, η ηλεκτρόλυση του νερού απαιτεί συνήθως δυναμικό μεταξύ 1.6 και 1.9 V, το οποίο εξαρτάται πάντοτε από την απαιτούμενη ποσότητα υδρογόνου [139, 140]. Με άλλα λόγια, τα απορροφούμενα φωτόνια από έναν ημιαγωγό θα πρέπει να παράγουν ηλεκτροχημικό δυναμικό μεγαλύτερο από 1.6 V.

Μια τυπική φωτοηλεκτροχημική κυψέλη για τη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού αποτελείται από μια ημιαγώγιμη φωτοάνοδο και μια μεταλλική κάθοδο. Σε μια ιδανική περίπτωση (σχήμα 2.22), υπό την επίδραση ακτινοβολίας, η ζώνη αγωγιμότητας του ημιαγωγού πρέπει να βρίσκεται αρνητικότερα (vs ΚΗΥ) σε σχέση με το δυναμικό αναγωγής του νερού, ενώ η ζώνη σθένους θα πρέπει να βρίσκεται σε θετικότερες τιμές σε σχέση με το δυναμικό οξείδωσης του νερού.

Το διάγραμμα των ενεργειακών ζωνών μιας ΦΗΚ, η οποία βρίσκεται σε επαφή με ηλεκτρολυτικό οξειδοαναγωγικό ζεύγος, δίνεται στο σχήμα 2.23. Στο σχήμα 2.23α δεν υπάρχει επαφή ανόδου και καθόδου (καμία ισορροπία χημικού δυναμικού). Στο σχήμα 2.23β η σύνδεση των δυο ηλεκτροδίων, απουσία φωτός, έχει ως αποτέλεσμα τη μεταφορά φορτίου από την ημιαγώγιμη άνοδο, η οποία έχει αρνητικότερη ενέργεια Fermi, προς τη μεταλλική κάθοδο, η οποία έχει θετικότερη ενέργεια Fermi, μέχρι αυτές οι ενέργειες να έρθουν σε ισορροπία. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα την κάμψη των ζωνών του ημιαγωγού κατά ενέργεια ίση με E_B .



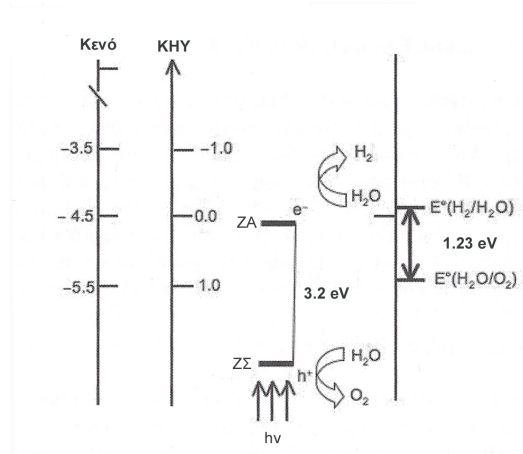
Σχήμα 2.22: Θέσεις ενέργειας των ΖΑ και ΖΣ ενός ημιαγωγού, ως προϋπόθεση για τη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού. Η κλίμακα της ενέργειας δίνεται σε ηλεκτρονιοβόλτς (eV), χρησιμοποιώντας είτε το ΚΗΥ, είτε την ενέργεια σε σχέση με το άπειρο ως αναφορά. Τροποποιημένο από [5].



Σχήμα 2.23: Ενεργειακά διαγράμματα μιας φωτοηλεκτρολυτικής κυψέλης ημιαγωγού-μετάλλου. Καμία επαφή και καμία ισορροπία χημικού δυναμικού (α), γαλβανική επαφή στο σκοτάδι (β), επίδραση της ακτινοβολίας (γ), επίδραση ακτινοβολίας και εξωτερικά εφαρμοζόμενου δυναμικού (δ). Τροποποιημένο από [4].

Τα ενεργειακά επίπεδα του σχήματος 2.23β δεν ευνοούν τη διάσπαση του νερού από τη στιγμή που η ενέργεια Fermi του καθοδικού ηλεκτροδίου είναι θετικότερη από την ενέργεια του ζεύγους H^+/H_2 . Όπως φαίνεται στο σχήμα 2.23γ, το επιφανειακό δυναμικό της φωτοανόδου και της αναγωγής του νερού (H^+/H_2) έχει χαμηλώσει, όμως συνήθως, το δυναμικό αναγωγής του νερού (H^+/H_2) παραμένει αρνητικότερο από την ενέργεια Fermi της καθόδου. Επομένως, απαιτείται η εφαρμογή εξωτερικού ανοδικού δυναμικού, ώστε η ενέργεια Fermi της καθόδου να μεταφερθεί σε αρνητικότερες τιμές σε σχέση με το δυναμικό αναγωγής του νερού (σχήμα 2.23δ), καθιστώντας δυνατή τη διάσπαση του νερού. Το εξωτερικά εφαρμοζόμενο δυναμικό παρέχει την απαιτούμενη υπέρταση στο καθοδικό ηλεκτρόδιο, ώστε να διατηρεί τη ροή ηλεκτρονίων, καθώς επίσης αυξάνει και την κάμψη των ζωνών του ημιαγωγού, ώστε να διατηρείται το απαραίτητο ηλεκτρικό πεδίο για το διαχωρισμό του φορτίου (e^-h^+).

Μια τέτοια περίπτωση είναι η επαφή του TiO_2 με ένα ηλεκτρολυτικό διάλυμα σε $pH=1$ (σχήμα 2.24).



Σχήμα 2.24: Θέσεις ενέργειας των ZA και ZΣ της μορφής ανατάσης του TiO_2 (ενέργεια χάσματος 3.2 eV) σε $pH=1$, ως προϋπόθεση για τη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού. Η κλίμακα της ενέργειας δίνεται σε ηλεκτρονιοβόλτς (eV), χρησιμοποιώντας είτε το KHY, είτε την ενέργεια σε σχέση με το άπειρο ως αναφορά. Τροποποιημένο από [5].

Η φωτοάνοδος TiO_2 [18, 20, 141-145], με ενεργειακό χάσμα 3.2 eV, παράγει φωτοδυναμικά της τάξης των 0.7 με 0.9 V, υπό την επίδραση ηλιακής ακτινοβολίας. Επομένως, αποτελεσματική διάσπαση του νερού μπορεί να συμβεί στην περίπτωση που εφαρμοστεί εξωτερικά δυναμικό ή εσωτερική ενίσχυση του χημικού δυναμικού, μέσω της δημιουργίας ανοδικού και καθοδικού τμήματος διαφορετικής συγκέντρωσης υδρογονοκατιόντων.

Το εξωτερικά εφαρμοζόμενο δυναμικό αποτελεί ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο στη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού. Το δυναμικό αυτό μπορεί να εφαρμοστεί είτε από μια εξωτερική πηγή δυναμικού, είτε από την εμβάπτιση της ανόδου σε ένα βασικό διάλυμα και της καθόδου σε ένα όξινο. Πολλά ημιαγώγιμα οξειδία ($SrTiO_3$, Ta_2O_5 , Nb_2O_5 κ.α.) έχουν

δυναμικά κατάσταση flat band υψηλότερα από το ζεύγος H^+/H_2 (σχήμα 2.18) και επομένως δεν απαιτείται η εφαρμογή εξωτερικού δυναμικού για τη διάσπαση του νερού. Δυστυχώς όμως, αυτά τα ημιαγώγιμα οξειδία έχουν σχετικά μεγάλα ενεργειακά χάσματα, με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν χαμηλή οπτική απορρόφηση και επομένως χαμηλές αποδόσεις στην περιοχή του ορατού φωτός.

Επίσης, η μέση απόσταση που διανύουν οι οπές και τα ηλεκτρόνια πριν από την παγίδευσή τους ή την επανασύνδεσή τους αναφέρεται ως μήκος διάχυσης e^-h^+ (L). Για ένα αποδοτικό φωτοηλεκτροχημικό σύστημα, το μήκος διάχυσης των φορέων θα πρέπει να είναι συγκρίσιμο ή μεγαλύτερο από το πάχος του φιλμ του ημιαγωγού (d), δηλαδή $L \sim d$ ή $L > d$, έτσι ώστε τα φωτο-δημιουργούμενα ζεύγη e^-h^+ να συλλέγονται πριν από την επανασύνδεσή τους [146]. Για μια αποτελεσματική φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού, οι φορείς φορτίου πρέπει να διαχωρίζονται ταχύτητα και να μεταφέρονται προς το αντίθετο ηλεκτρόδιο μέσω εξωτερικού κυκλώματος, χωρίς να επανασυνδέονται με τις οπές. Οι απώλειες λόγω επανασύνδεσης στο εσωτερικό του ημιαγωγού, καθώς και στην επιφάνειά του, μειώνουν την αποτελεσματικότητα του συστήματος, εάν η κινητική της μεταφοράς του φορτίου μέσα στον ηλεκτρολύτη είναι αργή [147].

Εμπλουτισμός ή φόρτωση του ημιαγωγού με ένα ευγενές μέταλλο μπορεί να περιορίσει ως ένα βαθμό την επανασύνδεση e^-h^+ μέσω της δημιουργίας ενός φράγματος Schottky. Πολύ συχνά η προσθήκη διαφόρων «θυσιαζόμενων» ενώσεων, όπως ανόργανα άλατα ή οργανικές ενώσεις, μπορούν να επιφέρουν αύξηση της απόδοσης του συστήματος, μέσω δέσμευσης των φωτο-δημιουργούμενων οπών [148].

Συνολικά, για να έχει νόημα η φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού, 4 είναι οι βασικές προϋποθέσεις:

- Τα άκρα των ζωνών σθένους και αγωγιμότητας του ημιαγωγού θα πρέπει να επικαλύπτουν τα ενεργειακά επίπεδα των αντιδράσεων αναγωγής του υδρογόνου και του οξυγόνου
- Το ημιαγώγιμο υλικό θα πρέπει να είναι σταθερό στις συνθήκες φωτοηλεκτρόλυσης του νερού
- Η μεταφορά φορτίου από την επιφάνεια του ημιαγωγού θα πρέπει να είναι αρκετά γρήγορη, ώστε να μην υπάρχουν φαινόμενα διάβρωσής του, όπως επίσης και ενεργειακές απώλειες λόγω υπερτάσεων
- Θα πρέπει να λαμβάνει χώρα ο ταυτόχρονος διαχωρισμός του παραγόμενου υδρογόνου και του οξυγόνου

2.8 Τύποι φωτοηλεκτροχημικών κυψελών για τη διάσπαση του νερού

Υπάρχουν τρεις τύποι φωτοηλεκτροχημικών κυψελών που χρησιμοποιούν ημιαγώγιμα ηλεκτρόδια για τη διάσπαση του νερού.

2.8.1 Φωτοηλεκτρολυτική κυψέλη

Σε αυτόν τον τύπο κυψέλης τα ηλεκτρόδια είναι εμβαπτισμένα στο ίδιο, σταθερού pH διάλυμα. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η εξής κυψέλη: n-SrTiO₃ φωτοάνοδος|9.5-10 M NaOH ηλεκτρολύτης|Pt κάθοδος. Η βασική αρχή λειτουργίας αυτής της κυψέλης είναι η παραγωγή ενός εσωτερικού ηλεκτρικού πεδίου στη διεπιφάνεια ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη, ικανό να διαχωρίσει το φωτο-δημιουργούμενο ζεύγος e⁻-h⁺. Οι σπές και τα ηλεκτρόνια είναι αμέσως διαθέσιμα για την οξειδωση του νερού και αναγωγή των H⁺ στην άνοδο και στην κάθοδο, αντίστοιχα. Η άνοδος και η κάθοδος είναι διαχωρισμένες [149-152], αλλά μπορούν να συνδυαστούν σε μια μονολιθική συσκευή, η οποία ονομάζεται φωτοχημική δίοδος [153].

2.8.2 Φωτο-βοηθούμενη ηλεκτρολυτική κυψέλη

Αυτή η κυψέλη λειτουργεί υπό την επίδραση ακτινοβολίας, σε συνδυασμό με εξωτερικά εφαρμοζόμενο δυναμικό, το οποίο σκοπεύει είτε στην υποστήριξη ηλεκτρολυτικών αντιδράσεων για τις οποίες η ενέργεια των φωτονίων δεν είναι αρκετή, είτε στην αύξηση του ρυθμού μετατροπής της χημικής ενέργειας από τη μείωση της επανασύνδεσης ηλεκτρονίων-οπών στο εσωτερικό του ημιαγωγού [20, 141-145, 154-159]. Συνήθως, το εξωτερικά εφαρμοζόμενο δυναμικό παρέχεται για την υποστήριξη των ηλεκτρολυτικών αντιδράσεων. Δυο χαρακτηριστικοί τύποι κυψελών αυτής της κατηγορίας είναι:

- Φωτοηλεκτρολυτική κυψέλη με χημικώς ενισχυόμενο εφαρμοζόμενο δυναμικό
- Φωτοηλεκτρολυτική κυψέλη ευαισθητοποιημένη με χρωστικές

2.8.3 Φωτοβολταϊκή ηλεκτρολυτική κυψέλη

Αυτή η κυψέλη χρησιμοποιεί ένα στερεής κατάστασης φωτοβολταϊκό για την παραγωγή ηλεκτρισμού, ο οποίος στη συνέχεια διοχετεύεται σε συσκευή ηλεκτρόλυσης νερού. Ένα άλλο σύστημα αυτής της κατηγορίας χρησιμοποιεί μια ημιαγώγιμη φωτοβολταϊκή κυψέλη ως μια μονολιθική συσκευή, η οποία είναι εμβαπτισμένη απευθείας σε ένα υδατικό διάλυμα. Αυτή η κυψέλη χρησιμοποιεί μια επαφή p-n Schottky στερεής κατάστασης, η οποία μπορεί να παράγει το απαιτούμενο εσωτερικό πεδίο για το διαχωρισμό του φορτίου και την παραγωγή φωτο-δυναμικού ικανού για τη διάσπαση του νερού [34, 160-164].

2.9 Φωτοηλεκτροχημική απόδοση μετατροπής της ηλιακής ενέργειας προς υδρογόνο (ΗΕΠΥ)

Σε συνθήκες σταθερής κατάστασης, η μετακίνηση φορτίου μεταξύ ανόδου και καθόδου αντιπροσωπεύει ένα ρεύμα, το λεγόμενο φωτόρευμα το οποίο προκαλείται από την απορρόφηση φωτονίων. Το φωτόρευμα είναι αναπόσπαστα συσχετισμένο με την απόδοση

του φωτοηλεκτροχημικού συστήματος. Πιο συγκεκριμένα, οι ημιαντιδράσεις που παρουσιάστηκαν παραπάνω, περιέγραφαν πως 2 ηλεκτρόνια καταναλώνονται για την παραγωγή ενός μορίου H_2 . Έτσι, στο ρυθμό παραγωγής υδρογόνου, αυτός είναι ο μισός ρυθμός ροής ηλεκτρονίων, με άλλα λόγια το μισό φωτόρευμα:

$$R_{H_2} = \frac{I_{photo}}{2e} = \frac{(J_{photo} \times A)}{2e} \quad 2.32$$

όπου R_{H_2} είναι ο ρυθμός παραγωγής υδρογόνου (s^{-1}), I_{photo} είναι το φωτόρευμα (A), e είναι το φορτίο του ηλεκτρονίου (C), A είναι η επιφάνεια του ηλεκτροδίου που ακτινοβολείται (m^2) και J_{photo} είναι η πυκνότητα φωτορεύματος ($A m^{-2}$).

Η χημική ΗΕΠΥ απόδοση ενός ηλιακού συστήματος παραγωγής υδρογόνου ορίζεται από το λόγο της χρησιμοποιούμενης χημικής ενέργειας για την παραγωγή υδρογόνου προς την ολική ηλιακή ενέργεια που δόθηκε στο σύστημα [155, 165-168]. Σε συνθήκες λειτουργίας σταθερής κατάστασης, ο λόγος αυτός είναι ισοδύναμος με το λόγο της ενέργειας που προσφέρεται προς την ενέργεια που αποδίδεται από το σύστημα:

$$\frac{P_{εξ.}}{P_{εισ.}} = \frac{(\text{ρυθμός παραγωγής υδρογόνου}) \times (\text{πυκνότητα ενέργειας υδρογόνου})}{\text{Ηλιακή ενέργεια που προσπίπτει στην ακτινοβολούμενη επιφάνεια}} \quad 2.33$$

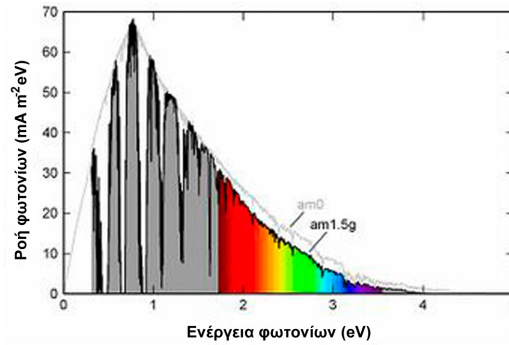
Χρησιμοποιώντας το ρυθμό παραγωγής υδρογόνου της εξίσωσης 2.32 και την ελεύθερη ενέργεια Gibbs, ως την ωφέλιμη πυκνότητα ενέργειας του υδρογόνου, η ΗΕΠΥ απόδοση του φωτοηλεκτροχημικού συστήματος μπορεί να γραφεί ως εξής:

$$STH(\%) = \frac{\frac{\Delta G}{N_A} \times R_{H_2}}{P_{\text{Ηλιακή}} \times A} = \frac{\frac{\Delta G}{N_A} \left(\frac{J_{photo} \times A}{2e} \right)}{P_{\text{Ηλιακή}} \times A} = \frac{\Delta G}{2eN_A} \times J_{photo} \quad 2.34$$

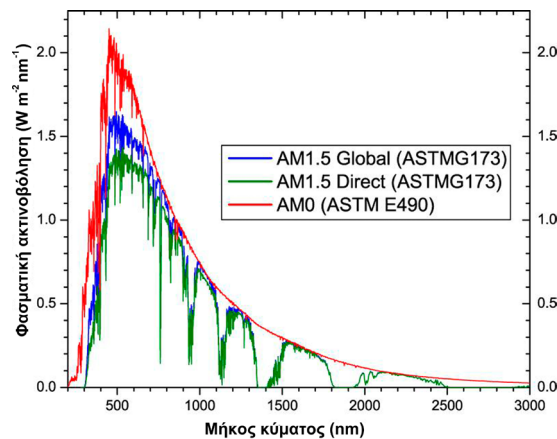
όπου N_A είναι ο αριθμός Avogadro και $P_{\text{Ηλιακή}}$ είναι η ροή ηλιακής ενέργειας σε $W m^{-2}$.

Ο πρώτος λόγος της εξίσωσης 2.34 είναι δεδομένος για οποιοδήποτε ΗΕΠΥ σύστημα, ενώ ο δεύτερος όρος προκύπτει αποκλειστικά για φωτοηλεκτροχημική παραγωγή υδρογόνου, χρησιμοποιώντας το ρυθμό παραγωγής της εξίσωσης 2.32.

Η ροή φωτονίων της ηλιακής ακτινοβολίας αποτελείται από ένα ευρύ φάσμα ενεργειακών φωτονίων, τα οποία είναι κβαντισμένα σωματίδια φωτός και το καθένα από αυτά περιέχει συγκεκριμένο ενεργειακό περιεχόμενο. Στο σχήμα 2.25 παρουσιάζεται το τυπικό ηλιακό φάσμα (AM1.5G), φιλτραρισμένο από την ατμόσφαιρα, το οποίο δείχνει το εύρος της ενέργειας των φωτονίων και τη διανομή της ενέργειας που εκπέμπεται από αυτά τα φωτόνια [169]. Το φάσμα AM1.5G χρησιμοποιείται επίσης και ως συνάρτηση του μήκους κύματος των φωτονίων, όπως φαίνεται στο σχήμα 2.26.



Σχήμα 2.25: Φάσμα AM1.5 παγκόσμιας και κοσμικής (AM0) ακτινοβολίας ως συνάρτηση της ενέργειας των φωτονίων.



Σχήμα 2.26: Φάσμα AM1.5 παγκόσμιας και κοσμικής (AM0) ηλιακής ακτινοβολίας ως συνάρτηση του μήκους κύματος των φωτονίων.

Ολοκληρώνοντας την AM1.5G ροή φωτονίων λαμβάνουμε μια συνολική πυκνότητα ηλιακής ενέργειας περίπου 100 mW m^{-2} . Χρησιμοποιώντας την τιμή αυτή για $P_{\text{ηλιακή}}$ στην εξίσωση 2.34, η ΗΕΠΥ απόδοση μπορεί να συσχετιστεί απευθείας με την πυκνότητα φωτορεύματος ενός φωτοηλεκτροχημικού συστήματος:

$$\text{STH}_{\text{AM1.5}}(\%) \approx \underbrace{0.123 \times J_{\text{photo}}}_{J(\text{A m}^{-2})} = \underbrace{1.23 \times J_{\text{photo}}}_{J(\text{mA m}^{-2})} \quad 2.35$$

Η εξίσωση 2.35 δείχνει τη γραμμική σχέση μεταξύ της απόδοσης και της πυκνότητας φωτορεύματος που υπολογίζεται κάτω από AM1.5G ηλιακή ακτινοβολία. Η χρησιμοποίηση της ελεύθερης ενέργειας Gibbs σε αυτές τις εξισώσεις αντανάκλα τη χημική ενέργεια του υδρογόνου, η οποία μπορεί να παραχθεί από μια ιδανική κυψέλη καυσίμου. Ως αποτέλεσμα, υπολογίζεται και η χαμηλότερη τιμή θερμότητας (ΧΤΘ), η οποία χρησιμοποιείται για τη σύγκριση μεταξύ διαφόρων κυψελών καυσίμου [NIST chemistry webbook: NIST standard reference database number 69 <http://webbook.nist.gov/chemistry/>. Accessed July 15 2013].

Από την εξίσωση 2.35 γίνεται ξεκάθαρο πως η πυκνότητα φωτορεύματος είναι το κλειδί της αποτελεσματικότητας της ΗΕΠΥ. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τις στερεής κατάστασης φωτοβολταϊκές κυψέλες, οι οποίες χρειάζεται να λειτουργούν στο μέγιστο βαθμό (π.χ. μέγιστο φωτόρευμα και φωτο-δυναμικό) για την καλύτερη ηλιακή-σε-ηλεκτρική απόδοση [170]. Το γεγονός πως τα φωτοηλεκτροχημικά συστήματα πρέπει να λειτουργούν στο μέγιστο φωτόρευμα για την καλύτερη λειτουργία παραγωγής υδρογόνου, πρόκειται για ένα μικρό αλλά ουσιώδη διαχωρισμό. Το ενεργειακό χάσμα του ημιαγωγού είναι τελικά εκείνο που δίνει το μέγιστο φωτόρευμα, το οποίο επηρεάζει και περιορίζει το ρυθμό παραγωγής υδρογόνου. Για μέγιστη ΗΕΠΥ απόδοση ικανοποιητικό φωτο-δυναμικό θα πρέπει να παράγεται σε μια συσκευή, ώστε το φωτόρευμα να είναι όσο το δυνατό πιο κοντά στο όριο κορεσμού. Το γεγονός αυτό αποτελεί πρόκληση λαμβάνοντας υπόψη όλες τις απώλειες λόγω κατασκευαστικών ατελειών των υλικών, τις απώλειες στις διάφορες διεπιφάνειες και τις απώλειες που οφείλονται στα διάφορα ηλεκτρολυτικά διαλύματα.

Μερικές ακόμα μέθοδοι που χρησιμοποιούνται [18, 165, 171, 172] με στόχο την περιγραφή της απόδοσης των φωτοηλεκτροχημικών συστημάτων στη διάσπαση του νερού δίνονται συνοπτικά στη συνέχεια.

α) Απόδοση φωτονίων-προς-ρεύμα με εξωτερικά εφαρμοζόμενο δυναμικό (ΑΦΡΕΕΔ ή ABPE, applied bias photo-to-current efficiency): η μέτρηση της ABPE δεν είναι αυστηρά μια μετατροπή της ηλιακής ενέργειας σε υδρογόνο, διότι στην απόδοση αυτή υπεισέρχεται και η ενέργεια εξωτερικά εφαρμοζόμενου δυναμικού. Παρόλα αυτά, η εξάρτηση από το εξωτερικό δυναμικό δεν είναι το μοναδικό κριτήριο για τον υπολογισμό της ABPE στην παραγωγή υδρογόνου. Επιπροσθέτως, η ποσότητα του φωτορεύματος αποτελεί βασικό παράγοντα για την επίτευξη υψηλότερων αποδόσεων σε μια φωτοηλεκτροχημική διεργασία, όπως φαίνεται από την παρακάτω εξίσωση (εξίσωση 2.36):

$$ABPE = \left[|J_{photo}| (\text{mA cm}^{-2}) \times (1.23 - |V_{ε.δ.}|)(V) \right] / [P_{ολική} (\text{mW cm}^{-2})]_{AM\ 1.5G} \quad 2.36$$

β) Απόδοση μετατροπής φωτονίων σε ηλεκτρικό ρεύμα ή εξωτερική κβαντική απόδοση (ΕΚΑ ή IPCE, incident photon to current efficiency): Η IPCE ορίζει το παραγόμενο φωτόρευμα ανά προσπίπτουσα ροή φωτονίων συναρτήσει του μήκους κύματος της ακτινοβολίας. Η IPCE μετριέται ως ο λόγος του φωτορεύματος συστήματος τριών ηλεκτροδίων σε ένα χρονοαμπερομετρικό (ποτενσιοστατικό) πείραμα συναρτήσει του ρυθμού ροής ηλεκτρονίων από μια πηγή μονοχρωματικής ακτινοβολίας σε διάφορα μήκη κύματος (εξίσωση 2.37):

$$IPCE = \left[|J_{photo}| (\text{mA cm}^{-2}) \times 1240 (\text{V nm}^{-1}) \right] / [P_{μόνο} (\text{mW cm}^{-2}) \times \lambda (\text{nm})] \quad 2.37$$

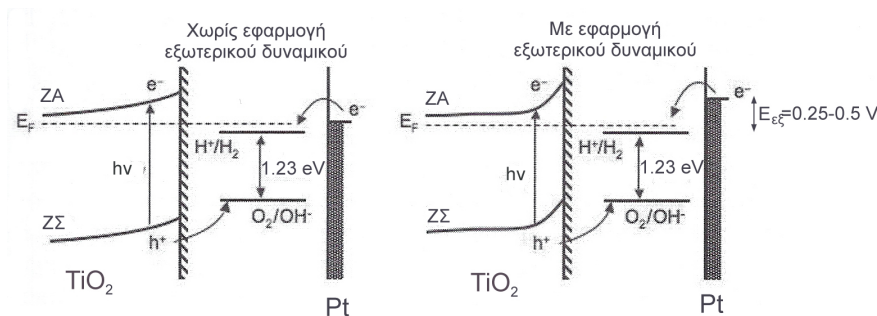
γ) Εσωτερική κβαντική απόδοση ή απόδοση απορρόφησης φωτονίων προς ηλεκτρικό ρεύμα (ΑΑΦΡ ή APCE, Absorbed photo-to-current efficiency): Η APCE ορίζει την απόδοση μιας

φωτοηλεκτροχημικής συσκευής ως προς την παραγωγή φωτορεύματος ανά απορροφούμενο φωτόνιο. Με άλλα λόγια, η APCE χρησιμοποιείται για την παραγωγή μιας σχέσης μεταξύ της μέγιστης απορρόφησης φωτονίων σε σχέση με τη μικρότερη δυνατή και αποτελεσματική μεταφορά φορτίου μέσα στο ημιαγώγιμο υλικό:

$$APCE(\lambda) = \left[\frac{J_{\text{photo}} (\text{mA cm}^{-2}) \times 1240 (\text{V nm}^{-1})}{P_{\text{μόνο}} (\text{mW cm}^{-2}) \times \lambda (\text{nm}) \times (1-10^{-A})} \right] \quad 2.38$$

όπου A είναι η απορρόφηση ενός λεπτού υμενίου, η οποία υπολογίζεται από το λογαριθμικό λόγο της έντασης της εξερχόμενης ακτινοβολίας (I) προς την ένταση της προσπίπτουσας (I₀), όπως προσδιορίζονται με τη φασματοφωτομετρία UV-Vis.

Στην πρώτη αναφορά για τη φωτοηλεκτρόλυση του νερού από τους Honda και Fujishima [16] χρησιμοποιήθηκε ως φωτοάνοδος το n-τύπου TiO₂ και ως κάθοδος λευκόχρυσος (Pt), όπου παρατηρήθηκε πως το φώτο-δυναμικό που δημιουργείται δεν είναι ικανό για τη διάσπαση του νερού. Ένα επιπλέον δυναμικό της τάξης των 0.25-0.50 V απαιτείται, ώστε να επιτευχθεί έκλυση οξυγόνου στο ηλεκτρόδιο TiO₂ και ταυτόχρονη έκλυση υδρογόνου στο ηλεκτρόδιο Pt.



Σχήμα 2.27: Σχηματική αναπαράσταση της επίδρασης του εξωτερικά εφαρμοζόμενου δυναμικού στη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού. Τροποποιημένο από [4].

Έκτοτε, ένας πολύ μεγάλος αριθμός φωτο-ηλεκτροδίων έχει αναπτυχθεί και μελετηθεί, όπως τα SnO₂, WO₃, Fe₂O₃, TiO₂, n-GaN, CdS και ZnS για φωτοάνοδοι και τα ηλεκτρόδια Cu(In, Ga)Se₂/Pt, p-InP/Pt και p-SiC/Pt ως φωτο-κάθοδοι [173-176]. Τα ημιαγώγιμα οξείδια TiO₂, WO₃, SrTiO₃, BaTiO₃, SnO₂, ZnO κ.α. είναι σταθερά σε υδατικά διαλύματα ηλεκτρολυτών, όμως παρουσιάζουν μεγάλα ενεργειακά χάσματα με αποτέλεσμα να ενεργοποιούνται από απορρόφηση μόνο UV ακτινοβολίας. Από την άλλη μεριά, ημιαγωγοί χαμηλών ενεργειακών χασμάτων όπως Si, GaAs, InP, CdTe, CdSe, Cu₂O κ.α. έχουν τη δυνατότητα απορρόφησης ορατής ακτινοβολίας, αλλά φωτο-διαβρώνονται σε υδατικά ηλεκτρολυτικά διαλύματα [177, 178].

Το σχήμα 2.28 δείχνει τα χημικά στοιχεία που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή φωτοκαταλυτών με ετεροάτομα, τα οποία διαχωρίζονται σε τέσσερις ομάδες: i) στοιχεία για την παρασκευή κρυσταλλικών και ενεργειακών δομών, ii) στοιχεία για την παρασκευή κρυσταλλικών αλλά όχι ενεργειακών δομών, iii) στοιχεία που χρησιμοποιούνται στον εμπλουτισμό (doping) των φωτοκαταλυτών και iv) στοιχεία τα οποία χρησιμοποιούνται ως συν-καταλύτες (co-catalysts).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Ce Pr Nd Pm Sm Eu Gd Tb Dy Ho Er Tm Yb Lu																	
i)  : d ⁰ ιόν	} για παρασκευή κρυσταλλικών και ενεργειακών δομών																
ii)  : d ¹⁰ ιόν																	
iii)  : αμέταλλο																	
ii) 	για παρασκευή μόνο κρυσταλλικών δομών																
iii) 	εμπλουτισμός																
iv) 	συν-καταλύτες																

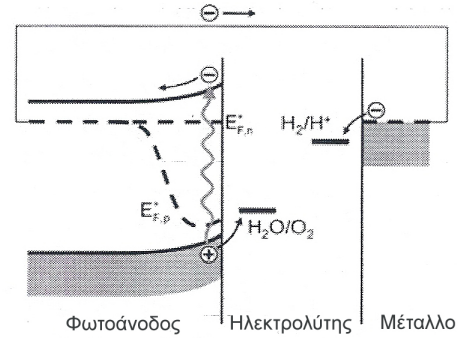
Σχήμα 2.28: Στοιχεία που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή φωτοκαταλυτών ετεροατόμων. Τροποποιημένο από [179].

Ένα από τα πιο αποτελεσματικά υλικά είναι το TiO₂, το οποίο έχει μελετηθεί κατά κόρον και είναι ιδιαίτερα ελκυστικό λόγω της φωτοκαταλυτικής του ενεργότητας, σταθερότητας σε φαινόμενα διάβρωσης, του χαμηλού κόστους του και της μη εμφάνισης τοξικότητας [180, 181]. Ο Zhou και οι συνεργάτες του [182] παρασκεύασαν λεπτό υμένιο (φιλμ) TiO₂, εμπλουτισμένο (doped) με άνθρακα (C), το C-TiO₂, και βρήκαν πως ο ρυθμός παραγωγής υδρογόνου ενισχύεται σε ακτινοβολία μήκους κύματος 325 nm. Περαιτέρω ενίσχυση της παραγωγής υδρογόνου (0.5 μmol H₂ min⁻¹) γίνεται από την εφαρμογή εξωτερικού δυναμικού πόλωσης (+0.75 V) και την προσθήκη «θυσιαζόμενων» ενώσεων (μεθανόλη, ισοπροπανόλη κ.α.). Ο Zhang και οι συνεργάτες του [183] παρασκεύασαν συστοιχία νανοσωλήνων TiO₂ (TiO₂ NTs) με διεργασία ανοδίωσης 2-σταδίων και βρήκαν πως η απόδοση μετατροπής φωτονίων προς υδρογόνο αυξήθηκε από 0.18% (για TiO₂ NTs με ανοδίωση σε 1-στάδιο) σε 0.49% (για TiO₂ NTs με ανοδίωση σε 2-στάδια). Προτείνουν πως ηλεκτρόδια TiO₂ TNs (1 διάστασης, 1D) παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση της φωτοηλεκτροχημικής διάσπασης του νερού και παραγωγής υδρογόνου λόγω των πλεονεκτημάτων που παρουσιάζουν, όπως είναι η πολύ μεγάλη ενεργός επιφάνεια και η ταχύτατη διάχυση των φορέων φορτίου προς μια μόνο κατεύθυνση (1D), με αποτέλεσμα τη μείωση του ρυθμού επανασύνδεσης των ζευγών e⁻-h⁺. Ο Mor και οι συνεργάτες του [184] παρασκεύασαν συστοιχία νανοσωλήνων TiO₂ ανοδιώνοντας φύλλο Ti, όπου προσδιόρισαν μια απόδοση φωτονίων του 4% υπό τη επίδραση UV ακτινοβολίας (λ=320-400 nm). Μετέπειτα, ο Paulose και οι συνεργάτες του [185] παρασκεύασαν νανοσωλήνες TiO₂ με μήκος 45 μm

πετυχαίνοντας, υπό την επίδραση UV ακτινοβολίας ($\lambda=320-400$ nm), φωτόρρευμα της τάξης των 26 mA cm^{-2} και μια απόδοση μετατροπής φωτονίων 16.25%.

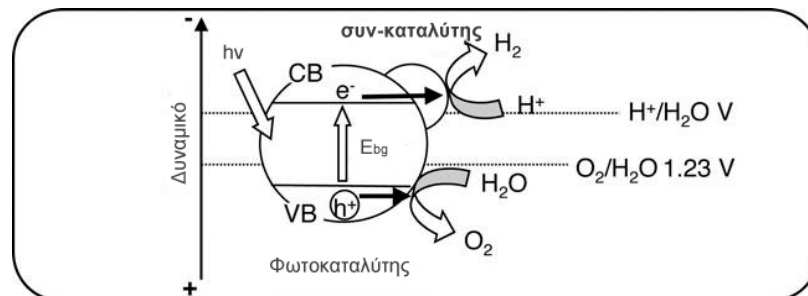
Ένας ημιαγωγός με παρόμοιες φωτοηλεκτροκαταλυτικές ιδιότητες, όπως αυτές του TiO_2 , είναι το SrTiO_3 . Το SrTiO_3 είναι ένα χημικώς και μηχανικώς ανθεκτικό υλικό, το οποίο παρουσιάζει διαμόρφωση περοβσκίτη (παραμορφωμένο κυβικό και ενίοτε ψευδοοκταεδρικό).

Απορροφά και αυτό στην υπεριώδη περιοχή ακτινοβολιών ($E_{bg}=3.2 \text{ eV}$), όμως παρουσιάζει μια τάξη μεγέθους υψηλότερη καταλυτική ικανότητα στη διάσπαση του νερού σε σχέση με κρυσταλλικά ηλεκτρόδια TiO_2 απουσία εφαρμοζόμενου δυναμικού. Η ενίσχυση αυτή οφείλεται στη μεγαλύτερη κάμψη των ΖΑ και ΖΣ, η οποία είναι περίπου 0.2 eV απουσία εξωτερικά εφαρμοζόμενου δυναμικού [186]. Μια διαμόρφωση



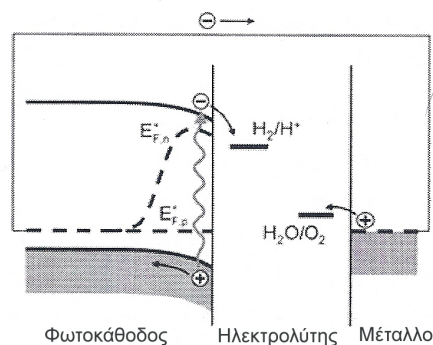
Σχήμα 2.29: Διάταξη διάσπασης νερού με φωτοάνοδο SrTiO_3 . Τροποποιημένο από [5].

φωτοηλεκτροχημικής κυψέλης με φωτοάνοδο το SrTiO_3 φαίνεται στο σχήμα 2.29. Η μετατόπιση του φάσματος απορρόφησης ακτινοβολιών στην ορατή περιοχή και για το TiO_2 , αλλά και για το SrTiO_3 , μπορεί να γίνει με εμπλουτισμό τους με διάφορα μεταβατικά μέταλλα. Για παράδειγμα, ο Marusuka και οι συνεργάτες του [187] έδειξαν την αύξηση της απορρόφησης της ηλιακής ακτινοβολίας κατά 10% σε κρυστάλλους TiO_2 εμπλουτισμένους με Cr (0.4% β/β), σε σχέση με τους απλούς κρυστάλλους TiO_2 (0.4%). Οι ίδιοι ερευνητές έδειξαν πως παρόλο που ο εμπλουτισμός με Al δεν αυξάνει την απορρόφηση στην ορατή περιοχή, αυξάνει το μήκος διάχυσης των φορέων μειονότητας (οπές), με αποτέλεσμα την αύξηση της συλλογής των φωτο-δημιουργούμενων φορέων. Στη περίπτωση του SrTiO_3 , η απόκριση στην ορατή ακτινοβολία για τη φωτο-διάσπαση του νερού βρέθηκε πως μειώνεται με την εξής σειρά τροποποίησης με διάφορα μεταλλικά ιόντα: $\text{Cr}^{+3} > \text{Co}^{+2} > \text{Ni}^{+2} > \text{Mg}^{+2} > \text{Rh}^{+3}$ [188]. Ο γενικός μηχανισμός λειτουργίας των εμπλουτισμένων φωτοκαταλυτών παρουσιάζεται στο επόμενο σχήμα.

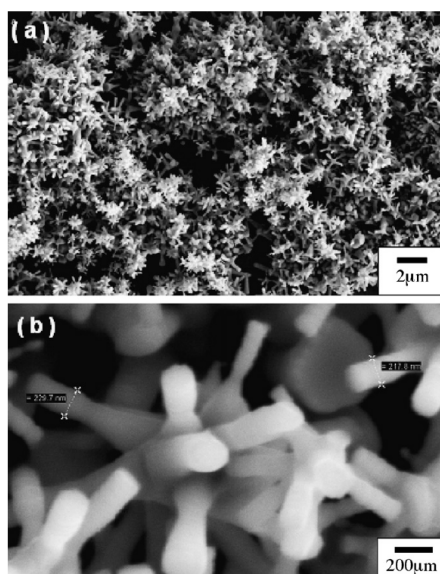


Σχήμα 2.30: Γενικό σχήμα λειτουργίας των εμπλουτισμένων (doped) φωτοκαταλυτών [179].

Το οξείδιο του χαλκού Cu_2O και το p-τύπου SiC αποτελούν υποψήφιους ημιαγωγούς για τη φωτοηλεκτροκαταλυτική διάσπαση του νερού με χρήση μιας φωτο-καθόδου και ενός μετάλλου για αντίθετο ηλεκτρόδιο. Το Cu_2O έχει βρεθεί πως φωτο-ανάγεται προς μεταλλικό Cu [189], όμως άλλες μελέτες δείχνουν πως μπορεί να είναι σταθερό κάτω από κατάλληλες συνθήκες [190, 191]. Το SiC είναι ένα από τα σταθερότερα υλικά για χρήση ως φωτο-κάθοδος, ικανό να διασπάσει το νερό, όμως η απόδοση του είναι αρκετά χαμηλή λόγω του υψηλού ενεργειακού του χάσματος ($E_{\text{bg}}=3.26 \text{ eV}$) [192]. Χαρακτηριστική διαμόρφωση φωτοηλεκτροχημικής κυψέλης με p-τύπου φωτο-κάθοδο δίνεται στο σχήμα 2.31.



Σχήμα 2.31: Διάταξη διάσπασης νερού με φωτο-κάθοδο. Τροποποιημένο από [5].



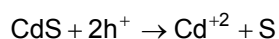
Σχήμα 2.32: Εικόνα SEM nano-δομής κοραλλιού του ZnO σε υπόστρωμα πορώδους Si [193].

Το ZnO μπορεί να αποτελέσει εναλλακτική λύση στην παρασκευή ηλεκτροδίων για τη διάσπαση του νερού. Η ΖΑ του ZnO βρίσκεται σε αρνητικότερες τιμές δυναμικού σε σχέση με την ΖΑ του TiO_2 , έχοντας τη δυνατότητα για αποτελεσματικότερη αναγωγή των H^+ προς H_2 με μεγαλύτερη απόδοση φωτονίων. Επιπροσθέτως, η μορφολογία του ZnO μπορεί εύκολα να τροποποιηθεί, γεγονός που το καθιστά ευέλικτο ως υλικό και επιτρέπει την παραγωγή πολλών διαφορετικών nano-δομών του [194]. Ο Ahn και οι συνεργάτες του [195] παρασκεύασαν μια nano-δομή κοραλλιού (σχήμα 2.32), η οποία παρήγαγε πυκνότητα φωτορεύματος 0.25 mA cm^{-2} υπό την επίδραση λάμπας βολφραμίου-αλογόνου ($\lambda=350\text{-}750 \text{ nm}$). Μια nano-δομή τετράποδου (tetrapods) παρασκευάστηκε από τον Qiu και τους συνεργάτες του [196], χρησιμοποιώντας μια διεργασία πολλών σταδίων. Η πυκνότητα του φωτορεύματος ήταν 0.12 mA cm^{-2} υπό την επίδραση ενός προσομοιωτή ηλιακού φωτός ($\lambda=350\text{-}750 \text{ nm}$) με μια απόδοση φωτονίων 0.045%.

Ένα άλλο ημιαγώγιμο οξείδιο που έχει μελετηθεί πολύ είναι ο αιματίτης, $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Το υλικό αυτό έχει το πλεονέκτημα πως απορροφά στην ορατή περιοχή του φάσματος ακτινοβολιών ($E_{\text{bg}}=2.2 \text{ eV}$ [197], $h\nu < 550\text{-}600 \text{ nm}$ [198]). Στο εύρος pH 6.5-13.6 σε διάφορα ηλεκτρολυτικά διαλύματα και σε μήκη κύματος ακτινοβολιών 280-580 nm δεν παρουσιάζει φαινόμενα διάβρωσης υπό την επίδραση εξωτερικού δυναμικού +0.5 V [199, 200]. Παρουσιάζει όμως μερικά μειονεκτήματα, τα οποία είναι η αστάθεια σε ακραίες χημικές συνθήκες και το μικρό μήκος διάχυσης του ζεύγους e^-h^+ (2-4 nm [201] και κυρίως της

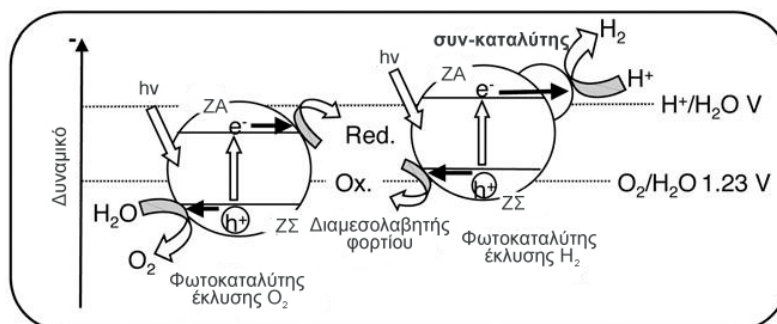
χαμηλής ευκινησίας των οπών ($10^{-2} \text{ cm}^2 \text{ V s}^{-1}$) [202]. Για αυτό το λόγο είναι απαραίτητη η χρήση του Fe_2O_3 σε πολύ λεπτά υμένα [201, 203]. Τα λεπτά όμως υμένα προσβάλλονται εύκολα και η σύζευξη με άλλα φωτοκαταλυτικά ή ηλεκτροκαταλυτικά υλικά είναι απαραίτητη. Παρόλα αυτά, το Fe_2O_3 παραμένει ένα ενδιαφέρον υλικό στη μελέτη των φωτοηλεκτροκαταλυτικών κυψελών. Ένα παρόμοιο ημιαγώγιμο οξειδίο είναι το WO_3 . Το ενεργειακό χάσμα του WO_3 είναι 2.2 eV, γεγονός που του επιτρέπει την απορρόφηση φωτονίων στη μπλε περιοχή της ορατής ακτινοβολίας και συνήθως χρησιμοποιείται στην ανοδική έκλυση οξυγόνου. Ο Cristino και οι συνεργάτες του [204] παρασκεύασαν υμένα μεσοπόρων WO_3 , τα οποία υπό την επίδραση ακτινοβολίας AM1.5 ($\lambda=300\text{-}700 \text{ nm}$) παράγαν πυκνότητα φωτορεύματος 9 mA cm^{-2} . Επίσης, ο Su και οι συνεργάτες του [205] μπόρεσαν και παρασκεύασαν καθέτως τοποθετημένες νανο-νιφάδες WO_3 , οι οποίες παράγαν πυκνότητες φωτορεύματος 1.43 mA cm^{-2} με εξωτερική κβαντική απόδοση (IPCE) 60% σε ακτινοβολία μήκους κύματος 400 nm.

Ένας από τους πιο πρόσφατους καταλύτες είναι το CdS τροποποιημένο με Pt, το οποίο παρουσιάζει υψηλή ενεργότητα παραγωγής υδρογόνου σε υδατικά διαλύματα που περιέχουν S^{2-} και SO_3^{2-} ως «θυσιαζόμενες» ενώσεις υπό την επίδραση ορατής ακτινοβολίας [206, 207]. Ο συνδυασμός του με άλλους ημιαγωγούς αυξάνει τη δραστηριότητα του, όπως επίσης και την αντοχή του σε φαινόμενα διάβρωσης (εξίσωση 2.39).



2.39

Μερικοί χαρακτηριστικοί συνδυασμοί είναι: TiO_2/CdS , ZnO/CdS , ZnS/CdS [208, 209], $\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}/\text{CdS}$ [210], $\text{K}_2\text{Ti}_4\text{O}_9/\text{CdS}$ [211]. Τα υλικά αυτά είναι πολλαπλών ενεργειακών χασμάτων και έχουν τη δυνατότητα να απορροφούν επιπλέον φωτισμό σε σχέση με το βασικό ημιαγώγ. Αντιπροσωπεύουν επίσης τους φωτοκαταλύτες δυο φωτονίων, όπως υπάρχουν στη φωτοσύνθεση των πράσινων φυτών και λειτουργούν με έναν παρόμοιο μηχανισμό όπως αυτόν του Z-φωτοσυνθετικού. Το γενικό σχήμα λειτουργίας τους φαίνεται παρακάτω (σχήμα 2.33)



Σχήμα 2.33: Φωτοκαταλυτικό σύστημα δυο φωτονίων για τη διάσπαση του νερού. Τροποποιημένο από [179].

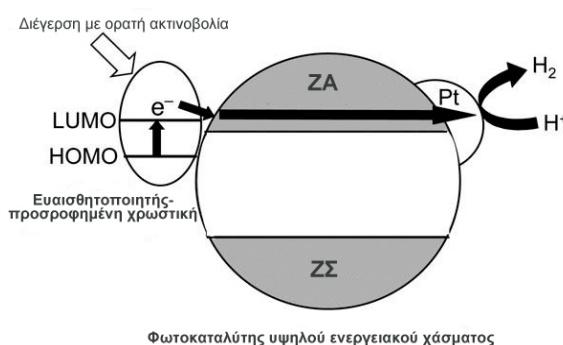
Οι φωτοκαταλύτες δυο φωτονίων αποτελούνται από ένα φωτοκαταλύτη παραγωγής υδρογόνου, ένα για παραγωγή οξυγόνου και ένα διαμεσολαβητή φορτίου. Φωτοκαταλύτες που είναι ενεργοί μόνο για κάθε ημιαντίδραση διάσπασης του νερού (OER και HER) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την κατασκευή φωτοκαταλύτη Z-μηχανισμού. Μερικά παραδείγματα φωτοκαταλυτών αυτής της κατηγορίας παρουσιάζονται στο πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1: Φωτοκαταλυτικά συστήματα Z-μηχανισμού για τη διάσπαση νερού με ορατό φωτισμό [179].*

Φωτοκαταλύτης έκλυσης H ₂	Φωτοκαταλύτης έκλυσης O ₂	Διαμεσολαβητής φορτίου	Ενεργότητα/μολ h ⁻¹			Αναφορά
			H ₂	O ₂	QY (%)	
Pt/SrTiO ₃ :Cr, Ta	PtWO ₃	IO ³⁻ /I	16	8	1 (στα 420 nm)	[212, 213]
Pt/TaON	RuO ₂ /TaON	IO ³⁻ /I	3	1.5	0.1-0.2	[214]
Pt/CaTaO ₂ N	PtWO ₃	IO ³⁻ /I	6.6	3.3	-	[215]
Pt/BaTaO ₂ N	PtWO ₃	IO ³⁻ /I	4	2	-	[215]
Pt/TaON	PtWO ₃	IO ³⁻ /I	24	12	0.4 (στα 420 nm)	[216]
Pt/SrTiO ₃ :Rh	BiVO ₄	Fe ^{3+/2+}	15	7.2	0.3 (στα 440 nm)	[217]
Pt/SrTiO ₃ :Rh	Bi ₂ MoO ₆	Fe ^{3+/2+}	19	8.9	0.2 (στα 440 nm)	[217]
Pt/SrTiO ₃ :Rh	WO ₃	Fe ^{3+/2+}	7.8	4.0	0.2 (στα 440 nm)	[217]

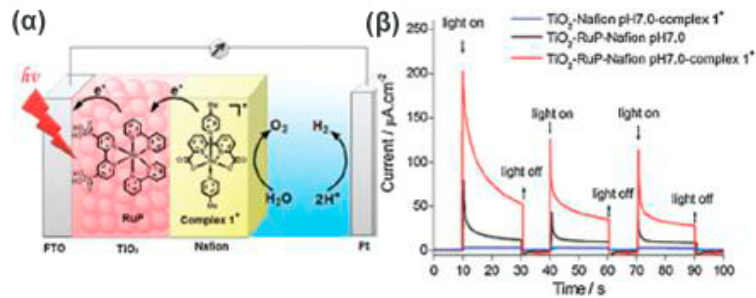
* Πηγή ακτινοβολίας: Λάμπα Xe 300 W.

Μια ακόμα ενδιαφέρουσα τροποποίηση με στόχο τη μετατόπιση του φάσματος απορρόφησης των καταλυτών στην ορατή περιοχή ακτινοβολιών είναι οι φωτοκαταλύτες ευαισθητοποιημένοι με χρωστικές, οι οποίοι λειτουργούν όπως φαίνεται στο σχήμα 2.34. Η απορρόφηση του φωτός σε αυτήν την κατηγορία καταλυτών εξαρτάται από το στρώμα της χρωστικής, πάνω στο οποίο το νερό οξειδώνεται, ενώ τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται προς τον ημιαγωγό. Όσο υψηλότερη η συγκέντρωση της χρωστικής, τόσο μεγαλύτερη και η απορρόφηση ορατής ακτινοβολίας από το σύστημα. Το υμένιο θα πρέπει να είναι αρκετά παχύ ώστε το μήκος διαδρομής της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και η απορρόφησή της από την χρωστική να είναι η μεγαλύτερη δυνατή. Όμως, αν το υμένιο είναι πολύ παχύ αναμένονται αρνητικά φαινόμενα, όπως αναποτελεσματική μεταφορά ηλεκτρονίων και μεγαλύτερη πιθανότητα επανασύνδεσης των ζευγών e⁻-h⁺ [218].



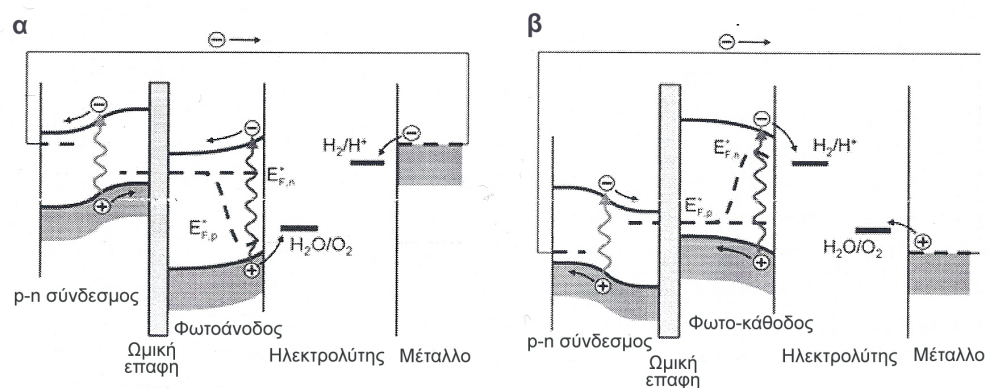
Σχήμα 2.34: Διάγραμμα λειτουργίας φωτοκαταλύτη ευαισθητοποιημένου με χρωστική ουσία. Τροποποιημένο από [179].

Ένα τυπικό παράδειγμα φωτοηλεκτροχημικής κυψέλης ευαισθητοποιημένης με χρωστική παρουσιάζεται στο επόμενο σχήμα (σχήμα 2.38).



Σχήμα 2.35: Σχηματική αναπαράσταση μιας ευαισθητοποιημένης με χρωστική ΦΗΚ, η οποία αποτελείται από φωτοάνοδο TiO_2 ευαισθητοποιημένη με RuP και από μια κάθοδο (φύλλο Pt) (α). Το RuP έχει επικάλυψη από υμένιο Nafion, στο οποίο έχει ενσωματωθεί το Complex 1^+ . Απόκριση ρεύματος κλειστού κυκλώματος σε επαναλαμβανόμενους κύκλους φωτισμού-σκότους (on-off cycles) (β) [219].

Στο σχήμα 2.35, όπου RuP είναι το σύμπλοκο $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4,4'-(\text{PO}_3\text{H}_2)_2\text{bpyO})]^{+2}$ και αποτελεί τον ευαισθητοποιητή στην ορατή περιοχή, ενώ το Complex 1^+ είναι το σύμπλοκο $\text{RuL}(\text{pic})^2$ ($\text{H}_2\text{L}=2,2'$ -biopyridine-6,6'-dicarboxyl acid; $\text{pic}=4$ -picoline). Θα πρέπει να σημειωθεί πως, σε pH 7, το δυναμικό οξειδωσης $E_{1/2}(\text{Ru}^{\text{III/II}})$ του RuP είναι πιο θετικό από το δυναμικό του Complex 1^+ για την οξειδωση του νερού, γεγονός που σημαίνει πως το φωτοπαραγόμενο Ru^{III} στο RuP ωθεί την οξειδωση του νερού από το Complex 1^+ . Παρόλο που μια χρωστική μπορεί να αυξήσει την απόδοση διάσπασης του νερού, η σταθερότητα της φωτοενεργοποίησής της σε ένα φωτοηλεκτροχημικό σύστημα είναι ένα σοβαρό πρόβλημα για τη μελλοντική εξέλιξη αυτού του συστήματος. Το κυριότερο πρόβλημα έχει να κάνει με τη διάσπαση της χρωστικής, λόγω συσσώρευσης φωτο-δημιουργούμενων οπών από τον ημιαγωγό [219].

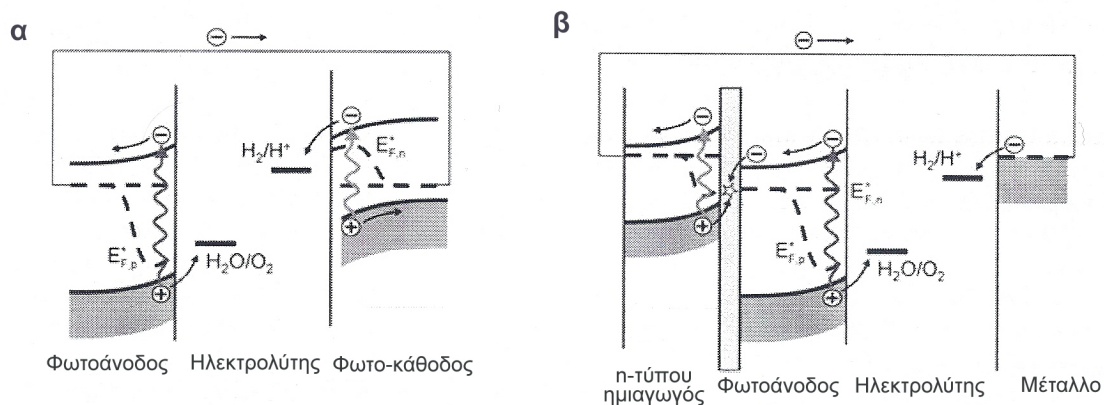


Σχήμα 2.36: Μονολιθικές συσκευές που βασίζονται σε μια φωτοάνοδο (α) ή φωτο-κάθοδο (β) πολωμένες με p-n σύνδεσμο. Τροποποιημένο από [5].

Παρόμοια προσέγγιση με αυτήν των φωτο-ευαισθητοποιημένων με χρωστικές συστημάτων είναι συστήματα με p-n σύνδεσμο (p-n junction), όπως φαίνεται στο σχήμα 2.36.

Ο Turner και οι συνεργάτες του [160] παρουσίασαν μια μονολιθική συσκευή βασισμένη σε μια φωτο-κάθοδο του p-τύπου GaInP₂, σε συνδυασμό με έναν GaAs p-n σύνδεσμο. Πέτυχαν την εντυπωσιακή απόδοση μετατροπής της ηλιακής ενέργειας σε υδρογόνο ίση με 12.4%, όμως η γρήγορη καταστροφή και το υψηλό κόστος της συσκευής περιορίζουν την πρακτική χρήση της.

Αντί για p-n σύνδεσμο υπάρχουν κυψέλες με τις διαμορφώσεις που παρουσιάζονται στο σχήμα 2.37. Για παράδειγμα, στο σχήμα 2.37α, αντί για μια μεταλλική κάθοδο χρησιμοποιείται ως αντίθετο ηλεκτρόδιο ένας ημιαγωγός p-τύπου. Μια τέτοια συσκευή ανέπτυξε ο Nozik [149], όπου χρησιμοποίησε για n-τύπου φωτοάνοδο το TiO₂ και για p-τύπου φωτο-κάθοδο το GaP (E_{bg}=2.25 eV). Η διαφορά στις ενέργειες των χασμάτων εξασφαλίζει τη μεγαλύτερη αξιοποίηση του φάσματος της ηλιακής ακτινοβολίας. Η διαμόρφωση του σχήματος 2.37β (n-n ετεροεπαφή) έχει μελετηθεί εδώ και πολλά χρόνια, αλλά δε βρέθηκε χρήσιμη, μιας και οι φωτο-παραγόμενες οπές στον υποκείμενο n-τύπου ημιαγωγό δε μπορούσαν να μεταφερθούν στη διεπιφάνεια φωτοανόδου-ηλεκτρολύτη [220]. Πρόσφατα όμως, ο Yang και οι συνεργάτες του [221] έδειξαν πως ένας n-τύπου ημιαγωγός Si υποκείμενος του TiO₂ ενισχύει την ενέργεια των ηλεκτρονίων στη ΖΑ του TiO₂. Με αυτόν τον τρόπο, αυξάνει η διαθέσιμη υπέρταση για την αναγωγή του νερού και βελτιώνεται η κινητική της αντίδρασης.

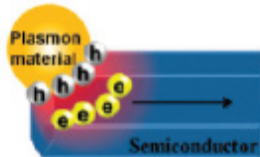
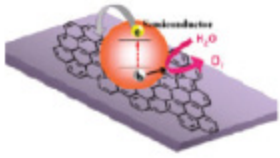


Σχήμα 2.37: Σχηματική αναπαράσταση κυψέλης με p-τύπου φωτο-κάθοδο (α) και διαμόρφωση n-n ετεροεπαφής, η οποία βασίζεται σε φωτοάνοδο που έχει επιστρωθεί σε ένα δεύτερο ημιαγωγό n-τύπου (β). Τροποποιημένο από [5].

Στη συνέχεια δίνονται συγκεντρωτικά οι διάφορες στρατηγικές ανάπτυξης φωτοκαταλυτών (πίνακας 2.2), στις οποίες είναι στραμμένη η έρευνα παγκοσμίως για τη διάσπαση του νερού με κύριο στόχο την αξιοποίηση της ορατής ακτινοβολίας.

Πίνακας 2.2: Διάφορες στρατηγικές για την ενίσχυση της απόδοσης της φωτοηλεκτροκαταλυτικής διάσπασης του νερού [218].

		Στρατηγική	Αρχή	Χαρακτηριστικά
Απορρόφηση	Μονού ενεργειακού χάσματος	Δομή διακλάδωσης		<ul style="list-style-type: none"> • Μεγάλη ενεργός επιφάνεια • Εξαιρετική παγίδευση φωτός • Αποτελεσματικός διαχωρισμός φορτίου • 1D κανάλι μεταφοράς φορτίου • Επίσπευση αντιδράσεων των e^- και h^+ στη διεπιφάνεια
		Ενδοομογενής εμπλουτισμός (doping)		<ul style="list-style-type: none"> • Εμπλουτισμός με ετεροάτομα • Ανάμειξη τροχιακών προς δημιουργία δοτών • Μείωση ενεργειακού χάσματος • Λειτουργία με ορατό φωτισμό • Περιορισμοί λόγω του μήκους διάχυσης των ετεροατόμων
		Ομογενής εμπλουτισμός (doping)		<ul style="list-style-type: none"> • Δημιουργία δομής ετερο-συντονισμού • Μεταβολή των ΖΑ και ΖΣ • Μείωση ενεργειακού χάσματος • Σωματίδια μικρότερα από το μήκος διάχυσης των προσμίξεων
	Πολλαπλού ενεργειακού χάσματος	Ευαισθητοποίηση με χρωστικές		<ul style="list-style-type: none"> • Μεγάλη απορρόφηση ορατού φωτός • Ενεργότητα με ορατό φωτισμό • Παχύ υμένιο νανο-σωματιδίων • Κατάλληλο δυναμικό οξειδωσης
		Ευαισθητοποίηση με Quantum dots		<ul style="list-style-type: none"> • Ελεγχόμενο φάσμα απορρόφησης • Δημιουργία πολλαπλών ζευγών $e^- h^+$ • Υψηλή σταθερότητα • Ευαισθητοποίηση πολλαπλών ενεργειακών χασμάτων • Απορρόφηση στην ορατή περιοχή
		Ετεροδομές		<ul style="list-style-type: none"> • Αποτελεσματική συλλογή φορτίου • Εξαιρετική μετακίνηση φορτίου
Μετακίνηση φορτίου	Τροποποίηση με συν-καταλύτες		<ul style="list-style-type: none"> • Προαγωγή του διαχωρισμού $e^- h^+$ • Επίσπευση των αντιδράσεων e^- και h^+ στη διεπιφάνεια • Αποτελεσματική συλλογή φορτίου 	

	Βοήθεια μέσω plasmonics		<ul style="list-style-type: none"> • Πλασμασική διέγερση ηλεκτρονίων • Τοπικά πεδία φορτίου • Κοντινού πεδίου ενίσχυση διαχωρισμού $e^- h^+$
	Βοήθεια μέσω Γραφένιου		<ul style="list-style-type: none"> • Ενίσχυση της συλλογής φορτίου • Προαγωγή της μετακίνησης φορτίου • Συγκεκριμένα κανάλια μετακίνησης

2.10 Μελλοντικοί στόχοι στη φωτοηλεκτροκαταλυτική διάσπαση του νερού

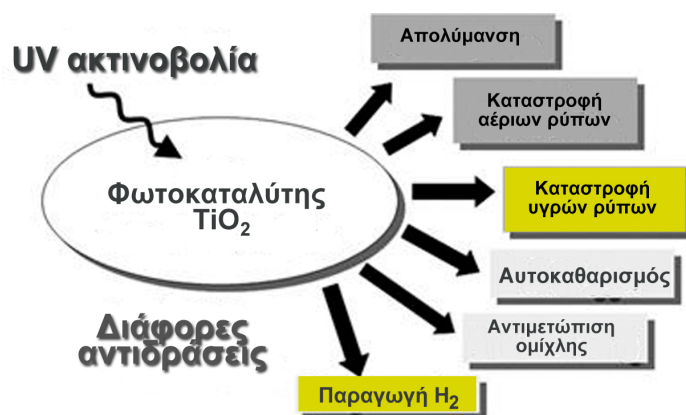
Αυτή τη στιγμή η απόδοση μετατροπής ΗΕΠΥ που έχει επιτευχθεί μέσω των φωτοηλεκτροκαταλυτικών μεθόδων βρίσκεται στο 8%. Η φωτοηλεκτροκαταλυτική διάσπαση του νερού παρουσιάζει δυο βασικά πλεονεκτήματα έναντι των φωτοβολταϊκών και των εμπορικών ηλεκτρολυτών του νερού. Πρώτον, οι εμπορικοί ηλεκτρολύτες λειτουργούν σε τάσεις της τάξης των 1.9 V, έτσι ώστε να φτάσουν τη μέγιστη απόδοση λειτουργίας τους με πυκνότητες ρευμάτων περίπου 1 A cm^{-1} . Οι θερμοδυναμικές απαιτήσεις διάσπασης του νερού, όπως ήδη αναφέρθηκε, είναι 1.23 V, επομένως οι κοινοί ηλεκτρολύτες νερού χρειάζονται επιπλέον 65% ενέργεια [160]. Αντιθέτως, η πυκνότητα ρεύματος σε ένα ημιαγώγιμο ηλεκτρόδιο εμβαπτισμένο σε νερό είναι της τάξης των $10\text{-}20 \text{ mA cm}^{-1}$, με αποτέλεσμα το απαιτούμενο δυναμικό λειτουργίας να είναι αρκετά χαμηλότερο. Φυσικά, το δυναμικό αυτό εξαρτάται από την καταλυτική δραστηριότητα του ηλεκτροδίου, η οποία μπορεί σε μερικές περιπτώσεις να ενισχυθεί με μια υπέρταση των 0.30-0.40 V. Το δεύτερο πλεονέκτημα είναι ότι ένα φωτοηλεκτροχημικό σύστημα μπορεί να κατασκευαστεί ως μια μονολιθική συσκευή, η οποία απαιτεί λιγότερα επιμέρους τμήματα συναρμολόγησης (πλαίσια, γυαλιά, συνδέσεις κτλ), γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλότερο κόστος κατασκευής. Το κόστος της διεργασίας ανά κιλό υδρογόνου είναι ο βασικότερος παράγοντας για τη βιωσιμότητα της μεθόδου. Το εκτιμώμενο κόστος παραγωγής υδρογόνου από τα φωτοβολταϊκά και τους εμπορικούς ηλεκτρολύτες νερού υπερβαίνει τα 8 δολάρια ανά κιλό υδρογόνου. Ο στόχος που έχει θέσει το Τμήμα Ενέργειας των Η.Π.Α. είναι 2-4 δολάρια ανά κιλό υδρογόνου. Η φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού εκτιμάται πως θα αγγίξει τα 3-5 δολάρια ανά κιλό, γεγονός που είναι άκρως ανταγωνιστικό με τις υπάρχουσες μεθόδους παραγωγής ενέργειας. Συνολικά, τα όρια που έχει θέσει το Τμήμα Ενέργειας των Η.Π.Α. για την εμπορική εκμετάλλευση των φωτοηλεκτροχημικών μεθόδων διάσπασης του νερού είναι [18]:

- Απόδοση μετατροπής 10%
- Πυκνότητα φωτορεύματος $10\text{-}15 \text{ mA cm}^{-2}$
- Χρόνος ζωής των υλικών > 2,000 ώρες
- Οικονομικά βιώσιμη

2.11 Φωτοκαταλυτική διάσπαση οργανικών ρύπων

Η πρώτη αναφορά φωτοηλεκτρόλυσης του νερού, η οποία δημοσιεύτηκε στην εποχή της «κρίσης του πετρελαίου» [16], χρησιμοποιώντας μονοκρύσταλλο του TiO_2 ως φωτοάνοδο τράβηξε το ενδιαφέρον της παγκόσμιας επιστημονικής κοινότητας για τη χρήση της φωτοηλεκτρόλυσης με το TiO_2 , ως μια υποσχόμενη μέθοδος στην απόκτηση μιας νέας πηγής ενέργειας. Τα προβλήματα όμως είναι αρκετά και έχουν να κάνουν κυρίως με την απορρόφηση μόνο UV ακτινοβολίας από το TiO_2 , η οποία αντιπροσωπεύει το 4% της ηλιακής, τη γρήγορη επανασύνδεση του ζεύγους e^-h^+ , όπως επίσης και με τις χαμηλές αποδόσεις των αντιδράσεων για την παραγωγή υδρογόνου, παρόλο που το TiO_2 παρουσιάζει μεγάλο λόγο εμβαδού επιφάνειας προς όγκο. Στην πορεία αναπτύχθηκαν και άλλα φωτοκαταλυτικά υλικά πέρα του TiO_2 , με την έρευνα για τη διάσπαση του νερού να συνεχίζεται ως σήμερα. Από την άλλη μεριά, οι Frank και Bard παρουσίασαν το 1977 τη διάσπαση των κυανιούχων ιόντων σε υδατικό αιώρημα TiO_2 [222]. Μετά από αυτήν την εργασία, η έρευνα του TiO_2 στράφηκε και προς τη χρησιμοποίηση της ισχυρής του οξειδωτικής ικανότητας στην αποικοδόμηση ρύπων που βρίσκονται είτε σε υδατική, είτε σε αέρια μορφή. Ταυτόχρονα, ξεκίνησαν μελέτες ακινητοποίησης του TiO_2 πάνω σε διάφορα υποστρώματα με στόχο την ευκολότερη διαχείριση των φωτοκαταλυτών.

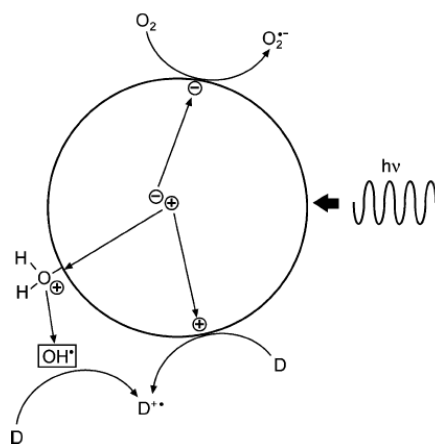
Ο ρόλος του TiO_2 είναι πολλαπλής σημασίας, όπως φαίνεται και στο σχήμα 2.38.



Σχήμα 2.38: Σχηματική αναπαράσταση των εφαρμογών όπου μπορεί να χρησιμοποιηθεί η φωτοκατάλυση. Με έντονο σημειώνονται οι εφαρμογές που αξιοποιούνται στην παρούσα διδακτορική διατριβή. Τροποποιημένο από [223].

Η διαφορά της φωτοκαταλυτικής οξειδωσης οργανικών ρύπων από τη φωτοηλεκτροκαταλυτική διάσπαση του νερού είναι πως ο κάθε κόκκος ημιαγώγιμης κόνεως, π.χ. TiO_2 , που βρίσκεται σε επαφή με το κατάλληλο διάλυμα, λειτουργεί από μόνος του και υπό την επίδραση φωτός συγκεκριμένου μήκους κύματος, σαν μια μικροφωτοηλεκτροχημική κυψέλη, όπου συνυπάρχουν η άνοδος και η κάθοδος (σχήμα 2.39). Ο φωτισμός ενός τέτοιου συστήματος δημιουργεί στο εσωτερικό του κόκκου, όπως και στη φωτοηλεκτροχημική

διάσπαση του νερού, ζεύγη e^-h^+ , τα οποία διαχωρίζονται και οδεύουν προς την επιφάνεια του κόκκου [224].



Σχήμα 2.39: Προσομοίωση κόκκου ημιαγώγιμης σκόνης με μικροφωτοηλεκτροχημικό στοιχείο.

Η μέθοδος αυτή ανήκει στις λεγόμενες “Προχωρημένες Οξειδωτικές Μεθόδους Αντιρρύπανσης” (Π.Ο.Μ.Α.) και η ανάπτυξή της την τελευταία εικοσαετία υπήρξε ιδιαίτερα σημαντική, λόγω ορισμένων πλεονεκτημάτων που παρουσιάζει σε σχέση με τις υπόλοιπες μεθόδους στην επεξεργασία των υγρών αποβλήτων. Η ανάμειξη του προς καθαρισμό απόβλητου με έναν ημιαγωγό και ο φωτισμός του συστήματος με τεχνητό ή ηλιακό φως μπορούν να επιφέρουν την πλήρη καταστροφή των οργανικών ενώσεων που υπάρχουν σ' αυτό. Πρόκειται για μία μέθοδο η οποία μιμείται πρακτικά τη φύση, όπου είναι γνωστή η ικανότητα αυτοκαθαρισμού που παρουσιάζει με τη βοήθεια του οξυγόνου της ατμόσφαιρας και του ηλιακού φωτός.

Ο όρος Π.Ο.Μ.Α. αφορά στις τεχνολογίες οι οποίες στηρίζονται στη χρήση μεθόδων όπως φωτόλυση (UV-C,B), O_3 /UV-B, H_2O_2 /UV-B, O_3 / H_2O_2 ή TiO_2 /UV-C κ.α. Στον πίνακα 2.3 δίνονται οι σημαντικότερες από αυτές, οι οποίες χωρίζονται σε φωτοχημικές ή μη, αναλόγως αν η φωτεινή ακτινοβολία συμμετέχει ή όχι στις επί μέρους διεργασίες.

Πίνακας 2.3: Διαχωρισμός των Π.Ο.Μ.Α. σε φωτοχημικές και μη φωτοχημικές.

Φωτοχημικές	Μη-Φωτοχημικές
Φωτόλυση	Οζονόλυση με ή χωρίς H_2O_2
O_3 /UV-C	Υγρή οξείδωση
H_2O_2 /UV-C	Fenton (Fe^{+2}/H_2O_2)
Photo-Fenton (Fenton+UV-A,B)	Ηλεκτροχημική Οξείδωση
(ομογενής φωτοκατάλυση)	Ραδιόλυση
TiO_2 /UV-A	Οξείδωση σε Υπερκρίσιμες Συνθήκες
(ετερογενής φωτοκατάλυση, φωτοηλεκτροκατάλυση)	

Η αποτελεσματικότητά τους στηρίζεται στη δημιουργία των ριζών του υδροξυλίου ($\text{OH}\cdot$), οι οποίες με δυναμικό αναγωγής 2.8 V αποτελούν το ισχυρότερο οξειδωτικό μέσο μετά το φθόριο (πίνακας 2.4) και επιπλέον έχουν το πλεονέκτημα να μη ρυπαίνουν το περιβάλλον. Στη περίπτωση δε των φωτοκαταλυτικών μεθόδων, χρησιμοποιούν την ηλιακή ακτινοβολία για την κάλυψη των ενεργειακών απαιτήσεών τους.

Πίνακας 2.4: Δυναμικό αναγωγής διαφόρων οξειδωτικών μέσων με περιβαλλοντικό ενδιαφέρον (σε Volt ως προς το ΚΗΥ) (pH=3).

Στοιχείο/Ένωση	Δυναμικό Αναγωγής (V)	Στοιχείο/Ένωση	Δυναμικό Αναγωγής (V)
F_2	3.03	MnO_4	1.68
$\text{OH}\cdot$	<u>2.80</u>	ClO_2	1.57
O_2	2.42	HClO	1.49
O_3	2.07	Cl_2	1.36
H_2O_2	1.78	Br_2	1.09

2.11.1 Ετερογενής φωτοκαταλυτική οξείδωση οργανικών ρύπων

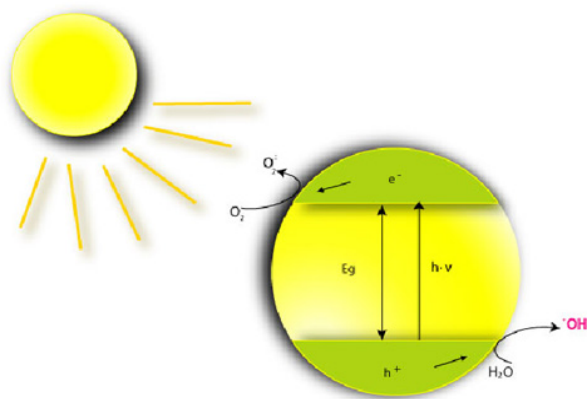
Η πρωταρχική φωτοχημική δράση που προκαλεί η απορρόφηση ακτινοβολίας με ενέργεια ίση ή μεγαλύτερη αυτής που αντιστοιχεί στο ενεργειακό χάσμα του ημιαγωγού κατά το φωτισμό των αιωρημάτων ημιαγωγικών κόνεων είναι η δημιουργία ζευγών ηλεκτρονίων-οπών (εξίσωση 2.40). Τα φωτο-δημιουργούμενα αυτά σωματίδια δρουν ως ισχυρά αναγωγικά και οξειδωτικά, αντίστοιχα, και συνεισφέρουν, μέσω οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων με τις κατάλληλες ουσίες που είναι διαλυμένες στο νερό, στη μετατροπή του φωτός σε ηλεκτρική ή χημική ενέργεια.



Εάν δεν υπάρχουν κατάλληλοι αποδέκτες των φωτο-δημιουργούμενων ηλεκτρονίων και οπών, λαμβάνει χώρα επανασύνδεση με έκλυση θερμότητας και ακτινοβολίας μετάπτωσης στη βασική κατάσταση, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση (2.41):



Παραστατικά, οι αντιδράσεις που διεξάγονται στις ενεργειακές ζώνες του καταλύτη φαίνονται στο παρακάτω σχήμα (σχήμα 2.40).

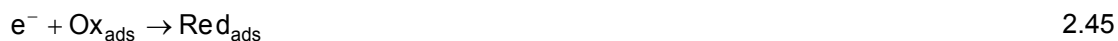


Σχήμα 2.40: Προσομοίωση κόκκου ημιαγωγικής σκόνης με μικροφωτοηλεκτροχημική κυψέλη. Υπό την επίδραση του φωτός δημιουργείται περίσσεια ηλεκτρονίων στη ζώνη αγωγιμότητας και οπών στη ζώνη σθένους.

Κατά τη μετακίνησή τους οι οπές παγιδεύονται από τις εσωτερικές ενεργειακές παγίδες κάτω από την επιφάνεια, ενώ τα ηλεκτρόνια από τις επιφανειακές παγίδες.



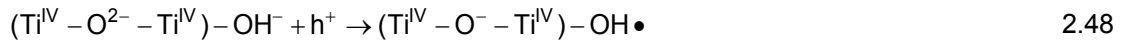
Η μεταφορά των ζευγών $\text{e}^- \text{h}^+$ μπορεί να καταλήξει σε αναγωγή προσροφημένων δεκτών (Ox_{ads}) ηλεκτρονίων ή οξειδωση προσροφημένων δοτών (Red_{ads}) ηλεκτρονίων στη διαφασική περιοχή ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη.



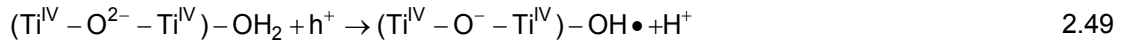
Στην επιφάνεια του ημιαγωγού προσροφώνται, εκτός των άλλων ιόντων, κατά κύριο λόγο μόρια νερού, πρωτόνια και ιόντα υδροξυλίου. Ανάλογα με το pH του διαλύματος, το τελικό αποτέλεσμα προσρόφησης του νερού στην επιφάνεια του ημιαγωγού είναι η δημιουργία ένυδρης ή υδροξυλιωμένης επιφάνειας.



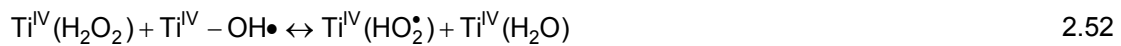
Σε υδατικό περιβάλλον η παγίδευση των οπών δίνει, με διεπιφανειακή μεταφορά ηλεκτρονίων, δεσμευμένες ρίζες υδροξυλίου:



ή

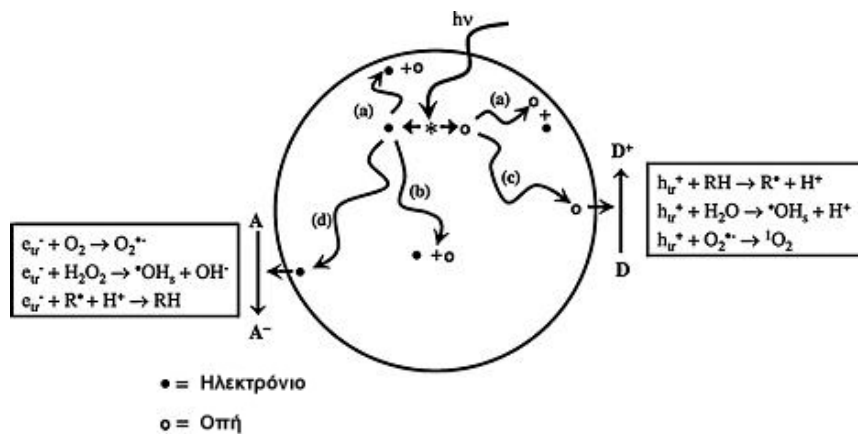


Άλλες αντιδράσεις που λαμβάνουν μέρος (μηχανισμός που προβλέπει αρχικά το σχηματισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου) είναι και οι παρακάτω:



Ο παραπάνω μηχανισμός της φωτοκαταλυτικής οξειδωσης είναι μια απλοϊκή μορφή ενός κατά τα άλλα πολύπλοκου μηχανισμού, στον οποίο η οξείδωση των οργανικών ενώσεων μπορεί να συμβαίνει και με άλλες αντιδράσεις [180, 225, 226]. Κυρίαρχα οξειδωτικά μέσα θεωρούνται οι φωτο-παραγόμενες ρίζες υδροξυλίου και είναι αρκετά τα πειραματικά δεδομένα που υποστηρίζουν την απόψη αυτή [227-229].

Στο σχήμα 2.41 δίνονται συνοπτικά οι διάφορες διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στην επιφάνεια του TiO_2 και συνεισφέρουν στη φωτοκαταλυτική οξείδωση.



Σχήμα 2.41: Δράσεις που συμβαίνουν στην επιφάνεια του σωματιδίου TiO_2 μετά από διέγερση με UV ακτινοβολία. Τροποποιημένο από [223].

Ανεξάρτητα από την πορεία σχηματισμού τους, οι ρίζες υδροξυλίου προσβάλλουν τα οργανικά μόρια που είναι προσροφημένα ή βρίσκονται σε μικρή απόσταση από τον καταλύτη. Αρχικά, αποσπών άτομα υδρογόνου δημιουργώντας υπεροξειδικές ρίζες, οι οποίες

οξειδώνονται στη συνέχεια προς ενώσεις μικρότερου μοριακού βάρους (αλδεΐδες, οξέα), που τελικά αποκαρβοξυλιώνονται προς CO₂ και διάφορα ανόργανα ιόντα (Cl⁻, NH₄⁺, NO₃⁻, SO₄²⁻, κ.α.).



Όσον αφορά στην άμεση οξείδωση των ενώσεων από τις σπές, βιβλιογραφικά προτείνονται δύο διαφορετικοί μηχανισμοί άμεσης φωτοκαταλυτικής οξείδωσης [226]. Όταν η συγκέντρωση μιας οργανικής ένωσης είναι μεγάλη, αυξάνεται η πιθανότητα η φωτο-παραγόμενη σπή να αντιδράσει απευθείας με την ένωση, αντί να αντιδράσει με το νερό [230]. Ωστόσο, η παραγωγή των ριζών υδροξυλίου είναι αναμφισβήτητη [180, 227-229].

Η δημιουργία της ρίζας O₂⁻ είναι λιγότερο σημαντική σε οξειδωτικές αντιδράσεις, μιας και ο αριθμός των αναφορών σχετικά με τη συνεισφορά των O₂⁻ σε αντιδράσεις οξείδωσης είναι αρκετά μικρότερος από αυτών που προτείνουν τις σπές και τις ρίζες υδροξυλίου [231]. Ο Nosaka και οι συνεργάτες του πρότειναν πως η αντίδραση μεταξύ των σπών και των O₂⁻ παράγουν ¹O₂, το οποίο είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό μέσο που συνεισφέρει στις πρωταρχικές, γρήγορες αντιδράσεις οξείδωσης [232]. Σε κάθε περίπτωση, αρκετά είδη οξειδωτικών μέσων, συμπεριλαμβανομένων των h⁺, OH[•], O₂⁻, ¹O₂, δημιουργούνται στις φωτοκαταλυτικές οξειδωτικές αντιδράσεις.

Η βιβλιογραφία σχετικά με τη φωτοκαταλυτική αποικοδόμηση οργανικών ρύπων είναι πολύ μεγάλη και στον πίνακα 2.5 [233] δίνεται συνοπτικά μια λίστα μη-βιοδιασπώμενων οργανικών ρύπων, οι οποίοι ήταν δυνατό να διασπαστούν με την ετερογενή φωτοκατάλυση.

Πίνακας 2.5: Μη βιοαποικοδομήσιμοι οργανικοί ρύποι, οι οποίοι οξειδώθηκαν με φωτοκαταλυτικά συστήματα TiO₂.

CH ₃ CHO, Ακεταλδεΐδη	CCl ₄ , Τετραχλωράνθρακας	C ₆ Cl ₆ , Εξαχλωροβενζόλιο	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂ , Ξυλένιο
CH ₃ COOH, Οξικό οξύ	CH ₃ Cl, Χλωροφόρμιο	N ₂ H ₄ , Υδραζίνη	C ₆ H ₅ CH ₃ , Τολουόλιο
CH ₃ COCH ₃ , Ακετόνη	CH ₃ Cl, Χλωρομεθάνιο	C ₈ H ₆ O ₄ , Ισοφθαλικό οξύ	C ₆ H ₅ OH, Φαινόλη
C ₃ H ₄ O ₂ , Ακρυλικό οξύ	Cl ₂ C ₆ H ₃ OH, Διχλωροφαινόλη	C ₆ H ₅ NO ₂ , Νιτροβενζόλιο	C ₁₂ Cl _x H _{10-x} , PCBs
C ₆ H ₆ , Βενζόλιο	(CH ₃) ₂ NNO, Διμέθυλονιτροζαμίνη	C ₃ H ₅ (NO ₃) ₃ ,	HCOOH, Φορμικό οξύ
C ₆ H ₅ COOH, Βεζοϊκό οξύ	HCHO, Φορμαλδεΐδη	Νιτρογλυσερίνη	CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH,
		H ₂ NNO ₂ , Νιτροαμίνη	Βουτυρικό οξύ

2.11.2 Κινητική της φωτοκαταλυτικής οξείδωσης

Η επεξεργασία των κινητικών δεδομένων της φωτοκαταλυτικής οξείδωσης των οργανικών μορίων, που λαμβάνει χώρα στην επιφάνεια ημιαγώγιμων στερεών, μπορεί να γίνει με το μοντέλο των Langmuir-Hinshelwood που ισχύει για τις αντιδράσεις στερεού-αερίου, αν αυτό τροποποιηθεί κατάλληλα. Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, η ταχύτητα, r, μιας

μονομοριακής αντίδρασης στην επιφάνεια του στερεού είναι ανάλογη με το κλάσμα της επιφάνειας (θ) που καλύπτεται από τη χημική ένωση [234, 235].

$$r = -\frac{\partial C}{\partial t} = k_r \theta = \frac{k_r K C_o}{1 + K C_o} \quad 2.55$$

Όπου k_r είναι η σταθερά ταχύτητας αντίδρασης, η οποία αντιπροσωπεύει την τάση για μετατροπή της ουσίας όταν αυτή είναι προσροφημένη, θ είναι ο βαθμός επικάλυψης της επιφάνειας που καλύπτεται από το αντιδραστήριο, K ο συντελεστής προσρόφησης (ή σταθερά ισορροπίας προσρόφησης) του αντιδραστηρίου και C_o η αρχική συγκέντρωση της ουσίας.

Όταν η συγκέντρωση του διαλύτη C_{Δ} είναι πολύ μεγαλύτερη από την αρχική συγκέντρωση της ουσίας C_o και συνεπώς μπορεί να θεωρηθεί ότι παραμένει πρακτικά σταθερή, το μέρος της επιφάνειας του καταλύτη που καλύπτεται από το διαλύτη είναι κατά προσέγγιση αμετάβλητο για διάφορες τιμές συγκέντρωσης της ουσίας (ρύπου).

Με ολοκλήρωση της εξίσωσης 2.55 προκύπτει:

$$\ln \frac{C_o}{C} + K(C_o - C) = k_r K t \quad 2.56$$

Η παραπάνω εξίσωση είναι άθροισμα εξισώσεων μηδενικής και πρώτης τάξης. Η αντίδραση που περιγράφει εξαρτάται από την αρχική συγκέντρωση C_o . Όταν αναφερόμαστε σε πολύ αραιά διαλύματα, ο δεύτερος όρος γίνεται σημαντικά μικρότερος του πρώτου και, χωρίς σημαντικό σφάλμα, η εξίσωση μπορεί να απλοποιηθεί:

$$\ln \frac{C_o}{C} = k' t \quad 2.57$$

όπου $k' = k_r K$ η φαινόμενη σταθερά ταχύτητας της αντίδρασης.

Η εξίσωση αυτή προκύπτει αν ολοκληρωθεί η σχέση:

$$-\frac{\partial C}{\partial t} = k' C, \quad 2.58$$

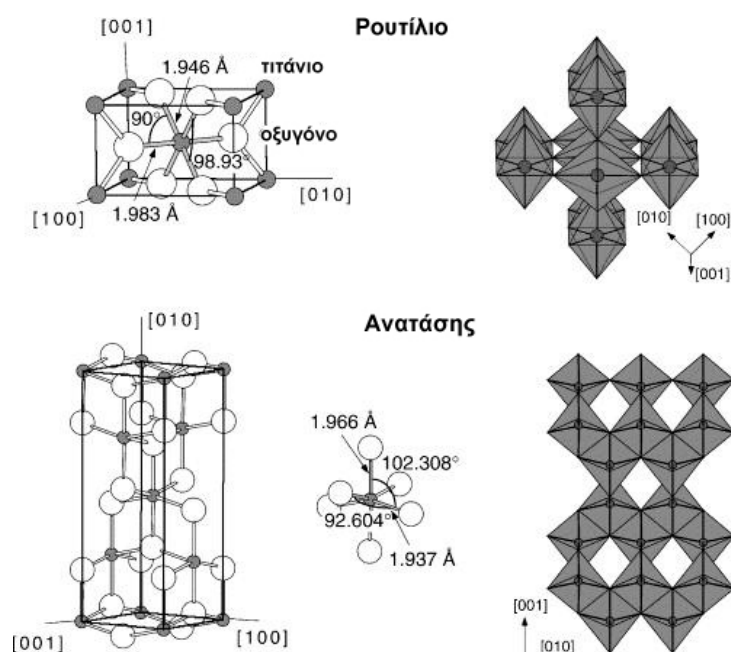
που είναι η κινητική εξίσωση των αντιδράσεων ψευδο-πρώτης τάξης.

Στην εξίσωση 2.58 k' είναι η φαινόμενη σταθερά ταχύτητας της αντίδρασης ψευδο-πρώτης τάξης και C η εκάστοτε συγκέντρωση της μελετώμενης ουσίας, σε χρόνο t από τη έναρξη της αντίδρασης.

Συνάγεται λοιπόν από τα παραπάνω, ότι η ετερογενής φωτοκαταλυτική αποικοδόμηση μιας ουσίας, όταν αυτή βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, μπορεί να μελετηθεί, χωρίς σημαντικό σφάλμα, σαν αντίδραση ψευδο-πρώτης τάξης. Στην περίπτωση αυτή, η k' θα είναι η φαινόμενη σταθερά ταχύτητας της αντίδρασης και, όπως προκύπτει από τις προηγούμενες σχέσεις, θα ισούται με $k'=k_rK$ [236].

2.11.3 Ημιαγωγία υλικά-καταλύτες

Ο ρόλος του ημιαγωγού στη φωτοκαταλυτική καταστροφή των ρύπων είναι αποφασιστικής σημασίας. Τόσο οι φυσικές του ιδιότητες, όσο και οι φυσικοχημικές, αποτελούν παραμέτρους, οι οποίες επιδρούν αποφασιστικά στη λειτουργικότητα του συστήματος. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι ημιαγωγίμες ουσίες που ως επί το πλείστον έχουν χρησιμοποιηθεί για φωτοκαταλυτικές εφαρμογές, τόσο στον περιβαλλοντικό, όσο και στον ενεργειακό τομέα (βλέπε κεφάλαιο 2.9), είναι οι ακόλουθες: TiO_2 , ZnO , $SrTiO_3$, WO_3 , Fe_2O_3 , ZnS , CdS . Μελέτες που έγιναν με σκοπό τη σύγκριση των διάφορων φωτοκαταλυτών έδειξαν ότι το οξείδιο του τιτανίου (TiO_2), και συγκεκριμένα η μορφή ανατάση (anatase), ακολουθούμενο από το οξείδιο του ψευδαργύρου (ZnO), αποτελούν τους πλέον δραστικούς ημιαγωγούς για την οξειδωτική καταστροφή των οργανικών ενώσεων.



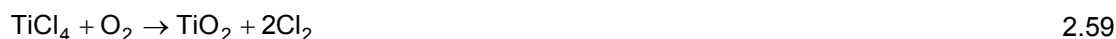
Σχήμα 2.42: Σχηματική αναπαράσταση της δομής του ρουτίλιου και του ανατάσης. Και στις δυο μορφές, ελαφρώς παραμορφωμένα οκτάεδρα αποτελούν τη βασική δομή. Αριστερά δίνονται τα μήκη των δεσμών και οι γωνίες των οκταεδρικών διαμορφωμένων ατόμων Ti, ενώ δεξιά δίνεται η τοπολογία των οκταέδρων και των δυο δομών [237].

Το TiO_2 παρουσιάζει εκτός από τη μεγάλη φωτοκαταλυτική δραστηριότητα, συγκριτικά με τους υπόλοιπους ημιαγωγούς, και τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στη διάβρωση και φωτο-

διάβρωση, με αποτέλεσμα τη δυνατότητα ανακύκλωσης του. Αντιθέτως το ZnO, αν και σε πολλές περιπτώσεις υπερτερεί του TiO₂, δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί ευρέως, λόγω του προβλήματος της φωτο-διάβρωσης που παρουσιάζει, ειδικά σε χαμηλά pH. Για τους λόγους αυτούς, οι προσπάθειες επικεντρώνονται κατά κύριο λόγο στη βελτίωση των φωτοκαταλυτικών ιδιοτήτων του TiO₂.

Από τις 3 μορφές του TiO₂, δηλαδή του ανατάση (παραμορφωμένο οκτάεδρο), ρουτίλιου (οκταεδρική δομή) και του μπρουκίτη (παραμορφωμένο οκτάεδρο), εκείνη που υπερτερεί σε σχέση με τη φωτοκαταλυτική δραστηριότητα είναι η πρώτη, λόγω της ισχυρότερης προσρόφησης των OH⁻ και H₂O στην επιφάνειά του και επιπλέον, λόγω του χαμηλότερου βαθμού επανασύνδεσης των φωτο-διεγερμένων e⁻ και h⁺.

Η εμπορική μορφή του διοξειδίου του τιτανίου που χρησιμοποιείται κυρίως για φωτοκαταλυτικές διεργασίες είναι το TiO₂ P-25 της εταιρείας Degussa. Ο P-25 παράγεται με υδρόλυση του TiCl₄ σε υψηλή θερμοκρασία (μεγαλύτερη από 1200° C), παρουσία υδρογόνου και οξυγόνου (εξίσωση 2.57). Ο καταλύτης αυτός είναι ένα μη πορώδες μίγμα ανατάση:ρουτίλιου σε αναλογία 70:30% (99.5% καθαρό TiO₂). Η σκόνη του P-25 έχει ενεργή επιφάνεια 55±15 m² g⁻¹ και μέση διάμετρο σωματιδίων 21 nm. Το 90% των σωματιδίων δε βρίσκονται το ένα ανεξάρτητα από το άλλο, αλλά είναι κυρίως σε συσσωματώματα με διάμετρο γύρω στα 0.1 μm [238].



Ο P-25 υπερέρχει έναντι των άλλων μορφών διοξειδίου του τιτανίου, γεγονός που οφείλεται στο ότι ένα ηλεκτρόνιο από τη ζώνη αγωγιμότητας του ανατάση μπορεί να μεταπηδήσει στο ρουτίλιο, παρεμποδίζοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την επανασύνδεση ηλεκτρονίων και οπών στον ανατάση [239].

Παρά ταύτα, πρέπει να τονιστεί ότι υπάρχουν περιπτώσεις όπου η μορφή ρουτίλιο δίνει πολύ καλύτερα αποτελέσματα, π.χ. η οξειδωση των CN⁻ και η αναγωγή των χρωμικών γίνεται ευκολότερα με το ρουτίλιο παρά με τον ανατάση.

Η βελτιστοποίηση των φωτοκαταλυτικών ιδιοτήτων του TiO₂ μπορεί να γίνει με τους εξής τρόπους:

Απόθεση στην επιφάνεια των κόκκων μεταλλικών νησίδων. Προσθήκη προσμείξεων (doping) από διάφορα μεταλλικά ιόντα και ετεροατόμα.

Μεταλλικά σωματίδια, όπως Pt [240], Pd [241, 242], Au [243], Ag [244-247], Ru [248] και Fe [249-253], έχουν χρησιμοποιηθεί στην ενίσχυση της φωτοκαταλυτικής δραστηριότητας του TiO₂ μέσω της μείωσης του ρυθμού επανασύνδεσης e⁻-h⁺. Τα φωτο-παραγόμενα ηλεκτρόνια μεταναστεύουν προς το μέταλλο, λόγω της χαμηλής ενέργειας Fermi που αυτά παρουσιάζουν, γεγονός που σταθεροποιεί τις φωτο-παραγόμενες οπές, λόγω της αύξησης

του χρόνου ζωής των φωτο-παραγόμενων ηλεκτρονίων [254, 255]. TiO_2 εμπλουτισμένο με Fe^{+3} παρουσιάζει σημαντική βελτίωση σε σχέση με το απλό TiO_2 . Ο Fe^{+3} μπορεί εύκολα να τοποθετηθεί στο πλέγμα του TiO_2 , μιας και οι ιονικές ακτίνες των Fe^{+3} και Ti^{+4} είναι παρόμοιες [256, 257].

Εμπλουτισμένα ηλεκτρόδια TiO_2 με ιόντα Mn^{+2} και Cr^{+3} ενισχύουν σημαντικά τη φωτοκαταλυτική απόδοση υπό την επίδραση UV ακτινοβολίας, ενώ εμπλουτισμός με Co^{+2} ενισχύει ελαφρώς την απόδοση [258]. Ο ρυθμός αποικοδόμησης της πενταχλωροφαινόλης (PCP) αυξήθηκε κατά 1.5 και 5.8 φορές υπό την επίδραση UV και ορατής ακτινοβολίας, αντίστοιχα, σε εμπλουτισμένους με Zn νανο-σωλήνες TiO_2 [259]. Η εισαγωγή ατόμων Sn στον κρύσταλλο του TiO_2 επιταχύνει τη μετατροπή του ανατάση προς ρουτίλιο, οδηγώντας σε μείωση του ενεργειακού χάσματος [260].

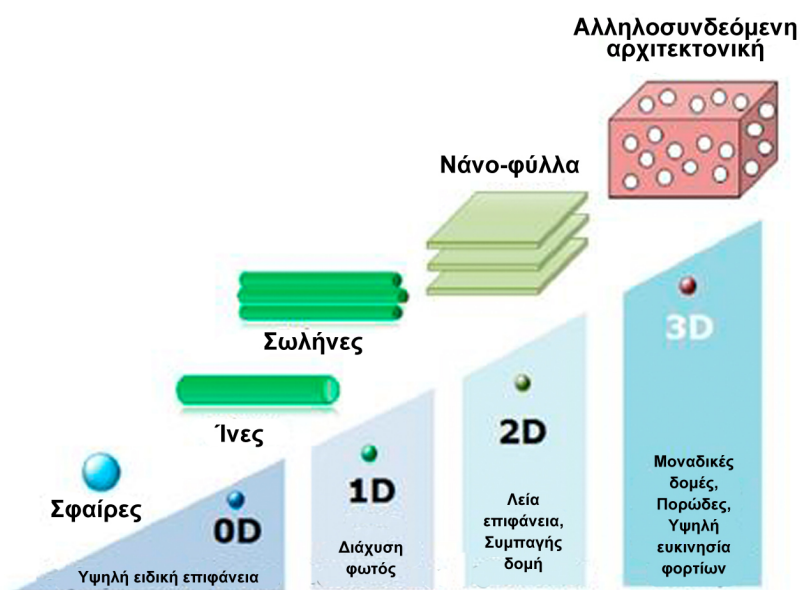
Πέρα από την προσθήκη μετάλλων, άτομα οξυγόνου ή κενά οξυγόνου στην κρυσταλλική δομή του TiO_2 μπορούν να αντικατασταθούν [261] από διάφορα ετεροάτομα, όπως το B [262-264] N [265, 266], F [267, 268], P [269, 270], S [271-273], καθώς και συν-εμπλουτισμός με N-S [274] και B-C [275] κ.α., με στόχο την ενεργοποίηση του καταλύτη με ορατό φωτισμό. Επίσης, η ταυτόχρονη προσθήκη μεταλλικών σωματιδίων και ετεροατόμων έχει ερευνηθεί με στόχο την ενίσχυση της φωτοκαταλυτικής αποικοδόμησης οργανικών ρύπων στο τροποποιημένο TiO_2 [276]. Πιο συγκεκριμένα, η αντικατάσταση ατόμων O από B στην κρυσταλλική δομή του TiO_2 και η σύζευξη των p τροχιακών του B με τα 2p τροχιακά του O είναι υπεύθυνη για τη μείωση του ενεργειακού χάσματος του ημιαγωγού. Αποτέλεσμα είναι η μετατόπιση του φάσματος απορρόφησης στην ορατή περιοχή ακτινοβολιών [277, 278]. Νανο-σωλήνες TiO_2 εμπλουτισμένοι με C παρουσιάζουν σημαντική ενίσχυση της φωτοκαταλυτικής τους δραστηριότητας υπό την επίδραση ορατής ακτινοβολίας, σε σχέση με απλούς νανο-σωλήνες TiO_2 . Ο διαχωρισμός των φωτο-παραγόμενων e^-h^+ βελτιώθηκε και ο ρυθμός αποικοδόμησης της χρωστικής Methyl Blue (MB) ενισχύθηκε κατά 45% [279].

Αντιθέτως, νανο-υμένιο TiO_2 εμπλουτισμένο με Si παρουσίασε σημαντική μετατόπιση του φάσματος απορρόφησης προς τη μπλε περιοχή ακτινοβολιών UV [280, 281].

Τέλος, φωτοευαισθητοποίηση του TiO_2 μπορεί να γίνει με τη βοήθεια χρωστικών ουσιών, οι οποίες προσροφώνται στην επιφάνεια του κόκκου. Χρωστικές όπως το Methyl Blue, Azure, Erythrosin, Rhodamin, και Crystal Violet παρουσιάζουν ευρεία λειτουργικότητα υπό την επίδραση ορατής ακτινοβολίας [282]. Η τροποποίηση αυτή περιγράφηκε παραπάνω (βλέπε κεφάλαιο 2.9) και παρουσιάζει, και στη περίπτωση της φωτοκαταλυτικής επεξεργασίας του νερού, το μειονέκτημα της ταυτόχρονης καταστροφή τόσο της τοξικής, όσο και της χρωστικής ουσίας.

Τροποποίηση της μορφολογίας του TiO_2

Πολλές μελέτες επικεντρώνονται στη μορφολογία του TiO_2 για ενίσχυση της φωτοκαταλυτικής του συμπεριφοράς. Στο σχήμα 2.43 δίνονται οι διάφορες διαστάσεις της δομής του TiO_2 .



Σχήμα 2.43: Δομές του TiO_2 , ανάλογα με τις διαστάσεις του και τις αναμενόμενες ιδιότητες. Τροποποιημένο από [283].

Το TiO_2 υπάρχει σε μορφή σφαίρας, μηδενικής διάστασης [284-286], ίνες μιας διάστασης [287-289], σωλήνες [290-293], νανο-φύλλα TiO_2 δυο διαστάσεων [294, 295] και τριών διαστάσεων με αλληλοσυνδεδεμένη αρχιτεκτονική [296-298]. Για παράδειγμα, η μείωση του μεγέθους του νανο-σωματιδίου του TiO_2 , μειώνει την επανασύνδεση του ζεύγους e^-h^+ , λόγω της ενίσχυσης της μεταφοράς των φορέων φορτίου στην επιφάνεια του TiO_2 [299]. Επιπλέον, η τροποποίηση της επιφάνειας του TiO_2 μπορεί να επιφέρει ενίσχυση στη χωρητικότητα προσρόφησης οργανικών ρύπων, γεγονός που είναι ιδιαίτερα σημαντικό στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων [300-302]. Αντίστοιχη αύξηση της προσρόφησης μη βιοδιασπώμενων ρύπων με αποτέλεσμα την αποτελεσματικότερη αποικοδόμηση τους, παρατηρήθηκε και σε νανο-σωλήνες TiO_2 σε σχέση με το μη τροποποιημένο P-25 (Degussa). Η συμπεριφορά αυτή οφείλεται στο ότι οι νανο-σωλήνες παρουσιάζουν μικρότερο μήκος διάχυσης φορτίου και γρηγορότερη μεταφορά μάζας στην επιφάνεια, αλλά και μεταξύ των νανο-σωλήνων [303].

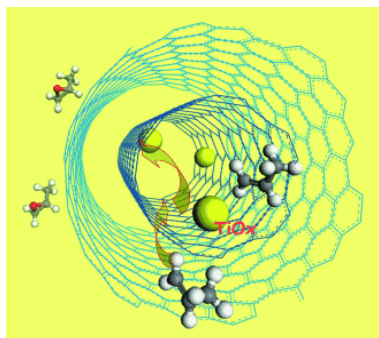
Θα πρέπει να σημειωθεί πως η τροποποίηση της μορφολογίας του TiO_2 δεν επιφέρει βελτίωση της απορρόφησης του ορατού φωτισμού, χωρίς την προσθήκη κάποιου φωτοευαισθητοποιητή.

Δημιουργία υβριδίων TiO_2 -νάνο-ανθράκων

Το νανο-διαστάσεων TiO_2 παρουσιάζει μεγάλη ειδική επιφάνεια σε σύγκριση με το τυπικό μέγεθός του, οδηγώντας σε αποτελεσματικότερο διαχωρισμό e^-h^+ και παγίδευση ιόντων στην επιφάνεια του [304]. Παρόλα αυτά, νανο-διαστάσεων TiO_2 δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί

απευθείας στην επεξεργασία του νερού, επειδή τείνει να δημιουργεί συσσωματώματα λόγω του μεγέθους, της μορφολογίας του και των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων του [305].

Για να λυθεί το πρόβλημα αυτό, αρκετές προσπάθειες έχουν γίνει στην απόθεση/ακίνητοποίηση του TiO_2 σε διάφορα υλικά άνθρακα, όπως είναι ο ενεργός άνθρακας ή νανο-ίνες ενεργού άνθρακα [307, 308], νανο-σωλήνες άνθρακα (CNT) [309-312]

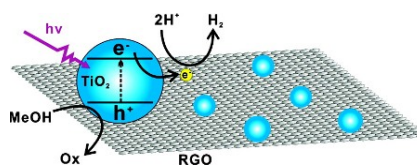


Σχήμα 2.44: Υβρίδια νανο-σωλήνων άνθρακα με TiO_2 [306].

και γραφένιο [313-318]. Τα διάφορα αυτά υλικά άνθρακα θεωρούνται κατάλληλα υποστρώματα για την απόθεση TiO_2 , λόγω των εξαιρετικών θερμικών [319-321], οπτικών [322-324], μηχανικών [325, 326], ηλεκτρικών [327-329] χαρακτηριστικών τους, της χημικής τους σταθερότητας [330], καθώς και του βέλτιστου σχεδιασμού των πόρων και της επιφάνειάς τους [331-333]. Οι παράγοντες αυτοί έχουν ως αποτέλεσμα την ταχύτερη μεταφορά φορτίου στα υβρίδια TiO_2 -νανο-ανθράκων [334, 335]. Πρόσφατα, υβρίδια TiO_2 με νανο-σωλήνες άνθρακα και γραφένιο έχουν τραβήξει το ενδιαφέρον της επιστημονικής έρευνας,

λόγω της δυνατότητάς τους να συμβάλλουν στην ενίσχυση των φωτοκαταλυτικών ιδιοτήτων του TiO_2 . Για παράδειγμα, οι νανο-σωλήνες άνθρακα μπορούν να δράσουν ως «δεξαμενές» ηλεκτρονίων, αφού παρουσιάζουν συμπεριφορά ημιαγωγών p-τύπου [336]. Οι CNT μπορούν να δημιουργήσουν φράγματα Schottky στη διεπιφάνεια μεταξύ TiO_2 -CNT (μια περιοχή φορτίων χώρου).

Το γραφένιο χρησιμοποιείται επίσης ως υλικό δυο διαστάσεων, λόγω των εξαιρετικών οξειδοαναγωγικών του ιδιοτήτων [338]. Υψηλής ποιότητας γραφένιο μεταφέρει τα ηλεκτρόνια χωρίς διασκορπισμό με πολύ υψηλές ταχύτητες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ($15,000 \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$) [339], γεγονός που σημαίνει ότι το γραφένιο δρα ως μια ιδανική «δεξαμενή» και γέφυρα μετακίνησης ηλεκτρονίων.



Σχήμα 2.45: Υβρίδια ανηγμένου οξειδίου του γραφενίου (RGO) με TiO_2 [337].

2.11.4 Παράγοντες και συνθήκες που επηρεάζουν την ετερογενή φωτοκαταλυτική οξείδωση

Εκτός από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του καταλύτη, άλλοι παράγοντες που, ανάλογα με τις συνθήκες, επιταχύνουν ή επιβραδύνουν την φωτοκαταλυτική οξείδωση, δίνονται συνοπτικά στη συνέχεια:

- Η παρουσία οξειδωτικών ουσιών [340-343]
- Η παρουσία ανόργανων ιόντων [344-346]
- Η θερμοκρασία [180, 347, 348]

- Το pH [349-353]
- Η ροή των φωτονίων [347, 351, 354]

2.12 Φωτοηλεκτροκαταλυτική οξειδωση οργανικών ρύπων

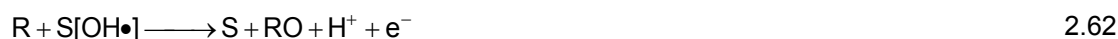
Το μειονέκτημα που παρουσιάζει η ετερογενής φωτοκαταλυτική οξειδωση ως μέθοδος αντιρρύπανσης, στην περίπτωση που ο ημιαγωγός χρησιμοποιείται υπό τη μορφή κόνεως, είναι η ανάγκη απομάκρυνσής του από το διάλυμα μετά το πέρας της αντίδρασης. Για το λόγο αυτό γίνονται προσπάθειες επίλυσης του προβλήματος με ακινητοποίηση του καταλύτη πάνω σε διάφορα υποστρώματα, όπως είναι ο άνθρακας, οι ζεόλιθοι [355-357], κεραμικά υποστρώματα [358], γυάλινα υποστρώματα [359] και ίνες [360, 361].

Η χρησιμοποίηση όμως του καταλύτη ως λεπτό υμένιο έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της απόδοσης του συστήματος, λόγω σημαντικής μείωσης της ενεργής επιφάνειας του, καθώς και της απενεργοποίησής του μετά από επαναλαμβανόμενες χρήσεις. Ένας τρόπος με τον οποίο μπορεί να επιτευχθεί η αντιστάθμιση του προβλήματος αυτού είναι η διοχέτευση ηλεκτρικού ρεύματος, διαμέσω των λεπτών υμενίων του καταλύτη, τα οποία λειτουργούν ως άνοδοι ενός γαλβανικού στοιχείου. Το 1993 η επιτυχής αποικοδόμηση της 4-χλωροφαινόλης (4-CP) έγινε σε ηλεκτρόδιο TiO_2 υπό την επίδραση ακτινοβολίας UV [362]. Η εφαρμογή ενός θετικού δυναμικού στον καταλύτη, μέσω κατάλληλης φωτοηλεκτροχημικής διάταξης παρόμοιας με την περίπτωση της φωτοηλεκτροχημικής διάσπασης του νερού, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της απόδοσης του συστήματος και ορίζεται ως φωτοηλεκτροκαταλυτική οξειδωση [363].

Όπως και στην περίπτωση της απλής φωτοκατάλυσης, έτσι και εδώ, το αρχικό στάδιο του μηχανισμού [364] περιλαμβάνει τη διέγερση του καταλύτη που αποτελεί την άνοδο της ηλεκτροχημικής κυψέλης, στην περίπτωση του n-τύπου ημιαγωγού, από φως κατάλληλου μήκους κύματος και τη δημιουργία του ζεύγους ηλεκτρονίων-οπών (εξίσωση 2.40). Οι φωτο-δημιουργούμενες οπές διαχωρίζονται, με τη βοήθεια του εξωτερικά εφαρμοζόμενου δυναμικού, από τα φωτο-δημιουργούμενα ηλεκτρόνια και οδεύουν στη διαφασική περιοχή ημιαγωγού-ηλεκτρολυτικού διαλύματος. Εκεί, αντιδρούν με μόρια νερού που είναι προσροφημένα στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ριζών υδροξυλίου (εξίσωση 2.60), οι οποίες και προσροφώνται στις ενεργές θέσεις ($\text{S}[\]$) της ανόδου (εξίσωση 2.61), ενώ τα e^- οδεύουν προς το εξωτερικό κύκλωμα:



Σε δεύτερο στάδιο λαμβάνει χώρα οξειδωση των οργανικών συστατικών από τις παραπάνω προσροφημένες ρίζες υδροξυλίου πάνω στην επιφάνεια της ανόδου:



όπου RO συμβολίζεται το προϊόν της ανοδικής οξειδωσης της οργανικής ουσίας.

Στις ενεργές θέσεις της ανόδου λαμβάνει χώρα όμως και μια παράπλευρη ανοδική ανταγωνιστική αντίδραση, η οποία οδηγεί στην παραγωγή οξυγόνου:



Η αντίδραση αυτή αποτελεί περιοριστικό παράγοντα της απόδοσης της οξειδωσης. Στα ανοδικά ηλεκτρόδια που χρησιμοποιούνται όμως στην πράξη, η έκλυση του οξυγόνου δεν ευνοείται θερμοδυναμικά και δε μπορεί να εξελιχθεί σε κύρια ανοδική δράση της ηλεκτροχημικής διεργασίας.

Παραγωγή οξυγόνου μπορεί να λάβει χώρα και κατά την παρακάτω αντίδραση:



Η αντίδραση αυτή εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από το υλικό από το οποίο είναι κατασκευασμένη η άνοδος που χρησιμοποιείται [365].

Το O_2 που παράγεται ανοδικά μπορεί να συμμετάσχει και αυτό σε ένα μηχανισμό οξειδωσης των οργανικών συστατικών. Σύμφωνα με τη θεωρία, οι υδροξυλικές ρίζες που παράγονται ανοδικά αντιδρούν με τα οργανικά συστατικά και ακολουθεί η δημιουργία ελεύθερων αλκαλικών ριζών:



Το οξυγόνο που παράγεται ανοδικά αντιδρά με τις ελεύθερες αλκαλικές ρίζες ως εξής:



Στη συνέχεια λαμβάνει χώρα νέα δημιουργία αλκαλικής ρίζας κατά την αντίδραση:



Τα οργανικά οξέα που παράγονται κατά αυτόν τον τρόπο οξειδώνονται πιο εύκολα ανοδικά. Οι ουσίες αυτές είναι συνήθως ασταθής και οξειδώνονται σε απλούστερες ενώσεις μικρότερου μοριακού βάρους.

Όσο αφορά στο μηχανισμό της ανοδικής φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξειδωσης, οι ίδιες ενεργές επιφάνειες της ανόδου συμμετέχουν στην οξειδωση των οργανικών ουσιών και στην παραγωγή οξυγόνου.

Στην κάθοδο η κύρια ηλεκτροχημική δράση που λαμβάνει χώρα είναι η έκλυση υδρογόνου. Σε όξινες περιοχές η καθοδική έκλυση υδρογόνου λαμβάνει χώρα σύμφωνα με την ηλεκτροχημική αντίδραση:



Σύμφωνα με τον παραπάνω ανοδικό μηχανισμό, λαμβάνει χώρα μια απ' ευθείας οξειδωση των οργανικών συστατικών πάνω στις ενεργές θέσεις της ανόδου. Η οξειδωση αυτή θεωρείται ως η «άμεση» ηλεκτροχημική οξειδωση των οργανικών συστατικών.

Η φωτοηλεκτροκαταλυτική οξειδωση είναι μια μέθοδος καταστροφής οργανικών ρύπων, η οποία, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, παρουσιάζει ενίσχυση της ταχύτητας καταστροφής διαφόρων οργανικών μορίων σε σχέση με την απλή φωτοκαταλυτική οξειδωση, όταν η τελευταία συμβαίνει σε ακινητοποιημένο TiO_2 . Επιπλέον, σημαντικό πλεονέκτημα αποτελεί το γεγονός ότι παραλείπεται το επίπονο και χρονοβόρο στάδιο της διήθησης. Παρόλα αυτά, η εφαρμογή της μεθόδου σε μεγάλη κλίμακα περιορίζεται από την εύρεση υλικών που θα κάνουν τη μέθοδο ανταγωνιστική.

Όπως στην περίπτωση της απλής φωτοκαταλυτικής επεξεργασίας, έτσι και εδώ, η βελτίωση της απόδοσης της μεθόδου εξαρτάται από τις ιδιότητες του TiO_2 . Οι προσπάθειες βελτίωσης και τροποποίησης του TiO_2 που αναπτύχθηκαν παραπάνω (βλέπε κεφάλαια 2.9 και 2.11.3) ισχύουν και εδώ. Η διαφορά εντοπίζεται κυρίως στη δημιουργία των υμενίων του TiO_2 πάνω σε διάφορα υποστρώματα. Για το λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι παρασκευής υμενίων TiO_2 , που είναι:

- *Sol-gel*

Αυτή είναι η περισσότερο χρησιμοποιούμενη μέθοδος παρασκευής υμενίων TiO_2 . Η επιλογή της αρχικής ένωσης επηρεάζει τις ιδιότητες του υμενίου του TiO_2 . Λεπτά υμένια έχουν παρασκευαστεί με αρχική ένωση το ισοπροποξειδίο του τιτανίου και φύλλο τιτανίου για υπόστρωμα [366]. Παρατηρήθηκε 70% αποικοδόμηση της χρωστικής Remazol Brilliant Orange 3R (RBO) συγκέντρωσης $5 \cdot 10^{-5}$ M, ύστερα από 3 ώρες φωτοηλεκτροκαταλυτικής επεξεργασίας σε δυναμικό πόλωσης +1.0 V ως προς πρότυπο ηλεκτρόδιο καλομέλανα [366]. Πορώδη υμένια TiO_2 παρουσιάζουν μεγαλύτερη φωτοηλεκτροκαταλυτική δραστικότητα σε σχέση με πιο πυκνά και συμπαγή [367]. Για την παρασκευή πορωδών υμενίων προστίθεται PEG (polyethylenglycol) στο κolloειδές αιώρημα του TiO_2 , ενώ το πάχος του υμενίου μπορεί

πολύ εύκολα να ελεγχθεί μέσω επαναλαμβανόμενων επιστρώσεων [368] σε υπόστρωμα αγωγίμου ύαλου SnO₂ εμπλουτισμένου με F [369]. Περαιτέρω, παρασκευάστηκαν νανοπορώδη και νανο-μικροσωματιδιακά ηλεκτρόδια TiO₂ χρησιμοποιώντας τετραϊσοπροποξειδίο του Ti και τροποποιημένο τετραϊσοπροποξειδίο, αντίστοιχα. Οι φωτοκαταλύτες αυτοί οδήγησαν σε 100% οξειδωση και 75% ανοργανοποίηση της χρωστικής Indigo Carmine (IC) συγκέντρωσης 5.23 10⁻⁵ M, ύστερα από 15 λεπτά φωτοηλεκτροκαταλυτικής επεξεργασίας [370].

- *Θερμική κατεργασία φύλλων Ti*

Ηλεκτρόδια υμενίου TiO₂ μπορούν να ληφθούν και με οξειδωση φύλλων τιτανίου με θέρμανση σε συγκεκριμένες θερμοκρασίες (θερμικά ηλεκτρόδια) [371-373]. Γενικά, η μορφολογία τους τείνει να είναι συμπαγής και η κρυσταλλική φάση του TiO₂ αυτής του ρουτιλίου. Ηλεκτρόδια με θέρμανση στους 700 °C έχουν δομή ρουτιλίου και παρουσιάζουν μεγαλύτερη απόδοση από ηλεκτρόδια ανατάση που παρασκευάστηκαν με sol-gel και θερμάνθηκαν στους 500 °C [367]. Απομάκρυνση 61.7% μέσα σε 1.5 ώρα φωτοηλεκτροκαταλυτικής επεξεργασίας επιτεύχθηκε σε διάλυμα ανιλίνης 10 mg L⁻¹ με ηλεκτρόδιο ρουτιλίου TiO₂, το οποίο θερμάνθηκε στους 600 °C [371]. Γενικά όμως, τα θερμικά ηλεκτρόδια παρουσιάζουν χαμηλότερες αποδόσεις σε σχέση με τα μικροσωματιδιακά, λόγω της χαμηλότερης προσρόφησης οργανικών ρύπων στην επιφάνεια τους (πιο πυκνά και συμπαγή ηλεκτρόδια).

- *Chemical vapor deposition (CVD) (Απόθεση μέσω χημικής ατμοποίησης)*

Στη μέθοδο αυτή το υπόστρωμα εκτίθεται σε μια απλή ή σύνθετη πτητική πρόδρομη ένωση, κάτω από συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης και σε ατμόσφαιρα αδρανούς αερίου. Υπό αυτές τις συνθήκες, η πτητική ένωση είτε αντιδρά, είτε αποσυντίθεται πάνω στην επιφάνεια του υποστρώματος, παράγοντας το απαιτούμενο υλικό λεπτού υμενίου [374]. Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει διάφορες τροποποιήσεις της μεθόδου, όπως η μεταλλο-οργανική CVD (MOCVD) [375], η ενίσχυση πλάσματος CVD [376] και η εστιασμένη δέσμη ιόντων CVD. Για παράδειγμα, στην MOCVD μερικά στάδια παρασκευής της τυπικής CVD μπορούν να παραλειφθούν, όπως είναι το στέγνωμα, η θέρμανση και η αναγωγή. Με αυτήν την τροποποιημένη μέθοδο, είναι σχετικά απλός ο έλεγχος της πίεσης, της θερμοκρασίας και της διαμόρφωσης του κρυστάλλου του TiO₂. Νανο-μεγέθους ηλεκτρόδιο υμενίου TiO₂, το οποίο παρασκευάστηκε με MOCVD, αποικοδόμησε κατά 97% 20 mg L⁻¹ της χρωστικής Methyl Orange (MO) σε 160 λεπτά φωτοηλεκτροχημικής επεξεργασίας [377].

- *Atomic layer deposition (Απόθεση ατομικής στοιβάδας)*

Η τεχνική της απόθεσης ατομικής στοιβάδας είναι μια αέριας φάσης χημική μέθοδος όπως και μια παραλλαγή της CVD [378]. Δυο πρόδρομες ενώσεις εισάγονται ξεχωριστά στο χημικό αντιδραστήρα, ο οποίος διοχετεύεται με ρεύμα αδρανούς αερίου. Στη συνέχεια, οι πρόδρομες ενώσεις αντιδρούν κατά σειρά με το υπόστρωμα, αποθέτοντας το υμένιο σε συγκεκριμένη

πίεση [379]. Αυτή η τεχνική μπορεί να αποθέσει υμένια σε διάφορα υλικά, έχοντας τη δυνατότητα δημιουργίας υμενίων πάχους μερικών νανομέτρων και ελέγχου της σύστασης του υμενίου [380-382]. Η τεχνική της ALD έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για την παρασκευή φωτοκαταλυτών υμενίου TiO_2 [379, 382], ακόμα και για εμπλουτισμένο υμένιο TiO_2 [383]. Ο τύπος της πρόδρομης ένωσης, η θερμοκρασία απόθεσης και ο αριθμός των κύκλων στην ALD επηρεάζουν την απόδοση του TiO_2 [380].

- *Magnetron sputtering (μαγνητικός βομβαρδισμός)*

Με την τεχνική magnetron sputtering είναι δυνατή η παρασκευή μεγάλης κλίμακας ομοιόμορφων επιστρώσεων, υψηλής πυκνότητας και συμπαγούς δομής [384]. Η διεργασία του βομβαρδισμού απομακρύνει ατομοποιημένα σωματίδια από την επιφάνεια του προς επεξεργασία υλικού, μέσω του βομβαρδισμού των επιφανειακών στοιβάδων με ιόντα υψηλής ενέργειας ή με ουδέτερα σωματίδια. Ο τύπος της παρεχόμενης ενέργειας στην τεχνική αυτή εξαρτάται από το είδος του υλικού προς επεξεργασία. Για ηλεκτρόδια καθαρών μετάλλων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί πηγή συνεχούς ρεύματος, ενώ μονωτές ή χαμηλής αγωγιμότητας αμέταλλα χρειάζονται ράδιο-συχνότητες (RF) ή συνεχές ρεύμα παλμού [374]. Υμένια TiO_2 παρασκευασμένα με magnetron sputtering μπορούν να κρυσταλλωθούν χωρίς προκατεργασία σε υψηλές θερμοκρασίες [385].

- *Anodic oxidation (Ανοδική οξείδωση)*

Η μέθοδος της ανοδικής οξείδωσης επιτρέπει την *in situ* παρασκευή ηλεκτροδίων υμενίου TiO_2 [386-388]. Στη μέθοδο αυτή, το προκατεργασμένο TiO_2 αποτελεί την άνοδο, ενώ ηλεκτρόδιο Pt ή άλλου υλικού αποτελεί την κάθοδο. Τα δυο ηλεκτρόδια τοποθετούνται σε ηλεκτρολυτικό διάλυμα κάτω από συγκεκριμένη διαφορά δυναμικού και χρόνο επεξεργασίας. Λεπτά υμένια TiO_2 παράγονται απευθείας στο υπόστρωμα, γεγονός που δε δημιουργεί προβλήματα προσκόλλησης του υμενίου στο υπόστρωμα, με αποτέλεσμα τη μείωση της αντίστασης μεταφοράς φορτίου και της επανασύνδεσης του ζεύγους e^-h^+ [389, 390]. Με αυτόν τον τρόπο, η φωτοηλεκτροκαταλυτική απόδοση μετατροπής του φωτός μπορεί να ενισχυθεί σημαντικά.

- *Dip-coating (Εμβάπτιση)*

Η μέθοδος του dip-coating στηρίζεται στην εμβάπτιση του υποστρώματος σε πηκτικό διάλυμα αιωρήματος σωματιδίων TiO_2 (μεθανόλη, αιθανόλη κ.α.). Το πάχος του υμενίου μπορεί πολύ εύκολα να ελεγχθεί από τον αριθμό των επαναλαμβανόμενων εμβάπτισων του υποστρώματος στο αιώρημα. Ο Philippidis και οι συνεργάτες του [391] παρασκεύασαν ηλεκτρόδιο νανο-σωματιδιακού υμενίου TiO_2 (TNP) σε υπόστρωμα Ti από αιώρημα νανο-σωματιδίων (NP) TiO_2 P-25. Φωτογραφίες SEM έδειξαν πως τα NP συσσωματώνονται ως σφαίρες. Κατά τη χρήση του ηλεκτροδίου στην φωτοηλεκτροκαταλυτική αποικοδόμηση του

φυτοφαρμάκου Imidacloprid συγκέντρωσης 20 mg L^{-1} , επιτεύχθηκε 87% οξειδωση και 66% αποικοδόμηση του φυτοφαρμάκου ύστερα από 3 ώρες και 18 ώρες επεξεργασίας, αντίστοιχα.

Ο Oliveira και οι συνεργάτες του [369] χρησιμοποίησαν πορώδες ηλεκτρόδιο TiO_2 και πέτυχαν 92% αποικοδόμηση διαλύματος φαινόλης, συγκέντρωσης 50 mg L^{-1} , ύστερα από 6 ώρες φωτοηλεκτροκαταλυτικής επεξεργασίας. Ο Sun και οι συνεργάτες του [392] μελέτησαν διάφορους συνδυασμούς μεγέθους και τραχύτητας που επηρεάζουν την παρασκευή NP υμενίων TiO_2 . Βρήκαν πως ηλεκτρόδιο NP ανατάση με μέσο μέγεθος σωματιδίων ίσο με 17.2 nm και τραχύτητα 3.653 nm, ανοργανοποίησε κατά 98.9% διάλυμα χρωστικής MO συγκέντρωσης 10 mg L^{-1} , ύστερα από μια ώρα φωτοηλεκτροκαταλυτικής επεξεργασίας.

Ο Zlamal και οι συνεργάτες του [393] ερεύνησαν την επίδραση εξωτερικού ανοδικού δυναμικού στη φωτοκαταλυτική δραστηριότητα αυτο-οργανωμένων νανο-σωλήνων TiO_2 . Οι νανο-σωλήνες TiO_2 δημιουργήθηκαν απευθείας σε υπόστρωμα Ti, με ανοδίωση του τιτανίου (οπότε δημιουργήθηκε μια πολύ καλή επαφή των νανο-σωλήνων με το υπόστρωμα) σε ηλεκτρολύτες που περιείχαν φθόριο. Παρατήρησαν τη σημαντική ενίσχυση της φωτοκατάλυσης με την επίδραση εξωτερικού δυναμικού +1.0 V. Με τη μέθοδο της ανοδικής ανοδίωσης παρασκεύασαν παρόμοια ηλεκτρόδια και ο Quan και οι συνεργάτες του [389]. Πέτυχαν νανο-σωλήνες υψηλής οργάνωσης, οι οποίοι ήταν ανοιχτοί στην κορυφή, η διάμετρός τους ήταν μεταξύ 30 και 90 nm και το μήκος τους 300-500 nm. Οι νανο-σωλήνες TiO_2 έχουν πολύ μεγάλη ειδική επιφάνεια και διαμόρφωση προς μια κατεύθυνση [394-396], παράγοντες που μπορούν να αυξήσουν την προσρόφηση οργανικών ουσιών και να παρέχουν κανάλι μιας κατεύθυνσης μεταφοράς φορτίου για αποτελεσματικό διαχωρισμό οπών και ηλεκτρονίων [395, 397]. Ο ρυθμός αποικοδόμησης της MO ήταν κατά 30% μεγαλύτερος, σε σχέση με το ρυθμό που παρατηρήθηκε σε NP ηλεκτρόδια [398].

Ο Li και οι συνεργάτες του [399-401] παρασκεύασαν μια σειρά ηλεκτροδίων TiO_2 τροποποιημένα με $\beta\text{-PbO}_2$ χρησιμοποιώντας μια μέθοδο συν-απόθεσης. Τα τροποποιημένα ηλεκτρόδια παρουσίασαν καλύτερη μορφολογία κρυστάλλων και ήταν περισσότερο συμπαγή και ομοιόμορφα σε σχέση με τα μη-τροποποιημένα. Τα ηλεκτρόδια αυτά χρησιμοποιήθηκαν για την οξειδωση χρωστικών ουσιών (Acid Orange 7), όπου παρατηρήθηκε σημαντική ενίσχυση της απόδοσης της φωτοηλεκτροκατάλυσης παρουσία εφαρμοζόμενου δυναμικού σε σχέση με την απλή φωτοκατάλυση. Τα αποτελέσματα έδειξαν τριπλασιασμό στην κινητική της οξειδωσης των χρωστικών, υπό την επίδραση εξωτερικού δυναμικού +1.5 V. Το TiO_2 είναι διασκορπισμένο μεταξύ των κρυστάλλων του $\beta\text{-PbO}_2$, το οποίο παρουσιάζει αγωγιμότητα παρόμοια με εκείνη των μετάλλων. Το ανοδικά εφαρμοζόμενο δυναμικό παρέχει μια διαβάθμιση φορτίου μέσα στη στοιβάδα του φωτοκαταλύτη, έτσι ώστε να μεταφέρονται ηλεκτρόνια από το αγωγίμο $\beta\text{-PbO}_2$ προς το αντίθετο ηλεκτρόδιο. Το φαινόμενο αυτό αναστέλλει διεργασίες επανασύνδεσης των ζευγών e^-h^+ και ενισχύει την απόδοση της μεθόδου.

Ηλεκτρόδια νανο-πορώδων συστοιχιών TiO_2 έχουν μια πορώδη διαμόρφωση απευθείας ενωμένη με το υπόστρωμα Ti. Βρέθηκε πως η πορώδης διαμόρφωση μειώνει την αντίσταση μεταφοράς των φωτο-παραγόμενων ηλεκτρονίων σε σχέση με ηλεκτρόδια νανο-

σωλήνων TiO_2 [386, 387]. Η σταθερά κινητικής της φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξειδωσης της MO ήταν 1.27 φορές υψηλότερη στα νανο-πορώδη ηλεκτρόδια σε σχέση με την αντίστοιχη στα ηλεκτρόδια νανο-σωλήνων [387].

Ένα μικτής φύσης υμένιο παρασκευάστηκε από τον Zhang και τους συνεργάτες του [402], το οποίο αποτελούνταν από μια στοιβάδα υψηλής διάταξης νανο-κυλίνδρων TiO_2 , σε υποκείμενη στοιβάδα υψηλής οργάνωσης συστοιχίας νανο-σωλήνων (NR/NT). Ως φωτοάνοδος, το NR/NT ηλεκτρόδιο παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον στην φωτοηλεκτροκαταλυτική επεξεργασία οργανικών ρύπων, όπως και σε άλλες εφαρμογές [402]. Τριών διαστάσεων δίκτυα νανο-καλωδίων αποτελούν μια ελπιδοφόρο αρχιτεκτονική για υψηλής απόδοσης φωτοηλεκτροχημικά ηλεκτρόδια [403].

2.12.1 Παράγοντες και συνθήκες που επηρεάζουν τη φωτοηλεκτροκαταλυτική οξειδωση

Εκτός από τις φυσικοχημικές ιδιότητες και τους διάφορους τρόπους παρασκευής των ηλεκτροδίων, άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τη φωτοηλεκτροκαταλυτική επεξεργασία οργανικών ουσιών είναι:

- Η πηγή και η ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας
- Άλλα υποστρώματα δημιουργίας υμενίων TiO_2
- Το εξωτερικά εφαρμοζόμενο δυναμικό
- Το pH του διαλύματος
- Η αγωγιμότητα του διαλύματος
- Η αρχική συγκέντρωση του ρύπου

Οι περισσότεροι από τους παραπάνω παράγοντες αναλύονται στα αποτελέσματα και συζήτηση (βλέπε κεφάλαιο 4).

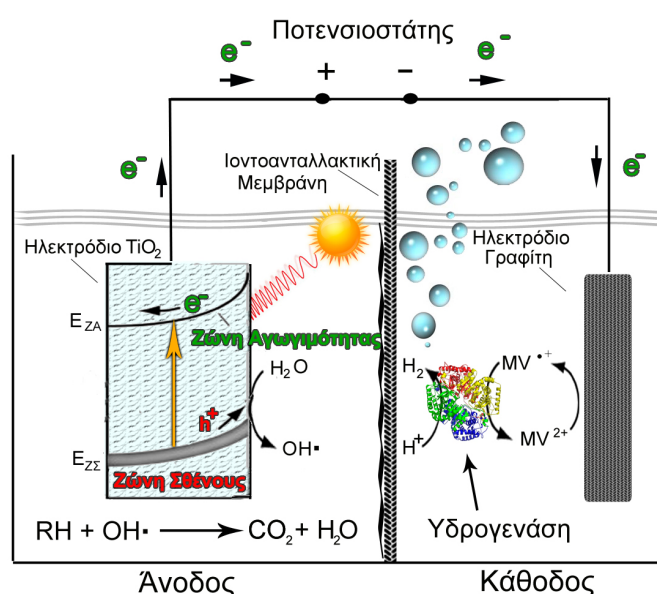
2.13 Φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική υβριδική κυψέλη

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή γίνεται προσπάθεια ανάπτυξης μιας μεθόδου, η οποία συνδυάζει τη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση οργανικών ρύπων με τη φωτοσυνθετική παραγωγή υδρογόνου από τα πράσινα άλγη *Chlamydomonas Reinhardtii* και συγκεκριμένα, το στέλεχος CC-124. Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 1.1, η φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική μέθοδος είναι διττής σημασίας και έχει ως στόχο την επεξεργασία οργανικών ρύπων που βρίσκονται σε υγρά απόβλητα, με την ταυτόχρονη παραγωγή ενέργειας (υδρογόνο). Ο συνδυασμός αυτός αποτελεί μια δυναμική οδό για την ανάπτυξη μεθόδων «τεχνητής φωτοσύνθεσης», δηλαδή μεθόδων που θα μπορούσαν να «μιμηθούν» τη μοριακή και υπερμοριακή οργάνωση των φυσικών φωτοσυνθετικών συστημάτων. Παράγοντας κλειδί είναι

η αξιοποίηση της ηλιακής ενέργειας, με απώτερο στόχο τη δημιουργία αυτόνομων συστημάτων αντιρρύπανσης και την παραγωγή ωφέλιμης για τον άνθρωπο ενέργειας [404].

Στην προκειμένη περίπτωση, η οξειδωση οργανικών ρύπων αντανάκλα την οξειδωση του νερού στο PSII (έκλυση οξυγόνου), ενώ τα φωτο-δημιουργούμενα ηλεκτρόνια, που στη φωτοσύνθεση χρησιμοποιούνται για την παραγωγή υδατανθράκων, παρέχονται προς τα ένζυμα υδρογενάσης για παραγωγή υδρογόνου. Τα ένζυμα υδρογενάσης εκφράζονται από τα πράσινα φωτοσυνθετικά άλγη *Chlamydomonas Reinhardtii* CC-124 και χρησιμοποιούνται ως καταλύτες στην ενζυμική παραγωγή υδρογόνου.

Στο πλαίσιο ανάπτυξης της μεθόδου κατασκευάστηκε μια φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική κυψέλη, της οποίας η λειτουργία παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα (2.46).

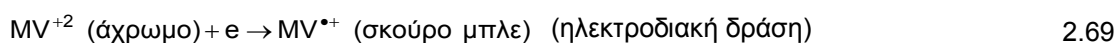


Σχήμα 2.46: Σχηματική αναπαράσταση της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής κυψέλης. Η άνοδος αποτελείται από ένα ηλεκτρόδιο TiO_2 σε ηλεκτρολυτικό διάλυμα 0.1 M Na_2SO_4 , το οποίο περιέχει γνωστή συγκέντρωση οργανικού ρύπου (Χλωραμφενικόλη ή Imidacloprid) και φωτίζεται από τεχνητή πηγή ακτινοβολίας UV-A. Η κάθοδος, η οποία τοποθετείται στο σκοτάδι, διαχωρίζεται από την άνοδο με ιοντοανταλλακτική μεμβράνη Nafion και περιέχει γνωστή συγκέντρωση κυτάρων άλγερων, γνωστή συγκέντρωση διαμεσολαβητή φορτίου (Methyl Viologen- MV^{+2}) και γνωστή συγκέντρωση απορρυπαντικού (Triton X 100).

Αρχικά, ο φωτισμός της ανόδου με ακτινοβολία κατάλληλου μήκους κύματος προκαλεί την οξειδωση οργανικών ρύπων στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου από τις φωτο-δημιουργούμενες οπές. Στη συνέχεια, και λόγω της εφαρμοζόμενης διαφοράς δυναμικού, τα φωτο-παραγόμενα ηλεκτρόνια μεταφέρονται στην κάθοδο, όπου τα ένζυμα υδρογενάσης, καταλύουν την αναγωγή των H^+ προς υδρογόνο, παρουσία του διαμεσολαβητή φορτίου Methyl Viologen (MV^{+2}) [405]. Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, καινοτομία αποτελεί η αντικατάσταση των πολύπλοκων, φυσικών, βιολογικών πρωτεϊνικών συστημάτων (PSI, PSII,

φερρεδοξίνη) για παραγωγή υδρογόνου με την φωτοάνοδο TiO_2 , η οποία απορροφά ακτινοβολία (ρόλος PSII και PSI στην φωτοσύνθεση) και διεγείρει ηλεκτρόνια προς υψηλότερες ενεργειακές στάθμες. Στη διεθνή βιβλιογραφία έχουν γίνει παρόμοιες μελέτες σχετικά με παραγωγή υδρογόνου από τη σύζευξη φωτοηλεκτροχημικών και βιολογικών διεργασιών, με τη διαφορά πως στην κάθοδο χρησιμοποιούνται καθαρά ένζυμα υδρογενασών ακινητοποιημένα σε ηλεκτροδιακά υποστρώματα, ενώ στην άνοδο απλά ηλεκτρολυτικά διαλύματα [406, 407]. Στην πιο πρόσφατη εργασία τους, ο Junku Jo και οι συνεργάτες του [407] χρησιμοποίησαν φωτοάνοδο ανοδιωμένου TiO_2 και θαλασσινό νερό υψηλής συγκέντρωσης αλάτων, ενώ στην κάθοδο, το ίδιο ανοδιωμένο ηλεκτρόδιο TiO_2 . Στον ημιαγωγό είχαν ακινητοποιηθεί 3.66 units ενζύμων υδρογενάσης (ένζυμα από το βακτήριο *Pyrococcus Furiosus*) σε θερμοκρασία άνω των 70 °C. Παρατήρησαν την παραγωγή υδρογόνου με ρυθμό 105 $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ σε ένταση ακτινοβολίας $74 \pm 3.4 \text{ mW cm}^{-2}$ από πηγή ακτινοβολίας μήκους κύματος 350-450 nm. Αντιθέτως, εδώ για πρώτη φορά παρουσιάζεται ένα σύστημα, το οποίο, αντί για καθαρά ένζυμα, αξιοποιεί κύτταρα άλγεων στο καθοδικό τμήμα της φωτοηλεκτροχημικής κυψέλης σε συνδυασμό με ένα διαμεσολαβητή φορτίου (Methyl Viologen, MV^{+2}) [408, 409] και με ένα απορρυπαντικό (Triton X 100). Η παρουσία του απορρυπαντικού οδηγεί στη διάνοιξη των μεμβρανών των κυττάρων [410], ενώ το MV^{+2} μεταφέρει αποτελεσματικά τα ηλεκτρόνια από την κάθοδο προς τα ένζυμα υδρογενάσης στο εσωτερικό του διαλύματος [411, 412]. Με αυτόν τον τρόπο παρακάμπτονται πολύπλοκα και εξειδικευμένα στάδια έκφρασης και παραγωγής καθαρών ενζύμων.

Το Triton X 100 είναι ένα ήπιο, μη-ιονικό απορρυπαντικό, που στόχο είχε τη διαλυτοποίηση των μεμβρανών των κυττάρων και απελευθέρωση των ενζύμων υδρογενάσης από το στρώμα των χλωροπλαστών [76] στο εσωτερικό του διαλύματος (bulk). Η παρουσία του διαμεσολαβητή φορτίου (MV^{+2}) ήταν επίσης απαραίτητη για την αύξηση της αποτελεσματικότητας της μεταφοράς φορτίου από το ηλεκτρόδιο καθόδου προς τα ένζυμα υδρογενάσης. Το μεταλλικό ηλεκτρόδιο που χρησιμοποιείται ως επί το πλείστον ως κάθοδος στην φωτοηλεκτροχημική διάσπαση του νερού είναι ο Pt, είτε ως σύρμα, είτε ως φύλλο [5, 16, 160, 413-415]. Ο Pt όμως συνδέεται με αρκετά προβλήματα, όπως επιμολύνσεις, κόστος και σπανιότητα. Επίσης, μπορεί να οξειδωθεί και αποτίθεται στο μεταλλικό υπόστρωμα δημιουργώντας μεγάλα συσσωματώματα, με αποτέλεσμα την απενεργοποίηση του ηλεκτροδίου. Έχει ήδη αναφερθεί ότι οι υδρογενάσες [73] έχουν παρόμοια καταλυτική ικανότητα παραγωγής υδρογόνου με το Pt. Η αντικατάστασή του με ένα ηλεκτρόδιο γραφίτη, που είναι χειρότερος καταλύτης αναγωγής των H^+ , σε συνδυασμό όμως με ένα αντιστρεπτό οξειδοαναγωγικό σύστημα, όπως είναι το $\text{MV}^{+2}/\text{MV}^{+}$, αποτελεί μια ενδιαφέρουσα και οικονομική τροποποίηση της καθόδου. Επιπλέον, το MV^{+2} αναμένεται να συντηρεί ικανοποιητικά τον κύκλο H^+ -υδρογενάση- H_2 , αφού η επιφάνεια του καθοδικού ηλεκτροδίου είναι αρκετά μικρή (40 cm^2) και η πιθανότητα το ένζυμο να έρθει σε επαφή, ώστε να λάβει το ηλεκτρόνιο, είναι μικρή επίσης. Οι αντιδράσεις που παρουσιάζουν αυτόν τον κύκλο μεταφοράς ηλεκτρονίων φαίνονται παρακάτω.



Ο ρόλος του MV^{+2} ως διαμεσολαβητής φορτίου είναι ευρέως γνωστός, με εκτεταμένες αναφορές και εφαρμογές στη διεθνή βιβλιογραφία [82, 416-421]. Έχει επίσης διαπιστωθεί πως ενώσεις της συνομοταξίας των νιολογών με μικρότερες αλκυλικές αλυσίδες αλληλεπιδρούν ισχυρότερα με το αρνητικά φορτισμένο τμήμα των πρωτεϊνών, παράγοντας υδρογόνο με μεγαλύτερο ρυθμό [422]. Το παρόν σύστημα αποτελεί τροποποίηση της διαδικασίας προσδιορισμού της ενεργότητας των ενζύμων (βλέπε κεφάλαιο 3.3.4), όπου το MV^{+2} ανάγεται χημικώς με την επίδραση αναγωγικών μέσων, όπως είναι το dithionite ($Na_2S_2O_4$) [95]. Η αντικατάσταση του αναγωγικού μέσου ($Na_2S_2O_4$) με ένα ηλεκτρόδιο παρουσιάζει το πλεονέκτημα της συνεχούς αναγέννησης της ανηγμένης μορφής του MV^{+2} . Το δυναμικό αναγωγής του ζεύγους $MV^{+2}/MV^{\bullet+}$ βρίσκεται στα -0.73 V ως προς το ηλεκτρόδιο Ag/AgCl, όπως προκύπτει από την αντίστοιχη βολταμετρική καμπύλη του MV^{+2} (βλέπε κεφάλαιο 3.5.8).

Συνοπτικά, στο ανοδικό τμήμα της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής κυψέλης μελετήθηκε η οξειδωση του φυτοφαρμάκου Imidacloprid και του αντιβιοτικού Χλωραμφενικόλη, δυο χημικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως ρύποι μοντέλα, ενώ στο καθοδικό τμήμα η ικανότητα ταυτόχρονης παραγωγής υδρογόνου από τα ένζυμα υδρογενάσης, τα οποία εκφράστηκαν στα άγλη *Chlamydomonas Reinhardtii* CC-124.

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 Αντιδραστήρια-Υλικά

3.1.1 *Chlamydomonas Reinhardtii* CC-124

Τα πράσινα φωτοσυνθετικά άλγη *Chlamydomonas Reinhardtii* CC-124 wild type mt-[137c] προμηθεύτηκαν από το Chlamydomonas Resource Center του Πανεπιστημίου της Μινεσότας. Αυτός ο τύπος πράσινων άλγεων συνήθως ζει στο έδαφος και το συγκεκριμένο είδος προέρχεται από μια καλλιέργεια πατάτας της Μασαχουσέτης του 1945. Λάβαμε 2 υδατικές καλλιέργειες των 10 mL, οι οποίες ήταν έτοιμες για ανάπτυξη καθώς και μια καλλιέργεια σε άγαρ, η οποία μπορούσε να αναπτυχθεί αργότερα.

Η ανάπτυξη των άλγεων γίνεται σε δυο θρεπτικά υλικά, το Sueoka [423] και το Tris-Acetate-Phosphate (TAP) [76, 424]. Τα χαρακτηριστικά των 2 θρεπτικών υλικών δίνονται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3.1).

Πίνακας 3.1: Συγκεντρώσεις αλάτων, ρυθμιστικού διαλύματος, ιχνοστοιχείων και οξέων στα Sueoka και TAP θρεπτικά υλικά (mol L^{-1}).

	Συστατικά	Sueoka	TAP
<i>Βάση Tris</i>	[H ₂ NC(CH ₂ OH) ₃] – Tris(hydroxymethyl)- aminomethan	-	2.00 10 ⁻²
<i>Αλατα (Beijerinck salts)</i>	NH ₄ Cl	9.35 10 ⁻³	7.00 10 ⁻³
	MgSO ₄ 7H ₂ O	1.66 10 ⁻³	8.30 10 ⁻³
	CaCl ₂ 2H ₂ O	0.9 10 ⁻³	4.50 10 ⁻³
<i>Διάλυμα φωσφορικών</i>	K ₂ HPO ₄	8.25 10 ⁻³	1.65 10 ⁻³
	KH ₂ PO ₄	5.25 10 ⁻³	1.05 10 ⁻³
<i>Ιχνοστοιχεία (Hunter's trace elements)</i>	Na ₂ EDTA 2H ₂ O	1.34 10 ¹⁰ ⁻⁴	1.34 10 ¹⁰ ⁻⁴
	ZnSO ₄ 7H ₂ O	1.36 10 ⁻⁴	1.36 10 ⁻⁴
	H ₃ BO ₃	1.84 10 ⁻⁴	1.84 10 ⁻⁴
	MnCl ₂ 4H ₂ O	4.00 10 ⁻⁵	4.00 10 ⁻⁵
	FeSO ₄ 7H ₂ O	3.29 10 ⁻⁵	3.29 10 ⁻⁵
	CoCl ₂ 6H ₂ O	1.23 10 ⁻⁵	1.23 10 ⁻⁵
	CuSO ₄ 5H ₂ O	1.00 10 ⁻⁵	1.00 10 ⁻⁵
	(NH ₄) ₆ MoO ₃	4.44 10 ⁻⁶	4.44 10 ⁻⁶
<i>Οξύ</i>	Οξικό οξύ	15.0 10 ⁻³ (CH ₃ COOH 3H ₂ O)	17.4 10 ⁻³ (Glacial)

Τα θρεπτικά υλικά στην περίπτωση της ανάπτυξης των άλγεων απουσία θείου και οξυγόνου (Sueoka-SF και TAP-SF), είχαν τις ίδιες συγκεντρώσεις με τα θρεπτικά υλικά σε φυσιολογικές συνθήκες ανάπτυξης, με τη διαφορά πως όλα τα θειικά άλατα αντικαθίστανται από τα αντίστοιχης συγκέντρωσης, ως προς τα κατιόντα, χλωριούχα άλατα.

3.1.2 Διοξείδιο του Τιτανίου (TiO₂)

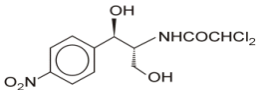
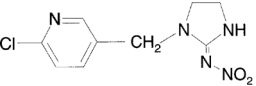
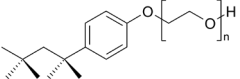
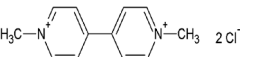
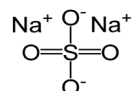
Ως υπόστρωμα για την παρασκευή των ηλεκτροδίων εργασίας (φωτοάνοδος), χρησιμοποιήθηκε πλάκα τιτανίου πάχους 0.5 mm και καθαρότητας 99.5% της εταιρείας Alfa-Aesar. Ο καταλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή των μικροσωματιδιακών ηλεκτροδίων ήταν το TiO₂ P-25 της εταιρείας Degussa, το οποίο είναι μίγμα των μορφών ανατάση:ρουτιλίου σε αναλογία 3.6:1 (BET 56 m²g⁻¹, ποηροους), με μέσο μέγεθος κόκκων 30 nm. Θερμικά ηλεκτρόδια TiO₂ παρασκευάστηκαν με απευθείας θέρμανση της πλάκας τιτανίου στην επιθυμητή θερμοκρασία. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκαν και μικροσωματιδιακά ηλεκτρόδια TiO₂ μορφοποιημένα με Pt, σε επιλεγμένα μόνο πειράματα.

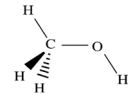
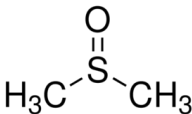
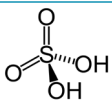
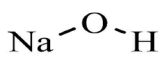
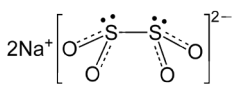
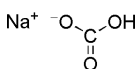
3.1.3 Άλλα αντιδραστήρια

Για τη χημική απόξυση του Ti, χρησιμοποιήθηκε μίγμα υδροφθορικού (HF) και νιτρικού οξέος (HNO₃) της εταιρείας Merck, σε αναλογία 3:1.

Τα υπόλοιπα αντιδραστήρια, καθώς και μια σύντομη περιγραφή του ρόλου τους, δίνονται στον πίνακα 3.2

Πίνακας 3.2: Αντιδραστήρια.

Όνομα ουσίας	Εταιρία	Μοριακός τύπος	Συντακτικός τύπος	Χρήση
Χλωραμφενικόλη	Sigma Chemie GmbH	C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₅		Ρύπος μοντέλο
Imidacloprid	FarmaChem	C ₈ H ₉ N ₅ O ₂ Cl		Ρύπος μοντέλο
Triton X 100	Fluka BioChemika	C ₁₄ H ₂₂ O(C ₂ H ₄ O) _n (n = 9-10)		Απορρυπαντικό
Methyl Viologen ένυδρο (98 %)	Sigma Chemie GmbH	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ xH ₂ O		Διαμεσολαβητής φορτίου
Θειικό Νάτριο	Chem-Lab NV	Na ₂ SO ₄		Ηλεκτρολύτης

Μεθανόλη	Lab-Scan	CH ₃ OH		Κρυο-διατήρηση άλγεων
Διμέθυλο Σουλφοξείδιο	Merck	(CH ₃) ₂ SO		Κρυο-διατήρηση άλγεων
Θειικό Οξύ	Merck	H ₂ SO ₄		Ρυθμιστής pH
Υδροξείδιο του Νατρίου	Merck	NaOH		Ρυθμιστής pH
Διθειώδες Νάτριο	Sigma-Aldrich	Na ₂ S ₂ O ₄		Αναγωγικό
Οξίνο ανθρακικό Νάτριο	Sigma-Aldrich	NaHCO ₃		Πηγή ανόργανου άνθρακα άλγεων

Όλα τα αντιδραστήρια ήταν αναλυτικώς καθαρά. Τα πειράματα εκπονήθηκαν με δις απιονισμένο νερό, ενώ το νερό για την παρασκευή των θρεπτικών υλικών ήταν υπερκάθαρο.

3.1.4 Υλικά: φωτοηλεκτροχημικές κυψέλες και φλάσκες ανάπτυξης των άλγεων

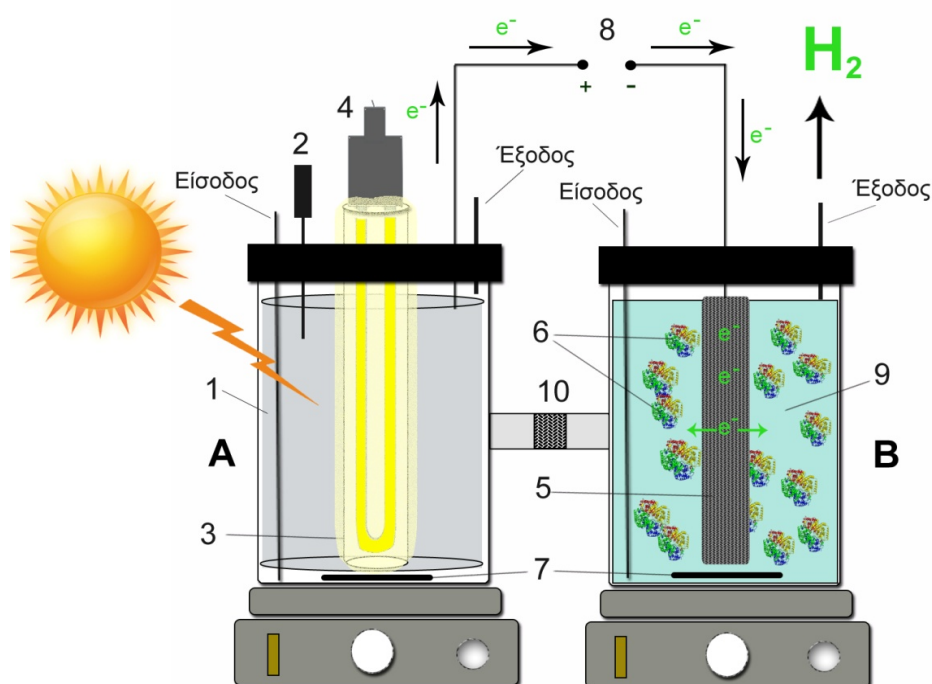
Φωτοηλεκτροχημικές κυψέλες

Για το χαρακτηρισμό των ηλεκτροδίων του TiO₂ διαστάσεων 0.5 x 1 cm χρησιμοποιήθηκε κατάλληλη ηλεκτροχημική κυψέλη τριών ηλεκτροδίων, χωρητικότητας 12 mL. Η πηγή φωτισμού τοποθετήθηκε απέναντι από το παράθυρο χαλαζία της κυψέλης, σε απόσταση 3 cm από το ηλεκτρόδιο του TiO₂. Ως αντίθετο ηλεκτρόδιο χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρόδιο Pt, ενώ ως ηλεκτρόδιο αναφοράς, το ηλεκτρόδιο Ag/AgCl. Η πηγή σταθερού δυναμικού (ποτενσιοστάτης εργαστηριακού τύπου απόδοσης 0 έως 5 Volt) ήταν συνδεδεμένη με ηλεκτρονικό σύστημα καταγραφής. Για την μετατροπή του αναλογικού σήματος του ποτενσιοστάτη σε ψηφιακό, χρησιμοποιήθηκε ο μετατροπέας σήματος DUO 18 της εταιρίας World Precision Instruments (WPI).

Τα πειράματα φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξειδωσης των διαφόρων ρύπων διεξήχθησαν σε κατάλληλα διαμορφωμένο γυάλινο κυλινδρικό δοχείο χωρητικότητας 500 mL (ΦΗΚ_{αν.}), στο οποίο υπήρχε ενσωματωμένη γυάλινη ηλεκτρολυτική γέφυρα στο κάτω μέρος. Έτσι, η ΦΗΚ_{αν.} μπορούσε να λειτουργεί είτε ως μονοιθική συσκευή, είτε σε συνδυασμό με την κάθοδο ΦΗΚ_{καθ.} της φωτοηλεκτροχημικής κυψέλης.

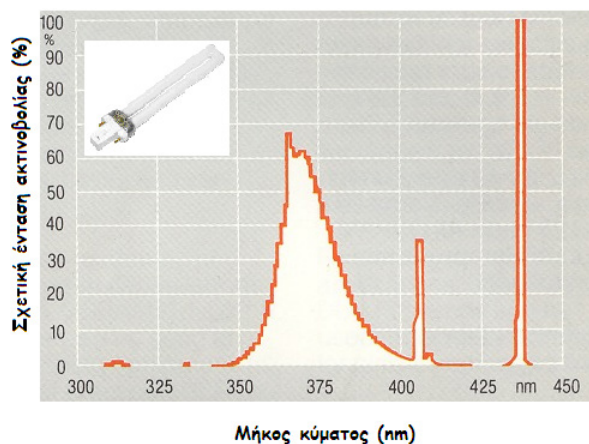
Η πηγή φωτισμού βρισκόταν σε γυάλινο προστατευτικό σωλήνα στο κέντρο του δοχείου. Ο γυάλινος σωλήνας αποτελείται από το υλικό Borosilicate, το οποίο επιτρέπει την

διέλευση του 75% της UV-A ακτινοβολίας. Στην περίπτωση της μονολιθικής συσκευής, το αντίθετο ηλεκτρόδιο ήταν ένα σύρμα από ανοξείδωτο ασάλι, το οποίο ήταν τυλιγμένο γύρω από τον προστατευτικό σωλήνα, έτσι ώστε να δημιουργείται ομογενές ηλεκτρικό πεδίο. Στην περίπτωση της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής κυψέλης δυο τμημάτων, το αντίθετο ηλεκτρόδιο ήταν μια ράβδος γραφίτη (40 cm²) εμβαπτισμένη στο ηλεκτρολυτικό διάλυμα άλγεων της καθόδου (σχήμα 3.1β). Σε κάθε περίπτωση, το ηλεκτρόδιο αναφοράς Ag/AgCl εισερχόταν στο ανοδικό τμήμα της κυψέλης, μέγιστου όγκου ηλεκτρολυτικού διαλύματος ρύπου 300 mL (σχήμα 3.1α).



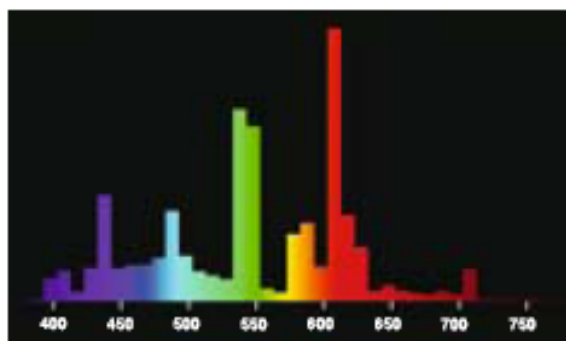
Σχήμα 3.1: Σχηματική απεικόνιση της υβριδικής φωτοηλεκτροκαταλυτικής-ενζυματικής κυψέλης. Άνοδος (A), κάθοδος (B), ηλεκτρόδιο εργασίας (κύλινδρος TiO₂) (1), ηλεκτρόδιο αναφοράς Ag/AgCl (2), κυλινδρικός γυάλινος σωλήνας όπου τοποθετούνταν η λάμπα (3), λάμπα ακτινοβολίας UV-A (4), αντίθετο ηλεκτρόδιο (κύλινδρος άνθρακα) (5), ένζυμο υδρογενάσης (6), μαγνητικός αναδευτήρας (7), ποτενσιοστάτης (8), διάλυμα άλγεων σε Sueoka-SF ή TAP-SF θρεπτικό υλικό (περιέχει MV⁺² και Triton X 100) (9) και ηλεκτρολυτικός σύνδεσμος (μεμβράνη Nafion) (10).

Το μίγμα της αντίδρασης αναδευόταν με τη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα της εταιρείας Labinc, L21. Ως πηγή σταθερού δυναμικού χρησιμοποιήθηκε ποτενσιοστάτης Potentioscan Wenking POS 73 της εταιρείας BANK ELEKTRONIK. Τόσο στην περίπτωση της μονολιθικής συσκευής, όσο και στην περίπτωση της κυψέλης δυο τμημάτων, χρησιμοποιήθηκε ως πηγή φωτισμού ο λαμπτήρας υπεριώδους ακτινοβολίας Osram Dulux S 9W/78, UV-A, περιοχής A και ισχύος 9 W, η οπτική απόδοση του οποίου σύμφωνα με την παραγωγό εταιρεία, εκτείνεται μεταξύ των 350-400 nm, με μέγιστη ένταση ακτινοβολίας στα 366 nm (σχήμα 3.2).



Σχήμα 3.2: Φασματική απόκριση της λάμπας φωτισμού υπεριώδους ακτινοβολίας Osram Dulux S 9W/78, UV-A., περιοχής A και ισχύος 9 W.

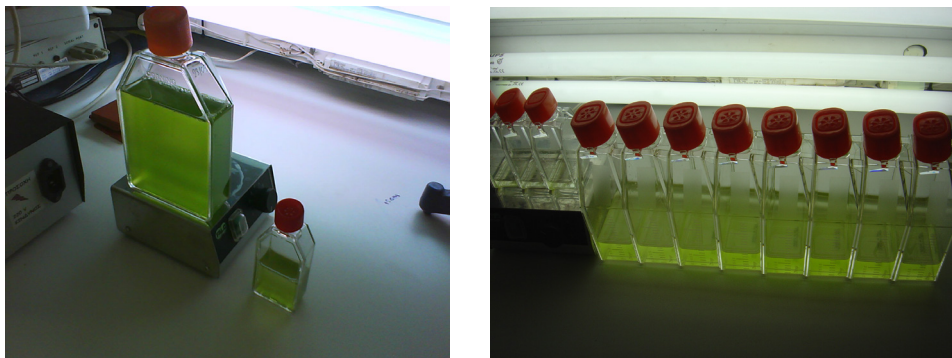
Αντίστοιχα, τα πειράματα φωτοβιολογικής παραγωγής υδρογόνου διεξήχθησαν σε κυλινδρική γυάλινη κυψέλη, η οποία αποτελούσε και την κάθοδο της υβριδικής κυψέλης (ΦΗΚ_{καθ.}) όγκου 260 mL (50 mL υπερκείμενος κενός χώρος για τη συγκέντρωση αερίων), έκλεινε αεροστεγώς και υπήρχαν ειδικά διαμορφωμένες θέσεις για τη σύνδεση με την άνοδο (γυάλινη ηλεκτρολυτική γέφυρα στο κάτω μέρος του κυλίνδρου), για την εισαγωγή του ηλεκτροδίου γραφίτη (μεταλλική κάθοδος), καθώς και για τη λήψη δειγμάτων είτε από την αέρια, είτε από την υγρή φάση (σχήμα 3.1β). Η ΦΗΚ_{καθ.} κατά την ανάπτυξη των άλγεων σε συνθήκες απουσίας θείου και οξυγόνου, ακτινοβολούνταν εκατέρωθεν από 8 λάμπες ορατής ακτινοβολίας Osram Deluxe 18W cool-fluorescence (4 σε κάθε πλευρά σε απόσταση 12 cm από την επιφάνεια της), έντασης $180 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR [425], με μέγιστη ένταση ακτινοβολίας στα 610 nm, όπως φαίνεται στο σχήμα 3.3. Ανάλογα με τις πειραματικές απαιτήσεις, στο κέντρο της ΦΗΚ_{καθ.} ήταν τοποθετημένο ή όχι το ηλεκτρόδιο γραφίτη. Το μίγμα της αντίδρασης αναδευόταν και σε αυτήν την περίπτωση, με τη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα της εταιρείας Labinc, L21.



Σχήμα 3.3: Φασματική απόκριση της λάμπας φωτισμού ορατής ακτινοβολίας Osram De Luxe, Cool White, Light Colour 940, ισχύος 18 W.

Φλάσκες ανάπτυξης των άλγεων

Η ανάπτυξη των άλγεων σε φυσιολογικές συνθήκες γινόταν σε πλαστικές, επίπεδες και αποστειρωμένες φλάσκες ανάπτυξης καλλιιεργειών. Οι φλάσκες ήταν της εταιρίας Corning, όγκου 250 ή 50 mL και με δυνατότητα αεροστεγούς ή μη κλεισίματος (εικόνα 3.1).



Εικόνα 3.1: Επίπεδες φλάσκες ανάπτυξης άλγεων σε φυσιολογικές συνθήκες.

3.2 Όργανα και συσκευές

Τα όργανα και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων δίνονται στην παρακάτω λίστα:

- Αναλυτής TOC V_{CSH} της εταιρείας Shimadzu
- Αέριος χρωματογράφος GC-2014 της εταιρείας Shimadzu
- Σύριγγα gas-tight 250 μ L
- Φασματοφωτόμετρο PharmaSpec UV-1700 της εταιρείας Shimadzu
- Αναλυτής SEM τύπου Jeol-jsm-840A scanning microscope
- Μετρητής διαφορικής χωρητικότητας τύπου PGZ301 Voltalab 40 της εταιρείας Dynamic Electrochemical Laboratory
- Ποτενσιοστάτης τύπου Potentiostan Wenking POS 73 της εταιρείας BANK ELEKTRONIK
- Ποτενσιοστάτης κατασκευασμένος στο εργαστήριο με μέγιστη απόδοση 5 Volt
- Φούρνος CARBOLITE CWF 1100
- Φούρνος Heraeus
- Μετατροπέας σήματος DUO 18 της εταιρείας WPI, Inc
- Περισταλτική αντλία sciQ323 της εταιρείας Watson-Marlow
- Θερμοστάτης υδατόλουτρου Haake D1
- Πυρανόμετρο τύπου Data Hog της εταιρείας Skye
- Μετρητής έντασης ακτινοβολίας UVA Solar Light Co. PMA 2100
- Πεχάμετρο pH Meter E516 της εταιρείας Titriskop

- Ηλεκτρόδιο Ag/AgCl
- Ηλεκτρόδιο Pt
- Ηλεκτρόδιο γραφίτη (40 cm²)
- Ηλεκτρονικός ζυγός Kern ABS της εταιρείας Kern & Sohn GmbH (τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων)
- 2x Μαγνητικός αναδευτήρας Labinco L21
- Σταθεροποιητής τάσης LLD300WYT της εταιρείας Lian Long
- Τροφοδοτικό ισχύος 220V
- Πολύμετρα M-3620 της εταιρείας Metex
- Αυτόματος μετρητής αριθμού κυττάρων Countess της εταιρείας Invitrogen, Life Technologies Corporation, μαζί με τα Countess chamber slides
- Αποστειρωμένα κρυσταλλικά πολυαιθυλενίου μακροχρόνιας αποθήκευσης κυττάρων των 2 mL της εταιρείας Corning
- Αποστειρωμένα σιφώνια διαφόρων όγκων της εταιρείας Corning
- Αποστειρωμένοι σωλήνες φυγοκέντρησης (falcons) των 15 και 50 mL της εταιρείας Corning
- Αυτόματη πιπέτα 10 μL, μαζί με τα αντίστοιχα tips
- Κλωβός αποθήκευσης κρυσταλλικών 30 θέσεων Cat.5100 της εταιρείας Nalgen, Milwaukee, WI
- Φυγόκεντρος Hermle της εταιρείας Hermle Labortechnik GmbH και τύπου Z 206 A
- Φυγόκεντρος Rotofix 32 της εταιρείας Hettich Zentrifugen και τύπου 1205.

3.3 Μέθοδοι

3.3.1. Προετοιμασία της φωτοανόδου TiO₂

Τα τεμαχίδια Ti επιφάνειας 0.5 cm², για το χαρακτηρισμό των ηλεκτροδίων, και τα κυλινδρικά φύλλα Ti επιφάνειας 55 cm² (11 cm x 5 cm), για τα φωτοηλεκτροκαταλυτικά πειράματα, κοβόντουσαν από πλάκα Ti πάχους 0.5 mm. Η παρασκευή των μικροσωματιδιακών (particulate, με την απόθεση ποσότητας σκόνης καταλύτη στην επιφάνεια του τιτανίου) και θερμικών (thermal, με τη θερμική δημιουργία υμενίων TiO₂) ηλεκτροδίων Ti αποτελούνταν από τα εξής στάδια:

- χημική απόξυση (etching) των μικροτεμαχιδίων ή των κυλινδρικών φύλλων τιτανίου
- απόθεση στην επιφάνεια του καθαρού, πλέον, υποστρώματος καταλύτη TiO₂ P-25 της εταιρείας Degussa. Το στάδιο αυτό αφορά μόνο στην περίπτωση παρασκευής μικροσωματιδιακών ηλεκτροδίων
- θερμική κατεργασία (sintering)

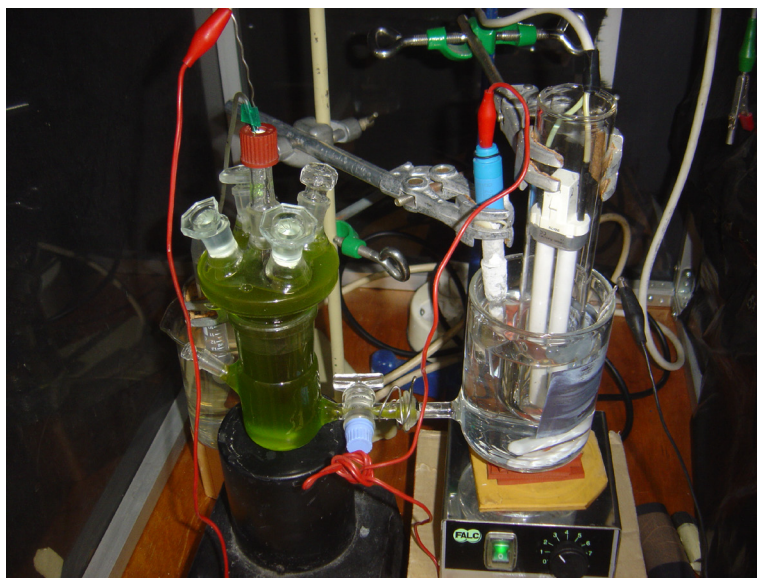
Η χημική απόξυση γινόταν με επαναλαμβανόμενες εμβάπτισεις του μικροτεμαχιδίου ή του φύλλου Ti για μερικά δευτερόλεπτα σε μίγμα οξέων, HF:HNO₃ 3:1. Μετά από κάθε εμβάπτιση γινόταν πλύσεις του μικροτεμαχιδίου ή του φύλλου με δις απεσταγμένο νερό. Η χημική απόξυση έχει ως στόχο την επιφανειακή απομάκρυνση των διαφόρων οξειδίων και καθαρισμό του μετάλλου και πρόκειται ουσιαστικά για διαδικασία διάβρωσης, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί, υπό ορισμένες προϋποθέσεις, ως μια αποτελεσματική μέθοδος για τον καθαρισμό ή για τη μορφοποίηση των μετάλλων. Στη συνέχεια, και μόνο για την περίπτωση των μικροσωματιδιακών ηλεκτροδίων, η επιφανειακή απόθεση TiO₂ στο καθαρό υπόστρωμα Ti, γινόταν με τη διαδικασία dip-coating. Το υπόστρωμα Ti εμβαπτιζόταν σε αιώρημα TiO₂-μεθανόλης συγκέντρωσης 2 g L⁻¹ όσες φορές ήταν αναγκαίες για τη δημιουργία λεπτού υμενίου φόρτισης σε TiO₂ 1 mg cm⁻², γεγονός που αντιστοιχούσε σε υμένιο πάχους 6.5 μm. Για την εξάτμιση της μεθανόλης απαιτούνταν μερικά λεπτά θέρμανσης σε φούρνο στους 60-70 °C. Το τελευταίο στάδιο περιλάμβανε τη θερμική κατεργασία των ηλεκτροδίων Ti σε φούρνο CARBOLITE CWF 1100, με σκοπό τη συσσωμάτωση των σωματιδίων του TiO₂ και την πρόσφυσή τους στο ηλεκτρόδιο (μικροσωματιδιακά ή particulate ηλεκτρόδια), το σχηματισμό TiO₂ (θερμικά ή thermal ηλεκτρόδια), όπως επίσης και τη βελτίωση της κρυσταλλικής δομής του TiO₂. Η κατεργασία των ηλεκτροδίων γινόταν στους 500 °C για 1½ ώρα.

3.3.2 Ανάπτυξη καλλιέργειών των άλγεων *Chlamydomonas Reinhardtii*

Η ανάπτυξη των *Chlamydomonas Reinhardtii* γινόταν σε πλαστικές επίπεδες φλάσκες ανάπτυξης κυττάρων κάτω από φωτο-ετεροτροφικές συνθήκες σε θρεπτικό υλικό Sueoka ή TAP και σε θερμοκρασία 24±2 °C. Το pH των καλλιεργειών ήταν 7.0 και, αντί να διοχετεύεται ρεύμα CO₂ συγκέντρωσης 2%, όπως συμβαίνει στη βιβλιογραφία [22, 66, 84, 95], οι καλλιέργειες περιείχαν NaHCO₃ ως πηγή ανόργανου άνθρακα σε συγκέντρωση 330 mg L⁻¹ (όσο το σκληρό πόσιμο νερό). Κατά την ανάπτυξή τους, οι καλλιέργειες φωτίζονταν από τη μια μεριά με λάμπες ορατού φωτός (4 x Osram De Luxe 18 W), με ένταση προσπίπτουσας ακτινοβολίας 80 μE m⁻² s⁻¹ PAR. Οι καλλιέργειες αφήνονταν να αναπτυχθούν ως την τελευταία φάση λογαριθμικής ανάπτυξης, δηλαδή μέχρι 3-6 10⁶ κύτταρα mL⁻¹. Στη συνέχεια μαζεύονταν και πλένονταν 2 φορές με θρεπτικό υλικό Sueoka-SF ή TAP-SF με φυγοκέντρηση στα 2500 g για 3 λεπτά [22]. Τα κύτταρα αιωρούνταν ξανά σε θρεπτικό υλικό απουσίας θείου στην επιθυμητή συγκέντρωση (συνήθως 2-5 10⁶ κύτταρα mL⁻¹) και μεταφέρονταν στην αεροστεγή κυλινδρική κυψέλη (ΦHK_{καθ.}), η οποία αποτελεί την κάθοδο της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής κυψέλης. Ανάλογα με την περίπτωση, ταυτόχρονα με τα κύτταρα σε συνθήκες απουσίας θείου και οξυγόνου, στη ΦHK_{καθ.} τοποθετούνταν και το ηλεκτρόδιο γραφίτη (μεταλλική κάθοδος), το οποίο ήταν παρόν κατά τη διαδικασία ανοξίας των κυττάρων, χωρίς αυτό να δημιουργεί κάποιο πρόβλημα.

3.3.3 Πειραματική διαδικασία στη φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική κυψέλη

Όταν τα ένζυμα υδρογένης είχαν εκφραστεί στο καθοδικό τμήμα κάτω από φωτοβιολογικές συνθήκες, το τμήμα αυτό ενωνόταν με το ανοδικό μέσω ηλεκτρολυτικού συνδέσμου, ο οποίος αποτελούνταν από ιοανταλλακτική μεμβράνη Nafion. Η όλη διάταξη τοποθετούνταν στο σκοτάδι προς αποφυγή αλληλεπίδρασης με τη διάχυτη ακτινοβολία. Έτσι, το καθοδικό τμήμα βρισκόταν πλέον στο σκοτάδι, ενώ το ηλεκτρόδιο εργασίας της ανόδου φωτιζόταν με UV-A ακτινοβολία. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης αλλά και της ανοργανοποίησης του ρύπου, ελήφθησαν δείγματα από το ανοδικό τμήμα σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές και μετρήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο και αναλυτή TOC, αντίστοιχα. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου, ελήφθησαν δείγματα απευθείας από τον υπερκείμενο χώρο του καθοδικού τμήματος με gas tight σύριγγα και μετρήθηκαν με αέριο χρωματογραφία. Εξωτερικό δυναμικό πόλωσης της φωτοανόδου εφαρμόστηκε από ποτενσιοστάτη Wenking POS 73, ενώ όλα τα πειράματα διεξήχθησαν σε θερμοκρασία 25 ± 1 °C. Η επαναληψιμότητα της οπτικής απορρόφησης των δειγμάτων ήταν μεταξύ $\pm 5\%$, αυτή του διαλυμένου οργανικού άνθρακα (DOC) $\pm 10\%$ και της αέριας χρωματογραφίας μεταξύ $\pm 5\%$ για την ένταση της χρωματογραφικής κορυφής και το χρόνο κατακράτησης.



Εικόνα 3.2: Φωτογραφία της εργαστηριακής φωτοηλεκτροκαταλυτικής-ενζυματικής κυψέλης.

Πολύ συνοπτικά το κάθε τμήμα της κυψέλης περιείχε τα εξής:

Ανοδικό τμήμα (σχήμα 3.1α)

- 300 mL διαλύματος 0.1 M Na_2SO_4 , στο οποίο είχε διαλυθεί η απαιτούμενη συγκέντρωση ρύπου (Χλωραμφενικόλη ή Imidacloprid)
- Ηλεκτρόδιο εργασίας (φωτοάνοδος TiO_2)

-
- Ηλεκτρόδιο αναφοράς Ag/AgCl
 - Λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας UV-A έντασης 3.9 mW cm^{-2} και ροής φωτονίων ίσης με $1.2 \cdot 10^4 \text{ Einstein min}^{-1}$

Καθοδικό τμήμα (σχήμα 3.1β)

- 210 mL αιωρήματος άλγεων επιθυμητής συγκέντρωσης κυττάρων
- Αντίθετο μεταλλικό ηλεκτρόδιο (γραφίτης)
- MV^{+2} επιθυμητής συγκέντρωσης
- Triton X 100 επιθυμητής συγκέντρωσης

3.3.4 Προσδιορισμός δραστικότητας των ενζύμων υδρογενάσης

Η δραστικότητα των ενζύμων προσδιορίστηκε σε υγιή κύτταρα μέσω του ρυθμού παραγωγής υδρογόνου από ανηγμένο MV^{+2} σε ερμητικά κλειστά γυάλινα φιαλίδια των 10 mL. Τα φιαλίδια περιείχαν 1 mL οξειδωμένου MV^{+2} συγκέντρωσης 10 mM, σε 50 mM ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού καλίου (pH=6.9) και 0.2% διαλύματος β/ο Triton X 100. Στο διάλυμα αυτό, το οποίο απαερώθηκε για 20 λεπτά με ήλιο, προστέθηκε 100 μL απαερωμένου διθειώδους νατρίου συγκέντρωσης 100 mM, με στόχο την αναγωγή του MV^{+2} (άχρωμο σε σκούρο μπλε). Ο προσδιορισμός της ενεργότητας του ενζύμου ξεκινούσε με την προσθήκη 1 mL αναερόβιου αιωρήματος άλγεων, το οποίο πάρθηκε απευθείας από την ΦΗΚ_{καθ.}. Η αντίδραση διεξήχθη στο σκοτάδι και σε υδατόλουτρο στους 37 °C. Η παραγωγή υδρογόνου μετρήθηκε στον αέριο χρωματογράφο και εκφράστηκε ως $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($1 \mu\text{mol L}^{-1}=1 \text{ unit}$ δραστικότητας υδρογενάσης).

3.3.5 Προσδιορισμός αριθμού κυττάρων

Ο αριθμός των κυττάρων (κύτταρα mL^{-1}) προσδιορίστηκε από αυτόματο μετρητή κυττάρων Countess. 10 μL αιωρήματος κυττάρων άλγεων πάρθηκαν απευθείας από τη ΦΗΚ_{καθ.} και αναμείχθηκαν με 10 μL trypan blue. Στη συνέχεια, 10 μL του μίγματος εισάχθηκαν στο ειδικό chamber slide, το οποίο τοποθετήθηκε στο όργανο προς μέτρηση.

3.3.6 Διατήρηση και κρυο-διατήρηση των κυττάρων των άλγεων

Η διατήρηση των άλγεων έγινε στις φλάσκες των 50 mL κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ανάπτυξης σε θρεπτικό υλικό Sueoka ή TAP. Τα κύτταρα φωτίστηκαν με ακτινοβολία έντασης $80 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PAR σε θερμοκρασία $24 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ και σε τελικό όγκο καλλιέργειας 15 mL. Όταν τα κύτταρα έφτασαν σε συγκέντρωση περίπου $1 \cdot 10^6$ κύτταρα mL^{-1} (περιοχή λογαριθμικής ανάπτυξης των κυττάρων και πριν τη στατική φάση), λήφθηκε αιώρημα άλγεων 0.5 mL, το οποίο μεταφέρθηκε σε φρέσκο θρεπτικό υλικό τελικού όγκου 15

mL. Τα υπόλοιπα 14.5 mL της ανεπτυγμένης καλλιέργειας των άλγεων απορρίφθηκαν. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνονταν κάθε 2 ημέρες περίπου.

Για μακροχρόνια αποθήκευση των κυττάρων (6 με 12 μήνες) ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία κρυο-διατήρησης. Αρχικά παρασκευάστηκαν αποστειρωμένα διαλύματα 20% β/β CH₃OH και CH₃SO με σκοπό να χρησιμοποιηθούν αμέσως, καθώς και διάλυμα θρεπτικού υλικού TAP, το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως διάλυμα αραίωσης. Τα διαλύματα CH₃OH και CH₃SO στη περίπτωση της μακροχρόνιας διατήρησης των κυττάρων των άλγεων ονομάζονται «μέσα κρυο-προστασίας» (CPA – cryoprotective agent) και αποτελούν τα δυο πιο συνήθη CPAs. Στη συνέχεια, σε ένα κρυο-φιαλίδιο των 2 mL προστέθηκε CPA και TAP, ώστε να προκύψει διάλυμα 10% ως προς το CPA τελικού όγκου 0.9 mL. Μετά, εισήχθηκε καλλιέργεια άλγεων *Chlamydomonas Reinhardtii* συγκέντρωσης περίπου $6 \cdot 10^6$ κύτταρα mL⁻¹ και ανακινήθηκε ελαφρά για να αναμειχθεί με το διάλυμα του CPA, ώστε η τελική συγκέντρωση των κυττάρων να είναι περίπου $3 \cdot 10^6$ κύτταρα mL⁻¹. Καλλιέργειες που έχουν αναμειχθεί με CPA θα πρέπει να χειρίζονται σε χώρο χαμηλού φωτισμού, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις στο απόλυτο σκοτάδι.

Από τη στιγμή που τα κύτταρα βρίσκονταν μέσα στο διάλυμα CPA ψύχθηκαν με μια διαδικασία δυο σταδίων. Στο πρώτο στάδιο, τα κρυο-φιαλίδια τοποθετήθηκαν στον ειδικό κλωβό 30 θέσεων, ο οποίος περιείχε 250 mL ισοπροπανόλης και βρισκόταν ήδη σε θερμοκρασία 4 °C. Η ισοπροπανόλη έχει σκοπό την επιβράδυνση και πιο ομαλή ψύξη των κυττάρων σε αυτό το στάδιο. Ο κλωβός τοποθετήθηκε στους -70 °C και αφέθηκε εκεί για 1½ ώρα (1^ο στάδιο). Τέλος, τα κρυο-φιαλίδια αφαιρέθηκαν από τον κλωβό και τοποθετήθηκαν σε υγρό άζωτο (~190 °C) για τουλάχιστον μια ημέρα (2^ο στάδιο).

Αντίθετα, το ξεπάγωμα των κυττάρων πρέπει να γίνεται απότομα και για αυτό το λόγο, μόλις ένα κρυο-φιαλίδιο αφαιρούταν από το υγρό άζωτο, τοποθετούνταν αμέσως σε υδρόλουτρο 35 °C για 5 λεπτά. Στη συνέχεια, φυγοκεντρήθηκε στα 250 g για 3 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου. Το υπερκείμενο υγρό αποχύθηκε και προστέθηκε φρέσκο θρεπτικό υλικό. Τέλος, η καλλιέργεια τοποθετήθηκε στο φως ($40 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR) και αφέθηκε να αναπτυχθεί. Στη περίπτωσή μας, η ανάκτηση της νέας καλλιέργειας απαιτούσε περίπου μια βδομάδα [426].

Καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων (3.5 χρόνια) χρειάστηκαν μόλις 4 νέες καλλιέργειες, οι οποίες προήλθαν από την αρχική καλλιέργεια που λάβαμε από το *Chlamydomonas Resource Center*. Αυτό χρειάστηκε να γίνει διότι οι χρησιμοποιούμενες καλλιέργειες μολύνθηκαν από εξωγενείς παράγοντες (μύκητες, σπόρια κτλ). Το γεγονός αυτό δείχνει τη σταθερότητα των καλλιεργειών των *Chlamydomonas Reinhardtii*, καθώς επίσης και το χαμηλό κόστος για την παρασκευή του καταλύτη, δηλαδή των ενζύμων υδρογενάσης, σε σύγκριση πάντα με το κόστος του Pt.

3.3.7 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (**PCR**) είναι μία μέθοδος της μοριακής βιολογίας που χρησιμοποιείται για την απομόνωση και τον πολλαπλασιασμό μίας αλληλουχίας DNA *in vitro* με τη βοήθεια ενζύμων και όχι ζωντανών κυττάρων.

Με την PCR μια συγκεκριμένη περιοχή οποιουδήποτε γονιδιώματος μπορεί να πολλαπλασιαστεί μέχρι και δισεκατομμύρια φορές, αρκεί να είναι γνωστή η αλληλουχία των άκρων του. Η γνώση αυτών των αλληλουχιών είναι απαραίτητη για το σχεδιασμό των συνθετικών DNA ολιγονουκλεοτιδίων, το καθένα συμπληρωματικό σε μία από τις αλυσίδες του δίκλωνου DNA. Τα ολιγονουκλεοτίδια αυτά, που θα χρησιμοποιηθούν ως εκκινητές, πρέπει να δεσμεύονται σε θέσεις αντίθετες από την αλληλουχία που πρόκειται να ενισχυθεί, με άλλα λόγια καθορίζουν τα άκρα του θραύσματος DNA που πρόκειται να ενισχυθεί. Ένας πλήρης κύκλος μιας PCR αντίδρασης περιλαμβάνει τρία στάδια:

- Αποδιάταξη του DNA (denaturation)
- Προσαρμογή των εκκινητών στο DNA εκμαγείο (annealing)
- Επιμήκυνση των εκκινητών (extension)

Ένας πλήρης τέτοιος κύκλος περιλαμβάνει επώαση των δειγμάτων σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες και γίνεται αυτόματα από ειδικά μηχανήματα που ονομάζονται thermal cyclers. Σε μια τυπική αντίδραση, το δίκλωνο DNA αποδιατάσσεται με θέρμανση στους 95 °C. Στη συνέχεια, οι εκκινητές προσαρμόζονται με υβριδισμό στις συμπληρωματικές αλληλουχίες του DNA εκμαγείου με ψύξη του δείγματος στους 55–65 °C. Ακολουθεί επώαση στους 72 °C για την επιμήκυνση των εκκινητών από μία θερμοάντοχη πολυμεράση, παρουσία των τεσσάρων νουκλεοτιδίων. Καθώς η διαδικασία επαναλαμβάνεται, οι νεοσύστατοι κλώνοι με τη σειρά τους χρησιμοποιούνται ως εκμαγεία για την *in vitro* σύνθεση του DNA. Μετά από μερικούς κύκλους, το κυρίαρχο προϊόν είναι ένα τμήμα DNA, το μέγεθος του οποίου αντιστοιχεί στη μεταξύ των δύο αρχικών εκκινητών απόσταση. Στην πράξη, 20 με 30 κύκλοι της αντίδρασης είναι αρκετοί για την αποτελεσματική ενίσχυση του τμήματος DNA. Σε κάθε κύκλο που διαρκεί περίπου πέντε λεπτά η ποσότητα του DNA διπλασιάζεται.

3.3.8 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης μετά από αντίδραση αντίστροφης τρανσκριπτάσης (*Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR*)

Η τεχνική της PCR χρησιμοποιείται για τον πολλαπλασιασμό μιας συγκεκριμένης αλληλουχίας DNA, με συνέπεια αυτή να γίνεται ανιχνεύσιμη και έμμεσα να διαπιστώνεται η ύπαρξη ενός γονιδίου. Κατά τον ίδιο τρόπο μπορούμε να ανιχνεύσουμε την ύπαρξη όχι του ίδιου του γονιδίου αλλά του μεταγραφήματος που προκύπτει από αυτό, δηλαδή του mRNA. Αυτό γίνεται με την τεχνική της RT-PCR, η οποία είναι στην ουσία μία PCR με ένα επιπλέον βήμα, αυτό της παλίνδρομης μεταγραφής του mRNA σε cDNA. Πιο συγκεκριμένα, αφού απομονωθεί το mRNA ή έστω συνολικό RNA από το προς μελέτη βιολογικό υλικό, αντιγράφεται το mRNA με τη βοήθεια του ενζύμου αντίστροφη τρανσκριπτάση, και έτσι

κατασκευάζεται το συμπληρωματικό προς αυτό cDNA. Το τμήμα αυτό του DNA μπορεί στη συνέχεια να πολλαπλασιαστεί με PCR, το προϊόν της οποίας θα είναι στο τέλος ανιχνεύσιμο και θα μας πληροφορεί έμμεσα αν υπάρχει ή όχι έκφραση του συγκεκριμένου γονιδίου, στο προς εξέταση βιολογικό υλικό. Για να γίνει η αντιγραφή του mRNA σε cDNA πρέπει να είναι γνωστή η αλληλουχία των εκκινητών (primers) που είναι συμπληρωματική στην αλληλουχία των βάσεων του mRNA. Η μέθοδος αυτή αποτελεί την πιο ευαίσθητη τεχνική για την ανίχνευση mRNA (ακόμη και σε ίχνη).

Στη συγκεκριμένη περίπτωση η RT-PCR πραγματοποιήθηκε σε RNA που απομονώθηκε από άλγη, τα οποία αναπτύχθηκαν σε συνθήκες απουσίας οξυγόνου και θείου σε θρεπτικό υλικό Sueoka-SF αλλά και TAP-SF. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε και για τις δυο περιπτώσεις περιγράφεται στη συνέχεια.

Το ολικό RNA απομονώθηκε από $5 \cdot 10^5$ κύτταρα *Chlamydomonas Reinhardtii* που αναπτύσσονταν σε θρεπτικό υλικό Sueoka-SF και από $5 \cdot 10^6$ κύτταρα σε TAP-SF, χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο TRIzol, ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή. Ένα μικρογραμμάριο του ολικού RNA μεταγράφηκε αντίστροφα χρησιμοποιώντας τυχαίους εκκινητές (primers) (0.1 μg), 200 units M-MLV αντίστροφης τρανσκριπτάσης (Invitrogen), 40 units RNase αναστολείς, μίγμα 5 mM MgCl₂ και 1 mM dNTP, σε συνολικό όγκο αντίδρασης 20 μL. Αρχικά το σωληνάριο αντίδρασης επώαστηκε στους 25 °C για 10 λεπτά και μετά στους 37 °C για 50 λεπτά. Η αντίδραση τερματίστηκε στους 70 °C για 15 λεπτά. Για την αποτίμηση και των τριών μορφών του ενζύμου HYDA1, HYDA2, HYDA3, ένα μικρόλιτρο της αντίδρασης αντίστροφης μεταγραφής χρησιμοποιήθηκε ως εκμαγείο σε διαδοχικές PCR αντιδράσεις όγκου 50 μL. Οι παράμετροι για τις αντιδράσεις PCR ήταν οι εξής: Denaturation στους 94 °C για 40 s στα cDNA από Sueoka-SF και στους 95 °C για 40 s στα cDNA από TAP-SF, annealing στους 61 °C (HYDA1 και HYDA3) ή 60 °C (HYDA2) για 40 s, και επιμήκυνση στους 72 °C για 50 s. Η PCR πραγματοποιήθηκε με την προσθήκη 8% Dimethylsulfoxide, για την καλύτερη αποδιάταξη του cDNA. Η αλληλουχία των εκκινητών ήταν ως εξής:

- Για τη HYDA1 (320 bp amplicon),
 Νοηματικός εκκινητής: 5'-GATGTCGGCGCTCGTGCTGAAGCCCTG-3',
 Αντινοηματικός εκκινητής: 5'-CACCTCGTCAAAGCCGAGGCGGCGGAG-3';
- Για τη HYDA2 (380 bp amplicon),
 Νοηματικός εκκινητής: 5'-GATGGCGCTTGGTCTTCTTGCCGAGCTG-3',
 Αντινοηματικός εκκινητής: 5'-CAGCGTGTCAAACACCTGGTCTGAAGCCG-3';
- Για τη HYDA3 (300 bp amplicon),
 Νοηματικός εκκινητής: 5'-GGCAATGGAGTTCTCCTCGACGATTTCGCG-3',
 Αντινοηματικός εκκινητής: 5'-CGGGCTCAGACCAAAGTAGGCCGCCAG-3'.

Η ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR έγινε σε πηκτής αγαρόζης 1% και η βαφή των πρωτεϊνικών ζωνών με βρωμιούχο εθίδιο.

3.4 Ρύποι μοντέλα

3.4.1 Χλωραμφενικόλη

Το αντιβιοτικό Chloramphenicol (2,2-Dichloro-N-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-2-(4-nitrophenyl)ethyl] acetamide), γνωστό επίσης και με την εμπορική ονομασία Chloromycetin, ανακαλύφθηκε το 1947 στα προϊόντα μεταβολισμού του στρεπτομύκητα της Βενεζουέλας. Η δράση του είναι παρόμοια με εκείνης των τετρακυκλινών και το φάσμα του εκτείνεται σε μεγάλο βαθμό εναντίων κόκκων, ρικκετσιών και βακτηριδίων αρνητικών και θετικών κατά Gram [427]. Πιστεύεται πως είναι το ισχυρότερο αντιβιοτικό εναντίον του μικροβίου του κοιλιακού και εξανθηματικού τύπου. Σε συνδυασμό με το χαμηλό κόστος και την ευρεία διαθεσιμότητά του, χρησιμοποιήθηκε εκτεταμένα ήδη από τη δεκαετία του '50 στη θεραπεία οικόσιτων ζώων παγκοσμίως [428]. Χρησιμοποιήθηκε κυρίως την περίοδο 1950-1980, έκτοτε όμως περιορίστηκε η χρήση της και χρησιμοποιείται μόνο σε ειδικές περιπτώσεις, όπου άλλα αντιβιοτικά δεν είναι εξίσου αποτελεσματικά. Παρόλα αυτά, η Χλωραμφενικόλη είναι μια πολύ τοξική ουσία, η οποία προκαλεί σοβαρές παρενέργειες σε περίπτωση χρήσης της στον άνθρωπο, όπως ερυθροπενία, δυσκρασίες του αίματος, απλαστική αναιμία, επιλοιμώξεις, εξανθήματα και γαστρεντερικές διαταραχές [429]. Λόγω του ότι οι παραπάνω παρενέργειες εμφανίζονται ανεξαρτήτου δόσης, η Χλωραμφενικόλη έχει ενταχθεί στο Παράρτημα IV του Συμβουλίου Αποφάσεων της Ευρωπαϊκής Ένωσης (EEC, 1990), το οποίο περιλαμβάνει φαρμακευτικά προϊόντα μηδενικής ανοχής σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης.

3.4.2 Imidacloprid

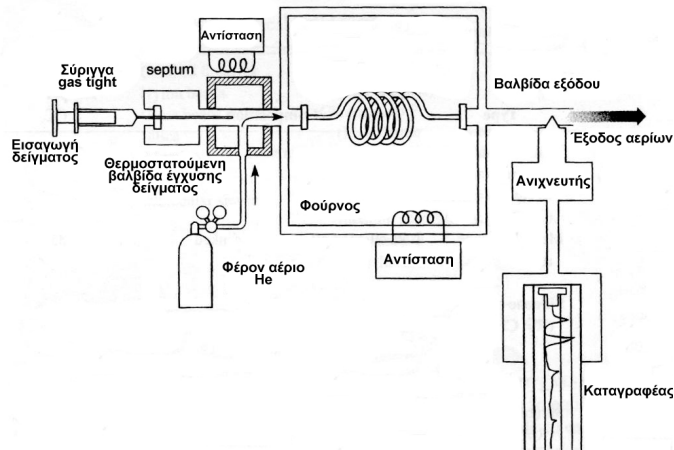
Το Imidacloprid είναι μια χλωριούχος νικοτινοειδής ένωση που χρησιμοποιείται στη γεωργία για τον έλεγχο των απομουζητικών εντόμων. Η δομή του είναι χαρακτηριστική για ένα μεγάλο εύρος φυτοφαρμάκων και αποτελεί μια δύσκολα αποικοδομήσιμη ουσία (χρόνος ημιζωής 730 ημέρες), ενώ μερικά προϊόντα διάσπασής του είναι πιο τοξικά (2-χλωρο-πυριδίνη) από τη μητρική ένωση [430].

Η δράση του εντοπίζεται στο νευρικό σύστημα των εντόμων και είναι ιδιαίτερα τοξικό. Συγκεκριμένα, μπλοκάρει μια νευρική οδό (nicotinic) που δεν υπάρχει στα άλλα ζώα, κάνοντας το φυτοφάρμακο εκλεκτικά τοξικό στα έντομα. Η δράση του αυτή οδηγεί στην απομόνωση της ακετυλοχολίνης (σημαντικός νευρομεταφορέας), οδηγώντας στην παράλυση του εντόμου και περιστασιακά στο θάνατό του. Η χρήση του έχει απαγορευτεί στη Γαλλία, λόγω της σημαντικής μείωσης που προκάλεσε στον πληθυσμό των μελισσών ενώ, όσον αφορά στις επιπτώσεις του στον άνθρωπο, έχουν αναφερθεί κρούσματα αδυναμίας μυών, κράμπες, εξασθένηση οργανισμού και αναπνευστικές δυσλειτουργίες [431].

3.5 Αναλυτικές μέθοδοι

3.5.1 Αέριος χρωματογραφία

Αέριος χρωματογραφία καλείται η χρωματογραφική τεχνική διαχωρισμού στην οποία η κινητή φάση είναι αέρια. Η διάταξη ενός αέριου χρωματογράφου δίνεται στο επόμενο σχήμα.



Σχήμα 3.4: Διάταξη αέριου χρωματογράφου

Το φέρον αέριο από φιάλη υψηλής πίεσης οδηγείται στη στήλη μέσα από ρυθμιστές παροχής. Η εισαγωγή του δείγματος γίνεται με σύριγγα gas tight στη βαλβίδα εισαγωγής του δείγματος στην κορυφή της στήλης. Στη συνέχεια, τα συστατικά του δείγματος συμπαρασύρονται από το φέρον αέριο κατά μήκος της στήλης και διαχωρίζονται σε κλάσματα, τα οποία ανιχνεύονται από τον ανιχνευτή. Τέλος, τα σήματα της ανίχνευσης καταγράφονται από ειδικό λογισμικό, το οποίο είναι εγκαταστημένο σε συνδεδεμένο με το όργανο ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Η καρδιά του χρωματογράφου είναι η στήλη. Οι στήλες που χρησιμοποιούνται στη χρωματογραφία είναι συνήθως γυάλινες ή χαλύβδινες στήλες γεμισμένες με διάφορα υλικά, ανάλογα με τα συστατικά προς διαχωρισμό. Το σχήμα τους έχει τη μορφή έλικας και η διάμετρός τους είναι πολύ μικρή. Η ταχύτητα και η ικανότητα διαχωρισμού εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Για αυτό το λόγο, η στήλη βρίσκεται μέσα σε ένα φούρνο ακριβείας, ο οποίος δίνει αυστηρά επαναλήψιμες συνθήκες. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται εξαιτίας των διαφόρων δυνάμεων συγκράτησης και έκλουσης ανάμεσα στα συστατικά του δείγματος, το υλικό πλήρωσης της στήλης και τη ροή του φέροντος αερίου.

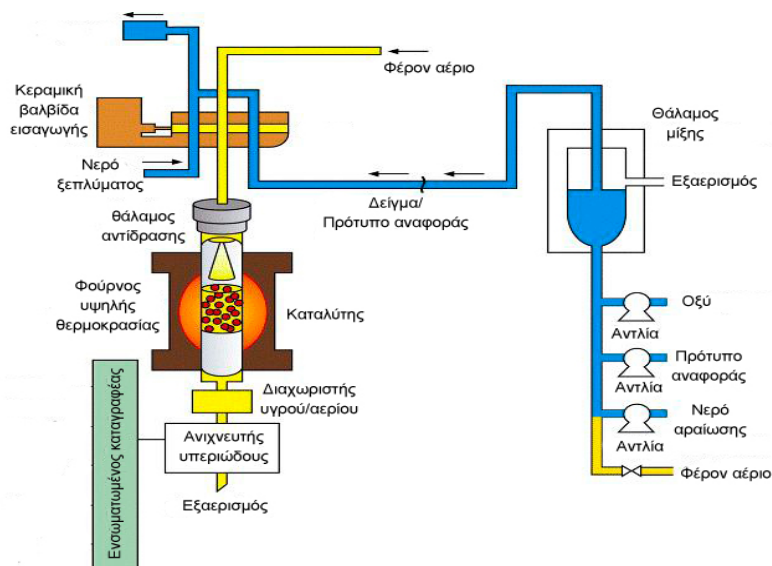
Για την ανίχνευση του υδρογόνου στα πλαίσια της συγκεκριμένης διατριβής, τα διάφορα τμήματα του αέριου χρωματογράφου και οι συνθήκες που αυτά λειτουργούσαν ήταν:

- Φέρον αέριο: ήλιο (He) με ροή 10 mL min^{-1}
- Στήλη: Molecular Sieve 5A της εταιρίας Superlco, διαστάσεων 6 FT x 1/8 IN x 2.1 mm SS) σε θερμοκρασία $35 \text{ }^\circ\text{C}$
- Ανιχνευτής: TCD (Thermal Conductivity Detector) σε θερμοκρασία $60 \text{ }^\circ\text{C}$
- Λογισμικό: GC Solution
- Gas tight σύριγγα 250 μL

3.5.2 Ολικός οργανικός άνθρακας (TOC), διαλυμένος οργανικός άνθρακας (DOC)

Η τιμή του TOC εκφράζει την ολική φόρτιση σε οργανικές ενώσεις και μας δίνει πληροφορίες για το σύνολο των ενώσεων του άνθρακα, ανεξάρτητα από τις βαθμίδες οξειδωσής του. Η μέθοδος στηρίζεται στην καταλυτική οξειδωση του ολικού άνθρακα του δείγματος προς διοξείδιο του άνθρακα, το οποίο διέρχεται από ανιχνευτή IR και ποσοτικοποιείται. Στη συνέχεια, ανιχνεύεται ο ανόργανος άνθρακας κατά τη διεύλευσή του από διάλυμα φωσφορικού οξέος (H_3PO_4) και ποσοτικοποιείται από ανιχνευτή IR. Τέλος, προσδιορίζεται ο διαλυμένος οργανικός άνθρακας (DOC) από την υπολογιζόμενη διαφορά ολικού και ανοργάνου άνθρακα και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg C L^{-1}

Στη συγκεκριμένη εργασία, για την εκτίμηση του βαθμού οξειδωσης και ανοργανοποίησης των ρύπων έγιναν μετρήσεις του διαλυμένου οργανικού άνθρακα στον αναλυτή TOC V_{CSH} της εταιρείας Shimadzu με απευθείας έγχυση των δειγμάτων. Στο σχήμα 3.5 δίνονται διαγραμματικά τα κύρια μέρη ενός αναλυτή TOC.



Σχήμα 3.5: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης ενός αναλυτή TOC.

3.5.3 Φασματοφωτομετρία

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των διαφόρων ρύπων κατά την

φωτοηλεκτροκαταλυτική οξειδωση χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της φασματοφωτομετρίας. Η τεχνική αυτή στηρίζεται στην απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από ιόντα και μόρια και αποτελεί τη βάση για ποιοτική ανίχνευση και για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων αυτών.

Για τη μελέτη των διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της διαπερατότητας με τη χρήση του φασματοφωτομέτρου διπλής δέσμης PharmaSpec UV-1700 της εταιρείας Shimadzu. Το όργανο διαθέτει δύο παράθυρα για την τοποθέτηση των κυβελίδων και δύο οπές εισόδου του προσπίπτοντος φωτός ακριβώς απέναντι από αυτά. Το φως που επανεκπέμπεται από το δείγμα και την αναφορά συλλέγεται με τη βοήθεια της σφαίρας ολοκλήρωσης και κατευθύνεται προς τον ανιχνευτή.

3.5.4 Χημική ακτινομετρία

Η ακτινομετρία [432-434] επιτρέπει τον καθορισμό της προσπίπτουσας ροής φωτονίων για ένα σύστημα συγκεκριμένων γεωμετρικών χαρακτηριστικών και σε ένα καθορισμένο φασματομετρικό πεδίο. Αυτή η μέτρηση μπορεί να πραγματοποιηθεί εύκολα για μονοχρωματικές ακτινοβολίες [425].

Αν και οι ακτινομετρικές μετρήσεις μπορούν να είναι απόλυτης ακρίβειας, οι πλέον διαδεδομένες μέθοδοι συμπεριλαμβάνουν τη χημική ακτινομετρία, η οποία βασίζεται στη συμπεριφορά μίας ουσίας αναφοράς (χημικός ακτινομέτρης), της οποίας η κβαντική απόδοση είναι γνωστή [425, 435].

Σε ένα χημικό ακτινόμετρο (ουσία που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της ακτινοβολίας που προσπίπτει σε ένα σύστημα), η φωτοχημική μετατροπή είναι ανάλογη με την ποσότητα των φωτονίων που απορροφώνται. Υπάρχουν διάφορα ακτινόμετρα για διάφορα μήκη κύματος. Ένα καλό χημικό ακτινόμετρο πρέπει να έχει τα εξής χαρακτηριστικά:

- Το φωτοχημικό σύστημα πρέπει να είναι απλό και η χημική αντίδραση πρέπει να είναι, υπό καθορισμένες και ελεγχόμενες συνθήκες, επαναλήψιμη. Η απόδοση φωτονίων πρέπει να είναι γνωστή για όλο το εύρος των μηκών κύματος της μελετούμενης ακτινοβολίας
- Η απόδοση φωτονίων πρέπει να είναι ανεξάρτητη από την έντασή της, από τη συγκέντρωση του χημικού ακτινομέτρου και από τη θερμοκρασία
- Τα αντιδραστήρια και τα προϊόντα πρέπει να είναι αρκετά σταθερά, για να μην προκύπτουν σφάλματα λόγω του χρόνου που θα μεσολαβήσει από τη στιγμή που θα ληφθεί το δείγμα μέχρι τη στιγμή της ανάλυσής του
- Οι αναλυτικές μέθοδοι πρέπει να είναι απλές και τα αντιδραστήρια πρέπει να παρασκευάζονται εύκολα ή και να είναι έτοιμα εμπορικά σκευάσματα. Ειδικά στην περίπτωση μεγάλων μονάδων, αυτό είναι πολύ σημαντικό, λόγω της μεγάλης ποσότητας χημικού ακτινομέτρου που πρέπει να παρασκευασθεί

- Το σύστημα πρέπει να είναι αρκετά ευαίσθητο για χαμηλές εντάσεις ακτινοβολίας και ο υπολογισμός των φωτονίων πρέπει να γίνεται με απλό τρόπο

Παρά το γεγονός ότι έχουν χρησιμοποιηθεί πολλές ουσίες στη χημική ακτινομετρία, τα δύο πλέον διαδεδομένα αντιδραστήρια είναι το uranyl sulfate και το potassium ferrioxalate για μήκη κύματος έως και 436 nm.

Η χημική ακτινομετρία με το potassium ferrioxalate ($K_3Fe(C_2O_4)_3 \cdot 3H_2O$) είναι η πλέον πρακτική και διαδεδομένη για μετρήσεις στην περιοχή της υπεριώδους ακτινοβολίας και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μετρήσεις και στην ορατή περιοχή, έως και τα 500 nm. Για μετρήσεις της έντασης της ακτινοβολίας στο εγγύς υπεριώδες και στην ορατή περιοχή του φάσματος, είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθούν υψηλές συγκεντρώσεις του διαλύματος του οξαλικού σιδήρου, ώστε η απορρόφηση να είναι αρκετά μεγάλη (0.2-0.8).

Η συνολική φωτοχημική αντίδραση οδηγεί στην αναγωγή του τρισθενούς σιδήρου σε δισθενή σύμφωνα με την εξίσωση 3.1:



Η συγκέντρωση των παραγόμενων ιόντων δισθενούς σιδήρου υπολογίζεται από φασματοφωτομετρικές μετρήσεις στα 510 nm, όπου απορροφά το παραγόμενο σύμπλοκο του δισθενούς σιδήρου με 1,10-φαιναθρολίνη. Η συγκεκριμένη αναλυτική μέθοδος είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη [436].

Στην περίπτωση της $\Phi_{HK_{av}}$, ο υπολογισμός της ροής των φωτονίων, έγινε σύμφωνα με την εξίσωση 3.2:

$$I_{hv} = \frac{AV_2V_3}{\epsilon\phi_\lambda tV_1} \quad 3.2$$

όπου I_{hv} η ροή των φωτονίων (Einstein min^{-1}),

A η οπτική απορρόφηση του διαλύματος του χημικού ακτινομέτρου μετά από χρόνο t,

t ο χρόνος φωτισμού του χημικού ακτινομέτρου (min),

V_1 ο όγκος του δείγματος που λαμβανόταν από το χημικό ακτινόμετρο (mL),

V_2 ο συνολικός όγκος του χημικού ακτινομέτρου (mL),

V_3 ο όγκος της ογκομετρικής φιάλης όπου αραιωνόταν το δείγμα (L),

ϵ η σταθερά διάσπασης του χημικού ακτινομέτρου ($\text{extinction coefficient} = 1,10 \cdot 10^4 \text{ L mol}^{-1}$),

ϕ_λ η απόδοση φωτονίων του Fe^{+2} στο μήκος κύματος της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το λαμπτήρα που χρησιμοποιείται (ίση με 1.24).

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε προκειμένου να υπολογισθεί η ροή των φωτονίων μέσα στον αντιδραστήρα περιγράφεται στη συνέχεια.

Παρασκευάστηκε διάλυμα όγκου 350 mL με προσθήκη 0.40545 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ και 0.82908 g $\text{C}_2\text{K}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Αυτές οι ποσότητες αλάτων αντιστοιχούν σε $0.006 \text{ mmol L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{III})(\text{C}_2\text{O}_4)]$ (ferrioxalate). Επίσης, ετοιμάστηκαν διαλύματα 0.2% β/ο φαινανθρολίνης και buffer που περιείχε 0.6 N $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ και 0.36 N H_2SO_4 . Το διάλυμα οξαλικού σιδήρου τοποθετήθηκε στο δοχείο αντίδρασης και άρχισε ο φωτισμός. Λήφθηκαν δείγματα όγκου 1 mL, πριν την έναρξη του φωτισμού και σε χρόνο αντίδρασης μεταξύ 2-5 λεπτών. Τα διαλύματα αμέσως μεταγγίστηκαν σε ογκομετρικές φιάλες χωρητικότητας 25 mL και προστέθηκαν 2 mL διαλύματος φαινανθρολίνης και 0.5 mL buffer. Τα διαλύματα αφέθηκαν για 1 ώρα στο σκοτάδι, ώστε να σχηματιστεί και να σταθεροποιηθεί το σύμπλοκο του δισθενούς σιδήρου με την φαινανθρολίνη. Έπειτα, μετρήθηκε η απορρόφηση των διαλυμάτων στα 510 nm. Η όλη διαδικασία έγινε με όσο το δυνατό λιγότερο φως. Η επιλογή της διάρκειας φωτισμού έγινε έτσι ώστε η απορρόφηση των διαλυμάτων να είναι μεταξύ 0.2 και 1.8.

Ο υπολογισμός της ροής των φωτονίων στον αντιδραστήρα, έγινε σύμφωνα με την εξίσωση 3.2, θέτοντας όπου $\varepsilon = 1,11 \cdot 10^4$ (για τον οξαλικό σίδηρο) και $\phi_l = 1.24$ [436]. Έτσι προέκυψε ότι:

$$I_{\text{hv}} = 1.2 \pm 0.05 \cdot 10^{-4} \text{ Einstein min}^{-1}$$

Η τιμή αυτή είναι ο μέσος όρος των τιμών από μια σειρά πειραμάτων ακτινομετρίας, πριν την έναρξη της φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξειδωσης στη ΦΗΚ_{av}. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, σε τακτά χρονικά διαστήματα, γινόταν έλεγχος της έντασης ακτινοβολίας του λαμπτήρα, χωρίς να παρατηρηθεί σημαντική μεταβολή της.

Επιπλέον, μετρήθηκε η ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας (3.9 mW cm^{-2}) με τη χρήση του οργάνου Solar Light. Ο αισθητήρας του οργάνου τοποθετήθηκε σε απόσταση 3.5 cm από την πηγή φωτισμού, όσο δηλαδή και το εκάστοτε ηλεκτρόδιο εργασίας.

3.5.5 SEM (ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης)

Τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια βασίζονται σε δύο διαφορετικές βασικές τεχνικές: μετάδοσης (transmission) και σάρωσης (scanning), με αποτέλεσμα να έχουμε 2 είδη ηλεκτρονικών μικροσκοπίων, το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μετάδοσης-*transmission electron microscope (TEM)* και το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης-*scanning electron microscope (SEM)*. Και τα δύο χρησιμοποιούν μαγνητικούς φακούς που εστιάζουν μία δέσμη ηλεκτρονίων στο δείγμα. Τα ηλεκτρόνια που χρησιμοποιούνται έτσι έχουν ένα μήκος κύματος ($< 0.1 \text{ nm}$) μέχρι και 100,000 φορές μικρότερο από το ορατό φως ($\sim 560 \text{ nm}$). Το αποτέλεσμα είναι ότι μπορούν να διακρίνουν αντικείμενα μέχρι 400-1,000 φορές καλύτερα από τα απλά μικροσκόπια και 200,000 φορές καλύτερα από το ανθρώπινο μάτι, με μεγεθύνσεις 1 εκατομμύριο φορές χωρίς απώλεια λεπτομέρειας.

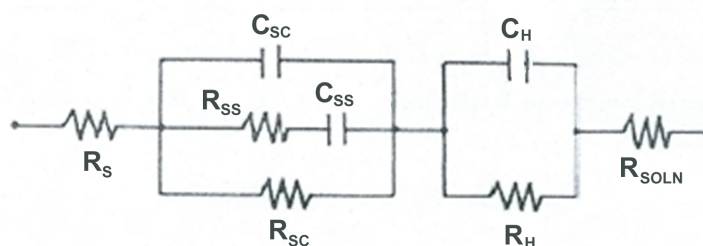
Το SEM λειτουργεί όπως περίπου και ένα οπτικό μικροσκόπιο, μόνο που χρησιμοποιεί δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας αντί για φως, για να εξετάσει αντικείμενα σε λεπτομερή κλίμακα. Η δέσμη ηλεκτρονίων σαρώνει την επιφάνεια του δείγματος με το οποίο αλληλεπιδρά. Από την αλληλεπίδραση αυτή προκύπτουν πληροφορίες σε σχέση με τα άτομα των στοιχείων που απαρτίζουν το εξεταζόμενο υλικό. Από τα άτομα των στοιχείων εκπέμπονται κυρίως δευτερογενή (secondary) και οπισθοσκεδαζόμενα (backscattered) ηλεκτρόνια, καθώς και ακτίνες Χ. Αυτά τα δευτερογενή ηλεκτρόνια παράγουν τις χαρακτηριστικές εικόνες. Η ένταση των εκπεμπόμενων ηλεκτρονίων επηρεάζεται από τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας. Έτσι, το SEM δίνει πληροφορίες που αφορούν κυρίως στη μορφολογία και στη σύσταση της επιφάνειας. Εφαρμόζοντας ένα σύστημα ανίχνευσης της διασποράς των ενεργειών των ακτίνων Χ που δημιουργούνται στην επιφάνεια από την προσπίπτουσα δέσμη, μπορεί να γίνει ημιποσοτική στοιχειακή ανάλυση του υλικού.

3.5.6 Εξίσωση-ανάλυση Mott-Schottky

Η επαφή μεταξύ ενός ηλεκτρονικού και ενός ηλεκτρολυτικού αγωγού (βλέπε κεφάλαιο 2.6.2) δημιουργεί μια διαφασική περιοχή, η οποία στην περίπτωση που δεν υπάρχει οποιαδήποτε ανταλλαγή φορτίου, μπορεί να προσομοιωθεί με ένα απλό μοντέλο επίπεδων πυκνωτών.

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_{SC}} + \frac{1}{C_H} + \frac{1}{C_{Gouy}} \quad 3.3$$

όπου C_{SC} , C_H και C_{Gouy} η διαφορική χωρητικότητα της περιοχής φορτίων χώρου, της στοιβάδας Helmholtz και της διάχυτης στοιβάδας, αντίστοιχα, οι οποίες αποτελούν τη δημιουργούμενη διαφασική περιοχή. Το ισοδύναμο κύκλωμα φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.

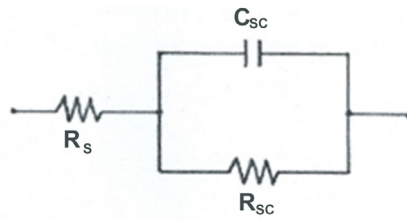


Σχήμα 3.6: Ισοδύναμο κύκλωμα της διαφασικής περιοχής ημιαγωγού-ηλεκτρολυτικού διαλύματος.

Όπου C_{SC} και R_{SC} η χωρητικότητα και η αντίσταση του ημιαγωγού, C_H και R_H η χωρητικότητα και η αντίσταση της στοιβάδας Helmholtz και R_S και R_{SOLN} η αντίσταση της ωμικής επαφής του μετάλλου-ημιαγωγού και του διαλύματος αντίστοιχα. Τα C_{SS} και R_{SS} εκφράζουν τη χωρητικότητα και την αντίσταση των λεγόμενων επιφανειακών καταστάσεων, οι οποίες

αποτελούν τις λεγόμενες ατέλειες του ημιαγωγίου κρυστάλλου (παγίδες e^- και h^+) και συνεισφέρουν στη συνολική χωρητικότητα και αντίσταση.

Σε σχετικά πυκνά διαλύματα η χωρητικότητα της διάχυτης διπλοστοιβάδας έχει τόσο μεγάλες τιμές που μπορεί να παραβλεφθεί, ενώ η χωρητικότητα της στοιβάδας Helmholtz κυμαίνεται μεταξύ των $10\text{--}100 \mu\text{F cm}^{-2}$. Επίσης, οι αντιστάσεις R_{SOLV} και R_{H} μπορούν να παραβλεφθούν, μιας και οι τιμές τους, συγκρινόμενες με την αντίσταση του ημιαγωγού, είναι πολύ μικρές. Έτσι, το ισοδύναμο κύκλωμα μελέτης της διαφασικής περιοχής παίρνει την παρακάτω μορφή.



Σχήμα 3.7: Ισοδύναμο κύκλωμα της διαφασικής περιοχής ημιαγωγού-ηλεκτρολυτικού διαλύματος για πυκνά διαλύματα απουσία επιφανειακών καταστάσεων.

Παρατηρείται λοιπόν πως μετρήσεις τιμών χωρητικότητας μικρότερες από τις προαναφερθείσες μπορούν να αποδοθούν στη χωρητικότητα της περιοχής φορτίων χώρου του ημιαγωγού. Αντίστοιχα, η εξίσωση 3.3 λαμβάνει την παρακάτω μορφή.

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_{\text{SC}}} \quad 3.4$$

Η διαφορική χωρητικότητα της περιοχής φορτίων χώρου του ημιαγωγού ορίζεται ως:

$$C_{\text{SC}} = \frac{dQ_{\text{SC}}}{d\Delta\phi_{\text{SC}}} \quad 3.5$$

όπου Q_{SC} και $\Delta\phi_{\text{SC}}$ είναι η πυκνότητα φορτίου της περιοχής φορτίων χώρου και η πτώση τάσης μεταξύ επιφάνειας και εσωτερικού του ημιαγωγού, αντίστοιχα.

Στην περίπτωση ενός ενδογενούς ημιαγωγού, η χωρητικότητα δίνεται σε αντιστοιχία με την περίπτωση της διάχυτης διπλοστοιβάδας αραιών ηλεκτρολυτικών διαλυμάτων (Goy) και είναι ίση με

$$C_{\text{SC}} = \left(\frac{2\varepsilon\varepsilon_0 e^2 n_0}{kT} \right)^{1/2} \cosh\left(\frac{e\Delta\phi_{\text{SC}}}{2kT} \right), \quad 3.6$$

ενώ στην περίπτωση εξωγενών ημιαγωγών είναι ίση με

$$\frac{1}{C_{SC}^2} = \frac{2}{\epsilon\epsilon_0 e N_D} \left(\Delta\phi_{SC} - \frac{kT}{e} \right) \quad 3.7$$

όπου ϵ είναι η μέση τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς του ημιαγωγού, ϵ_0 ($F m^{-1}$) είναι η διηλεκτρική σταθερά στο κενό, N_D (cm^{-3}) η πυκνότητα των δοτών, e (C) η απόλυτη τιμή του ηλεκτρικού φορτίου, T (K) και k ($J K^{-1}$) είναι η απόλυτη θερμοκρασία και η σταθερά Boltzmann, αντίστοιχα. $\Delta\phi_{SC}$ είναι η πτώση τάσης μεταξύ της επιφάνειας και εσωτερικού του ημιαγωγού και ισχύει πως $\Delta\phi_{SC} = V - V_{fb}$.

Η εξίσωση 3.7 αποτελεί την κλασική σχέση Mott-Schottky, η οποία περιγράφει την ολική χωρητικότητα της διαφασικής περιοχής ημιαγωγού-ηλεκτρολύτη. Η σχέση Mott-Schottky ισχύει μόνο για τις περιοχές δυναμικού όπου η συγκέντρωση των φορέων πλειοψηφίας στην επιφάνεια είναι μεγαλύτερη από την αντίστοιχη στο εσωτερικό του ημιαγωγού ($n_0 > n_s$ για n-τύπου ημιαγωγούς και $p_0 > p_s$ για p-τύπου ημιαγωγούς). Αυτό σημαίνει πως όλοι οι φορείς είναι ιονισμένοι και επιπλέον δεν υπάρχουν επιφανειακές καταστάσεις [161, 437].

Παρατηρείται πως μεταξύ της διαφορικής χωρητικότητας και του δυναμικού πόλωσης του ημιαγωγού υπάρχει μια απλή σχέση, γεγονός ιδιαίτερης σπουδαιότητας αφού μέσω της εξίσωσης Mott-Schottky μπορούν πολύ εύκολα να προσδιοριστούν βασικά φυσικά μεγέθη ημιαγωγίμων υλικών, όπως είναι η E_F , η E_{fb} και η συγκέντρωση N_D των φορέων απουσία φωτός [135].

3.5.7 Αρχική φαινόμενη απόδοση φωτονίων

Η απόδοση φωτονίων (ζ) περιγράφει την αποτελεσματικότητα μετατροπής του φωτός σε προϊόν ετερογενών συστημάτων διάχυτης ακτινοβολίας και είναι απευθείας ανάλογη της κβαντικής απόδοσης φωτονίων [438].

Ο υπολογισμός της αρχικής φαινόμενης απόδοσης φωτονίων στο χρησιμοποιούμενο σύστημα γίνεται με την παρακάτω εξίσωση:

$$\zeta(\%) = r_o (MB_{\text{ρύπου}} I_{hv} 10^3)^{-1} \times 100 \quad 3.8$$

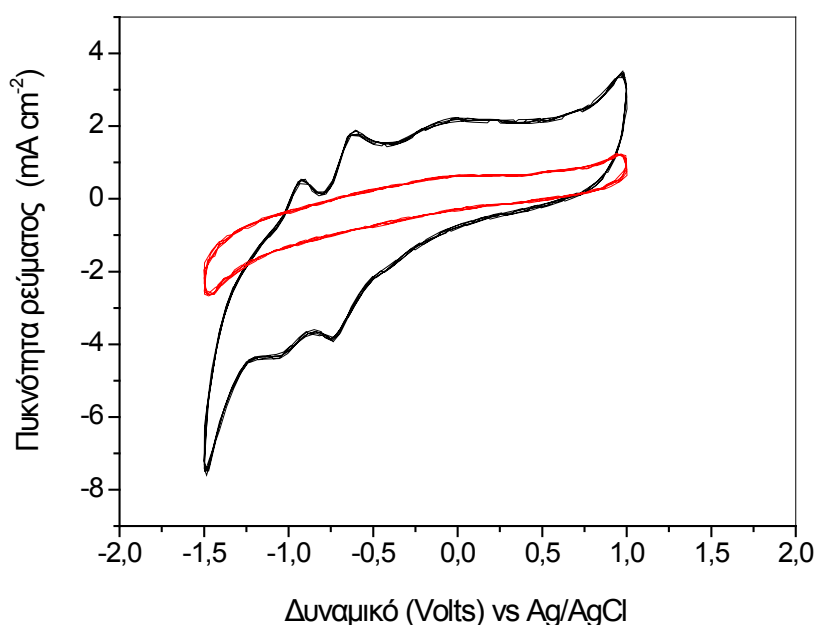
όπου r_o είναι η αρχική ταχύτητα οξειδωσης του μελετώμενου ρύπου ($mg L^{-1} min^{-1}$), I_{hv} είναι η ροή φωτονίων ($Einstein min^{-1}$) και $MB_{\text{ρύπου}}$ το μοριακό βάρος του ρύπου.

3.5.8 Μετρήσεις ρεύματος-δυναμικού ηλεκτροδίου γραφίτη σε υδατικό διάλυμα MV^{+2}

Η κατιονική ρίζα του MV^{+2} , MV^{+} , προκύπτει από το πρώτο στάδιο αναγωγής του MV^{+2} .



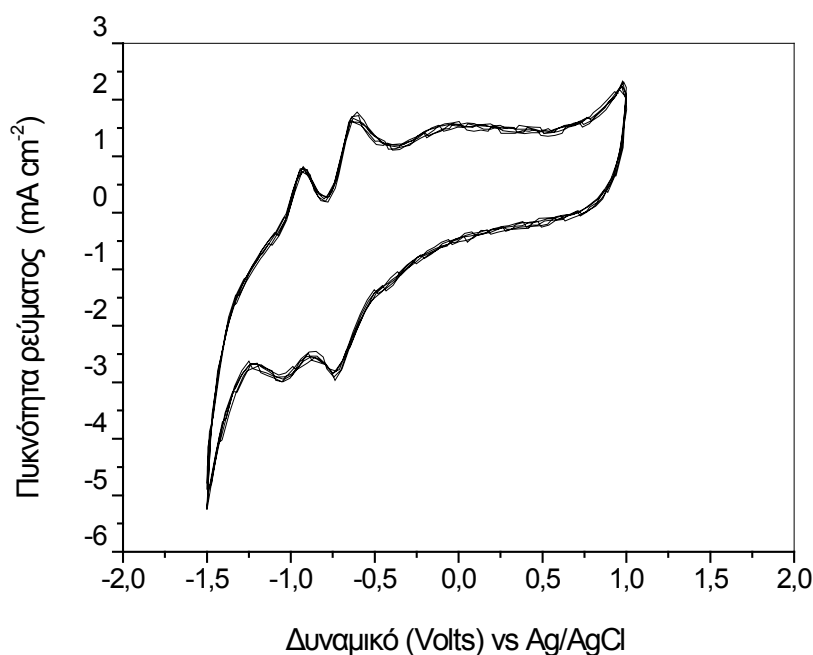
Η αντίδραση αυτή είναι αντιστρεπτή και έχει δυναμικό οξειδοαναγωγής περίπου -0.70 V ως προς ηλεκτρόδιο καλομέλανα (ΚΗΚ) σε υδατικά διαλύματα KCl [439]. Για τους σκοπούς της διατριβής λήφθηκαν οι καμπύλες ρεύματος-δυναμικού του MV^{+2} σε ηλεκτρόδιο γραφίτη σε υδατικό διάλυμα TAP-SF, παρουσία 0.4 mM Triton X 100. Το κυκλικό βολταμογράφημα των επιφανειακών δράσεων του ηλεκτροδίου γραφίτη, παρουσία και απουσία MV^{+2} , δίνεται στο σχήμα 3.8.



Σχήμα 3.8: Βολταμογραφήματα απαεριωμένου διαλύματος TAP-SF + 0.4 mM Triton X 100 (—) και διαλύματος TAP-SF + 0.4 mM Triton X + 1 mM Methyl Viologen (MV^{+2}) (—). Ρυθμός σάρωσης του δυναμικού 100 mV s⁻¹. Απεικονίζονται 5 κύκλοι, αφού είχε επέλθει σταθεροποίηση των επιφανειακών δράσεων (αριθμός σαρώσεων > 10).

Στο σχήμα 3.9 δίνεται το βολταμογράφημα των επιφανειακών δράσεων του ηλεκτροδίου γραφίτη παρουσία του MV^{+2} , αφού έχει αφαιρεθεί η βολταμογραφική καμπύλη του υποστρώματος.

Όπως φαίνεται στο παραπάνω σχήμα, στην περιοχή δυναμικών -0.53 έως -1.23 V vs Ag/AgCl, παρουσιάζονται δυο ζεύγη αντιστρεπτών κορυφών. Η πρώτη κορυφή ρεύματος στα -0.74 V αντιστοιχεί στην κατιονική ρίζα του MV^{+2} , ενώ η δεύτερη στα -1.06 V έχει χαρακτηριστικά προσρόφησης προϊόντος (pre-peak).



Σχήμα 3.9: Βολταμογράφημα απαεριωμένου διαλύματος TAP-SF + 0.4 mM Triton X 100 + 1 mM Methyl Viologen (MV^{+2}), ύστερα από απαλοιφή για κάθε τιμή δυναμικού του ρεύματος των επιφανειακών στοιβάδων χωρίς αποπολωτή. Ρυθμός σάρωσης του δυναμικού 100 mV s^{-1} . Απεικονίζονται 5 κύκλοι, αφού είχε επέλθει σταθεροποίηση των επιφανειακών δράσεων (αριθμός σαρώσεων > 10).

Παρατηρείται επίσης, μια μικρή μόνο μετατόπιση του δυναμικού οξειδοαναγωγής του MV^{+2} σε σχέση με τις τιμές της βιβλιογραφίας [439, 440]. Από την εξίσωση ρεύματος κορυφής των Randles-Sevcik (3.9) υπολογίστηκε ο συντελεστής διάχυσης του MV^{+2} παρουσία του απορρυπαντικού και βρέθηκε ίσος με $1.83 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, τιμή η οποία είναι σε συμφωνία με τις αντίστοιχες της βιβλιογραφίας [441].

$$i_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} CD^{1/2} \nu^{1/2}, \quad 3.9$$

όπου i_p το ρεύμα κορυφής (A m^{-2}), n ο αριθμός ηλεκτρονίων της δράσης, C η συγκέντρωση του αποπολωτή (mol m^{-3}), D ο συντελεστής διάχυσης του αποπολωτή ($\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$) και ν η ταχύτητα σάρωσης του δυναμικού (V s^{-1}).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στα κεφάλαια 2.13 και 3.3.3 παρουσιάστηκε ο τρόπος λειτουργίας της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής κυψέλης και συζητήθηκε η δυνατότητα της παραγωγής H_2 με την ταυτόχρονη αποικοδόμηση οργανικών ρύπων σε υγρά απόβλητα. Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης των δυο επιμέρους τμημάτων της κυψέλης, καθώς επίσης και τα αποτελέσματα του συνδυασμού τους.

4.1 Άνοδος

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται α) ο χαρακτηρισμός της επιφάνειας των ηλεκτροδίων TiO_2 , καθώς και η ηλεκτροχημική και φωτοηλεκτροχημική μελέτη τους και β) η ικανότητα των παρασκευασθέντων ηλεκτροδίων TiO_2 ως προς την φωτοηλεκτροχημική οξειδωση των ρύπων μοντέλων, Χλωραμφενικόλη [442] και Imidacloprid [443].

Οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των παρασκευασθέντων ηλεκτροδίων ήταν οι εξής:

1. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM) (χαρακτηρισμός επιφάνειας ηλεκτροδίου)
2. Μετρήσεις διαφορικής χωρητικότητας ως προς το εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης. Εξίσωση Mott-Schottky
3. Ποτενσιομετρικές καμπύλες ρεύματος/δυναμικού (i/V), απουσία και παρουσία φωτός

Οι τεχνικές αυτές παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την κατάσταση ισορροπίας μεταξύ ημιαγωγού-διαλύματος σε συνάρτηση με το εφαρμοζόμενο δυναμικό, την πυκνότητα των ιονισμένων δοτών στον κρύσταλλο του ημιαγωγού και την επιφανειακή μορφολογία του. Βάσει των πληροφοριών αυτών μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για τις ημιαγωγίμες ιδιότητες του υλικού της ανόδου.

Θα πρέπει να σημειωθεί πως στο εργαστήριο Φυσικής Χημείας και Ηλεκτροχημείας έχει ήδη διεξαχθεί ολοκληρωμένη μελέτη παρασκευής και χαρακτηρισμού θερμικών αλλά και μικροσωματιδιακών ηλεκτροδίων TiO_2 στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής του κ. Φιλίππιδη Νικόλαου [444], με επιβλέποντα καθηγητή τον κ. Πούλιο Ιωάννη. Τα αποτελέσματα αυτά αξιοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή για την περαιτέρω εφαρμογή τους σε συνδυασμό με τις φωτοβιολογικές μεθόδους. Η μελέτη των άλγεων και η φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική παραγωγή υδρογόνου αποτέλεσε το κυριότερο μέρος της διατριβής. Παρόλα αυτά, κατά τη διάρκεια της διατριβής παρασκευάστηκε και μελετήθηκε σε διάφορες συνθήκες ένα πλήθος ηλεκτροδίων, και τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν σε συμφωνία με τη μελέτη του κ. Φιλίππιδη.

Η φωτοηλεκτροχημική συμπεριφορά ενός ηλεκτροδίου TiO_2 εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως είναι η μέθοδος και η διαδικασία παρασκευής, η θερμική

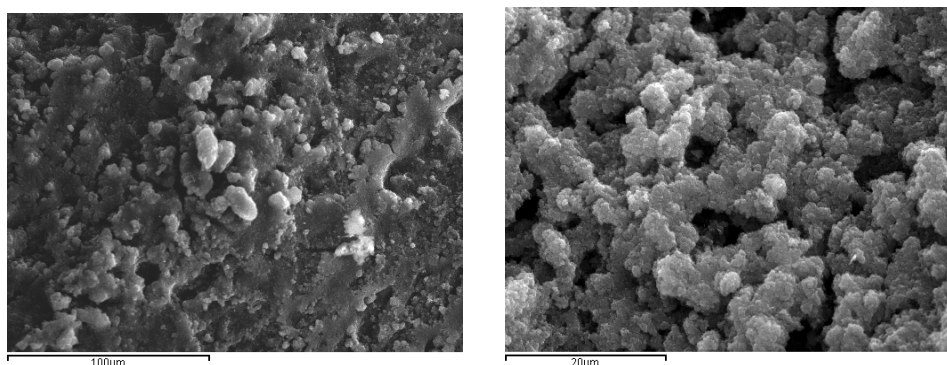
επεξεργασία, ο χρόνος επεξεργασίας, το πάχος του υμενίου των μικροσωματιδιακών ηλεκτροδίων κτλ. Αποτελεσματικότερα ηλεκτρόδια ως προς την αποικοδόμηση ρύπων, αλλά και τις καταλυτικών ιδιοτήτές τους, ήταν τα μικροσωματιδιακά ηλεκτρόδια με θέρμανση στους 500 °C για 1½ ώρα (80% ανατάσης, 20% ρουτίλιο) και πάχος υμενίου 6.5 μm (1 mg cm⁻² TiO₂ P-25). Τα ηλεκτρόδια αυτά θα αναφέρονται στο εξής ως TiO₂.

4.1.1 Μικροσκοπικός χαρακτηρισμός της επιφάνειας της ανόδου

Για το μικροσκοπικό χαρακτηρισμό της μορφολογίας της επιφάνειας των ηλεκτροδίων TiO₂, ελήφθησαν φωτογραφίες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM). Φωτογραφήθηκαν τα εξής 3 είδη ηλεκτροδίων, με στόχο τον εντοπισμό επιφανειακών διαφορών:

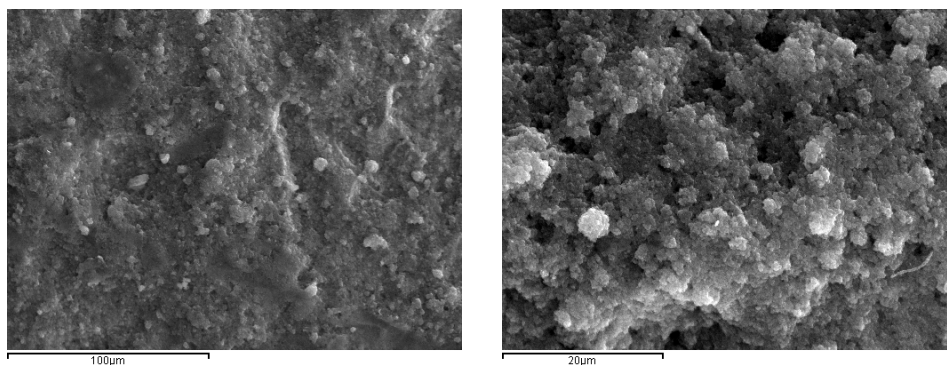
1. Μικροσωματιδιακό ηλεκτρόδιο παρασκευασμένο στους 500 °C για 1½ ώρα με καταλύτη 1 mg cm⁻² TiO₂ Degussa P-25 (TiO₂).
2. Μικροσωματιδιακό ηλεκτρόδιο παρασκευασμένο στους 500 °C για 1½ ώρα, με καταλύτη 1 mg cm⁻² TiO₂ Degussa P-25 και μορφοποιημένο με Pt σε ποσοστό 1.13% (TiO₂/Pt).
3. Θερμικά παρασκευασμένο υμένιο TiO₂ σε φύλλο Ti με θέρμανση στους 500 °C για 1½ ώρα (T-TiO₂).

Στο σχήμα 4.1 παρουσιάζεται η μικρογραφία του ηλεκτροδίου TiO₂, όπου παρατηρούνται συμπλέγματα σφαιρικών σωματιδίων μερικών μόνο μm, τα οποία σχηματίστηκαν από συνένωση των σωματιδίων του P-25 (20-30 nm).



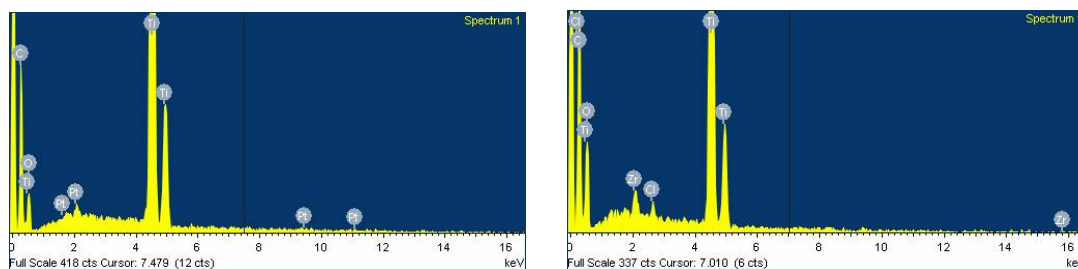
Σχήμα 4.1: Μικρογραφία SEM του ηλεκτροδίου TiO₂.

Το σχήμα 4.2 δείχνει τη μικρογραφία της επιφάνειας του τροποποιημένου με Pt μικροσωματιδιακού ηλεκτροδίου (TiO₂/Pt), η οποία σε σχέση με αυτή του TiO₂ εμφανίζεται περισσότερο λεία και με μικρότερου μεγέθους συμπλέγματα σφαιρικών σωματιδίων. Το γεγονός αυτό οφείλεται σε κάλυψη των πόρων του TiO₂ με απόθεση μικρότερων σωματιδίων Pt [445, 446].



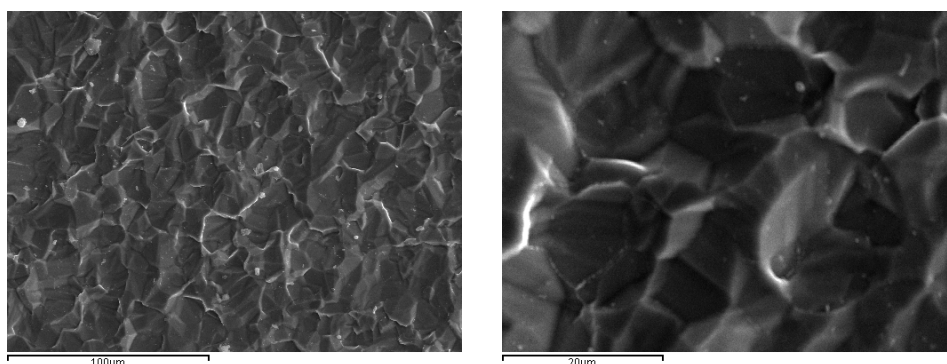
Σχήμα 4.2: Μικρογραφία SEM του ηλεκτροδίου TiO_2/Pt .

Τα αποτελέσματα της στοιχειακής ανάλυσης μέσω φασματοσκοπίας EDS (σχήμα 4.3) επιβεβαιώνουν την απόθεση μεταλλικού Pt στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου και καταγράφουν λόγο Ti:Pt ίσο με 97.40:1.13. Το υπόλοιπο 1.47% οφείλεται σε άτομα Cl, τα οποία προέρχονται από τις πρόδρομες ενώσεις παρασκευής του TiO_2 . Η φασματοσκοπία EDS κατέγραψε επίσης ίχνη από άτομα C, O και Zr.



Σχήμα 4.3: Ανάλυση EDS του μικροσωματιδιακού ηλεκτροδίου TiO_2/Pt .

Το σχήμα 4.4 δείχνει την επιφάνεια του θερμικού ηλεκτροδίου (T-TiO_2), η οποία αποτελείται από μεγάλο μέγεθος πολυέδρα 10-20 μm , ως αποτέλεσμα της προκατεργασίας με τη μέθοδο της χημικής απόξυσης της επιφάνειας του φύλλου Ti.

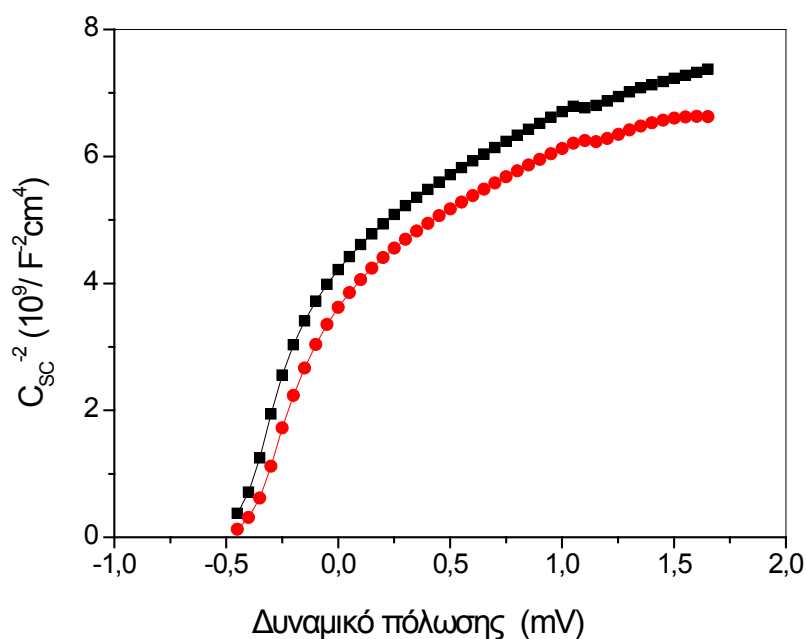


Σχήμα 4.4: Μικρογραφία SEM του ηλεκτροδίου T-TiO_2 .

Οι παραπάνω μικρογραφίες δείχνουν ξεκάθαρα τις διαφορές στη μορφολογία των υμενίων που έχουν σχηματιστεί σε κάθε τύπο ηλεκτροδίου και σχετίζονται με τη μέθοδο παρασκευής αυτών.

4.1.2 Ηλεκτροχημική συμπεριφορά της ανόδου TiO_2

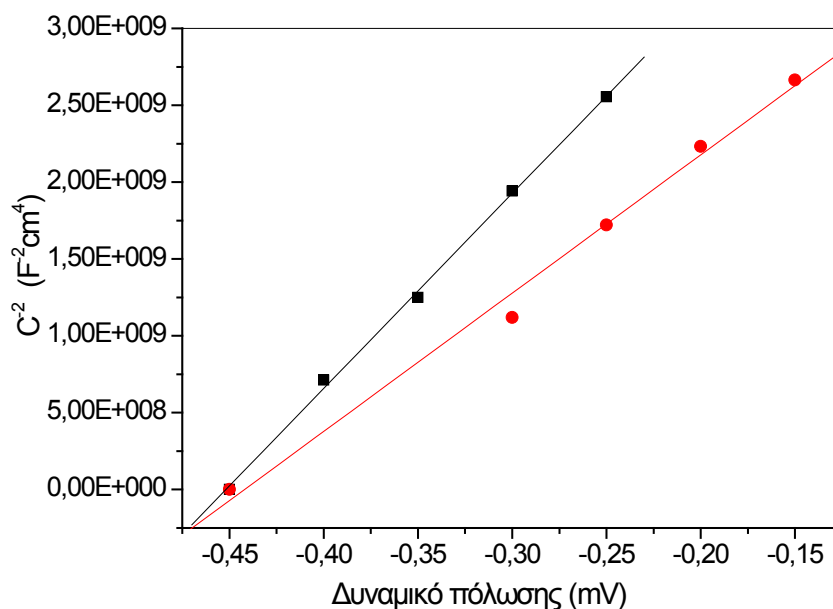
Η ηλεκτροχημική συμπεριφορά των ημιαγώγιμων υλικών μπορεί να ερμηνευθεί με όρους φραγμάτων Schottky [161, 447]. Δυο πολύ σημαντικές παράμετροι, οι οποίες επηρεάζουν τις ηλεκτρονικές και ηλεκτροχημικές ιδιότητες των ημιαγώγιμων υλικών, είναι το δυναμικό στην κατάσταση μηδενικού φορτίου (V_{fb}) και η πυκνότητα των φορτίων χώρου στον κρύσταλλο (δοτών, N_D). Στην περίπτωση ενός n-τύπου ημιαγωγού, όπως είναι το TiO_2 , ένας εύκολος και αξιόπιστος τρόπος υπολογισμού των παραμέτρων αυτών είναι η μέτρηση της διαφορικής χωρητικότητας των φορτίων χώρου του ημιαγωγού, C_{sc} , ως συνάρτηση του εφαρμοζόμενου δυναμικού, V , στη διαφασική περιοχή, χρησιμοποιώντας την κλασική σχέση Mott–Schottky (βλέπε κεφάλαιο 3.5.6, εξίσωση 3.7).



Σχήμα 4.5: Εξάρτηση της διαφορικής χωρητικότητας της επαφής TiO_2 -0.1 M Na_2SO_4 από το εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης στο σκοτάδι σε συχνότητες 100 Hz (●) και 500 Hz (■) σε pH=5.6.

Στο σχήμα 4.5 παρουσιάζεται το διάγραμμα διαφορικής χωρητικότητας της ηλεκτροχημικής επαφής TiO_2 -0.1 M Na_2SO_4 σε pH=5.6, σε συνθήκες σκότους και με ταχύτητα σάρωσης του δυναμικού πόλωσης 20 mV s^{-1} . Παρατηρείται η λήψη χαρακτηριστικών καμπυλών του αντιστρόφου του τετραγώνου της χωρητικότητας C^{-2} , συναρτήσεως του δυναμικού πόλωσης V σε συχνότητες 100 και 500 Hz (σχήμα 4.2).

Από τις τιμές του σχήματος 4.5 και την εξίσωση 3.7, καταλήγουμε στο επόμενο σχήμα, το οποίο αποτελεί το διάγραμμα Mott-Schottky της επαφής του TiO_2 με το ηλεκτρολυτικό διάλυμα, για τιμές εφαρμοζόμενου δυναμικού από -0.45 έως -0.15 V.



Σχήμα 4.6: Διάγραμμα Mott-Schottky του ηλεκτροδίου TiO_2 σε 0.1 M Na_2SO_4 στο σκοτάδι σε συχνότητες 100 Hz (●) και 500 Hz (■) σε pH=5.6.

Από το σημείο τομής ($\frac{1}{C_{SC}^2} = 0$ και $V - V_{fb} - \frac{kT}{e} = 0$ που σημαίνει ότι $V_{fb} = V - \frac{kT}{e}$)

των ευθειών με τον άξονα των δυναμικών πόλωσης υπολογίστηκαν τα δυναμικά της κατάστασης flatband (V_{fb}), ενώ από την κλίση $\frac{2}{\epsilon\epsilon_0 N_D e}$ των ευθειών, ο αριθμός των δοτών (N_D) σύμφωνα με την εξίσωση 3.7. Όπου ϵ είναι η μέση τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς του ημιαγωγού (~75 για τη μορφή TiO_2 80% ανατάσης 20% ρουτίλιο [448]).

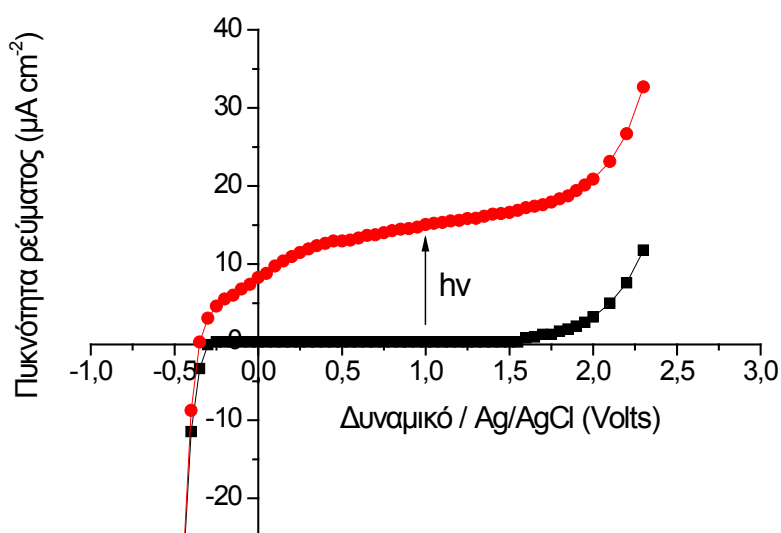
Οι τιμές που υπολογίστηκαν για τα δυναμικά μηδενικού φορτίου και τον αριθμό των δοτών σε συχνότητες 100 και 500 Hz δίνονται στον πίνακα 4.1 και βρίσκονται σε συμφωνία με τις αντίστοιχες που παρουσιάζονται στη διεθνή βιβλιογραφία [449].

Πίνακας 4.1: Δυναμικά μηδενικού φορτίου (V_{fb}) και αριθμός δοτών (N_D) της διαφανούς περιοχής TiO_2 - Na_2SO_4 στα 100 και 500 Hz.

Συχνότητα (Hz)	V_{fb} vs Ag/AgCl (V)	V_{fb} vs NHE (V)	N_D (cm^{-3})
100	0.440	0.218	$2.09 \cdot 10^{18}$
500	0.450	0.228	$1.482 \cdot 10^{18}$

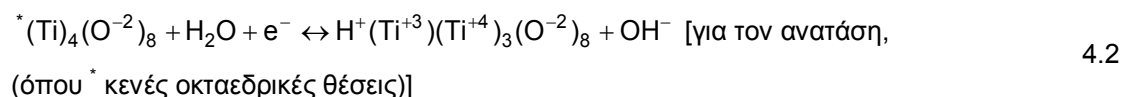
4.1.3 Φωτοηλεκτροχημική συμπεριφορά της ανόδου TiO_2

Οι καμπύλες ρεύματος-δυναμικού του ηλεκτροδίου TiO_2 σε ηλεκτρολυτικό διάλυμα Na_2SO_4 συγκέντρωσης 0.1 M δίνονται στο σχήμα 4.7. Η περιοχή σάρωσης του δυναμικού ήταν μεταξύ -0.5 και +2.3 V vs Ag/AgCl, με ρυθμό 10 mV s^{-1} στο σκοτάδι, καθώς και υπό την επίδραση UV-A ακτινοβολίας. Η περιοχή σάρωσης του δυναμικού δεν επιλέχθηκε τυχαία, αλλά αφού έχει προηγηθεί γρήγορη σάρωση του δυναμικού απουσία φωτός με ταχύτητα 100 mV s^{-1} . Το θετικό και το αρνητικό όριο βρίσκονται λίγο πριν την έκλυση οξυγόνου και υδρογόνου, αντίστοιχα. Με αυτόν τον τρόπο, επιτυγχάνεται τόσο η επιλογή της καταλληλότερης περιοχής δυναμικού, όσο και η ενεργοποίηση (ιδιαίτερα με την έκθεση σε αρνητικά δυναμικά λόγω αύξησης των ελλειμάτων οξυγόνου στο κρυσταλλικό πλέγμα του TiO_2) του ηλεκτροδίου, που οδηγεί σε μεγαλύτερα φωτορεύματα. Για αυτούς τους λόγους, η γρήγορη σάρωση με όρια την έκλυση οξυγόνου και υδρογόνου είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση του ηλεκτροδίου που μελετάται.



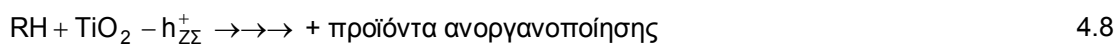
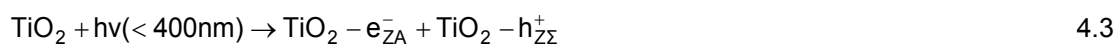
Σχήμα 4.7: Καμπύλες ρεύματος-δυναμικού για το ηλεκτρόδιο TiO_2 σε φυσικό $\text{pH}=5.6$ σε 0.1 M Na_2SO_4 στο σκοτάδι (■) και υπό την επίδραση UV-A ακτινοβολίας (●).

Από το σχήμα 4.7 φαίνεται πως το ηλεκτρόδιο TiO_2 συμπεριφέρεται στο σκοτάδι σύμφωνα με τα αναμενόμενα και τυπικά χαρακτηριστικά ενός ημιαγωγού n-τύπου, παρουσιάζοντας σχεδόν ιδανικά πολούμενη συμπεριφορά για τιμές δυναμικών μεταξύ -0.3 και +1.5 V. Σε θετικότερες τιμές δυναμικού εμφανίζεται αύξηση της πυκνότητας ρεύματος ως αποτέλεσμα της διάσπασης του νερού και της έκλυσης οξυγόνου. Σε δυναμικά αρνητικότερα των -0.3 V και πριν την έκλυση υδρογόνου, έχουμε την εμφάνιση καθοδικών ρευμάτων λόγω αναγωγής/οξειδωσης των επιφανειακών ειδών Ti(IV) προς Ti(III) , σύμφωνα με τις παρακάτω εξισώσεις [450-453]:



Όπως φαίνεται στο παραπάνω σχήμα, το ρεύμα απουσία φωτός στη μελετώμενη περιοχή είναι πρακτικά μηδέν. Αντιθέτως, υπό την επίδραση UV-A ακτινοβολίας παρατηρείται δραστική αύξηση στην πυκνότητα ρεύματος σε τιμές δυναμικών θετικότερες των -0.3 V. Η διαφορά ανάμεσα στην πυκνότητα ρεύματος που παρατηρείται κατά το φωτισμό με ακτινοβολία UV-A και στο ρεύμα που παρατηρείται στο σκοτάδι, αποτελεί το φωτόρευμα ($\Delta I_{\text{photo}} = I_{\text{φως}} - I_{\text{σκοτάδι}}$). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός της εμφάνισης ορικού ρεύματος σε μικρές τιμές υπέρτασης. Από το σχήμα 4.7 παρατηρούμε ορικές τιμές φωτορεύματος ήδη από τιμές εφαρμοζόμενου δυναμικού θετικότερες των 0.25 V. Το γεγονός αυτό χαρακτηρίζει τα μικροσωματιδιακά ηλεκτρόδια TiO_2 στα οποία η εμφάνιση φωτορεύματος γίνεται σε μικρές τιμές δυναμικού πόλωσης στην περιοχή της κατάστασης μηδενικού φορτίου, άρα σε μικρές σχετικά ενεργειακές απαιτήσεις. Το ρεύμα αυτό ελέγχεται από τη διάχυση των φορέων μειοψηφίας (οπές στην περίπτωση n-τύπου ημιαγωγού, όπως είναι το TiO_2) προς την επιφάνεια του ηλεκτροδίου, όπου αντιδρούν με το H_2O και παράγουν τις ρίζες του OH^\bullet [161, 447, 454]. Η εφαρμοζόμενη διαφορά δυναμικού μεταφέρει τα ηλεκτρόνια προς το αντίθετο ηλεκτρόδιο, αφήνοντας τις φωτο-παραγόμενες οπές να αντιδράσουν με τα μόρια $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$ παράγοντας ρίζες υδροξυλίου (OH^\bullet) ή να αντιδράσουν απευθείας με οργανικές ενώσεις που βρίσκονται στο διάλυμα, όπως υποδεικνύουν και οι επόμενες εξισώσεις (4.3 – 4.8).

Ανοδος (ηλεκτρόδιο εργασίας)

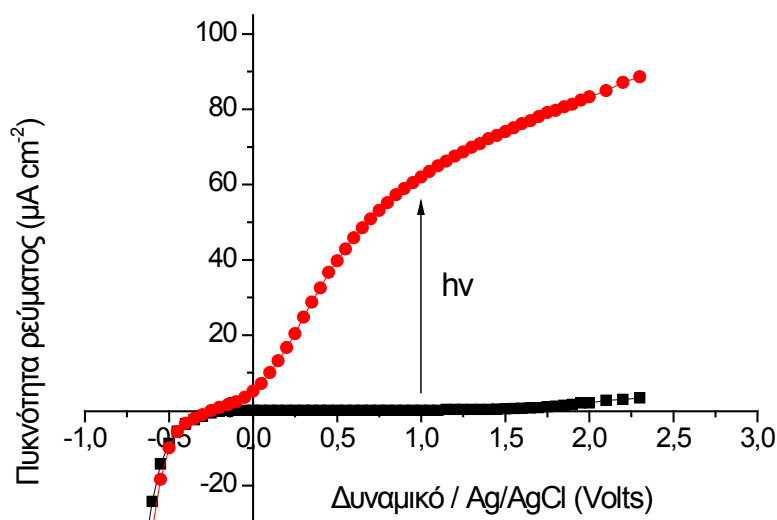


Σε μια κλασική περίπτωση, αυτές οι οξειδωτικές αντιδράσεις συνοδεύονται από μια αναγωγική αντίδραση, λόγω της μεταφοράς των ηλεκτρονίων προς την κάθοδο (π.χ. αναγωγή του νερού).

Κάθοδος (αντίθετο ηλεκτρόδιο)



Διαφορετική είναι η εικόνα στα θερμικά ηλεκτρόδια T-TiO₂. Οι καμπύλες ρεύματος-δυναμικού T-TiO₂ δίνονται στο σχήμα 4.8. Φέρων ηλεκτρολύτης ήταν το Na₂SO₄ συγκέντρωσης 0.1 M, με ρυθμό σάρωσης του δυναμικού 10 mV s⁻¹ μεταξύ -0.5 και +2.3 V vs Ag/AgCl.



Σχήμα 4.8: Καμπύλες ρεύματος-δυναμικού για το ηλεκτρόδιο T-TiO₂ σε φυσικό pH=5.6 σε 0.1 M Na₂SO₄ στο σκοτάδι (■) και υπό την επίδραση UV-A ακτινοβολίας (●).

Από το σχήμα 4.8 παρατηρείται πως το φωτόρευμα αυξάνεται απότομα σε τιμές υπέρτασης από περίπου +0.1 V και ύστερα, ενώ δεν εμφανίζει μέγιστη τιμή (ορικό ρεύμα) στη μελετώμενη περιοχή σάρωσης. Το ρεύμα αυτό ελέγχεται και πάλι από τη διάχυση των φορέων μειοψηφίας (οπές) προς την επιφάνεια του ηλεκτροδίου, οι οποίες αντιδρούν με το νερό προς παραγωγή ριζών υδροξυλίου.

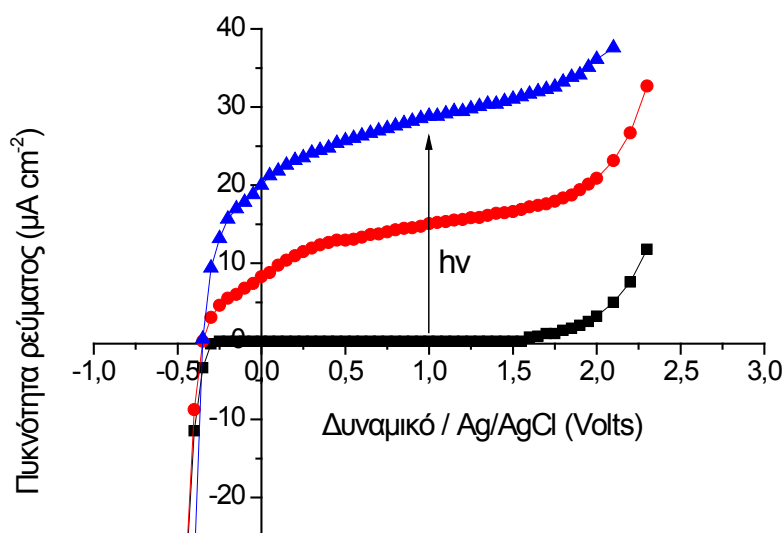
Επίσης, παρατηρείται πως και το T-TiO₂ συμπεριφέρεται στο σκοτάδι σύμφωνα με τα αναμενόμενα τυπικά χαρακτηριστικά ενός ημιαγωγού n-τύπου. Για τιμές δυναμικών μεταξύ -0.40 και +1.75 V παρουσιάζει σχεδόν ιδανικά πολούμενη συμπεριφορά. Σε θετικότερες τιμές δυναμικού εμφανίζεται αύξηση της πυκνότητας ρεύματος, ως αποτέλεσμα της διάσπασης του νερού και της έκλυσης οξυγόνου, για τους λόγους που αναφέρθηκαν και παραπάνω. Το θερμικό ηλεκτρόδιο παρουσιάζει αρκετά υψηλότερες τιμές φωτορεύματος, σε σχέση με τις αντίστοιχες του μικροσωματιδιακού, από τα +0.25 V και έπειτα. Αυτή η συμπεριφορά οφείλεται στο γεγονός ότι το υμένιο TiO₂ που έχει δημιουργηθεί με θέρμανση απευθείας πάνω στην επιφάνεια του μεταλλικού υποστρώματος Ti, καθιστά μικρότερη την αντίσταση διέλευσης του ρεύματος. Αντίθετα, τα μικροσωματιδιακά ηλεκτρόδια αποτελούνται από ένα επιπλέον υμένιο, αυτό των συμπλεγμάτων σφαιρικών σωματιδίων του TiO₂-P25, γεγονός που οδηγεί στην αύξηση της αντίστασης διέλευσης του ρεύματος.

4.1.4 Φωτοηλεκτροκαταλυτική οξειδωση του αντιβιοτικού Χλωραμφενικόλη. Επίδραση του εφαρμοζόμενου δυναμικού

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της φωτοηλεκτροκαταλυτικής διάσπασης του αντιβιοτικού Χλωραμφενικόλη. Τα πειράματα διεξήχθησαν στη φωτοηλεκτροχημική κυψέλη των 500 mL (βλέπε κεφάλαιο 3.1.4), χρησιμοποιώντας ως ηλεκτρόδιο εργασίας το μικροσωματιδιακό ηλεκτρόδιο TiO_2 , σύρμα από ανοξείδωτο ατσάλι (stainless steel) ως αντίθετο ηλεκτρόδιο και ηλεκτρόδιο Ag/AgCl ως ηλεκτρόδιο αναφοράς.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε περιλαμβάνει α) τον ηλεκτροχημικό χαρακτηρισμό του ηλεκτροδίου εργασίας με και χωρίς φωτισμό σε διαλύματα Na_2SO_4 0.1 M και Na_2SO_4 0.1 M + 10 mg L⁻¹ αντιβιοτικού, β) ενίσχυση της φωτοκαταλυτικής οξειδωσης από το δυναμικό πόλωσης, γ) επίδραση του εξωτερικά εφαρμοζόμενου δυναμικού στην οξειδωση του αντιβιοτικού και δ) επίδραση του pH και της συγκέντρωσης του αντιβιοτικού στην αποδοτικότητα της μεθόδου.

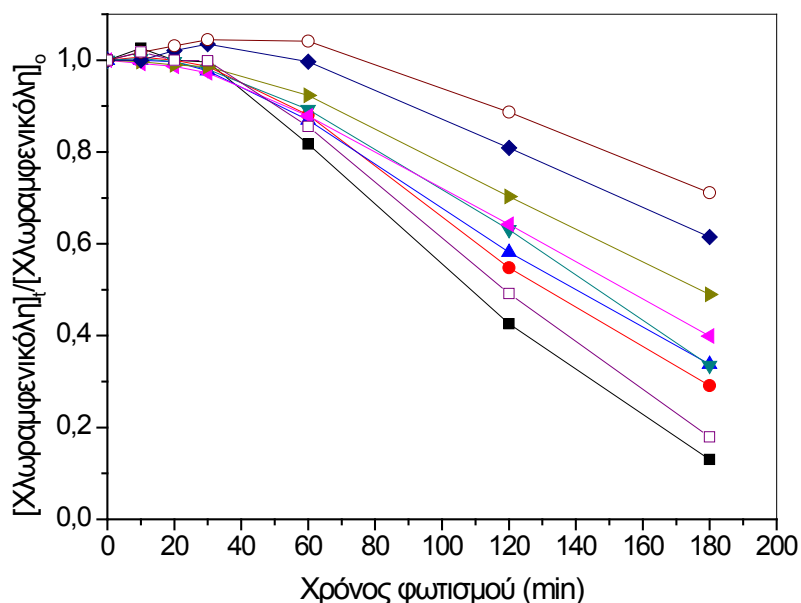
Στο σχήμα 4.9 δίνονται οι καμπύλες ρεύματος-δυναμικού του μικροσωματιδιακού ηλεκτροδίου TiO_2 σε 0.1 M Na_2SO_4 στο σκοτάδι και υπό την επίδραση ακτινοβολίας UV-A. Το παράθυρο δυναμικού σάρωσης εκτείνεται από -0.5 μέχρι +2.3 V vs Ag/AgCl . Η ταχύτητα σάρωσης του δυναμικού ήταν 10 mV s⁻¹, παρουσία και απουσία Χλωραμφενικόλης. Παρατηρείται πως, παρουσία του αντιβιοτικού, σημαντική είναι η αύξηση του φωτορεύματος για τις ίδιες τιμές ανοδικού δυναμικού. Αυτό σημαίνει ότι η Χλωραμφενικόλη είτε αντιδρά απευθείας με τις $\text{S}[\text{OH}\cdot]$ που παράγονται από την οξειδωση των μορίων του H_2O που προσροφώνται στην επιφάνεια του TiO_2 , είτε προσροφάται και αντιδρά με τις φωτοδημιουργούμενες σπές στην επιφάνεια του TiO_2 [455].



Σχήμα 4.9: Καμπύλες ρεύματος-δυναμικού του ηλεκτροδίου TiO_2 σε pH=5.6 και σε 0.1 M Na_2SO_4 στο σκοτάδι (■), με φωτισμό (●), με φωτισμό + 10 mg L⁻¹ Χλωραμφενικόλη (▲).

Για να βρεθεί η επίδραση του εξωτερικά εφαρμοζόμενου δυναμικού πόλωσης στην οξειδωση της Χλωραμφενικόλης, επιλέχθηκαν διάφορες τιμές δυναμικών και η εφαρμογή τους σε πειράματα διάσπασης. Επίσης, με σκοπό τη σύγκριση της φωτοηλεκτροκαταλυτικής και της απλής φωτοκαταλυτικής διάσπασης του αντιβιοτικού, έγιναν πειράματα απουσία δυναμικού πόλωσης. Στα πειράματα αυτά μετρήθηκε η τιμή της οπτικής απορρόφησης του διαλύματος 10 mg L^{-1} Χλωραμφενικόλης στα 278 nm , σε συνάρτηση με το χρόνο φωτισμού. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών παρουσιάζονται στο σχήμα 4.10, ενώ στον πίνακα 4.2 δίνονται οι τιμές της αρχικής ταχύτητας οξειδωσης της Χλωραμφενικόλης, καθώς και οι τιμές της φαινόμενης αρχικής απόδοσης φωτονίων διάσπασης, όπως υπολογίστηκαν από την εξίσωση 3.8.

Όπως δείχνει το σχήμα 4.10, με αύξηση του δυναμικού πόλωσης μέχρι τα $+1.5 \text{ V}$, παρατηρείται μείωση του χρόνου αποικοδόμησης του αντιβιοτικού, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται αύξηση της τιμής της αρχικής ταχύτητας διάσπασής του (σχήμα 4.11, πίνακας 4.2). Σε κάθε περίπτωση, η εφαρμογή εξωτερικού δυναμικού πόλωσης ενισχύει την αποικοδόμηση της Χλωραμφενικόλης σε σχέση με την απλή φωτοκαταλυτική οξειδωση. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει την αποτελεσματικότερη λειτουργία της φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξειδωσης σε σχέση με την απλή φωτοκαταλυτική.



Σχήμα 4.10: Επίδραση του εξωτερικά εφαρμοζόμενου δυναμικού πόλωσης (ως προς Ag/AgCl) στην αποικοδόμηση της Χλωραμφενικόλης. Συγκέντρωση 10 mg L^{-1} σε $0.1 \text{ M Na}_2\text{SO}_4$ και σε $\text{pH}=5.6$. Φωτοκατάλυση (\circ), -0.35 V (\blacklozenge), -0.25 V (\blacktriangleright), 0 V (\blacktriangleleft), $+0.25 \text{ V}$ (\blacktriangle), $+0.5 \text{ V}$ (\bullet), $+1.0 \text{ V}$ (\square), $+1.5 \text{ V}$ (\blacksquare), $+0.2 \text{ V}$ (\blacktriangledown).

Με την εφαρμογή δυναμικού $+1.5 \text{ V}$, η αρχική ταχύτητα διάσπασης της Χλωραμφενικόλης σε σχέση με την απλή φωτοκατάλυση και τα δυναμικά πόλωσης -0.35 , -

0.25, 0, +0.25, +0.5 V και +1.0 V, αυξάνει κατά 45%, 37%, 29%, 21%, 9%, 1% και 1%, αντίστοιχα. Το φαινόμενο αυτό έρχεται σε συμφωνία με την αντίστοιχη αύξηση της πυκνότητας του φωτορεύματος και αποδεικνύεται πως το δυναμικό πόλωσης είναι ικανό να καθορίσει την αποδοτικότητα του συστήματος.

Πίνακας 4.2: Επίδραση της τιμής του εφαρμοζόμενου δυναμικού πόλωσης του ηλεκτροδίου TiO₂ στην πυκνότητα του φωτορεύματος, στην φαινόμενη αρχική απόδοση φωτονίων και στην αρχική ταχύτητα διάσπασης της Χλωραμφενικόλης συγκέντρωσης 10 mg L⁻¹, σε 0.1 M Na₂SO₄ και σε pH=5.6.

Δυναμικό πόλωσης (Volts vs Ag/AgCl)	Πυκνότητα φωτορεύματος (μA cm ⁻²)	Αρχική ταχύτητα διάσπασης Χλωραμφενικόλης, r ₀ (mg L ⁻¹ min ⁻¹)	Φαινόμενη αρχική απόδοση φωτονίων, ζ ₀ (%)
Φωτοκατάλυση	-	0.02717 ± 9.81 10 ⁻⁴	0.0701 ± 25.3 10 ⁻⁴
-0.35	0.313	0.03114 ± 3.29 10 ⁻⁴	0.08034 ± 8.48 10 ⁻⁴
-0.25	13.16	0.0351 ± 3.27 10 ⁻⁴	0.09056 ± 8.43 10 ⁻⁴
0	20	0.03906 ± 3.27 10 ⁻⁴	0.10077 ± 8.43 10 ⁻⁴
+0.25	23.5	0.04501 ± 21.2 10 ⁻⁴	0.11612 ± 54.70 10 ⁻⁴
+0.5	25.69	0.04869 ± 36.00 10 ⁻⁴	0.12562 ± 92.90 10 ⁻⁴
+1.0	29.58	0.04855 ± 32.70 10 ⁻⁴	0.12526 ± 84.40 10 ⁻⁴
+1.5	31.02	0.04905 ± 36.00 10 ⁻⁴	0.11538 ± 92.90 10 ⁻⁴
+2.0*	36.1	0.04699 ± 16.3 10 ⁻⁴	0.12123 ± 42.10 10 ⁻⁴

* Στα +2.0 V έχει ήδη ξεκινήσει η έκλυση οξυγόνου, λόγω φωτοηλεκτροχημικής διάσπασης του νερού.

Παρατηρείται επίσης, πως αύξηση της τιμής του δυναμικού πόλωσης από τα +1.5 V στα +2.0 V επιφέρει μείωση της ταχύτητας, αλλά και του χρόνου αποικοδόμησης της Χλωραμφενικόλης. Το φαινόμενο αυτό πιθανώς να οφείλεται στην ανταγωνιστική αντίδραση έκλυσης οξυγόνου, λόγω διάσπασης του νερού [456]. Όπως φαίνεται από το σχήμα 4.9, στα +2.0 V έχει ήδη ξεκινήσει η ηλεκτροχημική διάσπαση νερού, ακόμα και σε συνθήκες σκότους.

Στο κεφάλαιο 2.11.2 έχει ήδη αναφερθεί πως η κινητική που περιγράφει τις ετερογενείς φωτοκαταλυτικές αντιδράσεις είναι αυτή των Langmuir-Hinshelwood [436]. Για μικρές συγκεντρώσεις του οργανικού ρύπου η σχέση Langmuir-Hinshelwood απλοποιείται και

μπορεί να μελετηθεί ως μια αντίδραση ψευδοπρώτης τάξης. Ισχύει δηλαδή πως $\ln \frac{C_0}{C_t} = k_0 t$,

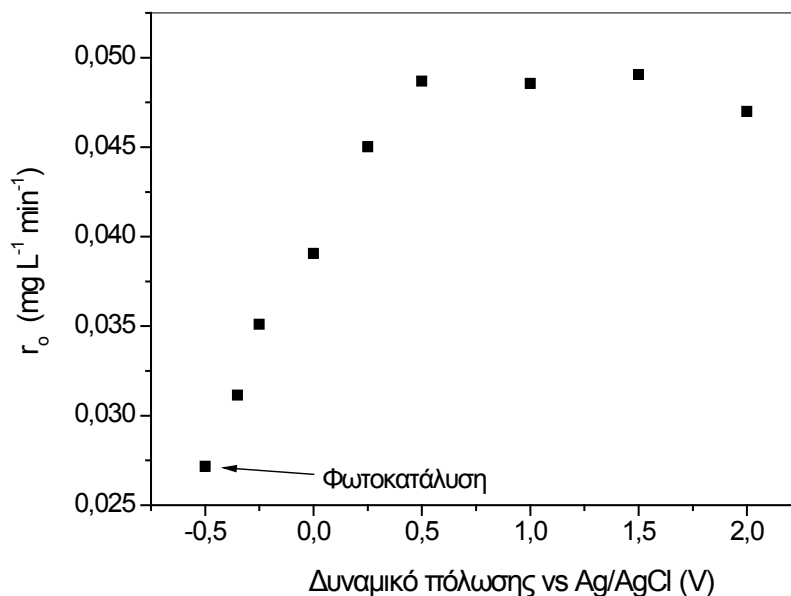
όπου k₀ είναι η φαινόμενη σταθερά της ταχύτητας της αντίδρασης και εκφράζεται ως k₀ = Kk_r,

όπου K συμβολίζεται η σταθερά προσρόφησης του αντιδρώντος συστατικού και k_r η σταθερά ταχύτητας της αντίδρασης. Η άποψη αυτή επιβεβαιώνεται όταν μετατραπούν τα

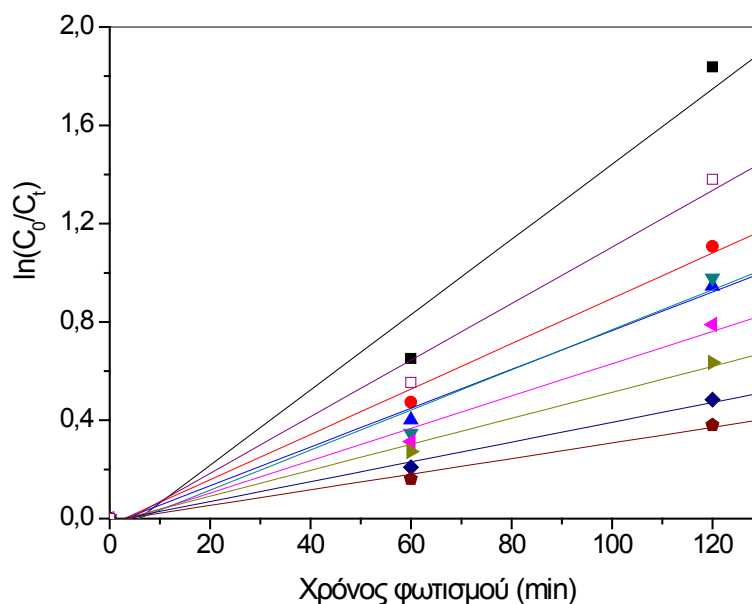
αποτελέσματα του σχήματος 4.11 σε διάγραμμα της εξάρτησης του $\ln \frac{C_0}{C_t}$ από το χρόνο

φωτισμού t (σχήμα 4.12). Παρατηρείται μια γραμμική σχέση μεταξύ του $\ln \frac{C_0}{C_t}$ και του t, οπότε

και η φωτοηλεκτροκαταλυτική διάσπαση της Χλωραμφενικόλης μπορεί να θεωρηθεί ως μια αντίδραση ψευδοπρώτης τάξης.



Σχήμα 4.11: Επίδραση του εξωτερικά εφαρμοζόμενου δυναμικού πόλωσης του ηλεκτροδίου TiO₂ στην τιμή της αρχικής ταχύτητας διάσπασης της Χλωραμφενικόλης. Συγκέντρωση 10 mg L⁻¹ σε 0.1 M Na₂SO₄ και σε pH=5.6.

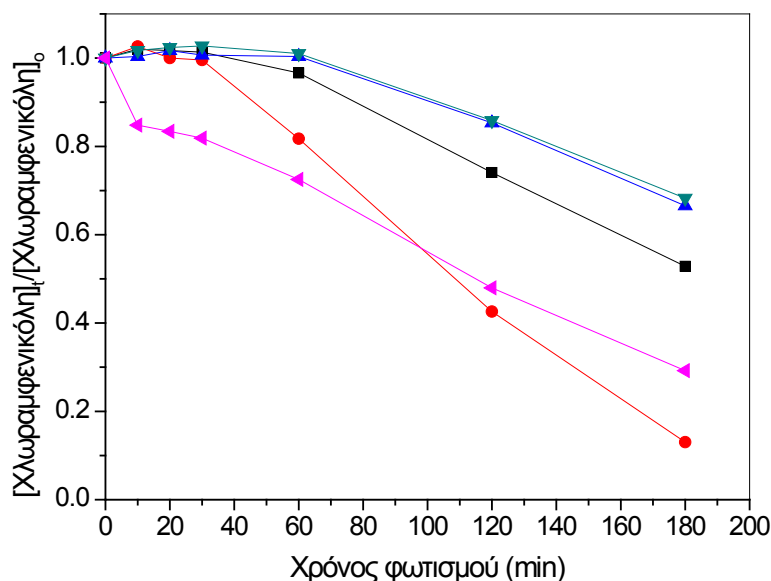


Σχήμα 4.12: Εξάρτηση του $\ln \frac{C_0}{C_t}$ από το χρόνο φωτισμού του ηλεκτροδίου TiO₂. Φωτοκατάλυση (○), - 0.35 V (◆), -0.25 V (►), 0 V (◄), +0.25 V (▲), +0.5 V (●), +1.0 V (◻), +1.5 V (■), +0.2 V (▼). Συγκέντρωση 10 mg L⁻¹ σε 0.1 M Na₂SO₄ και σε pH=5.6.

4.1.5 Επίδραση του pH του διαλύματος στη φωτοηλεκτροκαταλυτική οξείδωση της Χλωραμφενικόλης

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξείδωσης της Χλωραμφενικόλης σε διάφορες τιμές pH. Το pH του διαλύματος επηρεάζει το επιφανειακό φορτίο του ηλεκτροδίου TiO_2 και την τιμή του δυναμικού της κατάστασης μηδενικού φορτίου, η οποία αυξάνει κατά 59 mV προς αρνητικότερες τιμές δυναμικού ανά μονάδα αύξησης της τιμής του pH [343]. Επηρεάζει, επίσης, τη χημική μορφή οργανικών ενώσεων που βρίσκονται στο διάλυμα [457, 458]. Άμεσο αποτέλεσμα είναι η μείωση της οξειδωτικής ισχύος των φωτο-δημιουργούμενων οπών (h^+), αυξανόμενη της τιμής του pH. Είναι φυσικό, λοιπόν, πως το pH επηρεάζει τη φωτοηλεκτροχημική οξείδωση των οργανικών ρύπων στο ηλεκτρόδιο TiO_2 .

Στο σχήμα 4.13 δίνεται η επίδραση της τιμής του pH του διαλύματος στη μείωση της συγκέντρωσης της Χλωραμφενικόλης. Η συγκέντρωση του αντιβιοτικού ήταν 10 mg L^{-1} , ενώ το εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης επιλέχθηκε σύμφωνα με τα αποτελέσματα του κεφαλαίου 4.1.5 στα +1.5V vs Ag/AgCl.

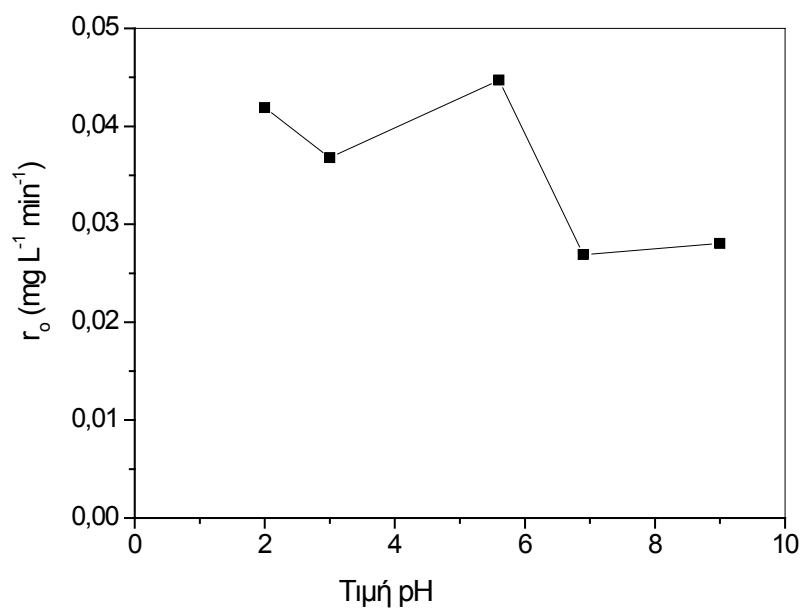


Σχήμα 4.13: Επίδραση της τιμής του pH στη φωτοηλεκτροκαταλυτική οξείδωση 10 mg L^{-1} Χλωραμφενικόλης σε $0.1 \text{ M Na}_2\text{SO}_4$ και σε εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης +1.5 V στο ηλεκτρόδιο TiO_2 . pH=2 (◀), pH=3 (■), pH=5.6 (●), pH=6.9 (▼), pH=9 (▲).

Η επίδραση του pH φαίνεται και στην αρχική ταχύτητα οξείδωσης της Χλωραμφενικόλης, όπως αυτή παρουσιάζεται στο σχήμα 4.14.

Όπως δείχνουν τα σχήματα 4.13 και 4.14, η φωτοηλεκτροκαταλυτική αποικοδόμηση του αντιβιοτικού ευνοείται σε ασθενώς όξινα διαλύματα (φυσικό pH). Το παρατηρούμενο αυτό

αποτέλεσμα μπορεί να εξηγηθεί με βάση το επιφανειακό φορτίο του TiO₂ (ισοηλεκτρικό σημείο) και τη σχέση αυτού με το μηχανισμό διάσπασης του ρύπου.



Σχήμα 4.14: Επίδραση του pH του διαλύματος στην τιμή της αρχικής ταχύτητας διάσπασης της Χλωραμφενικόλης. 10 mg L⁻¹ Χλωραμφενικόλη σε 0.1 M Na₂SO₄ και σε εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης +1.5 V στο ηλεκτρόδιο TiO₂.

Το ισοηλεκτρικό σημείο του TiO₂ βρίσκεται σε pH 6.3 περίπου [459, 460]. Σε τιμές pH χαμηλότερες του σημείου αυτού η επιφάνεια του ημιαγωγού φορτίζεται θετικά, όπως φαίνεται στην παρακάτω εξίσωση:

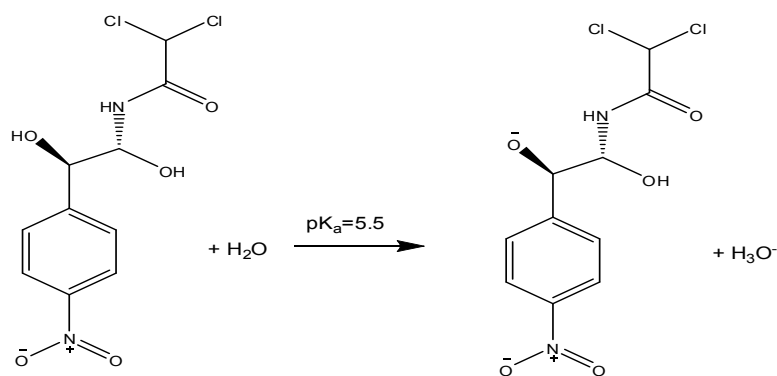


Το αντίθετο συμβαίνει στην περίπτωση τιμών pH μεγαλύτερων του ισοηλεκτρικού σημείου.

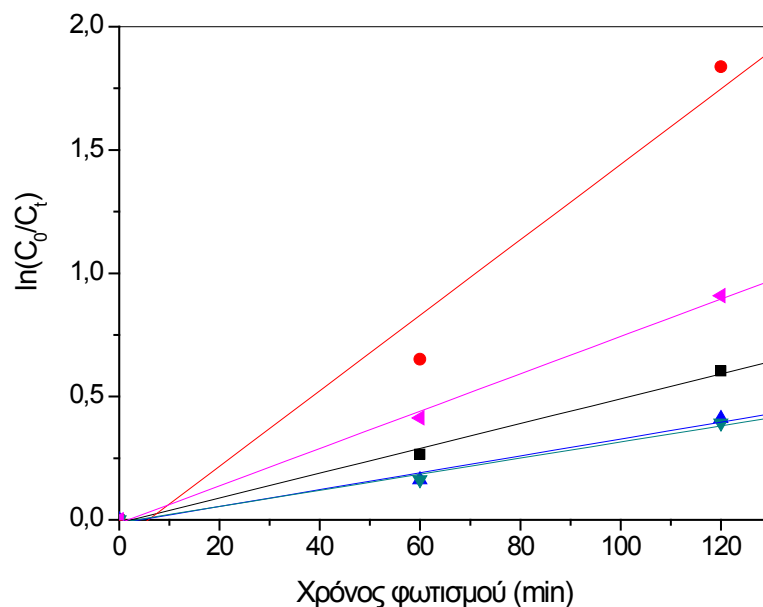


Όμως, στη περίπτωση εφαρμογής εξωτερικού δυναμικού πόλωσης +1.5 V, η επιφάνεια του ηλεκτροδίου φορτίζεται θετικά και δεν επηρεάζεται από τις μεταβολές στο pH του διαλύματος.

Από την άλλη μεριά, το μόριο της Χλωραμφενικόλης με pK_a=5.5 [<http://mtnviewfarm.net/drugs-poisons-0325.html>] είναι ένα ασθενές οξύ (πρώτη σταθερά διάστασης), το οποίο δίσταται στο νερό και φορτίζεται αρνητικά.



Επομένως, αναμένεται να αναπτυχθεί μια ηλεκτροστατική έλξη του μορίου της Χλωραμφενικόλης με την επιφάνεια του TiO₂ σε όξινο περιβάλλον. Όμως, σε όξινα διαλύματα η έλξη αυτή είναι ισχυρή και είναι πιθανό να σχηματίζεται ένα πολυμοριακό στρώμα μορίων Χλωραμφενικόλης γύρω από τα σωματίδια του καταλύτη, λόγω ισχυρής προσρόφησης, που έχει ως αποτέλεσμα τα μόρια του αντιβιοτικού να μην είναι σε άμεση επαφή με την επιφάνεια του ημιαγωγού [427]. Σε βασικά διαλύματα παρατηρείται μείωση του ρυθμού αποικοδόμησης του αντιβιοτικού, η οποία αντανακλά τη μείωση της οξειδωτικής ισχύος των οπών με αύξηση της τιμής του pH. Επίσης, το μόριο της Χλωραμφενικόλης περιέχει ανόργανους υποκαταστάτες, οι οποίοι σε αλκαλικό περιβάλλον ενδέχεται να δεσμεύουν τις φωτοδημιουργούμενες ρίζες υδροξυλίου προς δημιουργία φαινολών [427].



Σχήμα 4.15: Εξάρτηση του $\ln \frac{C_0}{C_t}$ από το χρόνο φωτισμού t σε διάφορες τιμές pH. pH=2 (◀), pH=3 (■), pH=5.6 (●), pH=6.9 (▼), pH=9 (▲). Συγκέντρωση αντιβιοτικού 10 mg L⁻¹ σε 0.1 M Na₂SO₄ και σε εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης +1.5 V στο ηλεκτρόδιο TiO₂.

Οι τιμές της αρχικής ταχύτητας οξειδωσης της διάσπασης της Χλωραμφενικόλης στα διάφορα pH δίνονται στο πίνακα 4.4, ενώ η εξάρτηση του $\ln \frac{C_0}{C_t}$ από το χρόνο στο σχήμα 4.15.

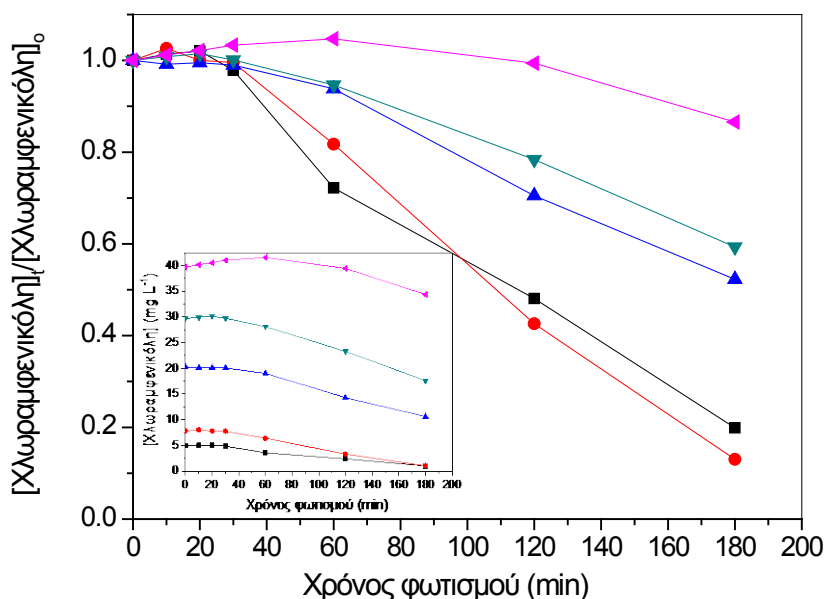
Στο πίνακα 4.4 παρουσιάζονται επίσης οι τιμές της φαινόμενης απόδοσης φωτονίων για τη φωτοηλεκτροκαταλυτική διάσπαση της Χλωραμφενικόλης, σε σχέση με το pH του διαλύματος.

Πίνακας 4.4: Επίδραση της τιμής του pH στη φαινόμενη αρχική απόδοση φωτονίων και στην αρχική ταχύτητα διάσπασης, r_0 , της Χλωραμφενικόλης συγκέντρωσης 10 mg L^{-1} σε $0.1 \text{ M Na}_2\text{SO}_4$ και σε εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης $+1.5 \text{ V}$ στο ηλεκτρόδιο TiO_2 .

Τιμή pH του διαλύματος	Αρχική ταχύτητα διάσπασης Χλωραμφενικόλης, r_0 ($\text{mg L}^{-1} \text{ min}^{-1}$)	Φαινόμενη αρχική απόδοση φωτονίων, ζ_0 (%)
2	$0.04189 \pm 3.27 \cdot 10^{-3}$	$0.1179 \pm 9.2 \cdot 10^{-3}$
3	$0.0368 \pm 0.65 \cdot 10^{-3}$	$0.1036 \pm 1.84 \cdot 10^{-3}$
5.6	$0.04472 \pm 3.6 \cdot 10^{-3}$	$0.1259 \pm 10.13 \cdot 10^{-3}$
6.9	$0.02689 \pm 1.14 \cdot 10^{-3}$	$0.07568 \pm 3.21 \cdot 10^{-3}$
9	$0.02802 \pm 1.80 \cdot 10^{-3}$	$0.07886 \pm 5.07 \cdot 10^{-3}$

4.1.6 Επίδραση της συγκέντρωσης της Χλωραμφενικόλης

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η μελέτη αποικοδόμησης διαφόρων συγκεντρώσεων Χλωραμφενικόλης στο φυσικό pH του διαλύματος (5.6) σε $0.1 \text{ M Na}_2\text{SO}_4$ και με ηλεκτρόδιο εργασίας το TiO_2 . Στο σχήμα 4.16 δίνεται η επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης του αντιβιοτικού ως προς το βαθμό αποικοδόμησής του. Παρατηρείται πως με αύξηση της συγκέντρωσης του αντιβιοτικού μειώνεται ο βαθμός αποικοδόμησής του για τον ίδιο χρόνο φωτισμού, γεγονός που υποδηλώνει ότι η αντίδραση οξειδωσης δεν ελέγχεται από φαινόμενα μεταφοράς μάζας [461]. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να εξηγηθεί από το φαινόμενο της προσρόφησης, που συμβαίνει στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας. Σύμφωνα με τη συζήτηση στο κεφάλαιο 4.1.5, υψηλός βαθμός προσρόφησης του αντιβιοτικού στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ενεργής του επιφάνειας, όπως επίσης και δημιουργία πολυμοριακού στρώματος Χλωραμφενικόλης, φαινόμενα τα οποία οδηγούν στη μείωση της απόδοσης του ηλεκτροδίου. Επίσης, η αύξηση της συγκέντρωσης του αντιβιοτικού αναμένεται να επηρεάσει και τα ενδιάμεσα προϊόντα που σχηματίζονται κατά τη διαδικασία της οξειδωσης. Το γεγονός αυτό ενδέχεται να επιδράσει και στην επιλεκτικότητα της ανόδου ως προς τα μόρια προς οξείδωση. Τα αποτελέσματα του σχήματος 4.16 δείχνουν πως η επιλεκτικότητα της ανόδου έχει αλλάξει [462].



Σχήμα 4.16: Επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης της Χλωραμφενικόλης στο χρόνο φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξειδωσής της. Φέρων ηλεκτρολύτης 0.1 M Na₂SO₄, εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης +1.5 V στο ηλεκτρόδιο TiO₂ και pH=5.6. 5 mg L⁻¹ (■), 10 mg L⁻¹ (●), 20 mg L⁻¹ (▲), 30 mg L⁻¹ (▼), 40 mg L⁻¹ (◆).

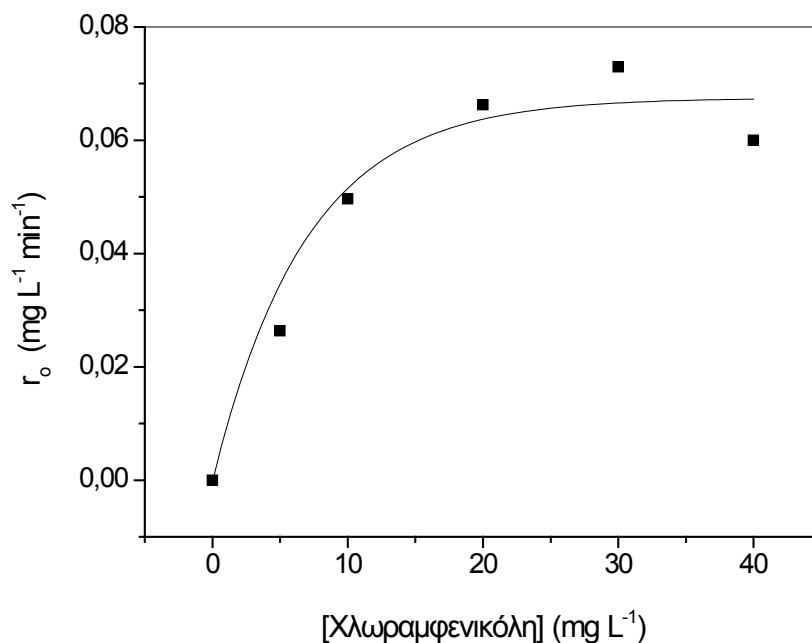
Η επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης των περισσότερων οργανικών ενώσεων στην αρχική ταχύτητα διάσπασής τους περιγράφεται από την κινητική ψευδοπρώτης τάξης, η οποία βασίζεται στο μοντέλο των Langmuir-Hinshelwood, τροποποιημένο έτσι ώστε να προβλέπεται για αντιδράσεις που γίνονται στη διεπιφάνεια στερεού-υγρού [234, 235, 463].

$$r_0 = -\frac{dC}{dt} = \frac{k_r K C_{eq}}{1 + K C_{eq}} \quad 4.12$$

Όπου r_0 είναι η αρχική ταχύτητα διάσπασης της ένωσης και C_{eq} η συγκέντρωση ισορροπίας της ένωσης στο εσωτερικό του διαλύματος. Με K δίνεται η σταθερά ισορροπίας προσρόφησης της ένωσης στην επιφάνεια του ημιαγωγού και η k_r δηλώνει τη σταθερά της αντίδρασης για το μέγιστο βαθμό προσρόφησης της ουσίας, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Αυτή η εξίσωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί όταν οι πειραματικές μετρήσεις παρουσιάζουν γραμμική εξάρτηση.

$$\frac{C_{eq}}{r_0} = \frac{1}{k_r K} + \frac{C_{eq}}{k_r} \quad 4.13$$

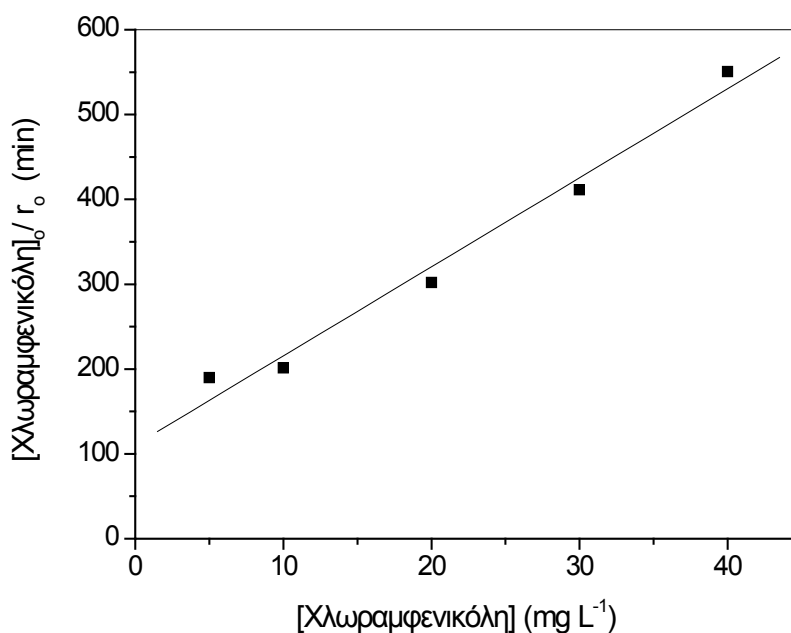
Η επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης της Χλωραμφενικόλης στην αρχική ταχύτητα διάσπασής της δίνεται στο σχήμα 4.17, από όπου φαίνεται ότι η φωτοηλεκτροκαταλυτική διάσπαση της Χλωραμφενικόλης μπορεί πράγματι να περιγραφεί με το μοντέλο Langmuir-Hinshelwood. Όπως παρατηρείται, η αρχική ταχύτητα της οξειδωσης αυξάνει με αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης του αντιβιοτικού. Η αύξηση αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι με την αύξηση της συγκέντρωσης του ρύπου αυξάνει και ο αριθμός των μορίων που έρχονται σε επαφή με τον καταλύτη στη μονάδα του χρόνου και που τελικά οξειδώνονται.



Σχήμα 4.17: Επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης της Χλωραμφενικόλης στην αρχική ταχύτητα διάσπασής της. 0.1 M Na₂SO₄, εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης +1.5 V στο ηλεκτρόδιο TiO₂ και pH=5.6.

Η εξάρτηση των τιμών του λόγου $\frac{C_{eq}}{r_0}$ από τις τιμές της αρχικής συγκέντρωσης της Χλωραμφενικόλης δίνεται στο σχήμα 4.18. Οι τιμές των k_f και K , που υπολογίζονται βάσει της εξίσωσης 4.13 από την κλίση της ευθείας ($R^2 = 0.98979$) και από το σημείο τομής με τον άξονα του λόγου $\frac{C_{eq}}{r_0}$, ήταν 0.0758 mg L⁻¹ min⁻¹ και 0.171 mg⁻¹ L, αντίστοιχα [464].

Στο πίνακα 4.5 δίνονται οι τιμές της φαινόμενης σταθεράς ταχύτητας διάσπασής της Χλωραμφενικόλης, καθώς επίσης και οι τιμές της φαινόμενης αρχικής απόδοσης φωτονίων.



Σχήμα 4.18: Εξάρτηση των τιμών του λόγου $\frac{C_0}{r_0}$ ως προς τις τιμές της αρχικής συγκέντρωσης του αντιβιοτικού.

Πίνακας 4.5: Επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης της Χλωραμφενικόλης στην τιμή της σταθεράς ταχύτητας της αντίδρασης, k , και της αρχικής τιμής ταχύτητας διάσπασης, r_0 , σε 0.1 M Na₂SO₄ και σε εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης +1.5 V στο ηλεκτρόδιο TiO₂.

Αρχική συγκέντρωση Χλωραμφενικόλης (mg L ⁻¹)	Αρχική ταχύτητα διάσπασης Χλωραμφενικόλης, r_0 (mg L ⁻¹ min ⁻¹)	Φαινόμενη αρχική απόδοση φωτονίων, ζ_0 (%)
5	$0,02634 \pm 5.57 \cdot 10^{-3}$	$0.07413 \pm 15.68 \cdot 10^{-3}$
10	$0.04966 \pm 1.12 \cdot 10^{-3}$	$0.1398 \pm 3.15 \cdot 10^{-3}$
20	$0.06624 \pm 10.79 \cdot 10^{-3}$	$0.1864 \pm 30.37 \cdot 10^{-3}$
30	$0.07295 \pm 6.44 \cdot 10^{-3}$	$0.2053 \pm 18.13 \cdot 10^{-3}$
40	$0.06001 \pm 14.38 \cdot 10^{-3}$	$0.1689 \pm 40.47 \cdot 10^{-3}$

4.2 Κάθοδος

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο κεφάλαιο 3.1.4, η κάθοδος του υβριδικού συστήματος είναι μια ερμητικά κλειστή κυλινδρική κυψέλη, στην οποία τα άλγη *Chlamydomonas Reinhardtii* αναπτύσσονται σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου και θείου. Πριν από τη σύζευξη της με την άνοδο, μελετήθηκε η παραγωγή υδρογόνου από τα άλγη κάτω από καθαρά φωτοβιολογικές διεργασίες. Σκοπός ήταν η επιβεβαίωση της έκφρασης επαγωγής των

ενζύμων υδρογενάσης και κατ' επέκταση, ο έλεγχος παραγωγής υδρογόνου από το φυσικό σύστημα. Προς επιβεβαίωση της έκφρασης των ενζύμων υδρογενάσης στα άλγη *Chlamydomonas Reinhardtii* χρησιμοποιήθηκε και η τεχνική της RT-PCR σε RNA (βλέπε κεφάλαιο 3.3.7) των κυττάρων των άλγεων.

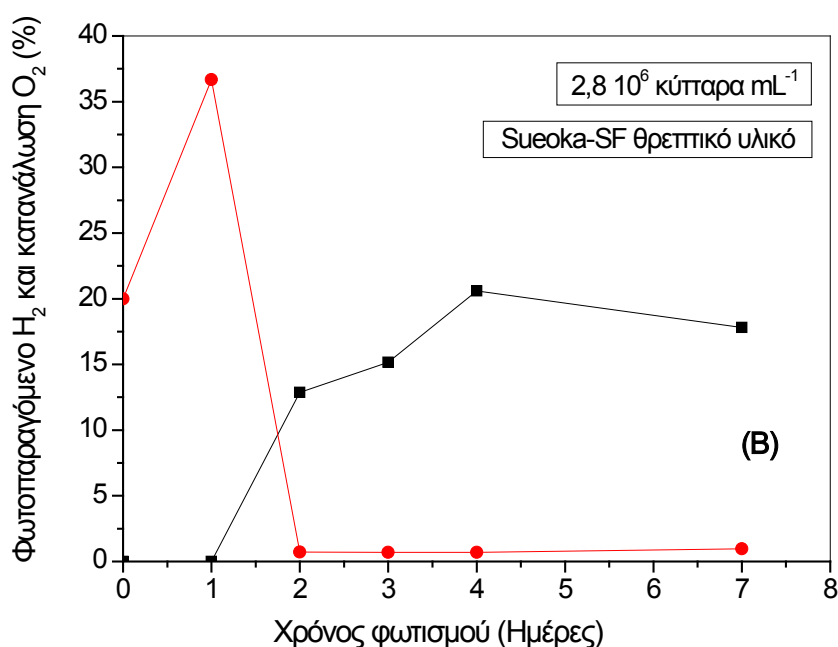
Στη φύση τα *Chlamydomonas Reinhardtii* είναι οργανισμός που αναπτύσσεται στο έδαφος, αλλά μπορεί να αναπτυχθεί και στο εργαστήριο είτε σε υδατικές καλλιέργειες, είτε σε άγαρ με χρήση απλών ανόργανων αλάτων. Τα θρεπτικά υλικά που κυρίως χρησιμοποιούνται στην έρευνα των *Chlamydomonas* είναι τα εξής: Sager-Granick, Eversol, Sueoka, Kuhl, Bold και το TAP. Από αυτά, περισσότερο χρησιμοποιούνται το TAP [424] και το Sueoka [423] (βλέπε κεφάλαιο 3.1.1). Ο κυριότερος λόγος είναι πως τα θρεπτικά υλικά αυτά εμφανίζουν τις καλύτερες ρυθμιστικές (buffer) ιδιότητες για την ανάπτυξη των άλγεων σε φωτοετεροτροφικές συνθήκες. Το TAP είναι ένα ακριβό θρεπτικό υλικό λόγω της υψηλής συγκέντρωσης σε οξικό οξύ (17.4 mM), υπάρχει όμως η δυνατότητα παρασκευής ενός πιο οικονομικού TAP, παραλείποντας το οξικό οξύ και ογκομετρώντας με υδροχλωρικό μέχρι pH 7 [76]. Στην εργασία αυτή, χρησιμοποιήθηκαν και τα δυο προαναφερθέντα θρεπτικά υλικά και συγκρίθηκε η ικανότητά τους ως προς την ανάπτυξη των άλγεων, αλλά και ως προς την παραγωγή υδρογόνου.

4.2.1 Θρεπτικό υλικό Sueoka

Πειράματα επιβεβαιώνουν την έκλυση υδρογόνου από καλλιέργειες των άλγεων *Chlamydomonas Reinhardtii* CC-124 (σχήμα 4.19, σχήμα 4.20) σε συνθήκες απουσίας οξυγόνου και θείου και υπό την επίδραση ορατής ακτινοβολίας έντασης $180 \mu\text{Ein m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Η έκφραση των ενζύμων υδρογενάσης επιβεβαιώθηκε και με την τεχνική της RT-PCR, χρησιμοποιώντας RNA από κύτταρα *Chlamydomonas Reinhardtii*. Το σχήμα 4.19 (A) δείχνει την έκφραση των 3 υδρογενασών (HYDA1, HYDA2, HYDA3) στο θρεπτικό υλικό Sueoka-SF, των οποίων ο ρόλος στην παραγωγή υδρογόνου δεν έχει ακόμα ξεκαθαριστεί πλήρως. Φαίνεται πως οι HYDA1 και HYDA2 εκφράζονται ακόμα και σε αερόβιες συνθήκες, ενώ η HYDA3 εμφανίζεται σε μικρότερο ποσοστό κατά την επιβολή ανοξικών συνθηκών. Γίνεται επίσης φανερό πως όλες οι υδρογενάσες έχουν εκφραστεί πλήρως μέσα σε 24 ώρες μετά από το ερμητικό κλείσιμο της κυψέλης.

Στο σχήμα 4.19 (B) παρατηρείται πως η φωτοβιολογική παραγωγή υδρογόνου ξεκινάει 24 ώρες μετά το σφράγισμα της ΦΗΚ_{καθ} και σε συνθήκες έλλειψης θείου, γεγονός που συνάδει με την πλήρη έκφραση των ενζύμων στις πρώτες 24 ώρες λειτουργίας του συστήματος. Η παραγωγή υδρογόνου συνεχίζεται ως την τέταρτη ημέρα ανοξίας και φτάνει τα 20% ο/ο στα 50 mL κενού χώρου πάνω από την καλλιέργεια, η οποία αντιστοιχεί σε 10 mL καθαρού υδρογόνου από 210 mL καλλιέργειας άλγεων. Η ανάλυση των αερίων έδειξε πως το 78% ήταν άζωτο και το υπόλοιπο 2% οξυγόνο. Αν θεωρήσουμε πως θα συμβεί μια γραμμική αύξηση του παραγόμενου υδρογόνου αυξανόμενου του όγκου της καλλιέργειας, τότε αναμένεται η παραγωγή περίπου 50 mL καθαρού υδρογόνου από 1 L καλλιέργειας άλγεων. Η

Ghirardi και οι συνεργάτες [56] αναφέρουν την παραγωγή 250 mL υδρογόνου από ένα λίτρο καλλιέργειας, σε αντίστοιχες συνθήκες σε θρεπτικό υλικό TAP-SF. Η παρατηρούμενη διαφορά ενδεχομένως να οφείλεται σε καλύτερες συνθήκες ανάπτυξης των άλγερων (θρεπτικό υλικό, ροή CO₂ ως πηγή ανόργανου άνθρακα, σχεδιασμός αντιδραστήρα κ.α.). Το γεγονός όμως αυτό δεν θα μας απασχολήσει στην προκειμένη περίπτωση, μιας και ο σκοπός είναι η ανάπτυξη της μεθοδολογίας και όχι η συστηματική βελτιστοποίηση των διαφόρων παραγόντων.



Σχήμα 4.19: Προϊόντα RT-PCR από ηλεκτροφόρηση (A), παραγωγή υδρογόνου (■) και κατανάλωση οξυγόνου (●) από καλλιέργεια άλγερων σε συνθήκες απουσίας οξυγόνου και θείου (B). Θρεπτικό υλικό Sueoka-SF.

Στο ίδιο σχήμα φαίνεται επίσης η πορεία που ακολουθεί η συγκέντρωση του οξυγόνου. Έτσι, παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης του κατά την πρώτη ημέρα λειτουργίας του συστήματος, λόγω της εναπομείνουσας δραστηριότητας του PSII στη φωτοσυνθετική παραγωγή οξυγόνου (ενδεχομένως και από εναπομείνουσα συγκέντρωση θείου στην καλλιέργεια), ενώ στη συνέχεια η συγκέντρωση του μειώνεται αισθητά και η καλλιέργεια περνά σε αναερόβιες συνθήκες. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με την

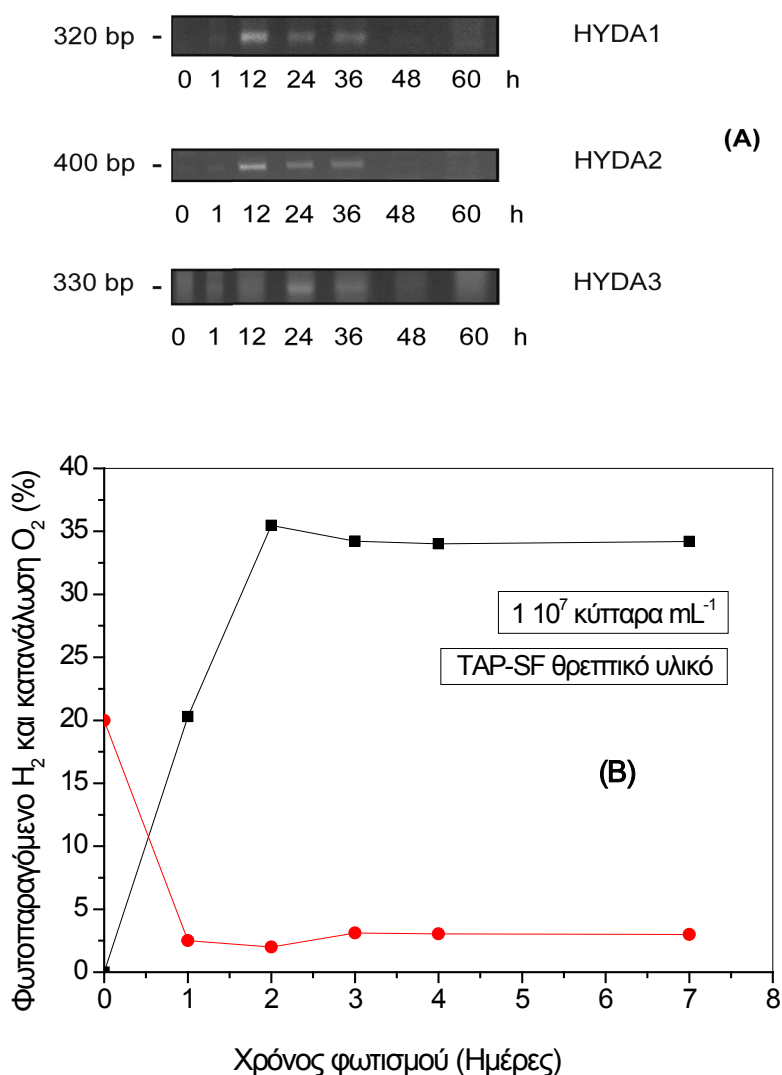
πολύ σημαντική εργασία του Melis και των συνεργατών του [22] και επιβεβαιώνουν τη δημιουργία του καταλύτη (ένζυμα υδρογενάσης) για την αναγωγή των H^+ προς H_2 .

Ο λόγος που η παραγωγή υδρογόνου σταματάει κάτω από συνθήκες έλλειψης θείου έχει να κάνει κυρίως με την εναπομείνουσα δραστικότητα του PSII. Η Ghirardi και οι συνεργάτες της [56] έδειξαν πως η «δεξαμενή» ηλεκτρονίων της PQ γίνεται υπερβολικά αναγωγική (συσσώρευση φορτίου) με την επικράτηση αναερόβιων συνθηκών, με αποτέλεσμα την απότομη μείωση της φωτοχημικής δραστικότητας του PSII, αφού σε αυτές τις συνθήκες α) η δραστικότητα του Rubisco (δέκτης ηλεκτρονίων) είναι εξαιρετικά χαμηλή και β) η αποικοδόμηση του συσσωρευμένου αμύλου και των πρωτεϊνών μεταφέρει αναγωγικές ενώσεις προς τη «δεξαμενή» της PQ μέσω του ενζύμου NAD(P)H-NPQR. Η υψηλή αυτή αναγωγική κατάσταση της «δεξαμενής» της PQ ρυθμίζει τη μεταφορά ηλεκτρονίων σε αναερόβια και σε συνθήκες έλλειψης θείου άλγη, περιορίζοντας τον αριθμό των πιθανών αναγωγικών μέσων που μπορούν να χρησιμοποιήσουν οι υδρογενάσες για να παράγουν υδρογόνο.

4.2.2 Θρεπτικό υλικό TAP

Αντίστοιχα και για την περίπτωση του θρεπτικού υλικού TAP-SF χρησιμοποιήθηκε RNA των κυττάρων *Chlamydomonas Reinhardtii* προς επιβεβαίωση της έκφρασης των 3 υδρογενασών μέσω της τεχνικής RT-PCR. Τα αποτελέσματα (σχήμα 4.20 A) είναι διαφορετικά σε σχέση με το Sueoka-SF και παρατηρούμε πως οι HYDA1 και HYDA2 εκφράζονται στο διάστημα 12 έως 36 ωρών από το σφράγισμα της κυψέλης, ενώ φτάνουν σε πλήρη έκφραση στις πρώτες 12 ώρες. Η HYDA3 εκφράζεται κάπως αργότερα και η πλήρης έκφρασή της συμβαίνει στις 24 ώρες από το ερμητικό κλείσιμο της κυψέλης. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε πλήρη συσχέτιση με τα χρονικά πλαίσια παραγωγής υδρογόνου (σχήμα 4.20 B). Δείχνουν επίσης πως ο βέλτιστος χρόνος για σύνδεση της καθόδου με την άνοδο για την παραγωγή του H_2 στο συνδυασμένο σύστημα είναι ύστερα από 12 ώρες στέρησης οξυγόνου στην καλλιέργεια των άλγεων. Επομένως, τα ένζυμα υδρογενάσης έχουν τότε εκφραστεί πλήρως και μπορούν να δράσουν ως καταλύτες στην ενζυματική παραγωγή υδρογόνου.

Όπως και στην περίπτωση του Sueoka-SF, έτσι και εδώ παρατηρείται φωτοσυνθετική παραγωγή υδρογόνου ύστερα από την επικράτηση αναερόβιων συνθηκών. Από το σχήμα 4.20 (B), φαίνεται η παραγωγή 35% ο/ο υδρογόνου από 210 mL καλλιέργειας άλγεων, η οποία αντιστοιχεί σε 87.5 mL καθαρού υδρογόνου από 1 L άλγεων. Παρατηρούμε την ενίσχυση της παραγωγής υδρογόνου σε TAP-SF, καθώς και την επίσπευση του χρόνου επικράτησης των αναερόβιων συνθηκών, ενώ στη συνέχεια δίνεται η σύγκριση της φωτοσυνθετικής παραγωγής υδρογόνου στα δυο θρεπτικά υλικά.



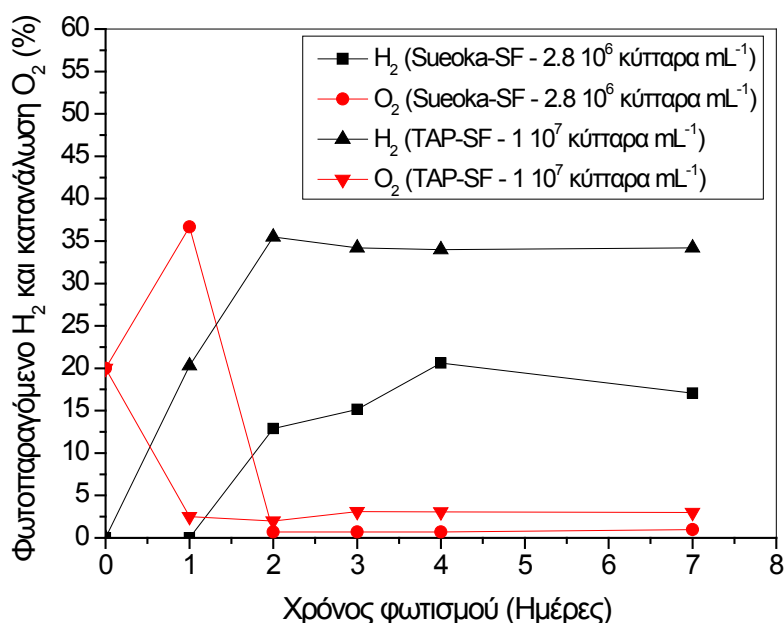
Σχήμα 4.20: Προϊόντα RT-PCR από ηλεκτροφόρηση από όλα τα ενισχυμένα cDNA's (A), παραγωγή υδρογόνου (■) και κατανάλωση οξυγόνου (●) από καλλιέργεια άλγεων συγκέντρωσης 1 10⁷ κυττάρων mL⁻¹, σε συνθήκες απουσίας οξυγόνου και θείου(B). Θρεπτικό υλικό TAP-SF.

4.2.3 Σύγκριση θρεπτικών υλικών ανάπτυξης

Στο σχήμα 4.21 παρατίθεται το συγκριτικό διάγραμμα φωτοβιολογικής παραγωγής υδρογόνου από τα άλγη *Chlamydomonas Reinhardtii* CC-124 στα δυο θρεπτικά υλικά (TAP-SF + Sueoka-SF).

Από το συγκεντρωτικό διάγραμμα (σχήμα 4.21), φαίνεται πως η φωτοβιολογική παραγωγή υδρογόνου ευνοείται στο θρεπτικό υλικό TAP-SF. Επίσης, ο χρόνος υστέρησης και μετάβασης σε συνθήκες ανοξίας είναι μικρότερος στο TAP-SF σε σχέση με το Sueoka-SF. Στην περίπτωση του Sueoka-SF παράχθηκε 13% ο/ο υδρογόνο ύστερα από 2 ημέρες, με χρόνο υστέρησης για τη μετάβαση σε ανοξικές συνθήκες τη μια ημέρα. Στην περίπτωση του θρεπτικού υλικού TAP-SF η παραγωγή υδρογόνου έφτασε το 35% ο/ο ύστερα από 2 ημέρες

φωτισμού. Επίσης, ο χρόνος υστέρησης μειώθηκε σε μερικές ώρες από τη στιγμή αεροστεγούς κλεισίματος της κυψέλης. Αυτή η ενίσχυση στην παραγωγή υδρογόνου απεικονίζεται επίσης και στο ρυθμό ανάπτυξης των άλγεων στα 2 θρεπτικά υλικά. Τα άλγη σε θρεπτικό υλικό TAP-SF αναπτύχθηκαν κατά 3 φορές περισσότερο, όσο δηλαδή και η ενίσχυση στην παραγωγή υδρογόνου.



Σχήμα 4.21: Συγκριτικό διάγραμμα παραγωγής υδρογόνου και κατανάλωσης οξυγόνου από καλλιέργεια άλγεων συγκέντρωσης σε TAP-SF (■, ▲) και Sueoka-SF (●, ▼) θρεπτικά υλικά, αντίστοιχα.

Το TAP θεωρείται ως το καταλληλότερο θρεπτικό υλικό ανάπτυξης των *C. Reinhardtii*, μιας και περιέχει όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την αποτελεσματικότερη ανάπτυξη των κυττάρων [465]. Ο Forestier και οι συνεργάτες [69] συνέκριναν την έκφραση των 2 [Fe]-υδρογενασών που απαντούν στα *C.Reinhardtii* σε TAP θρεπτικό υλικό και σε βασικό θρεπτικό υλικό αλάτων (Basal Salts–BS). Παρατήρησαν πως το TAP είναι ένα πολύ πιο σταθερό θρεπτικό υλικό, με καλύτερες ρυθμιστικές ιδιότητες σε σχέση με το BS, ακόμα και στην περίπτωση που οι υδρογενάσες εκτέθηκαν σε ατμόσφαιρα οξυγόνου, όπου όπως είναι γνωστό χάνουν μη αντιστρεπτά τη δραστηριότητα τους. Επίσης, η έναρξη παραγωγής υδρογόνου ήταν σαφώς ταχύτερη στην περίπτωση του TAP. Ανάλογα αποτελέσματα θα δούμε και στη συνέχεια όπου παρουσιάζονται τα πειράματα της υβριδικής κυψέλης για την ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και την αποικοδόμηση οργανικών ρύπων.

4.3 Φωτοηλεκτροκαταλυτική-ενζυματική υβριδική κυψέλη

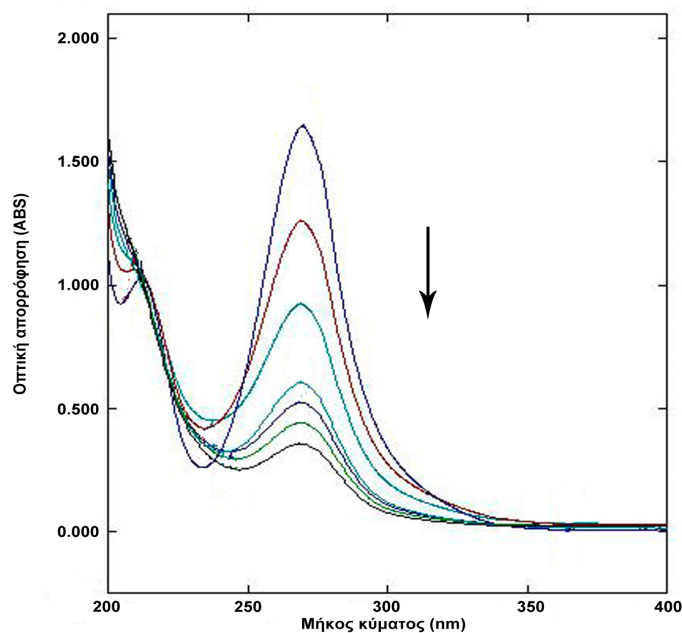
Μετά τη μελέτη λειτουργίας της ανόδου και της καθόδου ξεχωριστά, στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα λειτουργίας της υβριδικής κυψέλης. Υπενθυμίζεται

πως η ένωση του ανοδικού και του καθοδικού τμήματος ήταν εφικτή όταν τα ένζυμα υδρογενάσης είχαν εκφραστεί στην κάθοδο, συνήθως 12-24 ώρες από την εφαρμογή συνθηκών απουσίας οξυγόνου και θείου (βλέπε κεφάλαια 4.2.1, 4.2.2). Τα δυο τμήματα της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής κυψέλης ήταν σε επαφή μέσω ιοντοανταλλακτικής μεμβράνης Nafion. Στη συνέχεια δίνονται τα αποτελέσματα παραγωγής υδρογόνου και της ταυτόχρονης οξειδωσης των δυο ρύπων μοντέλων που επιλέχθηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.

4.3.1 Παραγωγή υδρογόνου και οξείδωση του φυτοφαρμάκου Imidacloprid

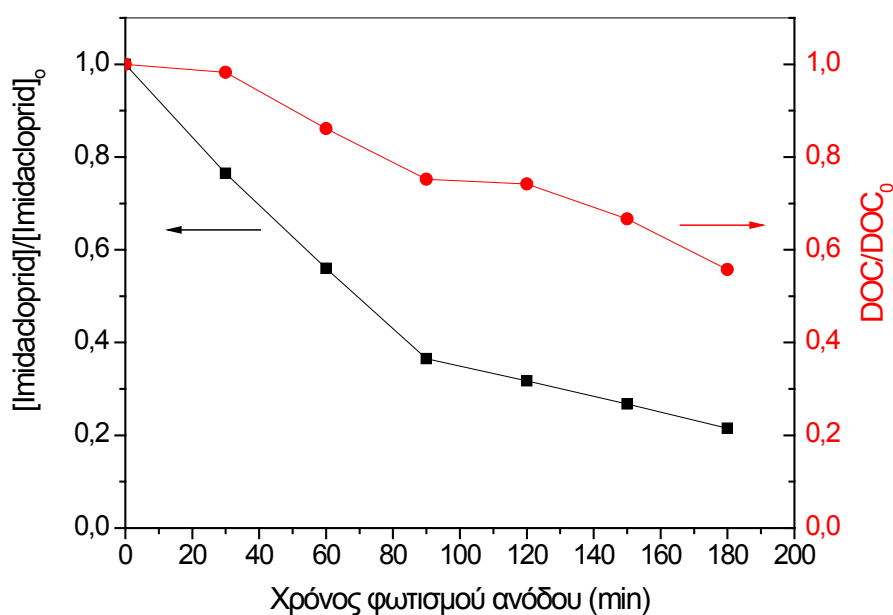
Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξείδωσης του φυτοφαρμάκου Imidacloprid σε ηλεκτρόδιο TiO_2 και η ταυτόχρονη ενζυματική παραγωγή υδρογόνου από τα ένζυμα υδρογενάσης, χρησιμοποιώντας ως θρεπτικό υλικό το Sueoka-SF. Το Imidacloprid χρησιμοποιήθηκε ως ρύπος μοντέλο για τη λειτουργία του ανοδικού τμήματος της κυψέλης.

Στο σχήμα 4.22 παρουσιάζεται η αλλαγή στην καμπύλη οπτικής απορρόφησης του φυτοφαρμάκου Imidacloprid με αρχική συγκέντρωση 20 mg L^{-1} ($7.82 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) κατά τη διάρκεια της φωτοηλεκτροκαταλυτικής του διάσπασης. Το εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης στο ηλεκτρόδιο TiO_2 ήταν $+1.0 \text{ V vs Ag/AgCl}$ σε διάλυμα $0.1 \text{ M Na}_2\text{SO}_4$. Παρατηρείται πως το μέγιστο της απορρόφησης στα 270 nm μειώνεται σε ένταση με την πάροδο του χρόνου φωτισμού, λόγω της οξείδωσης του μορίου του φυτοφαρμάκου, και σχεδόν εξαφανίζεται μετά από 3 ώρες λειτουργίας της κυψέλης.



Σχήμα 4.22: Φασματική απόκριση UV-VIS διαλύματος 20 mg L^{-1} Imidacloprid σε διαφορετικούς χρόνους φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξείδωσης.

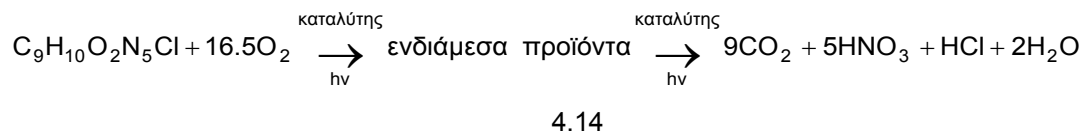
Στο σχήμα 4.23 δίδεται η μείωση της συγκέντρωσης του Imidacloprid ως συνάρτηση του χρόνου φωτισμού της ανόδου. Η σχετική μείωση του φυτοφαρμάκου ισούται με το λόγο της συγκέντρωσής του σε χρόνο t προς την αρχική συγκέντρωση σε χρόνο $t=0$. Αντίστοιχα ορίζεται και η σχετική μείωση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οργανικού άνθρακα (DOC). Όπως φαίνεται στο σχήμα 4.23, με εφαρμογή δυναμικού πόλωσης +1.0 V vs Ag/AgCl, η φωτοηλεκτροκαταλυτική απόδοση του ηλεκτροδίου φτάνει το 80% ως προς τη διάσπαση του μορίου του Imidacloprid. Αντίθετα, η απλή φωτοκαταλυτική επεξεργασία επιφέρει 62% μείωση της συγκέντρωσης του, για τον ίδιο χρόνο φωτισμού (δε δίνεται). Το γεγονός αυτό έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενα αποτελέσματα της διεθνούς βιβλιογραφίας [443, 466]. Όπως έχει ήδη συζητηθεί (βλέπε κεφάλαιο 2.12), η εφαρμογή δυναμικού πόλωσης ενισχύει το διαχωρισμό του ζεύγους ηλεκτρονίων-οπών σε έναν ημιαγωγό, με άμεσο αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη διάθεση οξειδωτικών μέσων, οπές (h^+) ή ρίζες υδροξυλίου (OH^\bullet), οι οποίες είναι διαθέσιμες για τη φωτοοξείδωση του Imidacloprid και των προκυπτόντων ενδιάμεσων προϊόντων [455].



Σχήμα 4.23: Αποικοδόμηση (■) και ανοργανοποίηση (●) του φυτοφαρμάκου Imidacloprid σε ηλεκτρόδιο TiO_2 ως συνάρτηση του χρόνου φωτισμού. Εφαρμοζόμενο δυναμικό +1.0 V vs Ag/AgCl. Συγκέντρωση Imidacloprid 20 mg L^{-1} (8.45 mg L^{-1} DOC) σε $0.1 \text{ M Na}_2\text{SO}_4$.

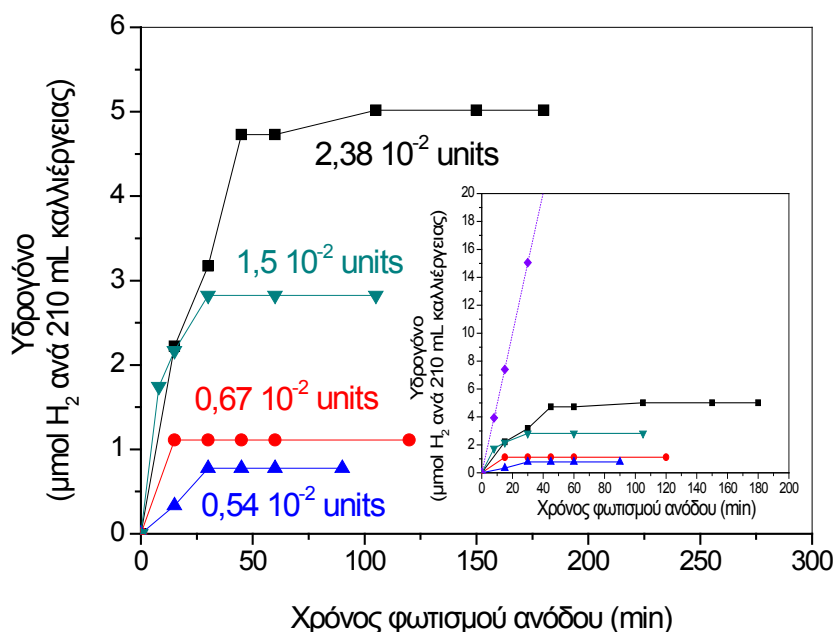
Η φωτοδιάσπαση του Imidacloprid, όπως και κάθε άλλου οργανικού ρύπου, είναι μια πολύπλοκη διαδικασία, η οποία εμπλέκει ένα μεγάλο αριθμό ενδιάμεσων προϊόντων. Αυτά τα ενδιάμεσα προϊόντα είναι ιδιαίτερης σημασίας, μιας και μπορεί να αποδειχθούν περισσότερο τοξικά από την αρχική ένωση. Για το λόγο αυτό, είναι σημαντική η πλήρης ανοργανοποίηση του εκάστοτε ρύπου μέσω της φωτοηλεκτροκαταλυτικής μεθόδου.

Στα πλαίσια αυτά παρακολούθηθηκε και ο βαθμός ανοργανοποίησης του Imidacloprid, ο οποίος δίνεται στο σχήμα 4.23 εκφρασμένος ως διαλυμένος οργανικός άνθρακας (DOC). Η συνολική αντίδραση που περιγράφει την ανοργανοποίηση του Imidacloprid δίνεται στην εξίσωση 4.14.



Η φωτοηλεκτροκαταλυτική οξείδωση του φυτοφαρμάκου σε δυναμικό πόλωσης του ηλεκτροδίου +1.0 V και ύστερα από 3 ώρες φωτισμού της ανόδου, οδηγεί σε 45% μείωση της αρχικής φόρτισης σε οργανικό άνθρακα του διαλύματος του Imidacloprid. Την ίδια στιγμή, η διάσπαση του μορίου του φυτοφαρμάκου ήταν σχεδόν πλήρης, γεγονός που υποδηλώνει την παρουσία δύσκολα αποικοδομήσιμων ενδιάμεσων προϊόντων, όμως συνεχιζόμενος φωτισμός μπορεί να οδηγήσει σε πλήρη ανοργανοποίηση του Imidacloprid.

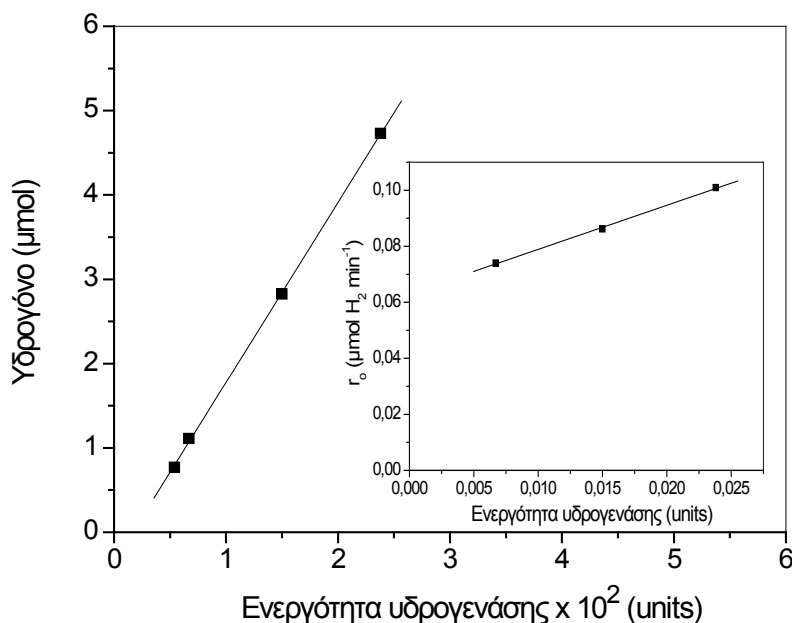
Ταυτόχρονα με την ανοδική διάσπαση του Imidacloprid, στο καθοδικό τμήμα της υβριδικής κυψέλης γίνεται παραγωγή υδρογόνου, η οποία παρουσιάζεται στο σχήμα 4.24.



Σχήμα 4.24: Ενζυματική παραγωγή υδρογόνου παρουσία διαφορετικών ενεργοτήτων ενζύμων υδρογενάσης ως συνάρτηση του χρόνου φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξείδωσης. 0.54×10^{-2} units (▲), 0.67×10^{-2} units (●), 1.50×10^{-2} units (▼), 2.38×10^{-2} units (■). Σε όλες τις περιπτώσεις, στη ΦΗΚ_{καθ.} χρησιμοποιήθηκαν $2-5 \times 10^6$ κύτταρα mL^{-1} , 3.2 mM Triton X 100 και 1 mM MV^{+2} σε θρεπτικό υλικό Sueoka-SF και $\text{pH}=7$. (Ενθετο: Θεωρητική παραγωγή H_2 σε σχέση με τη διέλευση φορτίου από τη κυψέλη (◆)).

Η κάθε καμπύλη του σχήματος 4.24 αντιπροσωπεύει διαφορετική ενεργότητα ενζύμων υδρογενάσης, η οποία μετρήθηκε ακριβώς πριν τον συνδυασμό του καθοδικού με το ανοδικό τμήμα με στόχο την επιβεβαίωση της έκφρασης και λειτουργίας των ενζύμων υδρογενάσης.

Σε όλες τις περιπτώσεις, η ενζυματική παραγωγή υδρογόνου ήταν δυνατή, ενώ καθώς αυξάνει η ενεργότητα των ενζύμων, αυξάνει και η συνολική ποσότητα υδρογόνου που παράγεται.



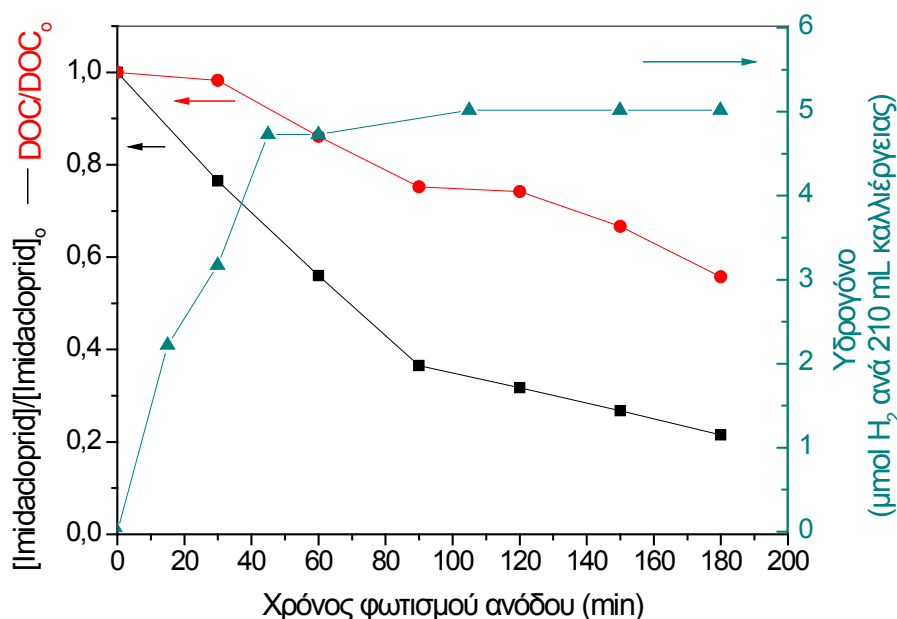
Σχήμα 4.25: Εξάρτηση της συνολικής εκλυόμενης ποσότητας υδρογόνου ύστερα από 45 λεπτά φωτισμού της ανόδου, από την ενεργότητα των ενζύμων υδρογενάσης. (Ένθετο: Επίδραση της ενεργότητας των ενζύμων υδρογενάσης στην αρχική ταχύτητα ενζυμικής παραγωγής υδρογόνου).

Όπως φαίνεται από το σχήμα 4.25, υπάρχει μια γραμμική συσχέτιση ($R^2=0.99988$) μεταξύ της ενεργότητας των ενζύμων και της ποσότητας υδρογόνου που παράχθηκε κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες. Άρα, μεγαλύτερη δραστηριότητα ενζύμου επιφέρει μεγαλύτερη αξιοποίηση των φωτο-δημιουργούμενων ηλεκτρονίων, οπότε και αύξηση της παραγωγής υδρογόνου. Στο ένθετο του σχήματος 4.25 δίνεται η εξάρτηση της αρχικής ταχύτητας ενζυμικής παραγωγής υδρογόνου από την ενεργότητα των ενζύμων υδρογενάσης. Παρατηρείται μια γραμμική σχέση μεταξύ του ρυθμού παραγωγής υδρογόνου και της ενεργότητας των ενζύμων, ενώ από την κλίση της ευθείας βρίσκουμε πως, κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες, ο ρυθμός παραγωγής υδρογόνου είναι $1.575 \mu\text{mol H}_2 \text{ min}^{-1} \text{ units}^{-1}$.

Ύστερα από εκτέλεση λευκών προσδιορισμών, δηλαδή πειραμάτων απουσία των άλγεων στις αντίστοιχες πειραματικές συνθήκες, δεν παρατηρήθηκε έκλυση υδρογόνου από φωτοηλεκτρόλυση του νερού. Επομένως, οι παραχθείσες ποσότητες υδρογόνου οφείλονται

στην οξείδωση του MV^{+} από τα ένζυμα υδρογενάσης, ενώ αντίθετα, το εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης αναγεννούσε την ανηγμένη μορφή του MV^{+2} στην κάθοδο.

Η συνολική λειτουργία του υβριδικού συστήματος φαίνεται στο σχήμα 4.26. Πράγματι, η φωτοηλεκτροκαταλυτική διάσπαση του φυτοφαρμάκου Imidacloprid λαμβάνει χώρα ταυτόχρονα με την ενζυματική παραγωγή υδρογόνου. Όμως, η απενεργοποίηση των ενζύμων γίνεται σχετικά γρήγορα και ένα μεγάλο μέρος των φωτο-παραγόμενων ηλεκτρονίων μένει αναξιοποίητο.



Σχήμα 4.26: Συνολική λειτουργία της υβριδικής κυψέλης. Αποικοδόμηση (■) και ανοργανοποίηση (●) του φυτοφαρμάκου Imidacloprid σε ηλεκτρόδιο TiO_2 ως συνάρτηση του χρόνου φωτισμού. Παραγωγή υδρογόνου (▲) σε Sueoka-SF θρεπτικό υλικό, $3.5 \cdot 10^6$ κύτταρα mL^{-1} , παρουσία 3.2 mM Triton X 100 και 1 mM MV^{+2} . Εφαρμοζόμενο δυναμικό +1.0 V vs Ag/AgCl. Συγκέντρωση Imidacloprid 20 mg L^{-1} (8.45 mg L^{-1} DOC) σε 0.1 M Na_2SO_4 .

Από το σχήμα 4.26, φαίνεται πως η παραγωγή υδρογόνου σταματάει μετά τα πρώτα 45 λεπτά λειτουργίας της υβριδικής κυψέλης. Η συμπεριφορά αυτή πιθανώς οφείλεται στην απενεργοποίηση των ενζύμων υδρογενάσης. Ο χρόνος ζωής και η σταθερότητα των ενζύμων είναι δυο σημαντικές παράμετροι, οι οποίες κρίνουν την αποτελεσματικότητα αλλά και βιωσιμότητα της μεθόδου.

Στο ένθετο του σχήματος 4.25 δίνεται η θεωρητική παραγωγή υδρογόνου (στικτή γραμμή), όπως υπολογίζεται από την κλασική σχέση του Faraday για το φορτίο που διέρρευσε την κυψέλη. Η όλη διεργασία στηρίζεται και ελεγχεται από την πυκνότητα του φωτορεύματος, το οποίο εμφανίζεται κατά το φωτισμό του TiO_2 και ενισχύεται από το

εξωτερικά εφαρμοζόμενο δυναμικό των +1.0 V. Υπολογίστηκε πως το ενεργειακό περιεχόμενο του υδρογόνου που παράχθηκε για τα 45 λεπτά λειτουργίας των ενζύμων αντιστοιχεί στο 20% της ηλεκτρικής ενέργειας που προσφέρθηκε από το εφαρμοζόμενο δυναμικό, αλλά και το φωτισμό της φωτοανόδου στο χρονικό διάστημα αυτό. Η IPCE για τη φωτοάνοδο TiO₂ βρέθηκε ίση με 3%, σύμφωνα με την εξίσωση 2.37. Ορίζουμε ως IPC_{H₂}E την αποδοτικότητα της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής κυψέλης στην παραγωγή υδρογόνου, η οποία αντιστοιχεί σε 0.6%.

Στη συνέχεια γίνεται μια προσπάθεια ενίσχυσης της λειτουργίας του καθοδικού τμήματος. Η πρώτη τροποποίηση αφορά στην αλλαγή του θρεπτικού υλικού σε TAP-SF, αφού διαπιστώθηκε ήδη η καλύτερη συμπεριφορά του ως προς τη φωτοσυνθετική παραγωγή υδρογόνου σε σχέση με το Sueoka-SF (βλέπε κεφάλαιο 4.2.3). Άλλοι παράμετροι που θα μελετηθούν είναι η συγκέντρωση των άλγεων, του απορρυπαντικού Triton X 100 και του διαμεσολαβητή φορτίου MV⁺².

4.3.2 Παραγωγή υδρογόνου και οξείδωση του αντιβιοτικού Χλωραμφενικόλης

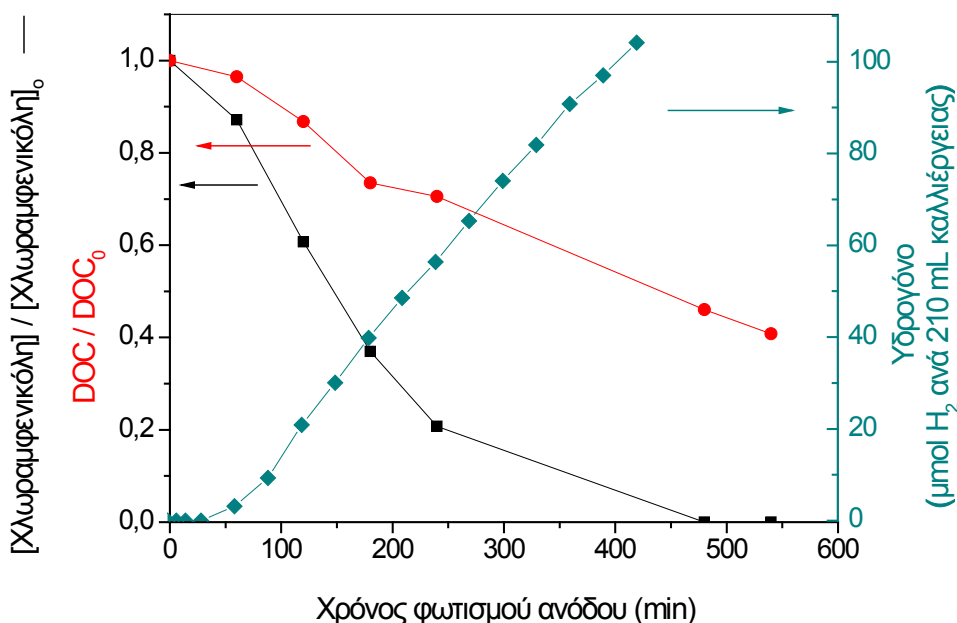
Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η επίδραση των παραπάνω παραμέτρων στην ενζυματική παραγωγή H₂, ταυτόχρονα με την οξείδωση του αντιβιοτικού Χλωραμφενικόλης.

4.3.2.1 Επίδραση του θρεπτικού υλικού TAP-SF στην παραγωγή υδρογόνου. Οξείδωση της Χλωραμφενικόλης

Όπως και στην περίπτωση του Imidacloprid, η διαδικασία που ακολουθήθηκε, ήταν η ίδια μετά την έκφραση των ενζύμων υδρογενάσης στην κάθοδο, σε θρεπτικό υλικό TAP-SF (βλέπε κεφάλαιο, 4.2.2). Η διαφορά είναι πως το εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης της ανόδου μειώθηκε από τα +1.0 V στα +0.6 V vs Ag/AgCl, αφού από το σχήμα 4.9 παρατηρούμε πως στα +0.6 V η ένταση του ρεύματος που διαρρέει την κυψέλη βρίσκεται ήδη στην ορική περιοχή.

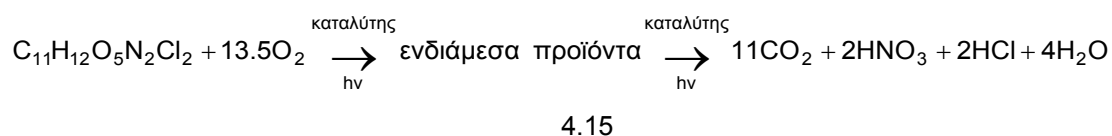
Στη συνέχεια, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της φωτοηλεκτροκαταλυτικής οξείδωσης της Χλωραμφενικόλης στο ηλεκτρόδιο TiO₂, ταυτόχρονα με την παραγωγή υδρογόνου στην κάθοδο. Η διάσπαση αλλά και η ανοργανοποίηση της Χλωραμφενικόλης στη φωτοάνοδο TiO₂ δίνεται στο σχήμα 4.27.

Η παρακολούθηση της διάσπασης του μορίου της Χλωραμφενικόλης έγινε φασματοφωτομετρικά μέσω καταγραφής του μεγίστου της οπτικής απορρόφησης στα 278 nm, ενώ η μείωση του οργανικού φορτίου εκφράζεται ως DOC. Όπως φαίνεται στο σχήμα 4.27, η φωτο-αποικοδόμηση της Χλωραμφενικόλης είναι πλήρης ύστερα από 8 ώρες φωτισμού του ηλεκτροδίου TiO₂ σε εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης +0.6 V. Την ίδια στιγμή, ο βαθμός ανοργανοποίησης του αντιβιοτικού φτάνει περίπου το 50% της αρχικής φόρτισης σε οργανικό άνθρακα, γεγονός που υποδηλώνει και σε αυτήν την περίπτωση τη δημιουργία «δύσκολων» ενδιάμεσων προϊόντων.



Σχήμα 4.27: Συνολική λειτουργία της υβριδικής κυψέλης. Αποικοδόμηση (■) και ανοργανοποίηση (●) του αντιβιοτικού Χλωραμφενικόλη σε ηλεκτρόδιο TiO_2 ως συνάρτηση του χρόνου φωτισμού. Παραγωγή υδρογόνου (▲) σε θρεπτικό υλικό TAP-SF, $3 \cdot 10^7$ κύτταρα mL^{-1} , παρουσία 3.2 mM Triton X 100 και 1 mM MV^{+2} . Εφαρμοζόμενο δυναμικό +0.6 V vs Ag/AgCl. Συγκέντρωση Χλωραμφενικόλης 10 mg L^{-1} (4.09 mg L^{-1} DOC) σε 0.1 M Na_2SO_4 .

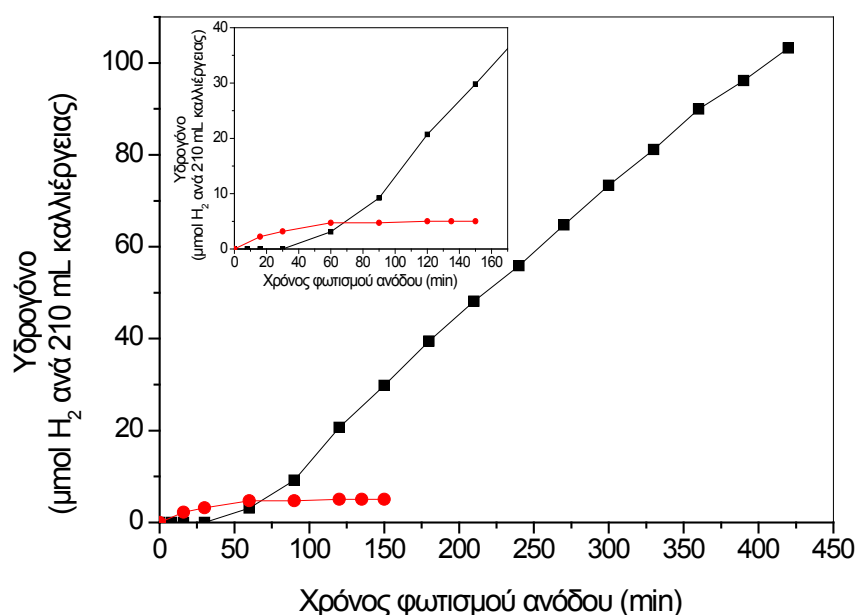
Η συνολική αντίδραση που περιγράφει την πλήρη οξειδωση (ανοργανοποίηση) της Χλωραμφενικόλης δίνεται στην εξίσωση 4.15.



Στο σχήμα 4.27 δίνεται επίσης η ταυτόχρονη καθοδική παραγωγή υδρογόνου στο σκοτάδι από τα ένζυμα υδρογενάσης. Όπως φαίνεται, 104 μmol υδρογόνου παράχθηκαν μετά από 420 λεπτά φωτισμού της ανόδου και τα οποία αποτελούν μια 20πλάσια ενίσχυση της καθοδικής ενζυματικής παραγωγής υδρογόνου σε σχέση με την αντίστοιχη στο Sueoka-SF (σχήμα 4.28). Η ενίσχυση αυτή αποδίδεται στα καλύτερα χαρακτηριστικά του ρυθμιστικού διαλύματος (buffer) του θρεπτικού υλικού TAP-SF. Το γεγονός αυτό βρίσκεται σε αντιστοιχία με την ενίσχυση της παραγωγής υδρογόνου σε φωτοβιολογικές συνθήκες, όπως συζητήθηκε στο κεφάλαιο 4.2.3. Επιπροσθέτως, η ανάπτυξη των κυττάρων των άλγεων στο TAP-SF κάτω από τις ίδιες συνθήκες φωτισμού, ήταν 10 φορές μεγαλύτερη και η ενεργότητα των ενζύμων υδρογενάσης παρουσιάζει καταλυτική δράση για περισσότερο από 400 λεπτά (σχήμα 4.28).

Αντίθετα, στο Sueoka-SF η δράση των ενζύμων περιορίζεται στα 60 πρώτα λεπτά λειτουργίας της κυψέλης.

Μια ακόμη διαφορά της επίδρασης των θρεπτικών υλικών στην εμφάνιση του H₂ εντοπίζεται στο χρόνο εκκίνησης (onset) της ενζυματικής παραγωγής υδρογόνου. Στην περίπτωση του θρεπτικού υλικού Sueoka-SF η παραγωγή υδρογόνου ξεκινά σχεδόν αμέσως, ενώ στο TAP-SF υπάρχει ένας χρόνος υστέρησης περίπου 30 λεπτών (ένθετο σχήματος 4.28). Συνολικά, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη σταθερότητα των ενζύμων υδρογενάσης στο θρεπτικό υλικό TAP-SF σε σχέση με την αντίστοιχη στο Sueoka-SF [411].

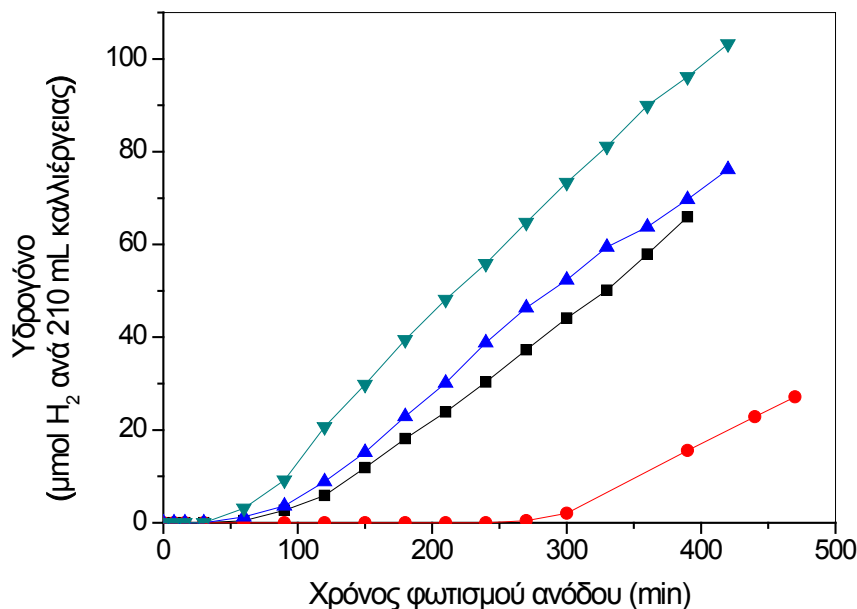


Σχήμα 4.28: Σύγκριση ενζυματικής παραγωγής υδρογόνου σε TAP-SF θρεπτικό υλικό (■) και Sueoka-SF θρεπτικό υλικό (●). (Ένθετο: λεπτομέρεια του σχήματος 4.29).

4.3.2.2 Επίδραση της συγκέντρωσης των άλγεων στην παραγωγή υδρογόνου

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζεται η επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης των άλγεων στην παραγωγή υδρογόνου. Σε αυτήν την ομάδα πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν 1.6 mM Triton X 100 και 0.5 mM MV⁺², ενώ το εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης στην άνοδο διατηρήθηκε στα +0.6 V vs Ag/AgCl. Ο λόγος που χρησιμοποιήθηκε η μισή συγκέντρωση απορρυπαντικού στα πειράματα αυτά προκύπτει από προκαταρκτικές παρατηρήσεις της διαλυτοποίησης των μεμβρανών των κυττάρων. Βρέθηκε πως σε συγκεντρώσεις απορρυπαντικού μεγαλύτερες των 0.4 mM η διαλυτοποίηση των μεμβρανών ήταν πλήρης, ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκε διαστολή και όχι θραύση αυτών. Η συγκέντρωση των 0.5 mM MV⁺² που χρησιμοποιήθηκε αυτή τη φορά θεωρήθηκε αρκετή για να δράσει το MV⁺² ως διαμεσολαβητής φορτίου, λόγω της συνεχούς αναγέννησης της

ανηγμένης του μορφής (MV^{+}) από τη ροή ηλεκτρονίων μέσω της ράβδου άνθρακα [95]. Οι συνθήκες του ανοδικού τμήματος διατηρήθηκαν όπως προηγουμένως. Τα αποτελέσματα της ενζυματικής παραγωγής υδρογόνου σε σχέση με τη συγκέντρωση των άλγεων δίνονται στο σχήμα 4.29.

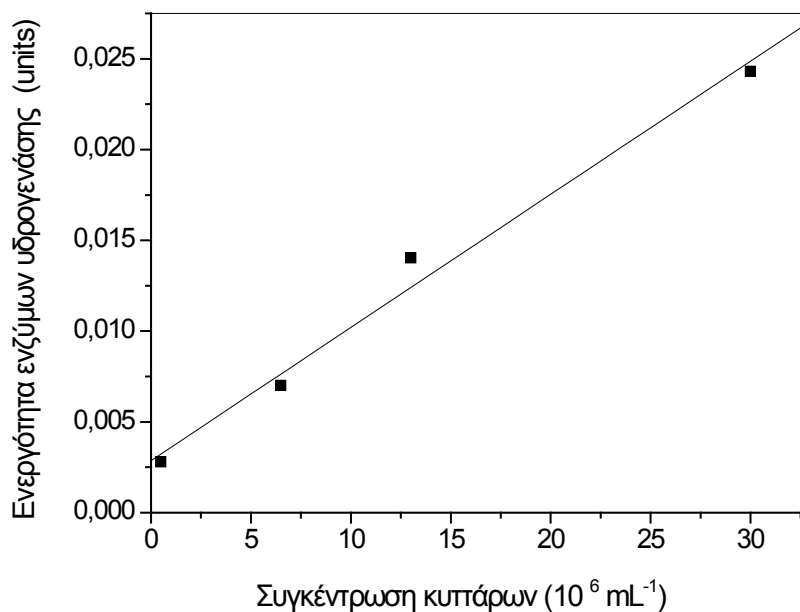


Σχήμα 4.29: Επίδραση της συγκέντρωσης των άλγεων στην παραγωγή υδρογόνου παρουσία 1.6 mM Triton X 100 και 0.5 mM MV^{+2} : $5 \cdot 10^5$ κύτταρα mL^{-1} (●), $6.5 \cdot 10^6$ κύτταρα mL^{-1} (■), $1.3 \cdot 10^7$ κύτταρα mL^{-1} (▲), $3 \cdot 10^7$ κύτταρα mL^{-1} (▼). Εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης φωτοανόδου +0.6 V vs Ag/AgCl σε διάλυμα 0.1 M Na_2SO_4 που περιείχε 10 mg L^{-1} Χλωραμφενικόλη.

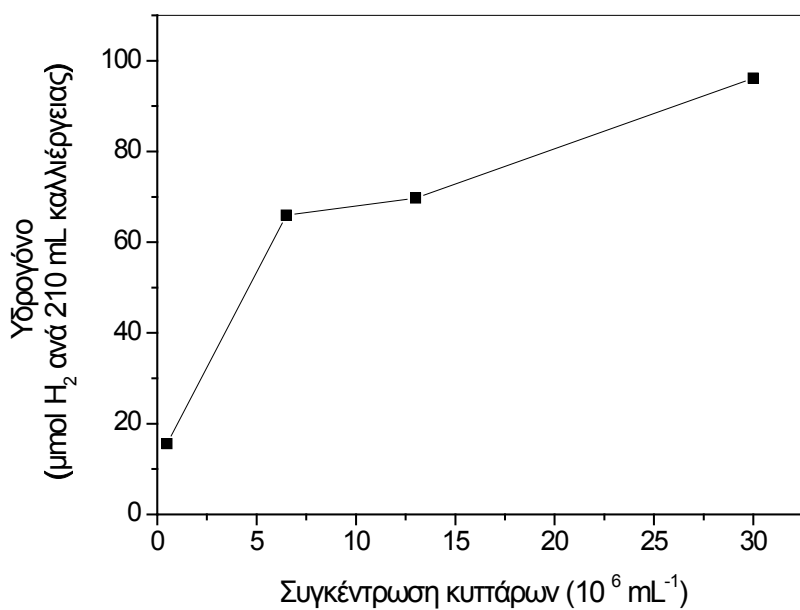
Όπως δείχνει το σχήμα 4.29, η παραγωγή υδρογόνου αυξάνει με την αύξηση της συγκέντρωσης των άλγεων. Το αποτέλεσμα αυτό οφείλεται στην υψηλότερη συγκέντρωση ενζύμων υδρογενάσης, αυξανόμενης της συγκέντρωσης των κυττάρων. Ο συλλογισμός αυτός συνάδει με το επόμενο σχήμα (4.30), όπου παρατηρείται πως η ενεργότητα και κατ' επέκταση η συγκέντρωση των ενζύμων υδρογενάσης, παρουσιάζει μια γραμμική εξάρτηση από τη συγκέντρωση των κυττάρων των άλγεων.

Η αύξηση της παραγωγής υδρογόνου φαίνεται και από την εξάρτηση της συνολικής ποσότητας υδρογόνου από τη συγκέντρωση των κυττάρων των άλγεων (σχήμα 4.31). Παρατηρείται πως σε συγκέντρωση κυττάρων $0.5 \cdot 10^6$ κύτταρα mL^{-1} παράγονται 15.5 μmol υδρογόνου ύστερα από 390 λεπτά λειτουργίας της κυψέλης, ενώ σε ~ 10 πλάσια συγκέντρωση κυττάρων ($6.5 \cdot 10^6$ κύτταρα mL^{-1}) η παρατηρούμενη αύξηση παραγωγής υδρογόνου είναι κατά ~ 4.2 φορές μεγαλύτερη (65.93 $\mu\text{mol H}_2$). Περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης των κυττάρων επιφέρει ενίσχυση του παραγόμενου υδρογόνου περίπου 6.2 φορές (96.13 $\mu\text{mol H}_2$). Αυτή η συσχέτιση αντικατοπτρίζεται και στο διάγραμμα μεταξύ της συνολικής ποσότητας

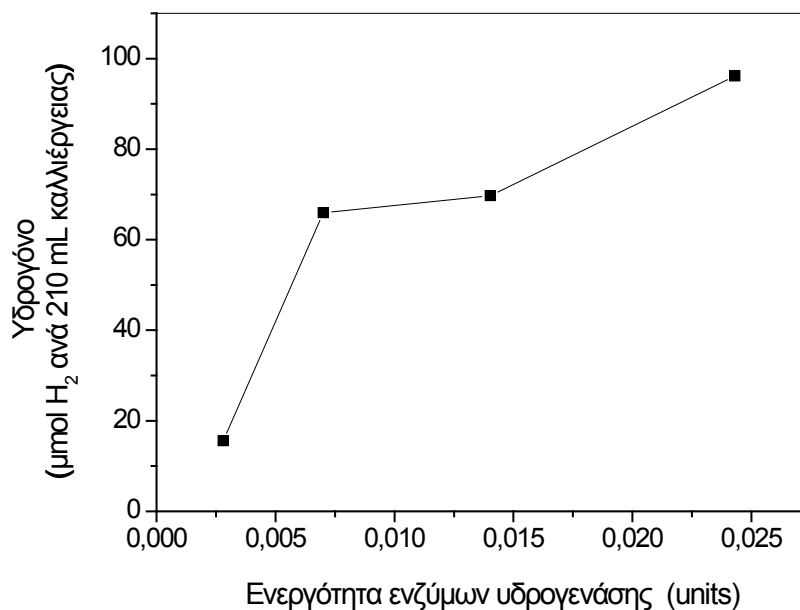
υδρογόνου και της ενεργότητας των ενζύμων (σχήμα 4.32) και εξηγείται από τη γραμμική σχέση που βρέθηκε μεταξύ της ενεργότητας των ενζύμων και της συγκέντρωσης των άλγεων (σχήμα 4.30).



Σχήμα 4.30: Εξάρτηση της ενεργότητας των ενζύμων υδρογενάσης από τη συγκέντρωση των κυττάρων των άλγεων *Chlamydomonas Reinhardtii* CC-124. Εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης φωτοανόδου +0.6 V vs Ag/AgCl. Άνοδος: 0.1 M Na_2SO_4 που περιείχε 10 mg L^{-1} Χλωραμφενικόλη. Κάθοδος: 1.6 mM Triton X 100 και 0.5 mM MV^{+2} .

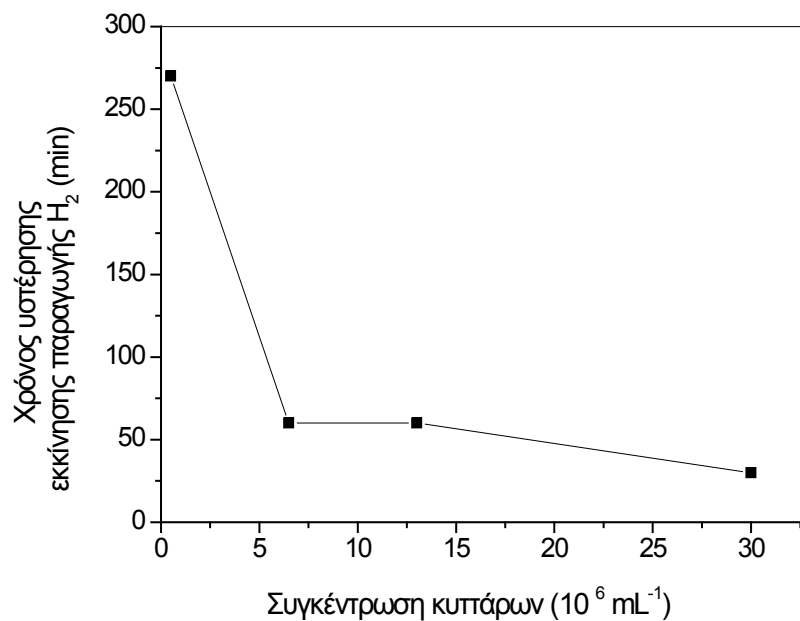


Σχήμα 4.31: Παραγωγή υδρογόνου ως συνάρτηση της συγκέντρωσης των κυττάρων των άλγεων στη φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική κυψέλη μετά από 390 λεπτά φωτισμού της ανόδου.



Σχήμα 4.32: Εξάρτηση της συνολικής ποσότητας υδρογόνου ύστερα από 390 λεπτά λειτουργίας της κυψέλης σε σχέση με την ενεργότητα των ενζύμων υδρογενάσης.

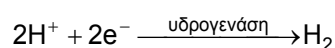
Μια ακόμη παρατήρηση που προκύπτει από το σχήμα 4.29 είναι ο χρόνος υστέρησης στην εκκίνηση (onset) της ενζυματικής παραγωγής υδρογόνου. Σε όλες τις περιπτώσεις, με μείωση της συγκέντρωσης των άλγεων παρατηρείται αύξηση του χρόνου υστέρησης (σχήμα 4.33).



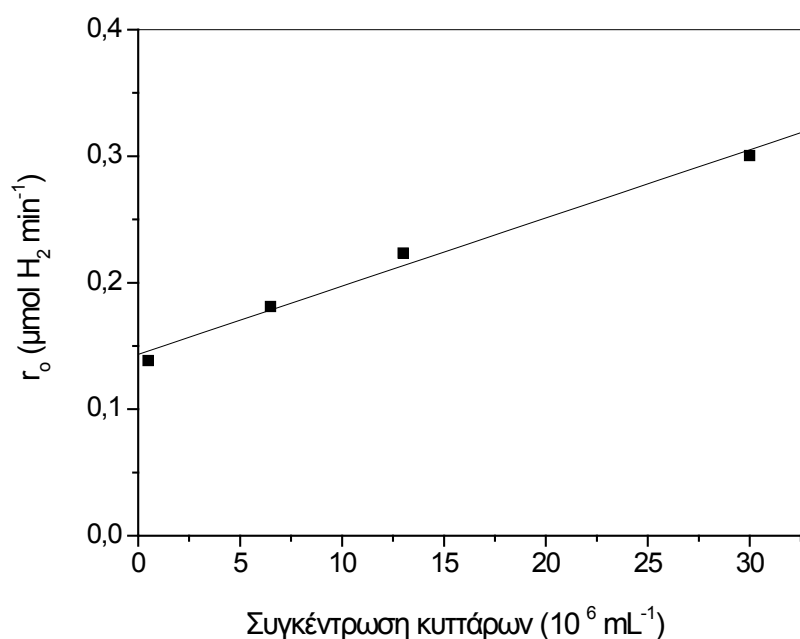
Σχήμα 4.33: Χρόνος υστέρησης στην εκκίνηση παραγωγής υδρογόνου ως συνάρτηση της συγκέντρωσης των άλγεων.

Το αποτέλεσμα αυτό υποδηλώνει μια εξάρτηση μεταξύ της ποσότητας/συγκέντρωσης των ενζύμων και του χρόνου αντίδρασης με την ανηγμένη κατάσταση του MV^{+2} . Επιπρόσθετα, κατά τη διάρκεια των πειραμάτων παρατηρήθηκε πως διαλύματα συγκεντρώσεων άλγεων της τάξης των $5 \cdot 10^5$ κυττάρων mL^{-1} ήταν αρκετά αραιά, με αποτέλεσμα η πιθανότητα μεταφοράς φορτίου προς τα ένζυμα να μειώνεται δραματικά [465]. Για το λόγο αυτό, στα πλαίσια της παρούσας διατριβής η συγκέντρωση των άλγεων, κάτω από τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες, διατηρήθηκε μεταξύ 10^6 και 10^7 κύτταρα mL^{-1} . Υψηλότερες τιμές συγκεντρώσεων οδηγούν σε μείωση στην απορρόφηση του φωτός στο εσωτερικό του διαλύματος κατά τη διαδικασία έκφρασης των ενζύμων σε φωτοβιολογικές συνθήκες. Άμεσο αποτέλεσμα αυτού θα είναι η αύξηση του χρόνου έκφρασης των ενζύμων υδρογενάσης ή και ακόμα η μειωμένη έκφραση αυτών.

Η αντίδραση που καταλύεται από τα ένζυμα υδρογενάσης είναι η αναγωγή των H^+ προς μοριακό υδρογόνο, σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση.



4.16



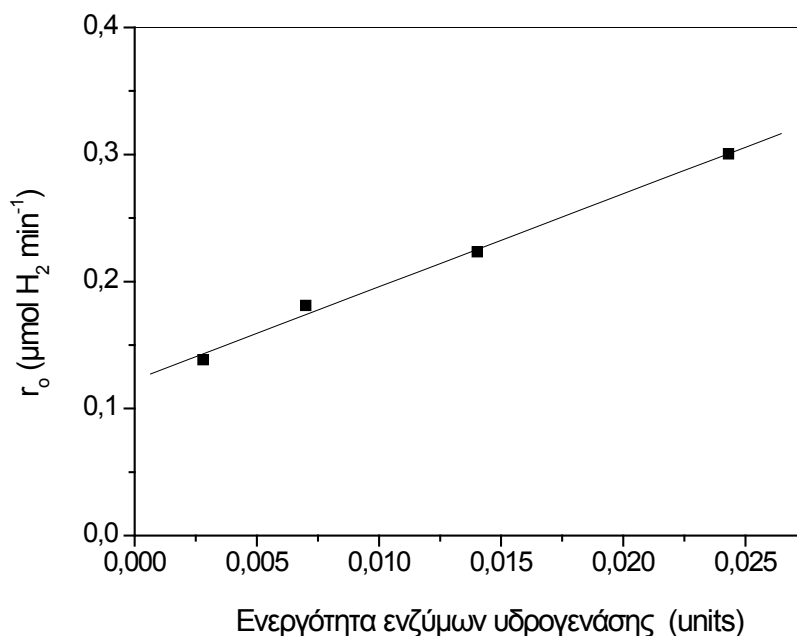
Σχήμα 4.34: Εξάρτηση του αρχικού ρυθμού της αντίδρασης παραγωγής υδρογόνου (r_o) από τη συγκέντρωση των κυττάρων.

Ο ρυθμός της αντίδρασης εξαρτάται τόσο από τη συγκέντρωση του υποστρώματος (H^+), όσο και από τη συγκέντρωση του ενζύμου. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, η συγκέντρωση του υποστρώματος είναι σταθερή, ενώ μεταβάλλεται η συγκέντρωση του ενζύμου [E]. Η θεωρία [55, 467] προβλέπει πως κάτω από αυτές τις συνθήκες, η εξίσωση του ρυθμού γίνεται:

$$r_o = k' [E]_o^y$$

4.17

όπου k' η σταθερά της ενζυμικής αντίδρασης, $[E]$ η συγκέντρωση του ενζύμου και y η τάξη της αντίδρασης.

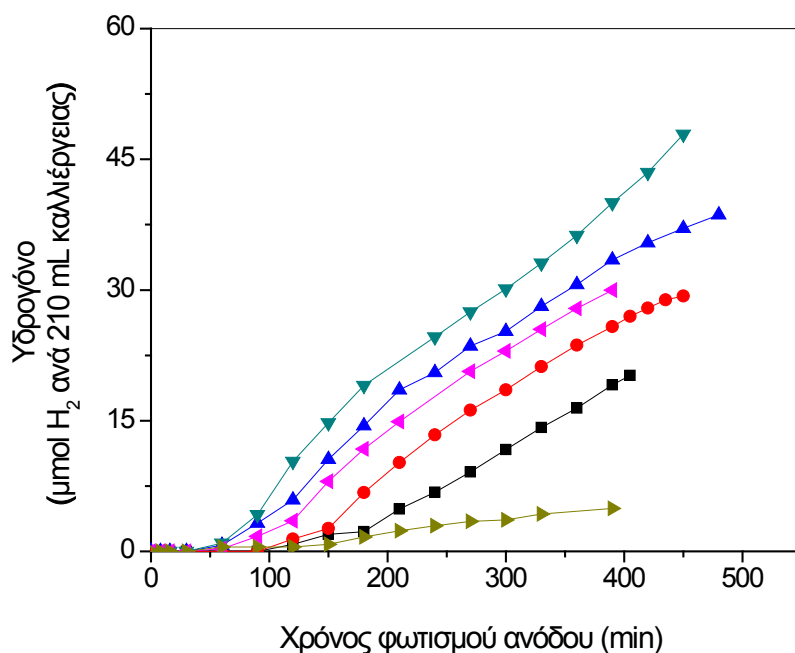


Σχήμα 4.35: Εξάρτηση του αρχικού ρυθμού της αντίδρασης παραγωγής υδρογόνου (r_o) από την ενεργότητα των ενζύμων υδρογενάσης.

Στα σχήματα 4.34 και 4.35 παρουσιάζεται η εξάρτηση του αρχικού ρυθμού παραγωγής υδρογόνου από τη συγκέντρωση των κυττάρων και από την ενεργότητα αυτών, αντίστοιχα. Και στις δυο περιπτώσεις, παρατηρείται γραμμική εξάρτηση του αρχικού ρυθμού παραγωγής υδρογόνου, οπότε η τάξη της αντίδρασης ισούται με 1 ως προς το ένζυμο [467]. Η σταθερά της αντίδρασης k' υπολογίζεται από την κλίση της ευθείας ($R^2=0.9973$) του σχήματος 4.35 και ισούται με $7.33 \pm 0.38158 \mu\text{mol H}_2 \text{ min}^{-1} \text{ unit}^{-1}$.

4.3.2.3 Επίδραση της συγκέντρωσης του απορρυπαντικού Triton X 100 στην παραγωγή υδρογόνου

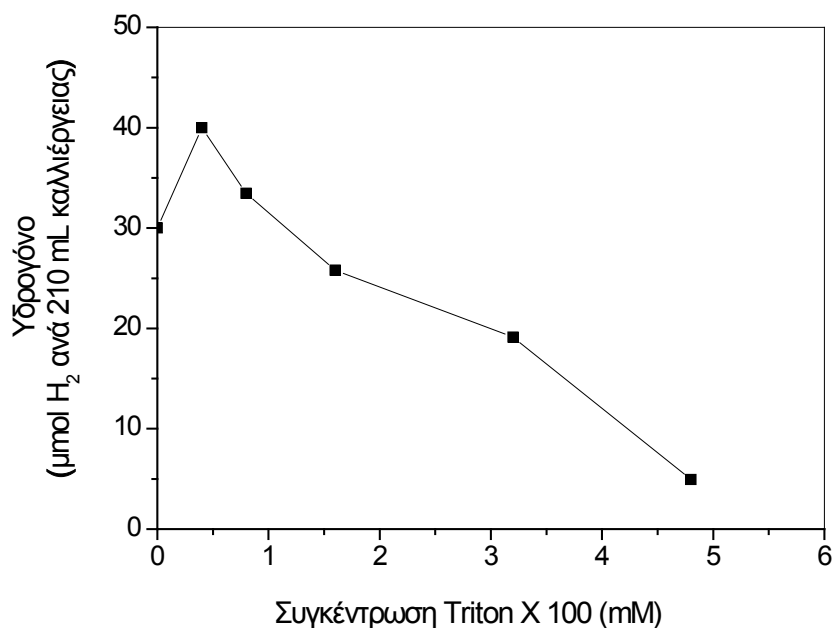
Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της επίδρασης της συγκέντρωσης του απορρυπαντικού Triton X 100 (0–4.8 mM) στην ενζυματική παραγωγή υδρογόνου. Στο σχήμα 4.36 δίνονται τα αποτελέσματα της έκλυσης υδρογόνου σε διάφορες συγκεντρώσεις απορρυπαντικού ως συνάρτηση του χρόνου φωτισμού της ανόδου TiO_2 .



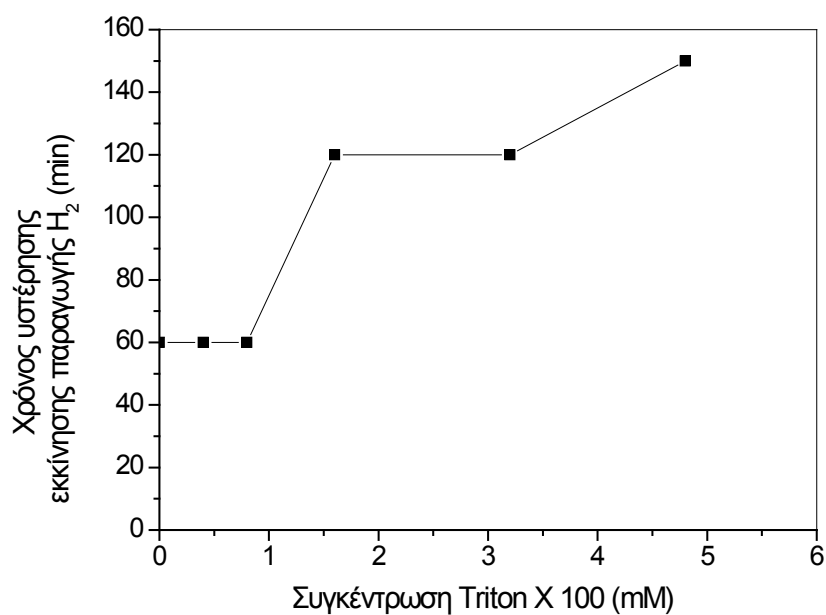
Σχήμα 4.36: Επίδραση της συγκέντρωσης του απορρυπαντικού Triton X 100 στην παραγωγή υδρογόνου στη φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική κυψέλη, 0 mM (▲), 0.4 mM (▼), 0.8 mM (▲), 1.6 mM (●), 3.2 mM (■), 4.8 mM (►). Συγκέντρωση κυττάρων $\sim 1.5 \cdot 10^7$ κύτταρα mL⁻¹, 1 mM MV⁺². Εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης φωτοανόδου +0.6 V vs Ag/AgCl σε διάλυμα 0.1 M Na₂SO₄ που περιείχε 10 mg L⁻¹ Χλωραμφενικόλη.

Παρατηρείται πως σε όλες τις συγκεντρώσεις του απορρυπαντικού η παραγωγή υδρογόνου είναι εφικτή. Η επίδραση του απορρυπαντικού φαίνεται καλύτερα στο σχήμα 4.37, στο οποίο παρουσιάζεται η συνολική ποσότητα υδρογόνου που παράχθηκε ύστερα από 390 λεπτά λειτουργίας της κυψέλης σε σχέση με τη συγκέντρωση του.

Όπως φαίνεται, συγκέντρωση απορρυπαντικού έως 0.4 mM αυξάνει την έκλυση υδρογόνου. Περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσής του επιφέρει μείωση στην παραγόμενη ποσότητα υδρογόνου. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το υδρόφοβο κέλυφος που δημιουργείται γύρω από τα ένζυμα λόγω της επίδρασης απορρυπαντικών ή λιπιδίων, αυξάνει την ενζυμική δραστηριότητα μέχρι μια κρίσιμη συγκέντρωση. Περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης των απορρυπαντικών ή των λιπιδίων επιφέρει σημαντική παρεμπόδιση της ενζυμικής δραστηριότητας [416], συμπεριφορά που έρχεται σε συμφωνία με τα παρατηρούμενα αποτελέσματα. Αυτή η συμπεριφορά πιθανώς να οφείλεται σε δημιουργία ανεπιθύμητου προστατευτικού περιβλήματος του ενεργού κέντρου του ενζύμου από τα μόρια του απορρυπαντικού ή από μικκύλια Triton X 100–MV⁺² [416]. Πειράματα απουσία απορρυπαντικού έδειξαν πως και πάλι παράγεται υδρογόνο, πιθανώς ως αποτέλεσμα της ικανότητας του ανηγμένου MV⁺² να διαπερνά τις μεμβράνες του κυττάρου [468].



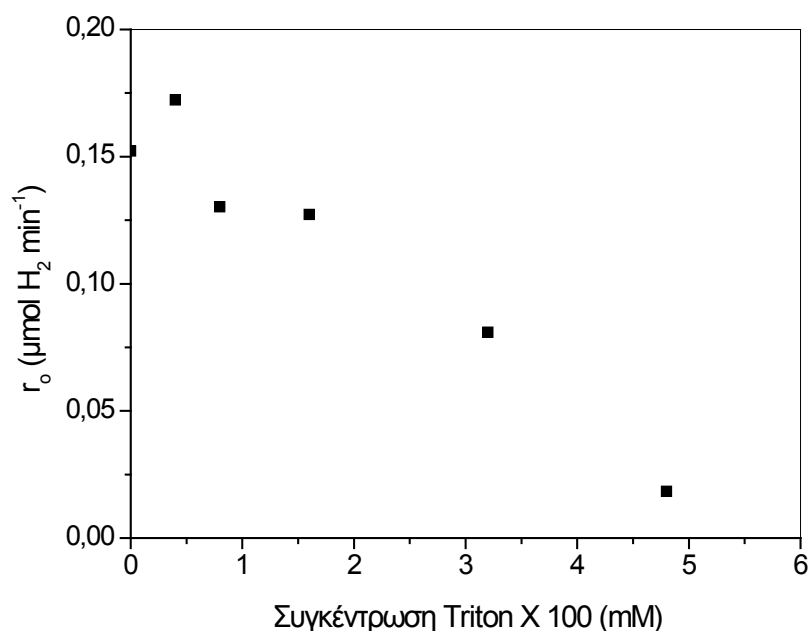
Σχήμα 4.37: Παραγωγή υδρογόνου μετά από 390 λεπτά λειτουργίας της υβριδικής κυψέλης συναρτήσει της συγκέντρωσης του απορρυπαντικού.



Σχήμα 4.38: Χρόνος υστέρησης στην εκκίνηση παραγωγής υδρογόνου ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του Triton X 100.

Μια ακόμη ένδειξη για την ανασταλτική επίδραση των υψηλών συγκεντρώσεων απορρυπαντικού είναι ο χρόνος υστέρησης στην εκκίνηση παραγωγής υδρογόνου. Όπως

φαίνεται στο σχήμα 4.38, με αύξηση της συγκέντρωσης του απορρυπαντικού παρατηρείται αύξηση στο χρόνο έναρξης έκλυσης υδρογόνου. Η συμπεριφορά αυτή πιθανότατα οφείλεται και πάλι στην κάλυψη του ενεργού κέντρου των ενζύμων, λόγω δημιουργίας «σφαίρας προστασίας» από τα μόρια του απορρυπαντικού.



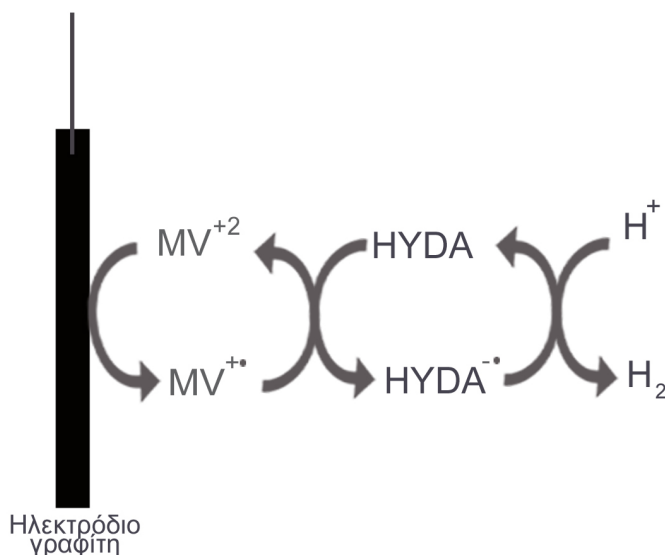
Σχήμα 4.39: Εξάρτηση του αρχικού ρυθμού της αντίδρασης παραγωγής υδρογόνου (r_o) από τη συγκέντρωση του Triton X 100.

Στο σχήμα 4.39 παρουσιάζεται η αρχική ταχύτητα παραγωγής υδρογόνου ως προς τη συγκέντρωση του Triton X 100. Η ανασταλτική επίδραση του απορρυπαντικού είναι εμφανής και στον αρχικό ρυθμό έκλυσης του υδρογόνου σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 0.4 mM.

4.3.2.4 Επίδραση της συγκέντρωσης του MV^{+2} στην παραγωγή υδρογόνου

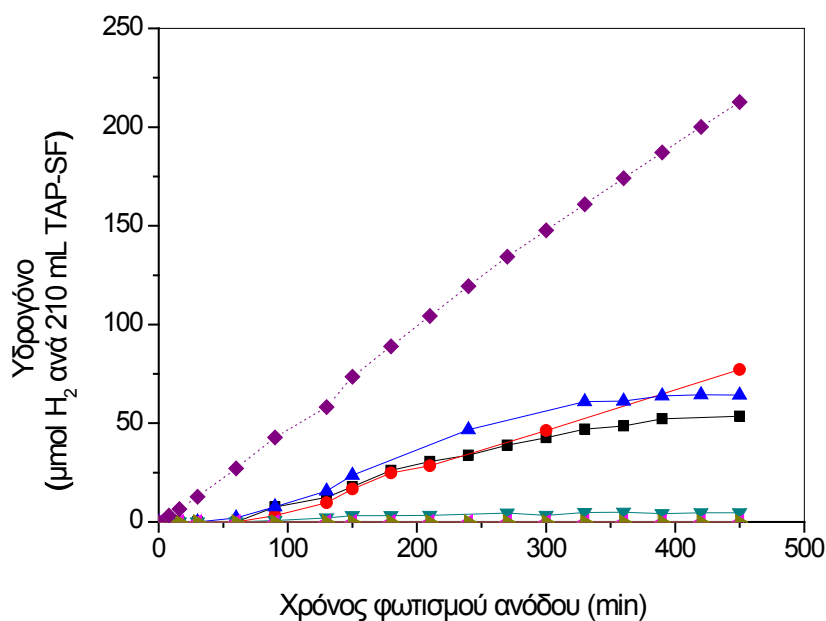
Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η επίδραση της συγκέντρωσης του διαμεσολαβητή φορτίου MV^{+2} στην ενζυμική παραγωγή υδρογόνου. Το σχήμα 4.40 παρουσιάζει την πορεία που πιστεύεται ότι ακολουθούν τα φωτο-παραγόμενα ηλεκτρόνια στο καθοδικό τμήμα της κυψέλης. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων δίνονται στο σχήμα 4.41, όπου παρουσιάζεται η παραγωγή υδρογόνου σε διάφορες συγκεντρώσεις MV^{+2} (0–1 mM) συναρτήσει του χρόνου φωτισμού της ανόδου. Σε αυτήν την ομάδα πειραμάτων η συγκέντρωση του απορρυπαντικού Triton X 100 ήταν 0.4 mM, ενώ το εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης της φωτοανόδου διατηρήθηκε στα +0.6 V vs Ag/AgCl σε διάλυμα 0.1 M Na_2SO_4 που περιείχε 10 mg L^{-1} Χλωραμφενικόλη.

Σε χαμηλές συγκεντρώσεις (0.005 mM και 0.010 mM) αλλά και απουσία MV^{+2} παρατηρήθηκε φωτοηλεκτροκαταλυτική παραγωγή υδρογόνου, η οποία ενισχύθηκε με την παρουσία των ενζύμων υδρογενάσης, όπως δείχνουν τα σχήματα 4.41 και 4.42, αντίστοιχα. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις MV^{+2} (0.050-1 mM) η φωτοηλεκτροκαταλυτική παραγωγή υδρογόνου εμποδίζεται λόγω αναγωγής του διαμεσολαβητή φορτίου. Στο σχήμα 4.43 δίνεται η φωτοηλεκτροκαταλυτική παραγωγή υδρογόνου σε 210 mL διαλύματος TAP-SF (απουσίας άλγεων) καθώς και η θεωρητική παραγωγή, η οποία προσδιορίζεται από τη σχέση του Faraday για το φορτίο που διαπέρασε την κυψέλη. Η απόδοση αυτή καθορίζεται από το φωτορεύμα που εμφανίζεται κατά το φωτισμό του TiO_2 , αλλά και από το εφαρμοζόμενο ανοδικό δυναμικό. Σε όλα τα πειράματα η τιμή του ρεύματος ήταν σταθερή και ίση με 1.55 ± 0.1 mA (~ 28 μA cm^{-2}).

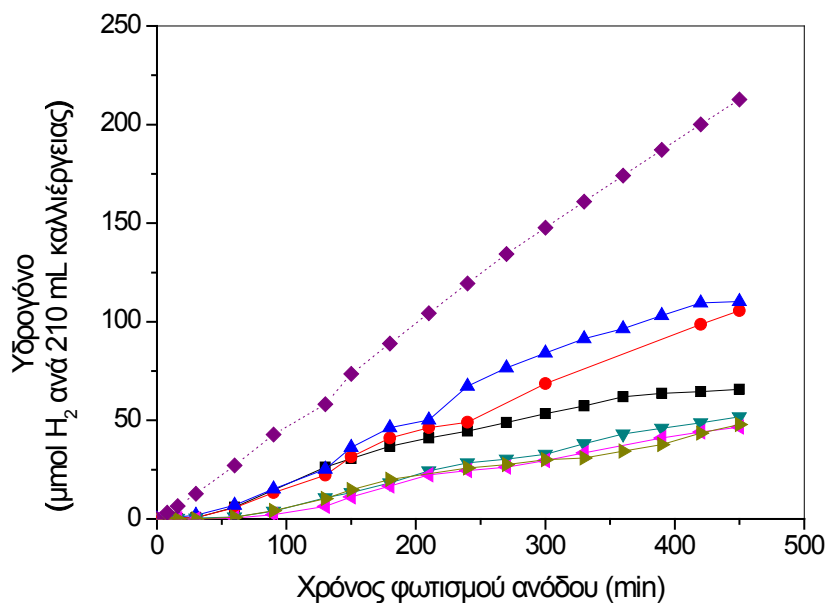


Σχήμα 4.40: Σχηματική αναπαράσταση των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων που συμβαίνουν στο καθοδικό τμήμα της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής κυψέλης.

Αρχικά, στις χαμηλές συγκεντρώσεις αλλά και απουσία MV^{+2} , παρατηρείται σημαντική διαφοροποίηση στην παραγωγή υδρογόνου σε σχέση με τη θεωρητικά προβλεπόμενη. Η παρατηρούμενη απόδοση του ηλεκτροδίου του άνθρακα είναι περίπου 30% της θεωρητικής παραγωγής υδρογόνου. Το γεγονός αυτό οφείλεται στη χαμηλή ηλεκτροκαταλυτική ικανότητα του άνθρακα στην αναγωγή των H^+ , σε επιφανειακές καταστάσεις καθώς και σε παρασιτικές δράσεις, παράγοντες που διατηρούν όμως το ρεύμα σταθερό. Αυτές οι ηλεκτροδιακές δράσεις ενδεχομένως να σχετίζονται με αναγωγές των συστατικών του TAP-SF, καθώς και με αναγωγές επιφανειακών ατόμων του υλικού του ηλεκτροδίου ή προσροφημένων μορίων σε αυτό. Στις υψηλότερες συγκεντρώσεις του MV^{+2} η φωτοηλεκτροκαταλυτική παραγωγή υδρογόνου εμποδίζεται πλήρως μιας και το ρεύμα συντηρεί την αναγωγή του MV^{+2} ($E_{red} = -0.73$ V), αντίδραση περισσότερο ευνοϊκή σε σχέση με την αναγωγή των H^+ .



Σχήμα 4.41: Επίδραση της συγκέντρωσης του MV^{+2} στην παραγωγή υδρογόνου σε σχέση με το χρόνο φωτισμού της ανόδου απουσία των άλγεων. 0 mM (■), 0.005 mM (●), 0.01 mM (▲), 0.05 mM (▼), 0.5 mM (◀), 1mM (▶), θεωρητική (◆). Συγκέντρωση Triton X 100 0.4 mM. Εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης φωτοανόδου +0.6 V vs Ag/AgCl σε 0.1 M Na_2SO_4 παρουσία 10 mg L^{-1} Χλωραμφενικόλη.



Σχήμα 4.42: Επίδραση της συγκέντρωσης του MV^{+2} στην παραγωγή υδρογόνου σε σχέση με το χρόνο φωτισμού της ανόδου παρουσία των άλγεων. 0 mM (■), 0.005 mM (●), 0.01 mM (▲), 0.05 mM (▼), 0.5 mM (◀), 1mM (▶), θεωρητική (◆). Συγκέντρωση Triton X 100 0.4 mM και $\sim 1.95 \cdot 10^7$ κύτταρα mL^{-1} . Εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης φωτοανόδου +0.6 V vs Ag/AgCl σε 0.1 M Na_2SO_4 παρουσία 10 mg L^{-1} Χλωραμφενικόλη.

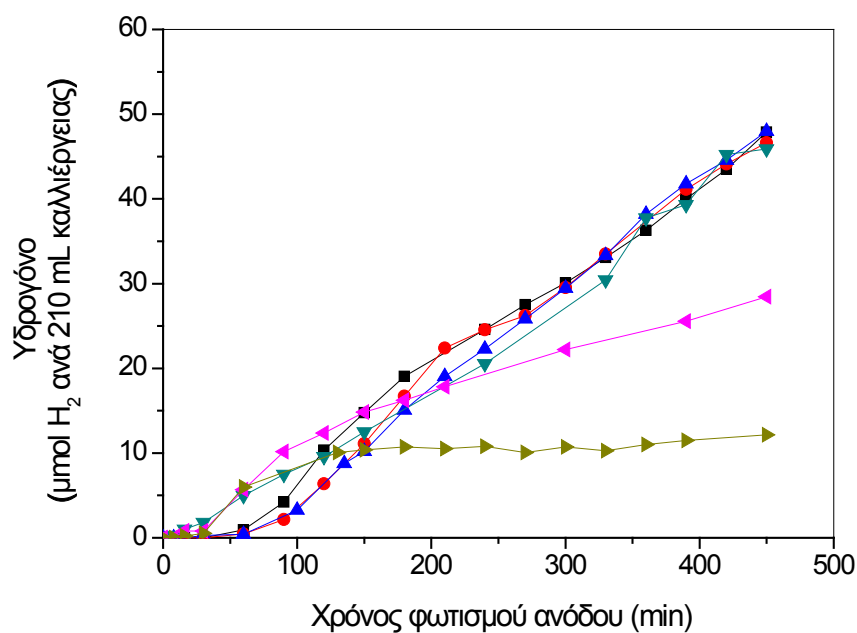
Από το σχήμα 4.42 παρατηρείται η ενίσχυση στην έκλυση υδρογόνου με την προσθήκη των ενζύμων υδρογενάσης. Απουσία MV^{+2} και σε συγκεντρώσεις 0.005 και 0.010 mM παρατηρείται αύξηση στην παραγωγή υδρογόνου κατά 5%, 13% και 22%, αντίστοιχα. Σε αυτές τις συνθήκες, η παραγωγή υδρογόνου οφείλεται σε φωτοηλεκτροκαταλυτική αναγωγή των H^+ , αλλά και σε ενζυμική αναγωγή τους από τα ένζυμα υδρογενάσης, ταυτόχρονα. Ειδικά στην περίπτωση των 0.010 mM MV^{+2} , η ενίσχυση είναι ιδιαίτερα σημαντική και φαίνεται πως το MV^{+2} διατηρεί πολύ καλά τη μεταφορά φορτίου προς τα ένζυμα υδρογενάσης. Η συνολική απόδοση του συστήματος έφτασε το 52% σε σχέση με τη θεωρητικά προβλεπόμενη.

Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις MV^{+2} , όπου εμποδίζεται η φωτοηλεκτρόλυση, η παραγωγή υδρογόνου οφείλεται αποκλειστικά στην ενζυμική δραστηριότητα (σχήμα 4.43). Παρατηρούμε πως περίπου 50 $\mu\text{mol } H_2$ παράγονται ενζυμικά, τιμή που αντιστοιχεί σε απόδοση 24% σε σχέση με τη θεωρητικά αναμενόμενη. Η διατήρηση του ρεύματος οφείλεται και εδώ στους λόγους που αναφέρθηκαν παραπάνω. Από το σχήμα 4.42 φαίνεται επίσης πως σε συγκεντρώσεις MV^{+2} μεγαλύτερες των 0.050 mM, δεν επηρεάζεται η ενζυμική παραγωγή υδρογόνου.

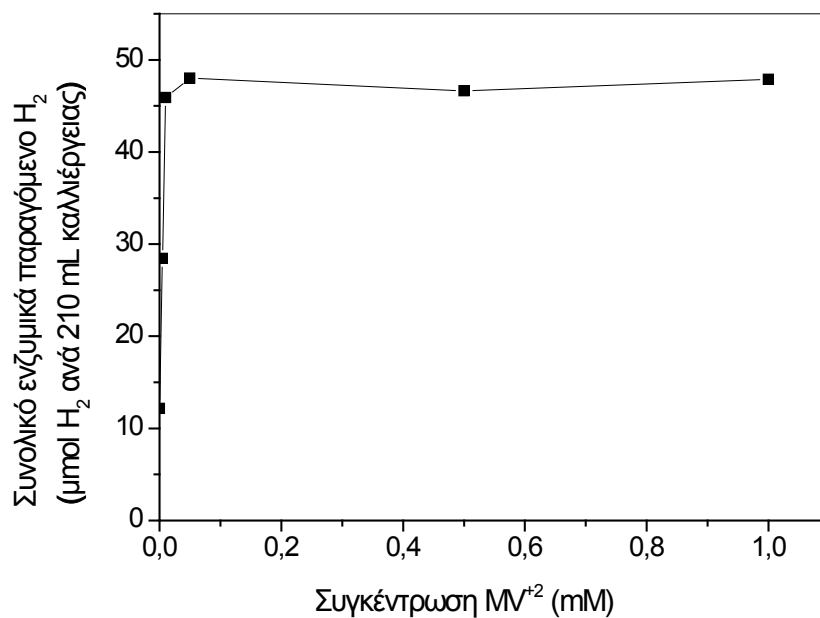
Μια καλύτερη εικόνα της ενζυματικής παραγωγής υδρογόνου στο καθοδικό τμήμα της κυψέλης φαίνεται στο σχήμα 4.43. Το σχήμα αυτό προκύπτει από τη διαφορά του ολικού υδρογόνου (σχήμα 4.42) και αυτού από φωτοηλεκτρόλυση (σχήμα 4.41). Όπως φαίνεται, η ενζυματική παραγωγή υδρογόνου συμβαίνει σε όλες τις συγκεντρώσεις του MV^{+2} . Αρχικά, με αύξηση της συγκέντρωσης του MV^{+2} από 0 μέχρι και 0.005 mM, η ενζυμικά παραγόμενη ποσότητα υδρογόνου αυξάνει επίσης, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις επέρχεται κορεσμός στο συνολικό υδρογόνο που παράγεται ύστερα από 450 λεπτά φωτισμού της ανόδου.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και το γεγονός της έκλυσης υδρογόνου απουσία του MV^{+2} . Στο σχήμα 4.43 φαίνεται η ενζυμική παραγωγή 10 $\mu\text{mol } H_2$ απουσία MV^{+2} , κατά τα 130 πρώτα λεπτά φωτισμού της ανόδου. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως να οφείλεται σε μεταφορά φορτίου από ανηγμένα συστατικά του θρεπτικού υλικού TAP-SF προς τα ένζυμα υδρογενάσης [468] ή σε επιφανειακή μεταφορά φορτίου από το ηλεκτρόδιο του γραφίτη σε προσροφημένα μόρια ενζύμων. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις, η ενζυματική παραγωγή υδρογόνου συνεχίζεται για περισσότερα από 400 λεπτά φωτισμού της ανόδου, λόγω του ότι υπάρχει πάντοτε η ανηγμένη κατάσταση του MV^{+2} (MV^{+}). Το αποτέλεσμα αυτό είναι διττής σημασίας. Από τη μια δείχνει τη συγγένεια του MV^{+2} με το ενεργό κέντρο των ενζύμων υδρογενάσης [422, 469] και από την άλλη πως το MV^{+2} δρα ενδεχομένως ως υπόστρωμα της ενζυμικής παραγωγής υδρογόνου, αφού η συγκέντρωση των H^+ στο διάλυμα παραμένει σταθερή (pH=7).

Το σχήμα 4.44 παρουσιάζει τη συνολική ποσότητα υδρογόνου που παράχθηκε συναρτήσει της συγκέντρωσης του MV^{+2} ύστερα από 450 λεπτά φωτισμού της ανόδου σε δυναμικό πόλωσης +0.6 V. Παρατηρείται πως η παραγωγή υδρογόνου από τα ένζυμα υδρογενάσης φτάνει σε κορεσμό σε συγκεντρώσεις MV^{+2} μεγαλύτερες των 0.05 mM.



Σχήμα 4.43: Επίδραση της συγκέντρωσης του MV^{+2} στην ενζυμική παραγωγή υδρογόνου στη φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική κυψέλη, 0 mM (\blacktriangleright), 0.005 mM (\blacktriangleleft), 0.01 mM (\blacktriangledown), 0.05 mM (\blacktriangle), 0.5 mM (\bullet), 1mM (\blacksquare). Σε όλες τις περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκαν 0.4 mM Triton X 100 και $\sim 1.95 \cdot 10^7$ κύτταρα mL^{-1} . Εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης φωτοανόδου +0.6 V vs Ag/AgCl σε διάλυμα 0.1 M Na_2SO_4 που περιείχε $10 mg L^{-1}$ Χλωραμφενικόλη.



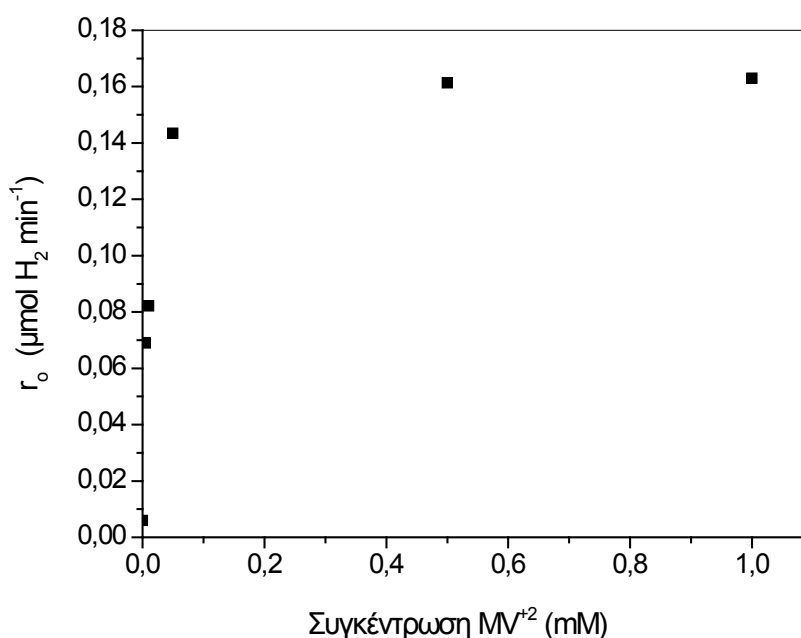
Σχήμα 4.44: Ενζυμική παραγωγή υδρογόνου μετά από 450 λεπτά φωτισμού της ανόδου ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του MV^{+2} .

Στον επομενο πίνακα δίνεται συγκεντρωτικά η απόδοση της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής κυψέλης στην παραγωγή υδρογόνου. Παρατηρείται πως η μέγιστη απόδοση βρίσκεται παρουσία των ενζύμων υδρογενάσης σε συγκέντρωση MV^{+2} 0.010 mM.

Πίνακας 4.6: Απόδοση της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής κυψέλης στην παραγωγή υδρογόνου σε διάφορες συγκεντρώσεις MV^{+2} .

MV^{+2} [mM]	H ₂ [μmol ανά 210 mL καλλιέργειας]			
	¹ Φωτοηλεκτρόλυση (Απόδοση %)	² Φωτοηλεκτρόλυση + Ένζυμα (Απόδοση %)	¹ IPC _{H₂E} (%)	² IPC _{H₂E} (%)
Θεωρητικά	212 (100)	212 (100)	3	3
0	54 (25)	65 (30)	0.76	0.92
0.005	77 (36)	106 (50)	1.1	1.5
0.010	65 (30)	110 (52)	0.92	1.56
0.050	4.5 (2)	52 (25)	0.06	0.74
0.500	0 (0)	48 (23)	0	0.68
1.000	0 (0)	48 (23)	0	0.68

Παραπάνω προτάθηκε πως το MV^{+2} ενδεχομένως να παίζει και το ρόλο του υποστρώματος της ενζυμικής αντίδρασης, αφού η συγκέντρωση των H⁺ είναι σταθερή. Από τις καμπύλες του σχήματος 4.43 υπολογίστηκε ο αρχικός ρυθμός παραγωγής υδρογόνου, και τα αποτελέσματα δίνονται στο σχήμα 4.45.



Σχήμα 4.45: Αρχικός ρυθμός παραγωγής υδρογόνου από τα ένζυμα υδρογενάσης (0.011 ± 0.002 units) σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση του MV^{+2} .

Η γραφική παράσταση του σχήματος 4.45 παρουσιάζει την κινητική καμπύλη των ενζυμικών αντιδράσεων όταν το υπόστρωμα μεταβάλλεται, ενώ η συγκέντρωση του ενζύμου διατηρείται σταθερή. Τα αποτελέσματα αυτά ενισχύουν την πρόταση ότι το MV^{+2} είναι και το υπόστρωμα της ενζυμικής αντίδρασης παραγωγής υδρογόνου. Η κινητική καμπύλη του σχήματος 4.45 υποδεικνύει ότι η τάξη της αντίδρασης δεν είναι σταθερή, αλλά μεταβάλλεται καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του υποστρώματος και περιγράφεται από την εξίσωση Michaelis-Menten (εξίσωση 4.18)

$$r_o = \frac{V[S]_o}{K_m + [S]_o} \quad 4.18$$

όπου $V=k[E]_o$ και ισχύει σε μεγάλες συγκεντρώσεις υποστρώματος, όπου η ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης τείνει σε μια μέγιστη σταθερή τιμή που είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση του υποστρώματος $[S]$. K_m είναι η σταθερά Michaelis [55, 467].

Το μοντέλο των Michaelis-Menten προβλέπει πως μεταξύ υποστρώματος και προϊόντων παρεμβάλλεται το σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος.



Έτσι, η K_m σύμφωνα με την αρχική παραγωγή των Michaelis και Menten είναι η σταθερά διάστασης του συμπλόκου ενζύμου-υποστρώματος ES και ισούται με το λόγο k_1/k_2 . Η K_m ορίζεται συνήθως ως η συγκέντρωση εκείνη του υποστρώματος όπου η ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης είναι η μισή της μέγιστης.

Σε σχετικά μικρές συγκεντρώσεις του S , όταν δηλαδή $[S]_o \ll K_m$, η εξίσωση 4.18 ανάγεται στην:

$$r_o = \frac{V[S]_o}{K_m} \quad 4.20$$

η οποία προβλέπει γραμμική εξάρτηση του r_o από το $[S]_o$. Αντίθετα, όταν το $[S]_o$ είναι σχετικά μεγάλο, δηλαδή $[S]_o \gg K_m$ η 4.18 ανάγεται στην:

$$r_o = k[E]_o \quad 4.21$$

η οποία είναι μηδενικής τάξης ως προς τη συγκέντρωση του υποστρώματος [55, 467].

Στη συγκεκριμένη περίπτωση η K_m αντιπροσωπεύει τη σταθερά του συμπλόκου $HYDA-MV^{+2}$. Από το μισό της μέγιστης ταχύτητας του σχήματος 4.45 υπολογίστηκε η τιμή της K_m και βρέθηκε ίση με $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Η τιμή αυτή δείχνει τη μεγάλη συγγένεια του MV^{+2} με τα

ένζυμα υδρογενάσης, αφού είναι γνωστό πως όσο πιο μικρή η τιμή της K_m , τόσο μικρότερες συγκεντρώσεις υποστρώματος απαιτούνται για τον κορεσμό του ενζύμου με υπόστρωμα [55].

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία ανάπτυχθηκε μια νέα μεθοδολογία, η οποία συνδυάζει την ενζυματική παραγωγή υδρογόνου με τη φωτοηλεκτροχημική διάσπαση οργανικών ρύπων. Για την υλοποίηση της μεθόδου κατασκευάστηκε και παρουσιάστηκε, για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία [411, 412], ένα υβριδικό φωτοηλεκτροχημικό-ενζυματικό σύστημα, στο οποίο, ταυτόχρονα με την παραγωγή υδρογόνου στο καθοδικό του τμήμα από τα ένζυμα υδρογενάσης, στο ανοδικό τμήμα λαμβάνει χώρα η φωτοηλεκτροκαταλυτική οξειδωση οργανικών ρύπων. Ο κύριος στόχος της εργασίας ήταν η αντικατάσταση των πολύπλοκων φυσικών συστημάτων (PSII, PSI, FDX κ.α.) που λειτουργούν κατά τη φωτοσύνθεση με μια ημιαγώγιμη άνοδο, η οποία επιπλέον, υπό την επίδραση ακτινοβολίας, μπορεί ταυτόχρονα και να οξειδώνει οργανικές ενώσεις. Επίσης, καινοτομία αποτελεί το γεγονός πως στο καθοδικό τμήμα δε χρησιμοποιήθηκαν καθαρά ένζυμα, αλλά ολόκληρα τα ευκαριωτικά κύτταρα *Chlamydomonas Reinhardtii*, τα οποία μπορούν και εκφράζουν τα ένζυμα υδρογενάσης.

Πρόκειται για μια μέθοδο τεχνητής φωτοσύνθεσης, η οποία έχει τη δυνατότητα να αξιοποιεί την ηλιακή ακτινοβολία για την αντιμετώπιση της περιβαλλοντικής ρύπανσης, με ταυτόχρονη παραγωγή ενός καθαρού καυσίμου, όπως είναι το υδρογόνο. Η κατανόηση και η αντιγραφή των φυσικών συστημάτων, τα οποία η φύση έχει αναπτύξει εδώ και δισεκατομμύρια χρόνια, αποτελούν το «κλειδί» για την ανάπτυξη μεθόδων φιλικών και σε αρμονία με το φυσικό περιβάλλον, πράγμα που θα συμβάλλει σε μια βιώσιμη οικονομική και κοινωνική εξέλιξη της ανθρωπότητας.

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν στο κεφάλαιο 4 εξάγονται σημαντικά συμπεράσματα, τα οποία συνοψίζονται παρακάτω. Γίνεται επίσης αναφορά σε προτάσεις για περαιτέρω μελέτη αλλά και βελτιστοποίηση της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής μεθόδου.

5.1 Γενικά συμπεράσματα

Ανοδος

- ❖ Ως ηλεκτρόδιο φωτοανόδου παρασκευάστηκε μικροσωματιδιακό ηλεκτρόδιο TiO_2 επιφάνειας 55 cm^2 με τη μέθοδο του dip-coating με θέρμανση στους $500 \text{ }^\circ\text{C}$ για $1\frac{1}{2}$ ώρα. Η πυκνότητα φωτορεύματος του ηλεκτροδίου TiO_2 παρουσία 10 mg L^{-1} Χλωραμφενικόλης ήταν $31.02 \mu\text{A cm}^{-2}$ σε εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης $+1.5 \text{ V vs Ag/AgCl}$. Το E_{fb} βρέθηκε $0.440 \text{ V vs Ag/AgCl}$ στα 100 Hz και ο αριθμός των δοτών N_D ίσος με $2.09 \cdot 10^{18}$. Ο φωτισμός της ανόδου πραγματοποιήθηκε μόνο με UV-A ακτινοβολία μήκους κύματος 365 nm και έντασης 3.9 mW cm^{-2} .
- ❖ Βέλτιστη τιμή pH για την οξειδωση της Χλωραμφενικόλης ήταν 5.6 και εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης $+1.5 \text{ V vs Ag/AgCl}$.

-
- ❖ Βέλτιστος αρχικός ρυθμός οξειδωσης της Χλωραμφενικόλης ήταν $r_o=0.04876\pm 3.4 \cdot 10^{-4} \text{ mg L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ σε φυσικό pH και εφαρμοζόμενο δυναμικό πόλωσης από 0.5 V έως +1.5 V vs Ag/AgCl.
 - ❖ Η φωτοηλεκτροκαταλυτική οξειδωσης της Χλωραμφενικόλης από τη φωτοάνοδο TiO_2 βρέθηκε ότι είναι ψευδοπρώτης τάξης και βασίζεται στο μοντέλο των Langmuir-Hinshelwood. Οι τιμές των k_r και K ήταν $0.0758 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ και 0.171 mg L^{-1} , αντίστοιχα.

Κάθοδος

Θρεπτικό υλικό Sueoka

- ❖ Επιβεβαιώθηκε η έκφραση των ενζύμων υδρογενάσης (HYDA1, HYDA2, HYDA3) μέσα σε 24 ώρες από το σφράγισμα της ΦΗΚ_{καθ.}, με τη μέθοδο της RT-PCR. Η φωτοβιολογική παραγωγή υδρογόνου από τις καλλιέργειες άλγεων σε Sueoka-SF ξεκινά ύστερα από 24 ώρες μετά το σφράγισμα της ΦΗΚ_{καθ.}, συνεχίστηκε ως την τέταρτη μέρα φωτισμού και έφτασε τα 20% ο/ο.

Θρεπτικό υλικό TAP-SF

- ❖ Επιβεβαιώθηκε με την μέθοδο της RT-PCR η έκφραση των ενζύμων υδρογενάσης HYDA1 και HYDA2 μέσα σε 12-36 ώρες από το σφράγισμα της ΦΗΚ_{καθ.}, ενώ η πλήρης έκφρασή τους συμβαίνει στις 12 πρώτες ώρες. Η HYDA3 εκφράζεται πλήρως ύστερα από 24 ώρες. Η φωτοβιολογική παραγωγή υδρογόνου από τις καλλιέργειες άλγεων σε TAP-SF ξεκίνησε μέσα σε μερικές ώρες από το σφράγισμα της ΦΗΚ_{καθ.}, συνεχίστηκε ως την τρίτη ημέρα φωτισμού και έφτασε τα 35% ο/ο.

Συμπερασματικά, το θρεπτικό υλικό TAP είναι καταλληλότερο θρεπτικό υλικό ανάπτυξης των άλγεων, περιέχει όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, όπως και καλύτερες ρυθμιστικές ιδιότητες (Tris-acetate) σε σχέση με το θρεπτικό Sueoka.

Φωτοηλεκτροχημική-ενζυματική κυψέλη

Οξειδωση φυτοφαρμάκου Imidacloprid και ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου σε Sueoka-SF

- ❖ Η οξειδωση και η ανοργανοποίηση 20 mg L^{-1} φυτοφαρμάκου Imidacloprid έφτασαν το 80% και 45%, αντίστοιχα, ύστερα από 3 ώρες φωτισμού της φωτοάνοδου TiO_2 , σε δυναμικό πόλωσης +1 V vs Ag/AgCl και πυκνότητα φωτορεύματος περίπου $30 \mu\text{A cm}^{-2}$.
- ❖ Ταυτόχρονα, στο καθοδικό τμήμα της κυψέλης, παράχθηκαν σε Sueoka-SF, παρουσία $\sim 3.5 \cdot 10^6$ κυττάρων mL^{-1} ($\sim 2.38 \cdot 10^{-2}$ units), 3.2 mM Triton X 100 και 1 mM MV^{+2} , περίπου $5 \mu\text{mol H}_2$ στα πρώτα 45 λεπτά φωτισμού της ανόδου. Ο ρυθμός παραγωγής υδρογόνου ήταν ίσος με $0.11 \mu\text{mol H}_2 \text{ min}^{-1}$. $\text{IPC}_{\text{H}_2}\text{E}=0.6\%$.

- ❖ Η συνολική παραγωγή υδρογόνου αυξάνει γραμμικά με την ενεργότητα των ενζύμων υδρογενάσης, με ρυθμό $1.575 \mu\text{mol H}_2 \text{ min}^{-1} \text{ units}^{-1}$.
- ❖ Τα ένζυμα υδρογενάσης απενεργοποιούνται ύστερα από 45 λεπτά λειτουργίας της κυψέλης.
- ❖ Δεν παρατηρήθηκε φωτοηλεκτροκαταλυτική παραγωγή υδρογόνου στην κάθοδο λόγω της ευνοϊκότερης αναγωγής του MV^{+2} προς την κατιονική του ρίζα, MV^{+} .

Οξειδωση αντιβιοτικού Χλωραμφενικόλη και ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου σε TAP-SF

- ❖ Η οξειδωση και η ανοργανοποίηση 10 mg L^{-1} αντιβιοτικού Χλωραμφενικόλη ήταν **100%** και **50%**, αντίστοιχα, ύστερα από 8 ώρες φωτισμού της ανόδου TiO_2 , σε δυναμικό πόλωσης **+0.6 V vs Ag/AgCl** και πυκνότητα φωτορεύματος περίπου **28 $\mu\text{A cm}^{-2}$** .
- ❖ Ταυτόχρονα, στο καθοδικό τμήμα της κυψέλης παράχθηκαν σε TAP-SF, παρουσία $\sim 1.9 \cdot 10^7$ κυττάρων mL^{-1} ($\sim 1.75 \cdot 10^{-2}$ units), $0.4 \text{ mM Triton X 100}$ και 0.010 mM MV^{+2} , περίπου **110 $\mu\text{mol H}_2$** σε 7.5 ώρες φωτισμού της ανόδου, δηλαδή ρυθμός παραγωγής υδρογόνου ίσος με $0.24 \mu\text{mol H}_2 \text{ min}^{-1}$. $\text{IPC}_{\text{H}_2}\text{E}=\mathbf{1.56\%}$.
- ❖ Τα ένζυμα υδρογενάσης λειτουργούν για τουλάχιστον 7.5 ώρες φωτισμού της ανόδου.
- ❖ Παρατηρήθηκε φωτοηλεκτροκαταλυτική παραγωγή υδρογόνου λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης MV^{+2} , η οποία αποτελεί το 59% της συνολικής παραγωγής. Το υπόλοιπο 41% οφείλεται σε ενίσχυση από τον οξειδοαναγωγικό ενζυμικό κύκλο HYDA-MV^{+2} .
- ❖ Η ενεργότητα των ενζύμων υδρογενάσης αυξάνει γραμμικά με την αύξηση της συγκέντρωσης των άλγεων. Επιπλέον, παρατηρήθηκε η γραμμική εξάρτηση της παραγωγής υδρογόνου από την ενεργότητα των ενζύμων, η οποία είχε ρυθμό $7.33 \mu\text{mol H}_2 \text{ min}^{-1} \text{ unit}^{-1}$.
- ❖ Η αύξηση της συγκέντρωσης του απορρυπαντικού Triton X 100 μειώνει την παραγωγή υδρογόνου λόγω παρεμπόδισης του ενεργού κέντρου των ενζύμων.
- ❖ Το MV^{+2} , εκτός από διαμεσολαβητής φορτίου μεταξύ του ηλεκτροδίου της καθόδου και των ενζύμων υδρογενάσης, παρουσιάζει συμπεριφορά υποστρώματος της ενζυμικής αντίδρασης έκλυσης υδρογόνου σε σταθερό pH. Σύμφωνα με το κινητικό μοντέλο των Michaelis-Menten, η K_m του MV^{+2} βρέθηκε ίση με $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Η τιμή αυτή δείχνει την υψηλή συγγένεια του MV^{+2} με τα ένζυμα υδρογενάσης.

Συμπερασματικά, ο χρόνος ζωής και η απόδοση των ενζύμων υδρογενάσης αυξήθηκε σημαντικά σε θεραπευτικό υλικό TAP-SF και η μέγιστη απόδοση του συστήματος ορισμένη ως $\text{IPC}_{\text{H}_2}\text{E}$ αυξήθηκε από 0.6% (σε Sueoka-SF) σε 1.56%.

5.2 Περαιτέρω έρευνα

Η σύζευξη των φωτοσυνθετικών με τις φωτοηλεκτροχημικές μεθόδους έδειξε πως είναι δυνατή η ανάπτυξη μιας μεθόδου, η οποία μιμείται πρακτικά τη φύση και μπορεί να συμβάλλει στην αντιμετώπιση της ρύπανσης, αλλά και στην παραγωγή ενός καυσίμου, όπως είναι το υδρογόνο. Η ανάγκη βελτιστοποίησης της μεθόδου είναι δεδομένη και στη συνέχεια προτείνονται συγκεκριμένες κατευθύνσεις στις οποίες πρέπει να στραφεί η αύξηση της απόδοσης της φωτοηλεκτροχημικής-ενζυματικής μεθόδου.

Ανοδος

- ❖ Η σημαντικότερη ίσως παράμετρος της μεθόδου είναι το φωτο-παραγόμενο ρεύμα. Το ρεύμα αυτό καθορίζει την φωτοηλεκτροκαταλυτική ικανότητα του ηλεκτροδίου ως προς την οξειδωση οργανικών ενώσεων, αλλά και την παραγωγή υδρογόνου στο καθοδικό τμήμα της κυψέλης. Η παρασκευή ημιαγωγικών ηλεκτροδίων που απορροφούν σε μήκη κύματος ορατής ακτινοβολίας, όπως επίσης και η μείωση του ρυθμού επανασύνδεσης των ζευγών e^-h^+ είναι ιδιαίτερα σημαντικές παράμετροι. Ενισχύοντας τις παραμέτρους αυτές, αναμένεται η αύξηση της απόδοσης μετατροπής του φωτός σε ρεύμα, μεταφορά του φάσματος απορρόφησης του ημιαγωγού προς την ορατή περιοχή ακτινοβολιών, όπως επίσης και η μείωση της υπέρτασης του ανοδικού ηλεκτροδίου.

Κάθοδος

- ❖ Η ενζυμική παραγωγή υδρογόνου εξαρτάται κυρίως από τα ένζυμα υδρογενάσης. Η παρασκευή ενζύμων υδρογενάσης ανθεκτικών στο οξυγόνο θα απλοποιήσει τη σχεδίαση του καθοδικού τμήματος και θα αυξήσει την ευκολία χειρισμού, αλλά και ελέγχου των συνθηκών της κυψέλης.
- ❖ Ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας είναι το καθοδικό ηλεκτρόδιο. Η αύξηση της επιφάνειας του γραφίτη, ενδεχομένως και του βαθμού προσρόφησης των ενζύμων υδρογενάσης, αποτελούν σημαντικά σημεία βελτιστοποίησης της μεθόδου.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Armaroli, N. and V. Balzani, *The Future of Energy Supply: Challenges and Opportunities*. Angewandte Chemie International Edition, 2007. **46**(1-2): p. 52-66.
2. Jefferson, M., *Sustainable energy development: performance and prospects*. Renewable Energy, 2006. **31**(5): p. 571-582.
3. Kapdan, I.K. and F. Kargi, *Bio-hydrogen production from waste materials*. Enzyme and Microbial Technology, 2006. **38**(5): p. 569-582.
4. Grimes, C.A., O.K. Varghese, and S. Ranjan, *Light, Water, Hydrogen - The Solar Generation of Hydrogen by Water Photoelectrolysis*. 2008, New York: Springer Science + Business Media, LLC.
5. Roel van de Krol and M. Grätzel, *Photoelectrochemical Hydrogen Production*. Electronic Materials: Science & Technology, ed. H.L. Tuller. 2012, New York Dordrecht Heidelberg London: Springer.
6. Peter, T., *A Thousand Barrels A Second: The Coming Oil Break Point and the Challenges Facing an Energy Dependent World*. 2006, New York: McGraw Hill.
7. Kerr, R.A. and R.F. Service, *What Can Replace Cheap Oil--and When?* Science, 2005. **309**(5731): p. 101.
8. Roman J. Press, et al., *Introduction to Hydrogen Technology*. 2009, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
9. Wackernagel, M., et al., *Tracking the ecological overshoot of the human economy*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2002. **99**(14): p. 9266-9271.
10. Bockris, J.O.m., *Energy, the Solar-Hydrogen Alternative*. 1976, London: Architectural Press.
11. Benemann, J., *Hydrogen biotechnology: Progress and prospects*. Nat Biotech, 1996. **14**(9): p. 1101-1103.
12. Abraham, S., *Towards a more secure and cleaner energy future for America: National hydrogen energy roadmap: production, delivery, storage, conversion, applications, public education and outreach*. 2002, Washington, DC: U.S. Department of Energy.
13. Lewis, N.S. and D.G. Nocera, *Powering the planet: Chemical challenges in solar energy utilization*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006. **103**(43): p. 15729-15735.
14. Cammack R., Frey M., and R. R., *Hydrogen as a fuel, and the prospects for a cleaner planet*. 2001, London & New York: Taylor & Francis.
15. Lubitz, W. and W. Tumas, *Hydrogen: An Overview*. Chemical Reviews, 2007. **107**(10): p. 3900-3903.
16. Fujishima, A. and K. Honda, *Electrochemical Photolysis of Water at a Semiconductor Electrode*. Nature, 1972. **238**(5358): p. 37-38.

-
17. Grigoriev, S.A., V.I. Poremsky, and V.N. Fateev, *Pure hydrogen production by PEM electrolysis for hydrogen energy*. International Journal of Hydrogen Energy, 2006. **31**(2): p. 171-175.
 18. Bak, T., et al., *Photo-electrochemical hydrogen generation from water using solar energy. Materials-related aspects*. International Journal of Hydrogen Energy, 2002. **27**(10): p. 991-1022.
 19. Bolton, J.R., *Solar photoproduction of hydrogen: A review*. Solar Energy, 1996. **57**(1): p. 37-50.
 20. Nozik, A.J., *Photoelectrolysis of water using semiconducting TiO₂ crystals*. Nature, 1975. **257**(5525): p. 383-386.
 21. Cuendet, P. and M. Grätzel, *Artificial photosynthetic systems*. Experientia, 1982. **38**(2): p. 223-228.
 22. Melis, A., et al., *Sustained Photobiological Hydrogen Gas Production upon Reversible Inactivation of Oxygen Evolution in the Green Alga Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Physiology, 2000. **122**(1): p. 127-136.
 23. Weaver, P.F., S. Lien, and M. Seibert, *Photobiological production of hydrogen*. Solar Energy, 1980. **24**(1): p. 3-45.
 24. Volkov, A.G., et al., *Nanodevices in nature: Electrochemical aspects*. Electrochimica Acta, 2007. **52**(8): p. 2905-2912.
 25. Gaffron, H. and J. Rubin, *FERMENTATIVE AND PHOTOCHEMICAL PRODUCTION OF HYDROGEN IN ALGAE*. The Journal of General Physiology, 1942. **26**(2): p. 219-240.
 26. Rupprecht, J., et al., *Perspectives and advances of biological H₂ production in microorganisms*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006. **72**(3): p. 442-449.
 27. Das, D. and T.N. Veziroğlu, *Hydrogen production by biological processes: a survey of literature*. International Journal of Hydrogen Energy, 2001. **26**(1): p. 13-28.
 28. Adams, M.W.W., *The structure and mechanism of iron-hydrogenases*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 1990. **1020**(2): p. 115-145.
 29. Engels, H., et al., *Thermochemical hydrogen production*. International Journal of Hydrogen Energy, 1987. **12**(5): p. 291-295.
 30. Perkins, C. and A.W. Weimer, *Likely near-term solar-thermal water splitting technologies*. International Journal of Hydrogen Energy, 2004. **29**(15): p. 1587-1599.
 31. E. Funk, J., *Thermochemical hydrogen production: past and present*. International Journal of Hydrogen Energy, 2001. **26**(3): p. 185-190.
 32. Steinfeld, A., *Solar thermochemical production of hydrogen—a review*. Solar Energy, 2005. **78**(5): p. 603-615.
 33. Costogoue, E.N. and R.K. Yasui, *Performance data for a terrestrial solar photovoltaic water electrolysis experiment*. Solar Energy, 1977. **19**(2): p. 205-210.
 34. Carpetis, C., *A study of water electrolysis with photovoltaic solar energy conversion*. International Journal of Hydrogen Energy, 1982. **7**(4): p. 287-310.
-

35. Conibeer, G.J. and B.S. Richards, *A comparison of PV/electrolyser and photoelectrolytic technologies for use in solar to hydrogen energy storage systems*. International Journal of Hydrogen Energy, 2007. **32**(14): p. 2703-2711.
36. Khaselev, O., A. Bansal, and J.A. Turner, *High-efficiency integrated multijunction photovoltaic/electrolysis systems for hydrogen production*. International Journal of Hydrogen Energy, 2001. **26**(2): p. 127-132.
37. Jian, L., et al., *Water Splitting in Low-Temperature Ac Plasmas At Atmospheric Pressure*. Research on Chemical Intermediates, 2000. **26**(9): p. 849-874.
38. Givotov, V.K., et al., *Plasmochemical methods of hydrogen production*. International Journal of Hydrogen Energy, 1981. **6**(5): p. 441-449.
39. Chen, X., et al., *H₂O Splitting in Tubular PACT (Plasma and Catalyst Integrated Technologies) Reactors*. Journal of Catalysis, 2001. **201**(2): p. 198-205.
40. Ikeda, S., et al., *Mechano-catalytic overall water splitting*. Chemical Communications, 1998(20): p. 2185-2186.
41. Ohta, T., *On the theory of mechano-catalytic water-splitting system*. International Journal of Hydrogen Energy, 2000. **25**(10): p. 911-917.
42. Swiatla-Wojcik, D. and G.V. Buxton, *On the possible role of the reaction in the radiolysis of water at high temperatures*. Radiation Physics and Chemistry, 2005. **74**(3-4): p. 210-219.
43. Mikio, N. and N.M. Masaki, *Radiolytic hydrogen gas formation from water adsorbed on type Y zeolites*. Radiation Physics and Chemistry, 1996. **47**(2): p. 241-245.
44. Katsumura, Y., et al., *Fast neutron radiolysis of water at elevated temperatures relevant to water chemistry*. Progress in Nuclear Energy, 1998. **32**(1-2): p. 113-121.
45. WHO and UNICEF, *Joint Monitoring Programme. Global water supply and sanitation assessment, report*, 2000.
46. Θ. Κουιμπζής, Κ. Φυτιάνος, and Κ. Σαμαρά-Κωνσταντίνου, *Χημεία περιβάλλοντος*. 1998, Θεσσαλονίκη: University Studio Press.
47. Jardim, W.F., S.G. Moraes, and M.M.K. Takiyama, *Photocatalytic degradation of aromatic chlorinated compounds using TiO₂: Toxicity of intermediates*. Water Research, 1997. **31**(7): p. 1728-1732.
48. Pelizzetti, E., et al., *Photocatalytic degradation of atrazine and other s-triazine herbicides*. Environmental Science & Technology, 1990. **24**(10): p. 1559-1565.
49. Mascolo, G., et al., *Prometryne Oxidation by Sodium Hypochlorite in Aqueous Solution: Kinetics and Mechanism*. Environmental Science & Technology, 1995. **29**(12): p. 2987-2991.
50. Parsons, S., *Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment*. 2004, UK: IWA Publishing.

-
51. Scoma, A., *Physiology and Biotechnology of the Hydrogen Production with the Green Microalga Chlamydomonas reinhardtii*, in *Biological, Biomedical and Biotechnological Sciences 2010*, Università di Bologna: Bologna.
 52. Bendall, D.S., *Evolution from molecules to men*. 1986, Cambridge: Cambridge university press.
 53. Lawlor, D.W., *Photosynthesis*. Third ed. 2001, U.S.A.: BIOS Scientific Publishers Ltd.
 54. Schopf, J.W., *The evolution of the earliest cells*. Scientific American, 1978. **239**: p. 84-103.
 55. Γεωργιάτσου, Ι.Γ., *Εισαγωγή στη Βιοχημεία*. Πέμπτη ed. 2001, Θεσσαλονίκη: Γιαχούδη - Γιαπούλη.
 56. Anthony F. Collings and C. Critchley, *Artificial Photosynthesis - From Basic Biology to Industrial Application*. 2005, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
 57. Junge, W., H. Lill, and S. Engelbrecht, *ATP synthase: an electrochemical ransducer with rotatory mechanics*. Trends in Biochemical Sciences, 1997. **22**(11): p. 420-423.
 58. R. C. Leegood, T. D. Sharkey, and S.v. Caemmerer, *Photosynthesis: Physiology and Metabolism, Advances in Photosynthesis*. 2000, Kluwer: Dordrecht.
 59. Hoppe-Sayler, *Die Methangärung der essigsäure*. Zeitschrift für Physikalische Chemie, 1887. **11**.
 60. Hollaender A., et al., *An inquiry into biological energy conversion*. 1972, Gatlinburg: NSFRANN.
 61. Gibbs M., et al., *Proc Workshop of Biosolar Conversion*. 1973, Bloomington: Indiana University.
 62. Gaffron H., *Reduction of CO₂ with H₂ in green plants*. Nature, 1939. **143**: p. 204205.
 63. Gaffron H., *Carbon dioxide reduction with molecular hydrogen in green algae*. American Journal of Botany, 1940. **27**: p. 273283.
 64. Boichenko V. A., Greenbaum E., and Seibert M., *Hydrogen Production by Photosynthetic Microorganisms*. Photoconversion of Solar Energy: Molecular to Global Photosynthesis. 2004, London: Imperial College Press.
 65. Ghirardi, M., R. Togasaki, and M. Seibert, *Oxygen sensitivity of algal H₂- production*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1997. **63-65**(1): p. 141-151.
 66. Ghirardi, M.L., et al., *Microalgae: a green source of renewable H₂*. Trends in biotechnology, 2000. **18**(12): p. 506-511.
 67. Florin, L., A. Tsokoglou, and T. Happe, *A Novel Type of Iron Hydrogenase in the Green Alga Scenedesmus obliquus Is Linked to the Photosynthetic Electron Transport Chain*. Journal of Biological Chemistry, 2001. **276**(9): p. 6125-6132.
 68. Happe, T. and A. Kaminski, *Differential regulation of the Fe-hydrogenase during anaerobic adaptation in the green alga Chlamydomonas reinhardtii*. European Journal of Biochemistry, 2002. **269**(3): p. 1022-1032.

-
69. Forestier, M., et al., *Expression of two [Fe]-hydrogenases in Chlamydomonas reinhardtii under anaerobic conditions*. European Journal of Biochemistry, 2003. **270**(13): p. 2750-2758.
70. Melis, A., *Photosynthetic H₂ metabolism in Chlamydomonas reinhardtii (unicellular green algae)*. Planta, 2007. **226**(5): p. 1075-1086.
71. Ludwig, M., R. Schulz-Friedrich, and J. Appel, *Occurrence of Hydrogenases in Cyanobacteria and Anoxygenic Photosynthetic Bacteria: Implications for the Phylogenetic Origin of Cyanobacterial and Algal Hydrogenases*. Journal of Molecular Evolution, 2006. **63**(6): p. 758-768.
72. Frey, M., *Hydrogenases: Hydrogen-Activating Enzymes*. ChemBioChem, 2002. **3**(2-3): p. 153-160.
73. Armstrong, F.A., et al., *Dynamic electrochemical investigations of hydrogen oxidation and production by enzymes and implications for future technology*. Chemical Society Reviews, 2009. **38**(1): p. 36-51.
74. Vignais, P.M., B. Billoud, and J. Meyer, *Classification and phylogeny of hydrogenases1*. FEMS Microbiology Reviews, 2001. **25**(4): p. 455-501.
75. Nicolet, Y., et al., *Crystallographic and FTIR Spectroscopic Evidence of Changes in Fe Coordination Upon Reduction of the Active Site of the Fe-Only Hydrogenase from Desulfovibrio desulfuricans*. Journal of the American Chemical Society, 2001. **123**(8): p. 1596-1601.
76. Harris, E.H., *The Chlamydomonas Sourcebook*. Second ed. 2009: Academic Press, Elsevier Inc.
77. Winkler, M., et al., *The Isolation of Green Algal Strains with Outstanding H₂-Productivity*, in *Biohydrogen III*, M. Jun, et al., Editors. 2004, Elsevier Science: Amsterdam. p. 103-115.
78. Happe, T., B. Mosler, and J.D. Naber, *Induction, localization and metal content of hydrogenase in the green alga Chlamydomonas reinhardtii*. European Journal of Biochemistry, 1994. **222**(3): p. 769-774.
79. Mus, F., et al., *Anaerobic Acclimation in Chlamydomonas reinhardtii: ANOXIC GENE EXPRESSION, HYDROGENASE INDUCTION, AND METABOLIC PATHWAYS*. Journal of Biological Chemistry, 2007. **282**(35): p. 25475-25486.
80. Posewitz, M.C., et al., *Discovery of Two Novel Radical S-Adenosylmethionine Proteins Required for the Assembly of an Active [Fe] Hydrogenase*. Journal of Biological Chemistry, 2004. **279**(24): p. 25711-25720.
81. Posewitz, M.C., et al., *Hydrogen Photoproduction Is Attenuated by Disruption of an Isoamylase Gene in Chlamydomonas reinhardtii*. The Plant Cell Online, 2004. **16**(8): p. 2151-2163.
-

-
82. Roessler, P. and S. Lien, *Effects of electron mediator charge properties on the reaction kinetics of hydrogenase from Chlamydomonas*. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1984. **230**(1): p. 103-109.
83. Maione, T.E. and M. Gibbs, *Hydrogenase-Mediated Activities in Isolated Chloroplasts of Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Physiology, 1986. **80**(2): p. 360-363.
84. Ghirardi ML, et al. *Two phase photobiological algal H₂ production system*. in *Proceedings of the 2000 DOE Hydrogen Program Review*. 2000a.
85. Abeles, F.B., *Cell-free Hydrogenase from Chlamydomonas*. Plant Physiol, 1964. **39**(2): p. 169-76.
86. Erbes, D.L., D. King, and M. Gibbs, *Inactivation of Hydrogenase in Cell-free Extracts and Whole Cells of Chlamydomonas reinhardtii by Oxygen*. Plant Physiology, 1979. **63**(6): p. 1138-1142.
87. Happe, T. and J.D. Naber, *Isolation, characterization and N-terminal amino acid sequence of hydrogenase from the green alga Chlamydomonas reinhardtii*. European Journal of Biochemistry, 1993. **214**(2): p. 475-481.
88. Cohen, J., et al., *Finding Gas Diffusion Pathways in Proteins: Application to O₂ and H₂ Transport in Cpl [FeFe]-Hydrogenase and the Role of Packing Defects*. Structure, 2005. **13**(9): p. 1321-1329.
89. King, P.W., et al. *Structural and functional investigations of biological catalysts for optimization of solar-driven H₂ production systems*. 2006.
90. Lee, J. and E. Greenbaum, *A new oxygen sensitivity and its potential application in photosynthetic H₂ production*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2003. **106**(1-3): p. 303-313.
91. Melis, A. and T. Happe, *Hydrogen Production. Green Algae as a Source of Energy*. Plant Physiology, 2001. **127**(3): p. 740-748.
92. Antal, T.K., et al., *The dependence of algal H₂ production on Photosystem II and O₂ consumption activities in sulfur-deprived Chlamydomonas reinhardtii cells*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 2003. **1607**(2-3): p. 153-160.
93. Tsygankov, A., et al., *Hydrogen photoproduction under continuous illumination by sulfur-deprived, synchronous Chlamydomonas reinhardtii cultures*. International Journal of Hydrogen Energy, 2002. **27**(11-12): p. 1239-1244.
94. Zhang, L. and A. Melis, *Probing green algal hydrogen production*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2002. **357**(1426): p. 1499-507; discussion 1507-11.
95. Kosourov, S., et al., *Sustained hydrogen photoproduction by Chlamydomonas reinhardtii: Effects of culture parameters*. Biotechnology and Bioengineering, 2002. **78**(7): p. 731-740.
96. Kosourov, S., M. Seibert, and M.L. Ghirardi, *Effects of Extracellular pH on the Metabolic Pathways in Sulfur-Deprived, H₂-Producing Chlamydomonas reinhardtii Cultures*. Plant and Cell Physiology, 2003. **44**(2): p. 146-155.
-

97. Ley, A.C. and D.C. Mauzerall, *Absolute absorption cross-sections for Photosystem II and the minimum quantum requirement for photosynthesis in Chlorella vulgaris*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 1982. **680**(1): p. 95-106.
98. Greenbaum, E., *Energetic Efficiency of Hydrogen Photoevolution by Algal Water Splitting*. Biophysical journal, 1988. **54**(2): p. 365-368.
99. Ghirardi, M.L., et al. *[FeFe]-hydrogenases and photobiological hydrogen production*. 2006.
100. Amos, W., *Updated cost analysis of photobiological hydrogen production from Chlamydomonas reinhardtii green algae*, 2004, NREL/MP-560-35593.
101. Hahn, J.J., M.L. Ghirardi, and W.A. Jacoby, *Effect of Process Variables on Photosynthetic Algal Hydrogen Production*. Biotechnology Progress, 2004. **20**(3): p. 989-991.
102. Jo, J.H., D.S. Lee, and J.M. Park, *Modeling and Optimization of Photosynthetic Hydrogen Gas Production by Green Alga Chlamydomonas reinhardtii in Sulfur-Deprived Circumstance*. Biotechnology Progress, 2006. **22**(2): p. 431-437.
103. Godde, D. and A. Trebst, *NADH as electron donor for the photosynthetic membrane of Chlamydomonas reinhardtii*. Archives of Microbiology, 1980. **127**(3): p. 245-252.
104. Bennoun, P., *Chlororespiration, sixteen years later*. The Molecular Biology of Chloroplasts and Mitochondria in Chlamydomonas, ed. J. D. Rochaix, M. Goldschmidt-Clermont, and S. Merchant. 1998, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
105. Cournac, L., et al., *Limiting steps of hydrogen production in Chlamydomonas reinhardtii and Synechocystis PCC 6803 as analysed by light-induced gas exchange transients*. International Journal of Hydrogen Energy, 2002. **27**(11-12): p. 1229-1237.
106. Mus F., et al., *Inhibitor studies on nonphotochemical plastoquinone reduction and H₂ photoproduction in Chlamydomonas reinhardtii*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA), 2005. **1708**: p. 322-332.
107. Redding, K., et al., *Photosystem I Is Indispensable for Photoautotrophic Growth, CO₂ Fixation, and H₂ Photoproduction in Chlamydomonas reinhardtii*. Journal of Biological Chemistry, 1999. **274**(15): p. 10466-10473.
108. Beer, L.L., et al., *Engineering algae for biohydrogen and biofuel production*. Current Opinion in Biotechnology, 2009. **20**(3): p. 264-271.
109. Gfeller, R.P. and M. Gibbs, *Fermentative Metabolism of Chlamydomonas reinhardtii: I. Analysis of Fermentative Products from Starch in Dark and Light*. Plant Physiology, 1984. **75**(1): p. 212-218.
110. Ohta, S., K. Miyamoto, and Y. Miura, *Hydrogen Evolution as a Consumption Mode of Reducing Equivalents in Green Algal Fermentation*. Plant Physiology, 1987. **83**(4): p. 1022-1026.

-
111. Kreuzberg, K., *Starch fermentation via a formate producing pathway in Chlamydomonas reinhardtii, Chlorogonium elongatum and Chlorella fusca*. *Physiologia Plantarum*, 1984. **61**(1): p. 87-94.
 112. Saint-Amans, S., et al., *Regulation of Carbon and Electron Flow in Clostridium butyricum VPI 3266 Grown on Glucose-Glycerol Mixtures*. *Journal of Bacteriology*, 2001. **183**(5): p. 1748-1754.
 113. Dyall, S.D., et al., *Non-mitochondrial complex I proteins in a hydrogenosomal oxidoreductase complex*. *Nature*, 2004. **431**(7012): p. 1103-1107.
 114. Chochois, V., et al., *Hydrogen Production in Chlamydomonas: Photosystem II-Dependent and -Independent Pathways Differ in Their Requirement for Starch Metabolism*. *Plant Physiology*, 2009. **151**(2): p. 631-640.
 115. Antal, T.K., et al., *Relationships between H₂ photoproduction and different electron transport pathways in sulfur-deprived Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2009. **34**(22): p. 9087-9094.
 116. Atteia, A., et al., *Pyruvate Formate-lyase and a Novel Route of Eukaryotic ATP Synthesis in Chlamydomonas Mitochondria*. *Journal of Biological Chemistry*, 2006. **281**(15): p. 9909-9918.
 117. Hemschemeier A and Happe T, *The exceptional photofermentative hydrogen metabolism of the green alga Chlamydomonas reinhardtii*. *Biochem Soc Trans*, 2005. **33**(1): p. 39-41.
 118. Antal, T.K., et al., *The Relationship between the Photosystem 2 Activity and Hydrogen Production in Sulfur Deprived Chlamydomonas reinhardtii Cells*. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2001. **381**(1-6): p. 371-374.
 119. Fouchard, S., et al., *Autotrophic and Mixotrophic Hydrogen Photoproduction in Sulfur-Deprived Chlamydomonas Cells*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005. **71**(10): p. 6199-6205.
 120. Kruse, O., et al., *Improved Photobiological H₂ Production in Engineered Green Algal Cells*. *Journal of Biological Chemistry*, 2005. **280**(40): p. 34170-34177.
 121. Hemschemeier, A., et al., *Hydrogen production by Chlamydomonas reinhardtii: an elaborate interplay of electron sources and sinks*. *Planta*, 2008. **227**(2): p. 397-407.
 122. Gerischer H., *Solar photoelectrolysis with semiconductor electrodes*. *Solar energy conversion: Solid state physics aspects*. 1979, New York: Springer-Verlag
 123. Sze S.M., *Physics of semiconductor devices*. 1981, New York: John Wiley and Sons.
 124. Neaman D. A., *Semiconductor physics and devices: basic principles* Third ed. 2002, New York: Mc-Graw Hill professional.
 125. von Helmholtz, H.L.F., *Studies of electric boundary layers* *Annual Physical Chemistry*, 1879. **7**: p. 337-382.
 126. Parsons, R., *The electrical double layer: recent experimental and theoretical developments*. *Chemical Reviews*, 1990. **90**(5): p. 813-826.
-

-
127. Bockris J.O.M. and Khan S.U.M., *Surface Electrochemistry. A molecular level approach*. 1993, New York: Plenum Press.
128. Αναστόπουλος-Τζαμάλης Α. Γ. and Νικήτας Ι., *Κεφάλαια Φυσικής Ηλεκτροχημείας*. 2000, Θεσσαλονίκη: Πανεπιστημιακό Τυπογραφείο, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
129. Nozik, A.J., *Photoelectrochemical Cells*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences, 1980. **295**(1414): p. 453-470.
130. Memming, R., *Photoelectrochemical solar energy conversion*, in *Electrochemistry II*, E. Steckhan, Editor. 1988, Springer Berlin Heidelberg. p. 79-112.
131. Wrighton, M.S., *Photoelectrochemical conversion of optical energy to electricity and fuels*. Accounts of Chemical Research, 1979. **12**(9): p. 303-310.
132. Koval, C.A. and J.N. Howard, *Electron transfer at semiconductor electrode-liquid electrolyte interfaces*. Chemical Reviews, 1992. **92**(3): p. 411-433.
133. Gerischer, H., *The impact of semiconductors on the concepts of electrochemistry*. Electrochimica Acta, 1990. **35**(11-12): p. 1677-1699.
134. Radim, B., *(Photo)electrochemical Methods for the Determination of the Band Edge Positions of TiO₂-Based Nanomaterials*. Advances in Physical Chemistry, 2011. **2011**.
135. Πούλιος, Ι., *Φωτοηλεκτροχημεία των Ημιαγωγών - Βασικές Αρχές και Εφαρμογές*. 2007, Θεσσαλονίκη: Ι. Πούλιος.
136. Harris, L.A. and R.H. Wilson, *Semiconductors for Photoelectrolysis*. Annual Review of Materials Science, 1978. **8**(1): p. 99-134.
137. Peter, L.M., *Dynamic aspects of semiconductor photoelectrochemistry*. Chemical Reviews, 1990. **90**(5): p. 753-769.
138. Lee, K., W.S. Nam, and G. Young Han, *Photocatalytic water-splitting in alkaline solution using redox mediator. 1:Parameter study*. International Journal of Hydrogen Energy, 2004. **29**(13): p. 1343-1347.
139. Dutta, S., *Technology assessment of advanced electrolytic hydrogen production*. International Journal of Hydrogen Energy, 1990. **15**(6): p. 379-386.
140. LeRoy, R.L., *Industrial water electrolysis: Present and future*. International Journal of Hydrogen Energy, 1983. **8**(6): p. 401-417.
141. Mavroides, J.G., et al., *Photoelectrolysis of water in cells with TiO₂ anodes*. Materials Research Bulletin, 1975. **10**(10): p. 1023-1030.
142. Ohnishi, T., Y. Nakato, and H. Tsubomura, *The Quantum Yield of Photolysis of Water on TiO₂ Electrodes*. Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie, 1975. **79**(6): p. 523-525.
143. Kung, H.H., et al., *Semiconducting oxide anodes in photoassisted electrolysis of water*. Journal of Applied Physics, 1977. **48**(6): p. 2463-2469.
-

-
144. Fujishima, A., K. Kohayakawa, and K. Honda, *Hydrogen Production under Sunlight with an Electrochemical Photocell*. Journal of The Electrochemical Society, 1975. **122**(11): p. 1487-1489.
 145. Akikusa, J. and S.U.M. Khan, *Photoresponse and AC impedance characterization of n-TiO₂ films during hydrogen and oxygen evolution reactions in an electrochemical cell*. International Journal of Hydrogen Energy, 1997. **22**(9): p. 875-882.
 146. Sushko, M.L., K.M. Rosso, and J. Liu, *Size Effects on Li⁺/Electron Conductivity in TiO₂ Nanoparticles*. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2010. **1**(13): p. 1967-1972.
 147. Bisquert, J., et al., *Physical Chemical Principles of Photovoltaic Conversion with Nanoparticulate, Mesoporous Dye-Sensitized Solar Cells*. The Journal of Physical Chemistry B, 2004. **108**(24): p. 8106-8118.
 148. Liu, H., J. Yuan, and W. Shangguan, *Photochemical Reduction and Oxidation of Water Including Sacrificial Reagents and Pt/TiO₂ Catalyst*. Energy & Fuels, 2006. **20**(6): p. 2289-2292.
 149. Nozik, A.J., *p-n photoelectrolysis cells*. Applied Physics Letters, 1976. **29**(3): p. 150-153.
 150. Ohashi, K., J. McCann, and J.O.M. Bockris, *Stable photoelectrochemical cells for the splitting of water*. Nature, 1977. **266**(5603): p. 610-611.
 151. Lee, J.-s., et al., *Photoelectrochemical Behavior of p-Type Boron Phosphide Photoelectrode in Acidic Solution*. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 1985. **58**(9): p. 2634-2637.
 152. Kainthla, R.C., B. Zelenay, and J.O.M. Bockris, *Significant Efficiency Increase in Self-Driven Photoelectrochemical Cell for Water Photoelectrolysis*. Journal of The Electrochemical Society, 1987. **134**(4): p. 841-845.
 153. Nozik, A.J., *Photochemical diodes*. Applied Physics Letters, 1977. **30**(11): p. 567-569.
 154. Giordano, N., et al., *Photoassisted decomposition of water over modified rutile electrodes*. International Journal of Hydrogen Energy, 1982. **7**(11): p. 867-872.
 155. Khan, S.U.M., M. Al-Shahry, and W.B. Ingler, *Efficient Photochemical Water Splitting by a Chemically Modified n-TiO₂*. Science, 2002. **297**(5590): p. 2243-2245.
 156. Bak, T., et al., *Photo-electrochemical properties of the TiO₂-Pt system in aqueous solutions*. International Journal of Hydrogen Energy, 2002. **27**(1): p. 19-26.
 157. El Zayat, M.Y., A.O. Saed, and M.S. El-Dessouki, *Photoelectrochemical properties of dye sensitized Zr-doped SrTiO₃ electrodes*. International Journal of Hydrogen Energy, 1998. **23**(4): p. 259-266.
 158. Gratzel, M., *Photoelectrochemical cells*. Nature, 2001. **414**(6861): p. 338-344.
 159. Heller, A. and R.G. Vadimsky, *Efficient Solar to Chemical Conversion: 12% Efficient Photoassisted Electrolysis in the [p-type InP(Ru)]/HCl-KCl/Pt(Rh) Cell*. Physical Review Letters, 1981. **46**(17): p. 1153-1156.

-
160. Khaselev, O. and J.A. Turner, *A Monolithic Photovoltaic-Photoelectrochemical Device for Hydrogen Production via Water Splitting*. Science, 1998. **280**(5362): p. 425-427.
161. Licht, S., *Semiconductor Electrodes and Photoelectrochemistry*. Encyclopedia of Electrochemistry ed. A. Bard and M.S. (Eds.). Vol. 6. 2002: Wiley-VCH.
162. Murphy, O.J. and J.O.M. Bockris, *Photovoltaic electrolysis: Hydrogen and electricity from water and light*. International Journal of Hydrogen Energy, 1984. **9**(7): p. 557-561.
163. Rocheleau, R.E., E.L. Miller, and A. Misra, *High-Efficiency Photoelectrochemical Hydrogen Production Using Multijunction Amorphous Silicon Photoelectrodes*. Energy & Fuels, 1998. **12**(1): p. 3-10.
164. Siegel, A. and T. Schott, *Optimization of photovoltaic hydrogen production*. International Journal of Hydrogen Energy, 1988. **13**(11): p. 659-675.
165. Chen, Z., et al., *Accelerating materials development for photoelectrochemical hydrogen production: Standards for methods, definitions, and reporting protocols*. Journal of Materials Research, 2010. **25**(01): p. 3-16.
166. Dohrmann, J.K. and N.-S. Schaaf, *Energy conversion by photoelectrolysis of water: determination of efficiency by in situ photocalorimetry*. The Journal of Physical Chemistry, 1992. **96**(11): p. 4558-4563.
167. Heller, A., *Electrochemical solar cells*. Solar Energy, 1982. **29**(2): p. 153-162.
168. Parkinson, B., *On the efficiency and stability of photoelectrochemical devices*. Accounts of Chemical Research, 1984. **17**(12): p. 431-437.
169. Emery K., *Measurements and characterization of solar cell modules*. Handbook of Photovoltaic Science and Engineering, ed. A. Luque and S. Hegedus. 2003, New York: Wiley.
170. Luther J., *Motivation for photovoltaic application and development*. Handbook of photovoltaic science and engineering, ed. A. Luque and Hegedus S. 2003, New York: Wiley.
171. Smestad, G.P., et al., *Reporting solar cell efficiencies in Solar Energy Materials and Solar Cells*. Solar Energy Materials and Solar Cells, 2008. **92**(4): p. 371-373.
172. Choudhary, S., et al., *Nanostructured bilayered thin films in photoelectrochemical water splitting – A review*. International Journal of Hydrogen Energy, 2012. **37**(24): p. 18713-18730.
173. Akikusa, J. and S.U.M. Khan, *Photoelectrolysis of water to hydrogen in p-SiC/Pt and p-SiC/ n-TiO₂ cells*. International Journal of Hydrogen Energy, 2002. **27**(9): p. 863-870.
174. Arriaga, L.G. and A.M. Fernández, *Determination of flat band potential and photocurrent response in (Cd,Zn)S used in photoelectrolysis process*. International Journal of Hydrogen Energy, 2002. **27**(1): p. 27-31.
-

-
175. Licht, S., *Solar Water Splitting To Generate Hydrogen Fuel: Photothermal Electrochemical Analysis*. The Journal of Physical Chemistry B, 2003. **107**(18): p. 4253-4260.
176. Mor, G.K., et al., *A review on highly ordered, vertically oriented TiO₂ nanotube arrays: Fabrication, material properties, and solar energy applications*. Solar Energy Materials and Solar Cells, 2006. **90**(14): p. 2011-2075.
177. Mishra, P.R., et al., *Investigation and optimization of nanostructured TiO₂ photoelectrode in regard to hydrogen production through photoelectrochemical process*. International Journal of Hydrogen Energy, 2003. **28**(10): p. 1089-1094.
178. Yoon, K.H., W.J. Choi, and D.H. Kang, *Photoelectrochemical properties of copper oxide thin films coated on an n-Si substrate*. Thin Solid Films, 2000. **372**(1-2): p. 250-256.
179. Kudo, A. and Y. Miseki, *Heterogeneous photocatalyst materials for water splitting*. Chemical Society Reviews, 2009. **38**(1): p. 253-278.
180. Hoffmann, M.R., et al., *Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis*. Chemical Reviews, 1995. **95**(1): p. 69-96.
181. Wold, A., *Photocatalytic properties of titanium dioxide (TiO₂)*. Chemistry of Materials, 1993. **5**(3): p. 280-283.
182. Zhou, B., et al., *Photoelectrochemical generation of hydrogen over carbon-doped TiO₂ photoanode*. Applied Catalysis B: Environmental, 2009. **92**(1-2): p. 41-49.
183. Zhang, Z., M.F. Hossain, and T. Takahashi, *Photoelectrochemical water splitting on highly smooth and ordered TiO₂ nanotube arrays for hydrogen generation*. International Journal of Hydrogen Energy, 2010. **35**(16): p. 8528-8535.
184. Mor, G.K., et al., *Enhanced Photocleavage of Water Using Titania Nanotube Arrays*. Nano Letters, 2004. **5**(1): p. 191-195.
185. Paulose, M., et al., *Anodic Growth of Highly Ordered TiO₂ Nanotube Arrays to 134 μm in Length*. The Journal of Physical Chemistry B, 2006. **110**(33): p. 16179-16184.
186. Mavroides, J.G., J.A. Kafalas, and D.F. Kolesar, *Photoelectrolysis of water in cells with SrTiO₃ anodes*. Applied Physics Letters, 1976. **28**(5): p. 241-243.
187. Ghosh, A.K. and H.P. Maruska, *Photoelectrolysis of Water in Sunlight with Sensitized Semiconductor Electrodes*. Journal of The Electrochemical Society, 1977. **124**(10): p. 1516-1522.
188. Lam, R.U.E., et al., *The sensitization of SrTiO₃ photoanodes by doping with various transition metal ions*. Materials Research Bulletin, 1981. **16**(12): p. 1593-1600.
189. Nagasubramanian, G., A.S. Gioda, and A.J. Bard, *Semiconductor Electrodes: XXXVII. Photoelectrochemical Behavior of p-Type in Acetonitrile Solutions*. Journal of The Electrochemical Society, 1981. **128**(10): p. 2158-2164.
190. de Jongh, P.E., D. Vanmaekelbergh, and J.J. Kelly, *Photoelectrochemistry of Electrodeposited Cu₂O* Journal of The Electrochemical Society, 2000. **147**(2): p. 486-489.
-

191. Hara, M., et al., *Cu₂O as a photocatalyst for overall water splitting under visible light irradiation*. Chemical Communications, 1998(3): p. 357-358.
192. van Dorp, D.H., et al., *SiC: A Photocathode for Water Splitting and Hydrogen Storage*. Angewandte Chemie International Edition, 2009. **48**(33): p. 6085-6088.
193. Abdulgafour, H.I., et al., *ZnO nanocoral reef grown on porous silicon substrates without catalyst*. Journal of Alloys and Compounds, 2011. **509**(18): p. 5627-5630.
194. Wolcott, A., et al., *Photoelectrochemical Study of Nanostructured ZnO Thin Films for Hydrogen Generation from Water Splitting*. Advanced Functional Materials, 2009. **19**(12): p. 1849-1856.
195. Ahn, K.-S., et al., *ZnO nanocoral structures for photoelectrochemical cells*. Applied Physics Letters, 2008. **93**(16): p. 163117-3.
196. Qiu, Y., et al., *Secondary Branching and Nitrogen Doping of ZnO Nanotetrapods: Building a Highly Active Network for Photoelectrochemical Water Splitting*. Nano Letters, 2011. **12**(1): p. 407-413.
197. Miyauchi, M., et al., *Photocatalysis and Photoinduced Hydrophilicity of Various Metal Oxide Thin Films*. Chemistry of Materials, 2002. **14**(6): p. 2812-2816.
198. Augustyński, J., B.D. Alexander, and R. Solarska, *Metal Oxide Photoanodes for Water Splitting*, in *Photocatalysis*, C.A. Bignozzi, Editor. 2011, Springer Berlin Heidelberg. p. 1-38.
199. Gärtner, W.W., *Depletion-Layer Photoeffects in Semiconductors*. Physical Review, 1959. **116**(1): p. 84-87.
200. Quinn, R.K., R.D. Nasby, and R.J. Baughman, *Photoassisted electrolysis of water using single crystal α -Fe₂O₃ anodes*. Materials Research Bulletin, 1976. **11**(8): p. 1011-1017.
201. Le Formal, F., M. Grätzel, and K. Sivula, *Controlling Photoactivity in Ultrathin Hematite Films for Solar Water-Splitting*. Advanced Functional Materials, 2010. **20**(7): p. 1099-1107.
202. Morin, F.J., *Electrical Properties of α -Fe₂O₃*. Physical Review, 1954. **93**(6): p. 1195-1199.
203. Sivula, K., et al., *Photoelectrochemical Water Splitting with Mesoporous Hematite Prepared by a Solution-Based Colloidal Approach*. Journal of the American Chemical Society, 2010. **132**(21): p. 7436-7444.
204. Cristino, V., et al., *Efficient Photoelectrochemical Water Splitting by Anodically Grown WO₃ Electrodes*. Langmuir, 2011. **27**(11): p. 7276-7284.
205. Su, J., et al., *Vertically Aligned WO₃ Nanowire Arrays Grown Directly on Transparent Conducting Oxide Coated Glass: Synthesis and Photoelectrochemical Properties*. Nano Letters, 2010. **11**(1): p. 203-208.
206. Cervera-March, S., et al., *Solar hydrogen photoproduction from sulphide/sulphite substrate*. International Journal of Hydrogen Energy, 1992. **17**(9): p. 683-688.

-
207. Linkous, C.A., T.E. Mingo, and N.Z. Muradov, *Aspects of solar hydrogen production from hydrogen sulfide using semiconductor particulates*. International Journal of Hydrogen Energy, 1994. **19**(3): p. 203-208.
208. Innocenti, M., et al., *Ternary cadmium and zinc sulfides: composition, morphology and photoelectrochemistry*. Electrochimica Acta, 2004. **49**(8): p. 1327-1337.
209. Zhang, J., et al., *Preparation of ZnS/CdS composite nanoparticles by coprecipitation from reverse micelles using CO₂ as antisolvent*. Journal of Colloid and Interface Science, 2004. **273**(1): p. 160-164.
210. Yoshimura, J., et al., *Visible Light Induced Hydrogen Evolution on CdS/K₄Nb₆O₁₇ Photocatalyst*. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 1995. **68**(8): p. 2439-2445.
211. Shangguan, W. and A. Yoshida, *Synthesis and photocatalytic properties of CdS-intercalated metal oxides*. Solar Energy Materials and Solar Cells, 2001. **69**(2): p. 189-194.
212. Sayama, K., et al., *Stoichiometric water splitting into H and O using a mixture of two different photocatalysts and an IO₃⁻/I⁻ shuttle redox mediator under visible light irradiation*. Chemical Communications, 2001(23): p. 2416-2417.
213. Abe, R., K. Sayama, and H. Sugihara, *Development of New Photocatalytic Water Splitting into H₂ and O₂ using Two Different Semiconductor Photocatalysts and a Shuttle Redox Mediator IO₃⁻/I⁻*. The Journal of Physical Chemistry B, 2005. **109**(33): p. 16052-16061.
214. Higashi, M., et al., *Z-scheme Overall Water Splitting on Modified-TaON Photocatalysts under Visible Light ($\lambda < 500 \text{ nm}$)*. Chemistry Letters, 2008. **37**(2): p. 138-139.
215. Higashi, M., et al., *Two step water splitting into H₂ and O₂ under visible light by ATaO₂N (A = Ca, Sr, Ba) and WO₃ with shuttle redox mediator*. Chemical Physics Letters, 2008. **452**(1-3): p. 120-123.
216. Abe, R., et al., *Photocatalytic overall water splitting under visible light by TaON and WO₃ with an IO₃⁻/I⁻ shuttle redox mediator*. Chemical Communications, 2005(30): p. 3829-3831.
217. Kato, H., et al., *Construction of Z-scheme Type Heterogeneous Photocatalysis Systems for Water Splitting into H₂ and O₂ under Visible Light Irradiation*. Chemistry Letters, 2004. **33**(10): p. 1348-1349.
218. Chen, H.M., et al., *Nano-architecture and material designs for water splitting photoelectrodes*. Chemical Society Reviews, 2012. **41**(17): p. 5654-5671.
219. Li, L., et al., *A photoelectrochemical device for visible light driven water splitting by a molecular ruthenium catalyst assembled on dye-sensitized nanostructured TiO₂*. Chemical Communications, 2010. **46**(39): p. 7307-7309.

-
220. Kohl, P.A., S.N. Frank, and A.J. Bard, *Semiconductor Electrodes: XI . Behavior of n- and p-Type Single Crystal Semiconductors Covered with Thin Films*. Journal of The Electrochemical Society, 1977. **124**(2): p. 225-229.
221. Hwang, Y.J., A. Boukai, and P. Yang, *High Density n-Si/n-TiO₂ Core/Shell Nanowire Arrays with Enhanced Photoactivity*. Nano Letters, 2008. **9**(1): p. 410-415.
222. Frank, S.N. and A.J. Bard, *Heterogeneous photocatalytic oxidation of cyanide ion in aqueous solutions at titanium dioxide powder*. Journal of the American Chemical Society, 1977. **99**(1): p. 303-304.
223. Ochiai, T. and A. Fujishima, *Photoelectrochemical properties of TiO₂ photocatalyst and its applications for environmental purification*. Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, 2012. **13**(4): p. 247-262.
224. Bahnemann, D., *Photocatalytic water treatment: solar energy applications*. Solar Energy, 2004. **77**(5): p. 445-459.
225. Bauer, R., et al., *The photo-fenton reaction and the TiO₂/UV process for waste water treatment – novel developments*. Catalysis Today, 1999. **53**(1): p. 131-144.
226. Pera-Titus, M., et al., *Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review*. Applied Catalysis B: Environmental, 2004. **47**(4): p. 219-256.
227. Mao, Y., C. Schoeneich, and K.D. Asmus, *Identification of organic acids and other intermediates in oxidative degradation of chlorinated ethanes on titania surfaces en route to mineralization: a combined photocatalytic and radiation chemical study*. The Journal of Physical Chemistry, 1991. **95**(24): p. 10080-10089.
228. Ollis, D.F., et al., *Heterogeneous photoassisted catalysis: Conversions of perchloroethylene, dichloroethane, chloroacetic acids, and chlorobenzenes*. Journal of Catalysis, 1984. **88**(1): p. 89-96.
229. Terzian, R., et al., *Pulse radiolytic studies of the reaction of pentahalophenols with OH radicals: formation of pentahalophenoxy, dihydroxypentahalocyclohexadienyl, and semiquinone radicals*. Langmuir, 1991. **7**(12): p. 3081-3089.
230. Fujishima A. and Tryk D.A., *Photoelectrochemical Conversion*. Functionality of Molecular Systems, ed. K. Honda. Vol. 2. 1999, New York: Springer.
231. Hwang, S.-J., C. Petucci, and D. Raftery, *In Situ Solid-State NMR Studies of Trichloroethylene Photocatalysis: Formation and Characterization of Surface-Bound Intermediates*. Journal of the American Chemical Society, 1998. **120**(18): p. 4388-4397.
232. Nosaka, Y., et al., *Singlet oxygen formation in photocatalytic TiO₂ aqueous suspension*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2004. **6**(11): p. 2917-2918.
233. Lee, S.-Y. and S.-J. Park, *TiO₂ photocatalyst for water treatment applications*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2013. **19**(6): p. 1761-1769.
-

-
234. Al-Ekabi, H. and N. Serpone, *Kinetics studies in heterogeneous photocatalysis. I. Photocatalytic degradation of chlorinated phenols in aerated aqueous solutions over titania supported on a glass matrix*. The Journal of Physical Chemistry, 1988. **92**(20): p. 5726-5731.
235. Cunningham J., Al-Sayyed G., and Srijaranai S., *Adsorption of model pollutants onto TiO₂ particles in relation to photoremediation of contaminated water*. Aquatic and Surface Photochemistry. 1994: Lewis Publisher, CRC Press.
236. Pichat P. and J. Herrmann, *Photocatalysis, Fundamentals and Applications*. 1989, New York: Wiley & Sons.
237. Diebold, U., *The surface science of titanium dioxide*. Surface Science Reports, 2003. **48**(5–8): p. 53-229.
238. Mills, A. and S. Le Hunte, *An overview of semiconductor photocatalysis*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 1997. **108**(1): p. 1-35.
239. Sun, B. and P.G. Smirniotis, *Interaction of anatase and rutile TiO₂ particles in aqueous photooxidation*. Catalysis Today, 2003. **88**(1–2): p. 49-59.
240. Sun, B., A.V. Vorontsov, and P.G. Smirniotis, *Role of Platinum Deposited on TiO₂ in Phenol Photocatalytic Oxidation*. Langmuir, 2003. **19**(8): p. 3151-3156.
241. Fu, P., P. Zhang, and J. Li, *Photocatalytic degradation of low concentration formaldehyde and simultaneous elimination of ozone by-product using palladium modified TiO₂ films under UV254+185nm irradiation*. Applied Catalysis B: Environmental, 2011. **105**(1–2): p. 220-228.
242. Ochiai, T., et al., *Photocatalytic inactivation and removal of algae with TiO₂-coated materials*. Journal of Applied Electrochemistry, 2010. **40**(10): p. 1737-1742.
243. Thomas, J. and M. Yoon, *Facile synthesis of pure TiO₂(B) nanofibers doped with gold nanoparticles and solar photocatalytic activities*. Applied Catalysis B: Environmental, 2012. **111–112**(0): p. 502-508.
244. Krejčíková, S., et al., *Preparation and characterization of Ag-doped crystalline titania for photocatalysis applications*. Applied Catalysis B: Environmental, 2012. **111–112**(0): p. 119-125.
245. Wang, C.M., A. Heller, and H. Gerischer, *Palladium catalysis of O₂ reduction by electrons accumulated on TiO₂ particles during photoassisted oxidation of organic compounds*. Journal of the American Chemical Society, 1992. **114**(13): p. 5230-5234.
246. Yao, Y., et al., *Self-sterilization using silicone catheters coated with Ag and TiO₂ nanocomposite thin film*. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 2008. **85B**(2): p. 453-460.
247. Yu, J., et al., *Fabrication and characterization of Ag–TiO₂ multiphase nanocomposite thin films with enhanced photocatalytic activity*. Applied Catalysis B: Environmental, 2005. **60**(3–4): p. 211-221.
248. De Angelis, F., et al., *Time-Dependent Density Functional Theory Investigations on the Excited States of Ru(II)-Dye-Sensitized TiO₂ Nanoparticles: The Role of*
-

- Sensitizer Protonation*. Journal of the American Chemical Society, 2007. **129**(46): p. 14156-14157.
249. Kay, A., I. Cesar, and M. Grätzel, *New Benchmark for Water Photooxidation by Nanostructured α -Fe₂O₃ Films*. Journal of the American Chemical Society, 2006. **128**(49): p. 15714-15721.
250. Morikawa, T., et al., *Visible-light-induced photocatalytic oxidation of carboxylic acids and aldehydes over N-doped TiO₂ loaded with Fe, Cu or Pt*. Applied Catalysis B: Environmental, 2008. **83**(1–2): p. 56-62.
251. Palanisamy, B., et al., *Sol-gel synthesis of mesoporous mixed Fe₂O₃/TiO₂ photocatalyst: Application for degradation of 4-chlorophenol*. Journal of Hazardous Materials, 2013. **252–253**(0): p. 233-242.
252. Sun, Q., et al., *Effect of surface Fe₂O₃ clusters on the photocatalytic activity of TiO₂ for phenol degradation in water*. Journal of Hazardous Materials, 2012. **229–230**(0): p. 224-232.
253. Zhang, Y. and Q. Li, *Synthesis and characterization of Fe-doped TiO₂ films by electrophoretic method and its photocatalytic activity toward methyl orange*. Solid State Sciences, 2013. **16**(0): p. 16-20.
254. Iliev, V., D. Tomova, and S. Rakovsky, *Nanosized N-doped TiO₂ and gold modified semiconductors — photocatalysts for combined UV-visible light destruction of oxalic acid in aqueous solution*. Desalination, 2010. **260**(1–3): p. 101-106.
255. Ni, M., et al., *A review and recent developments in photocatalytic water-splitting using for hydrogen production*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2007. **11**(3): p. 401-425.
256. Farhangi, N., et al., *Visible light active Fe doped TiO₂ nanowires grown on graphene using supercritical CO₂*. Applied Catalysis B: Environmental, 2011. **110**(0): p. 25-32.
257. Lu, X., et al., *Preparation and characterization of Fe-TiO₂ films with high visible photoactivity by autoclaved-sol method at low temperature*. Solid State Sciences, 2011. **13**(3): p. 625-629.
258. Gracien, E.B., et al., *Photocatalytic activity of manganese, chromium and cobalt-doped anatase titanium dioxide nanoporous electrodes produced by re-anodization method*. Thin Solid Films, 2007. **515**(13): p. 5287-5297.
259. Zhao, H., et al., *Preparation of Zn-doped TiO₂ nanotubes electrode and its application in pentachlorophenol photoelectrocatalytic degradation*. Chinese Science Bulletin, 2007. **52**(11): p. 1456-1461.
260. Tu, Y.-F., et al., *Synthesis and photocatalytic properties of Sn-doped TiO₂ nanotube arrays*. Journal of Alloys and Compounds, 2009. **482**(1–2): p. 382-387.
261. Li, D., et al., *Origin of visible-light-driven photocatalysis: A comparative study on N/F-doped and N-F-codoped TiO₂ powders by means of experimental characterizations*

-
- and theoretical calculations*. Journal of Solid State Chemistry, 2005. **178**(11): p. 3293-3302.
262. Li, J., et al., *Facile Method for Fabricating Boron-Doped TiO₂ Nanotube Array with Enhanced Photoelectrocatalytic Properties*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2008. **47**(11): p. 3804-3808.
263. Stengl, V.c., et al., *Photocatalytic Activity of Boron-Modified Titania under UV and Visible-Light Illumination*. ACS Applied Materials & Interfaces, 2010. **2**(2): p. 575-580.
264. Zaleska, A., et al., *Preparation and photocatalytic activity of boron-modified TiO₂ under UV and visible light*. Applied Catalysis B: Environmental, 2008. **78**(1–2): p. 92-100.
265. Sivaranjani, K. and C.S. Gopinath, *Porosity driven photocatalytic activity of wormhole mesoporous TiO₂-xNx in direct sunlight*. Journal of Materials Chemistry, 2011. **21**(8): p. 2639-2647.
266. Zhang, J., et al., *N-doped rutile TiO₂ nano-rods show tunable photocatalytic selectivity*. Journal of Alloys and Compounds, 2013. **575**(0): p. 40-47.
267. Lv, K., et al., *Fluorine ions-mediated morphology control of anatase TiO₂ with enhanced photocatalytic activity*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2012. **14**(16): p. 5349-5362.
268. Wu, G., et al., *Synthesis of F-Doped Flower-like TiO₂ Nanostructures with High Photoelectrochemical Activity*. Langmuir, 2008. **24**(7): p. 3503-3509.
269. Lin, L., et al., *Photocatalytic properties of phosphor-doped titania nanoparticles*. Applied Catalysis B: Environmental, 2007. **75**(1–2): p. 52-58.
270. Todorova, N., et al., *Preparation of Fluorine-Doped TiO₂ Photocatalysts with Controlled Crystalline Structure*. International Journal of Photoenergy, 2008. **2008**.
271. Mohapatra, P., S.K. Samantaray, and K. Parida, *Photocatalytic reduction of hexavalent chromium in aqueous solution over sulphate modified titania*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2005. **170**(2): p. 189-194.
272. Samantaray, S.K., P. Mohapatra, and K. Parida, *Physico-chemical characterisation and photocatalytic activity of nanosized SO₄²⁻/TiO₂ towards degradation of 4-nitrophenol*. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2003. **198**(1–2): p. 277-287.
273. Samantaray, S.K. and K. Parida, *Studies on anion-promoted titania: 3. Effect of concentration and source of phosphate ion, method of preparation, and activation temperature on redox, acid–base, textural and catalytic properties of titania*. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2001. **176**(1–2): p. 151-163.
274. Zhou, P., J. Yu, and Y. Wang, *The new understanding on photocatalytic mechanism of visible-light response NS codoped anatase TiO₂ by first-principles*. Applied Catalysis B: Environmental, 2013. **142–143**(0): p. 45-53.
275. Yu, J., et al., *Ionic-Liquid-Assisted Synthesis of Uniform Fluorinated B/C-Codoped TiO₂ Nanocrystals and Their Enhanced Visible-Light Photocatalytic Activity*. Chemistry – A European Journal, 2013. **19**(7): p. 2433-2441.
-

-
276. Bettinelli, M., et al., *Photocatalytic activity of TiO₂ doped with boron and vanadium*. Journal of Hazardous Materials, 2007. **146**(3): p. 529-534.
277. Lu, N., et al., *Fabrication of Boron-Doped TiO₂ Nanotube Array Electrode and Investigation of Its Photoelectrochemical Capability*. The Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**(32): p. 11836-11842.
278. Su, Y., et al., *Preparation and visible-light-driven photoelectrocatalytic properties of boron-doped TiO₂ nanotubes*. Materials Chemistry and Physics, 2008. **110**(2-3): p. 239-246.
279. Yang, H. and C. Pan, *Synthesis of carbon-modified TiO₂ nanotube arrays for enhancing the photocatalytic activity under the visible light*. Journal of Alloys and Compounds, 2010. **501**(1): p. L8-L11.
280. Su, Y., et al., *A silicon-doped TiO₂ nanotube arrays electrode with enhanced photoelectrocatalytic activity*. Applied Surface Science, 2008. **255**(5, Part 1): p. 2167-2172.
281. Su, Y., et al., *Electrochemically assisted photocatalytic degradation of phenol using silicon-doped TiO₂ nanofilm electrode*. Desalination, 2010. **252**(1-3): p. 143-148.
282. Vinodgopal, K., D.E. Wynkoop, and P.V. Kamat, *Environmental Photochemistry on Semiconductor Surfaces: Photosensitized Degradation of a Textile Azo Dye, Acid Orange 7, on TiO₂ Particles Using Visible Light*. Environmental Science & Technology, 1996. **30**(5): p. 1660-1666.
283. Nakata, K. and A. Fujishima, *TiO₂ photocatalysis: Design and applications*. Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, 2012. **13**(3): p. 169-189.
284. Chen, J.S., et al., *Ellipsoidal hollow nanostructures assembled from anatase TiO₂ nanosheets as a magnetically separable photocatalyst*. Chemical Communications, 2011. **47**(9): p. 2631-2633.
285. Dai, Y., et al., *Synthesis of Anatase TiO₂ Nanocrystals with Exposed {001} Facets*. Nano Letters, 2009. **9**(6): p. 2455-2459.
286. Li, H., et al., *Mesoporous Titania Spheres with Tunable Chamber Structure and Enhanced Photocatalytic Activity*. Journal of the American Chemical Society, 2007. **129**(27): p. 8406-8407.
287. Bin, D., et al., *Morphology and crystalline phase study of electrospun TiO₂-SiO₂ nanofibres*. Nanotechnology, 2003. **14**(5): p. 532.
288. Peng, T., et al., *Fabrication of Titania Tubules with High Surface Area and Well-Developed Mesoporous Walls by Surfactant-Mediated Templating Method*. Chemistry of Materials, 2003. **15**(10): p. 2011-2016.
289. Zhang, X., et al., *High-Performance Multifunctional TiO₂ Nanowire Ultrafiltration Membrane with a Hierarchical Layer Structure for Water Treatment*. Advanced Functional Materials, 2009. **19**(23): p. 3731-3736.
-

-
290. Fan, J., et al., *The effect of calcination temperature on the microstructure and photocatalytic activity of TiO₂-based composite nanotubes prepared by an in situ template dissolution method*. *Nanoscale*, 2012. **4**(20): p. 6597-6603.
291. Liu, Z., et al., *Efficient Photocatalytic Degradation of Gaseous Acetaldehyde by Highly Ordered TiO₂ Nanotube Arrays*. *Environmental Science & Technology*, 2008. **42**(22): p. 8547-8551.
292. Yoriya, S. and C.A. Grimes, *Self-Assembled TiO₂ Nanotube Arrays by Anodization of Titanium in Diethylene Glycol: Approach to Extended Pore Widening*. *Langmuir*, 2009. **26**(1): p. 417-420.
293. Yu, J., G. Dai, and B. Cheng, *Effect of Crystallization Methods on Morphology and Photocatalytic Activity of Anodized TiO₂ Nanotube Array Films*. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010. **114**(45): p. 19378-19385.
294. Aoyama, Y., et al., *Mesocrystal nanosheet of rutile TiO₂ and its reaction selectivity as a photocatalyst*. *CrystEngComm*, 2012. **14**(4): p. 1405-1411.
295. Gan, X., et al., *TiO₂ Nanorod-Derived Synthesis of Upstanding Hexagonal Kassite Nanosheet Arrays: An Intermediate Route to Novel Nanoporous TiO₂ Nanosheet Arrays*. *Crystal Growth & Design*, 2011. **12**(1): p. 289-296.
296. Hasegawa, G., et al., *New hierarchically porous titania monoliths for chromatographic separation media*. *Journal of Separation Science*, 2011. **34**(21): p. 3004-3010.
297. Tian, G., et al., *3D hierarchical flower-like TiO₂ nanostructure: morphology control and its photocatalytic property*. *CrystEngComm*, 2011. **13**(8): p. 2994-3000.
298. Yu, J.G., Y.R. Su, and B. Cheng, *Template-Free Fabrication and Enhanced Photocatalytic Activity of Hierarchical Macro-/Mesoporous Titania*. *Advanced Functional Materials*, 2007. **17**(12): p. 1984-1990.
299. Zhang, Z., et al., *Role of Particle Size in Nanocrystalline TiO₂-Based Photocatalysts*. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1998. **102**(52): p. 10871-10878.
300. Chae, S.Y., et al., *Preparation of Size-Controlled TiO₂ Nanoparticles and Derivation of Optically Transparent Photocatalytic Films*. *Chemistry of Materials*, 2003. **15**(17): p. 3326-3331.
301. Nguyen-Phan, T.-D. and E.W. Shin, *Morphological effect of TiO₂ catalysts on photocatalytic degradation of methylene blue*. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2011. **17**(3): p. 397-400.
302. Xu, Z. and X. Meng, *Size effects of nanocrystalline TiO₂ on As(V) and As(III) adsorption and As(III) photooxidation*. *Journal of Hazardous Materials*, 2009. **168**(2-3): p. 747-752.
303. Macak, J.M., et al., *Self-organized TiO₂ nanotube layers as highly efficient photocatalysts*. *Small*, 2007. **3**(2): p. 300-4.
304. Nagaveni, K., et al., *Photocatalytic Degradation of Organic Compounds over Combustion-Synthesized Nano-TiO₂*. *Environmental Science & Technology*, 2004. **38**(5): p. 1600-1604.
-

-
305. Yu, J.C., J. Yu, and J. Zhao, *Enhanced photocatalytic activity of mesoporous and ordinary TiO₂ thin films by sulfuric acid treatment*. Applied Catalysis B: Environmental, 2002. **36**(1): p. 31-43.
306. Zhang, H., et al., *Enhanced Catalytic Activity of Sub-nanometer Titania Clusters Confined inside Double-Wall Carbon Nanotubes*. ChemSusChem, 2011. **4**(7): p. 975-980.
307. Baek, M.-H., et al., *Preparation, characterization and photocatalytic activity evaluation of micro- and mesoporous TiO₂/spherical activated carbon*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2013. **19**(2): p. 469-477.
308. Kim, M.-S., et al., *Preparation of porous carbon-doped TiO₂ film by sol-gel method and its application for the removal of gaseous toluene in the optical fiber reactor*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2011. **17**(2): p. 223-228.
309. Chen, J., et al., *Optimization synthesis of carbon nanotubes-anatase TiO₂ composite photocatalyst by response surface methodology for photocatalytic degradation of gaseous styrene*. Applied Catalysis B: Environmental, 2012. **123-124**(0): p. 69-77.
310. Cong, Y., et al., *Carbon-doped TiO₂ coating on multiwalled carbon nanotubes with higher visible light photocatalytic activity*. Applied Catalysis B: Environmental, 2011. **107**(1-2): p. 128-134.
311. Huang, L., et al., *The simultaneous photocatalytic degradation of phenol and reduction of Cr(VI) by TiO₂/CNTs*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2012. **18**(1): p. 574-580.
312. Jeon, S., et al., *Preparation of poly(vinyl alcohol)/poly(acrylic acid)/TiO₂/carbon nanotube composite nanofibers and their photobleaching properties*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2012. **18**(1): p. 487-491.
313. Lambert, T.N., et al., *Synthesis and Characterization of Titania-Graphene Nanocomposites*. The Journal of Physical Chemistry C, 2009. **113**(46): p. 19812-19823.
314. Leary, R. and A. Westwood, *Carbonaceous nanomaterials for the enhancement of TiO₂ photocatalysis*. Carbon, 2011. **49**(3): p. 741-772.
315. Lee, Y.-C. and J.-W. Yang, *Self-assembled flower-like TiO₂ on exfoliated graphite oxide for heavy metal removal*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2012. **18**(3): p. 1178-1185.
316. Perera, S.D., et al., *Hydrothermal Synthesis of Graphene-TiO₂ Nanotube Composites with Enhanced Photocatalytic Activity*. ACS Catalysis, 2012. **2**(6): p. 949-956.
317. Williams, G., B. Seger, and P.V. Kamat, *TiO₂-Graphene Nanocomposites. UV-Assisted Photocatalytic Reduction of Graphene Oxide*. ACS Nano, 2008. **2**(7): p. 1487-1491.
-

-
318. Yang, M.-Q., N. Zhang, and Y.-J. Xu, *Synthesis of Fullerene-, Carbon Nanotube-, and Graphene-TiO₂ Nanocomposite Photocatalysts for Selective Oxidation: A Comparative Study*. ACS Applied Materials & Interfaces, 2013. **5**(3): p. 1156-1164.
319. Geim, A.K., *Graphene: Status and Prospects*. Science, 2009. **324**(5934): p. 1530-1534.
320. Hu, X. and Q. Zhou, *Health and Ecosystem Risks of Graphene*. Chemical Reviews, 2013. **113**(5): p. 3815-3835.
321. Nardecchia, S., et al., *Three dimensional macroporous architectures and aerogels built of carbon nanotubes and/or graphene: synthesis and applications*. Chemical Society Reviews, 2013. **42**(2): p. 794-830.
322. De Volder, M.F.L., et al., *Carbon Nanotubes: Present and Future Commercial Applications*. Science, 2013. **339**(6119): p. 535-539.
323. Kim, K.-S., K.-Y. Rhee, and S.-J. Park, *Influence of multi-walled carbon nanotubes on electrochemical performance of transparent graphene electrodes*. Materials Research Bulletin, 2011. **46**(8): p. 1301-1306.
324. Li, L., et al., *Focusing on luminescent graphene quantum dots: current status and future perspectives*. Nanoscale, 2013. **5**(10): p. 4015-4039.
325. Ahmed, K., S.S. Nizami, and N.Z. Raza, *Characteristics of natural rubber hybrid composites based on marble sludge/carbon black and marble sludge/rice husk derived silica*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2013. **19**(4): p. 1169-1176.
326. Park, S.M., et al., *Effect of carbon nanotubes with different lengths on mechanical and electrical properties of silica-filled styrene butadiene rubber compounds*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2013. **19**(2): p. 712-719.
327. Kim, K.-S. and S.-J. Park, *Synthesis and electrochemical performance of well-balanced mesopore/micropore contained carbons by activation-free method*. Electrochemistry Communications, 2012. **22**(0): p. 89-92.
328. Kim, K.-S. and S.-J. Park, *Electrochemical performance of graphene/carbon electrode contained well-balanced micro- and mesopores by activation-free method*. Electrochimica Acta, 2012. **65**(0): p. 50-56.
329. Meng, L.-Y. and S.-J. Park, *Influence of carbon nanofibers on electrochemical properties of carbon nanofibers/glass fibers composites*. Current Applied Physics, 2013. **13**(4): p. 640-644.
330. Politano, A. and G. Chiarello, *Quenching of plasmons modes in air-exposed graphene-Ru contacts for plasmonic devices*. Applied Physics Letters, 2013. **102**(20): p. 201608-4.
331. Kim, K.-S. and S.-J. Park, *High electrochemical performance of carbon black-bonded carbon nanotubes for electrode materials*. Materials Research Bulletin, 2012. **47**(12): p. 4146-4150.
-

-
332. Lee, S.-Y. and S.-J. Park, *Preparation and characterization of ordered porous carbons for increasing hydrogen storage behaviors*. Journal of Solid State Chemistry, 2011. **184**(10): p. 2655-2660.
333. Min, Y., et al., *Doping nitrogen anion enhanced photocatalytic activity on TiO₂ hybridized with graphene composite under solar light*. Separation and Purification Technology, 2013. **106**(0): p. 97-104.
334. Kim, S., et al., *Influence of plasma treatment of carbon blacks on electrochemical activity of Pt/carbon blacks catalysts for DMFCs*. Journal of Power Sources, 2006. **159**(1): p. 46-48.
335. Park, S.-J., Y. Jung, and S. Kim, *Effect of fluorine–oxygen mixed gas treated graphite fibers on electrochemical behaviors of platinum–ruthenium nanoparticles toward methanol oxidation*. Journal of Fluorine Chemistry, 2012. **144**(0): p. 124-129.
336. Chen, Y., et al., *Preparation of a Novel TiO₂-Based p–n Junction Nanotube Photocatalyst*. Environmental Science & Technology, 2005. **39**(5): p. 1201-1208.
337. Fan, W., et al., *Nanocomposites of TiO₂ and Reduced Graphene Oxide as Efficient Photocatalysts for Hydrogen Evolution*. The Journal of Physical Chemistry C, 2011. **115**(21): p. 10694-10701.
338. Akhavan, O. and E. Ghaderi, *Photocatalytic Reduction of Graphene Oxide Nanosheets on TiO₂ Thin Film for Photoinactivation of Bacteria in Solar Light Irradiation*. The Journal of Physical Chemistry C, 2009. **113**(47): p. 20214-20220.
339. Novoselov, K.S., et al., *Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films*. Science, 2004. **306**(5696): p. 666-669.
340. Helz G., Zepp R., and Crosby D., *Aquatic and Surface Photochemistry*. 1994: Lewis Publishers.
341. Herrmann, J.-M., *Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants*. Catalysis Today, 1999. **53**(1): p. 115-129.
342. Malato, S., et al., *Enhancement of the rate of solar photocatalytic mineralization of organic pollutants by inorganic oxidizing species*. Applied Catalysis B: Environmental, 1998. **17**(4): p. 347-356.
343. Myamlin V. and Pleskov Y., *Electrochemistry of Semiconductors*. 1967, New York: Plenum Press.
344. Abdullah, M., G.K.C. Low, and R.W. Matthews, *Effects of common inorganic anions on rates of photocatalytic oxidation of organic carbon over illuminated titanium dioxide*. The Journal of Physical Chemistry, 1990. **94**(17): p. 6820-6825.
345. Bekbölet, M., Boyacioglu Z. , and Özkaraova B., *The influence of solution matrix on the photocatalytic removal of color from natural waters*. Water Science and Technology, 1998. **38**(6): p. 155-162.
-

-
346. Sökmen, M. and A. Özkan, *Decolourising textile wastewater with modified titania: the effects of inorganic anions on the photocatalysis*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2002. **147**(1): p. 77-81.
347. Herrmann, J.M., *Heterogeneous photocatalysis: an emerging discipline involving multiphase systems*. Catalysis Today, 1995. **24**(1-2): p. 157-164.
348. Lee, C. and J. Yoon, *Temperature dependence of hydroxyl radical formation in the $h\nu/\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$ and $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$ systems*. Chemosphere, 2004. **56**(10): p. 923-934.
349. Guillard, C., et al., *Influence of chemical structure of dyes, of pH and of inorganic salts on their photocatalytic degradation by TiO_2 comparison of the efficiency of powder and supported TiO_2* . Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2003. **158**(1): p. 27-36.
350. Kormann, C., D.W. Bahnemann, and M.R. Hoffmann, *Photolysis of chloroform and other organic molecules in aqueous titanium dioxide suspensions*. Environmental Science & Technology, 1991. **25**(3): p. 494-500.
351. Serpone, N., et al., *Standardization protocol of process efficiencies and activation parameters in heterogeneous photocatalysis: relative photonic efficiencies ζ_r* . Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 1996. **94**(2-3): p. 191-203.
352. Zhao, J., et al., *Photodegradation of surfactants. 11. zeta.-Potential measurements in the photocatalytic oxidation of surfactants in aqueous titania dispersions*. Langmuir, 1993. **9**(7): p. 1646-1650.
353. Πούλιος Ι., «*Βασικές αρχές κι εφαρμογές της φωτοηλεκτροχημείας των ημιαγωγών*», Σημειώσεις για το μεταπτυχιακό μάθημα «*Φυσικοχημεία των Υλικών*», 1997, Τμήμα Χημείας, Α.Π.Θ., : Θεσσαλονίκη.
354. Ollis D.F., *Solar-Assisted Photocatalysis for Water Purification*, in *Issues, Data, Questions. Photochemical Conversion and Storage of Solar Energy*. 1991, Kluwer Academic Publishers. p. 593-622.
355. Mahalakshmi, M., et al., *Photocatalytic degradation of aqueous propoxur solution using TiO_2 and H β zeolite-supported TiO_2* . Journal of Hazardous Materials, 2009. **161**(1): p. 336-343.
356. Takeuchi, M., et al., *Enhancement of the photocatalytic reactivity of TiO_2 nanoparticles by a simple mechanical blending with hydrophobic mordenite (MOR) zeolite*. Applied Catalysis B: Environmental, 2009. **89**(3-4): p. 406-410.
357. Wang, C., H. Shi, and Y. Li, *Synthesis and characteristics of natural zeolite supported Fe^{3+} - TiO_2 photocatalysts*. Applied Surface Science, 2011. **257**(15): p. 6873-6877.
358. Yao, Y., et al., *Antibacterial performance of a novel photocatalytic-coated cordierite foam for use in air cleaners*. Applied Catalysis B: Environmental, 2011. **106**(3-4): p. 592-599.
359. Tsoukleris, D.S., et al., *Photocatalytic degradation of volatile organics on TiO_2 embedded glass spherules*. Catalysis Today, 2007. **129**(1-2): p. 96-101.
-

-
360. Khataee, A.R., et al., *Optimization of photocatalytic treatment of dye solution on supported TiO₂ nanoparticles by central composite design: Intermediates identification*. Journal of Hazardous Materials, 2010. **181**(1–3): p. 886-897.
361. Zhang, Y., et al., *Photoelectrocatalytic degradation of recalcitrant organic pollutants using TiO₂ film electrodes: An overview*. Chemosphere, 2012. **88**(2): p. 145-154.
362. Vinodgopal, K., S. Hotchandani, and P.V. Kamat, *Electrochemically assisted photocatalysis: titania particulate film electrodes for photocatalytic degradation of 4-chlorophenol*. The Journal of Physical Chemistry, 1993. **97**(35): p. 9040-9044.
363. Paschoal, F.M.M., M.A. Anderson, and M.V.B. Zanoni, *The photoelectrocatalytic oxidative treatment of textile wastewater containing disperse dyes*. Desalination, 2009. **249**(3): p. 1350-1355.
364. Simond, O., V. Schaller, and C. Comninellis, *Theoretical model for the anodic oxidation of organics on metal oxide electrodes*. Electrochimica Acta, 1997. **42**(13–14): p. 2009-2012.
365. Comninellis, C. and C. Pulgarin, *Anodic oxidation of phenol for waste water treatment*. Journal of Applied Electrochemistry, 1991. **21**(8): p. 703-708.
366. Zanoni, M.V.B., J.J. Sene, and M.A. Anderson, *Photoelectrocatalytic degradation of Remazol Brilliant Orange 3R on titanium dioxide thin-film electrodes*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2003. **157**(1): p. 55-63.
367. Leng, W.H., et al., *Photoelectrocatalytic destruction of organics using TiO₂ as photoanode with simultaneous production of H₂O₂ at the cathode*. Applied Catalysis A: General, 2006. **300**(1): p. 24-35.
368. Arconada, N., et al., *Synthesis and photocatalytic properties of dense and porous TiO₂-anatase thin films prepared by sol-gel*. Applied Catalysis B: Environmental, 2009. **86**(1–2): p. 1-7.
369. Oliveira, H.G., D.C. Nery, and C. Longo, *Effect of applied potential on photocatalytic phenol degradation using nanocrystalline TiO₂ electrodes*. Applied Catalysis B: Environmental, 2010. **93**(3–4): p. 205-211.
370. Guaraldo, T.T., S.H. Pulcinelli, and M.V.B. Zanoni, *Influence of particle size on the photoactivity of Ti/TiO₂ thin film electrodes, and enhanced photoelectrocatalytic degradation of indigo carmine dye*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2011. **217**(1): p. 259-266.
371. Leng, W.H., Z. Zhang, and J.Q. Zhang, *Photoelectrocatalytic degradation of aniline over rutile TiO₂/Ti electrode thermally formed at 600 °C*. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2003. **206**(1–2): p. 239-252.
372. Palombari, R., et al., *Oxidative photoelectrochemical technology with Ti/TiO₂ anodes*. Solar Energy Materials and Solar Cells, 2002. **71**(3): p. 359-368.
373. Waldner, G., et al., *Photoelectrocatalytic degradation of 4-chlorophenol and oxalic acid on titanium dioxide electrodes*. Chemosphere, 2003. **50**(8): p. 989-998.
-

-
374. Zhang, H., X. Li, and G. Chen, *Fabrication of Photoelectrode Materials*, in *Electrochemistry for the Environment*, C. Comninellis and G. Chen, Editors. 2010, Springer New York. p. 473-513.
375. Zhou, M. and X. Ma, *Efficient photoelectrocatalytic activity of TiO₂/Ti anode fabricated by metalorganic chemical vapor deposition (MOCVD)*. *Electrochemistry Communications*, 2009. **11**(4): p. 921-924.
376. Shi, B., et al., *Deposition of highly hydrogenated carbon films by a modified plasma assisted chemical vapor deposition technique*. *Surface and Coatings Technology*, 2005. **200**(5-6): p. 1543-1548.
377. Chang, J.-H., et al., *Electrocatalytic characterization and dye degradation of Nano-TiO₂ electrode films fabricated by CVD*. *Science of The Total Environment*, 2009. **407**(22): p. 5914-5920.
378. Leskelä, M. and M. Ritala, *Atomic layer deposition (ALD): from precursors to thin film structures*. *Thin Solid Films*, 2002. **409**(1): p. 138-146.
379. Vilhunen, S., et al., *Atomic layer deposited TiO₂ films in photodegradation of aqueous salicylic acid*. *Separation and Purification Technology*, 2009. **66**(1): p. 130-134.
380. Dey, N.K., et al., *Adsorption and photocatalytic degradation of methylene blue over TiO₂ films on carbon fiber prepared by atomic layer deposition*. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2011. **337**(1-2): p. 33-38.
381. Kang, Q., et al., *A ternary hybrid CdS/Pt-TiO₂ nanotube structure for photoelectrocatalytic bactericidal effects on Escherichia Coli*. *Biomaterials*, 2010. **31**(12): p. 3317-3326.
382. Lee, C.-S., et al., *Photocatalytic functional coatings of TiO₂ thin films on polymer substrate by plasma enhanced atomic layer deposition*. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2009. **91**(3-4): p. 628-633.
383. Cheng, H.-E., et al., *Effect of nitrogen doping concentration on the properties of TiO₂ films grown by atomic layer deposition*. *Materials Science and Engineering: B*, 2011. **176**(7): p. 596-599.
384. He, C., et al., *Preparation of TiO₂/ITO and TiO₂/Ti photoelectrodes by magnetron sputtering for photocatalytic application*. *Applied Catalysis A: General*, 2006. **305**(1): p. 54-63.
385. Mills, A., et al., *Novel low-temperature photocatalytic titania films produced by plasma-assisted reactive dc magnetron sputtering*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2007. **187**(2-3): p. 370-376.
386. Liu, Y., et al., *Photoelectrocatalytic degradation of tetracycline by highly effective TiO₂ nanopore arrays electrode*. *Journal of Hazardous Materials*, 2009. **171**(1-3): p. 678-683.
387. Liu, Y., et al., *Efficient photochemical water splitting and organic pollutant degradation by highly ordered TiO₂ nanopore arrays*. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2009. **89**(1-2): p. 142-148.
-

388. Xie, Y.B. and X.Z. Li, *Interactive oxidation of photoelectrocatalysis and electro-Fenton for azo dye degradation using TiO₂-Ti mesh and reticulated vitreous carbon electrodes*. Materials Chemistry and Physics, 2006. **95**(1): p. 39-50.
389. Quan, X., et al., *Preparation of Titania Nanotubes and Their Environmental Applications as Electrode*. Environmental Science & Technology, 2005. **39**(10): p. 3770-3775.
390. Su, Y., et al., *Preparation of high efficient photoelectrode of N-F-codoped TiO₂ nanotubes*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2008. **194**(2-3): p. 152-160.
391. Philippidis, N., et al., *Photoelectrocatalytic inactivation of E. coli XL-1 blue colonies in water*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2010. **85**(8): p. 1054-1060.
392. Sun, L., et al., *Effect of synthesis conditions on photocatalytic activities of nanoparticulate TiO₂ thin films*. Separation and Purification Technology, 2009. **68**(1): p. 83-89.
393. Zlamal, M., et al., *Electrochemically assisted photocatalysis on self-organized TiO₂ nanotubes*. Electrochemistry Communications, 2007. **9**(12): p. 2822-2826.
394. Flavel, B.S., et al., *Electrochemical characterisation of patterned carbon nanotube electrodes on silane modified silicon*. Electrochimica Acta, 2008. **53**(18): p. 5653-5659.
395. Gooding, J.J., et al., *The effects of the lengths and orientations of single-walled carbon nanotubes on the electrochemistry of nanotube-modified electrodes*. Electrochemistry Communications, 2007. **9**(7): p. 1677-1683.
396. Zhang, H., et al., *Photoelectrochemical Manifestation of Photoelectron Transport Properties of Vertically Aligned Nanotubular TiO₂ Photoanodes*. ChemPhysChem, 2008. **9**(1): p. 117-123.
397. Xin, Y., et al., *Comparative study of photocatalytic and photoelectrocatalytic properties of alachlor using different morphology TiO₂/Ti photoelectrodes*. Journal of Hazardous Materials, 2011. **192**(3): p. 1812-1818.
398. Zhang, A., et al., *Combined potential of three catalysis types on TiO₂ nanotube (TNT)/Ti and nanoparticle (TNP)/Ti photoelectrodes: A comparative study*. Applied Catalysis A: General, 2010. **385**(1-2): p. 114-122.
399. Li, G., J. Qu, and R. Wu, *Photoelectrochemical synergetic degradation of Acid Orange II with TiO₂ modified β -PbO₂ electrode*. Chinese Science Bulletin, 2005. **50**(12): p. 1185-1190.
400. Li, G., et al., *Electrochemically assisted photocatalytic degradation of Acid Orange 7 with β -PbO₂ electrodes modified by TiO₂*. Water Research, 2006. **40**(2): p. 213-220.
401. Li, G., et al., *Electrochemically assisted photocatalytic degradation of Orange II: Influence of initial pH values*. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2006. **259**(1-2): p. 238-244.

-
402. Zhang, H., et al., *Fabrication of Highly Ordered TiO₂ Nanorod/Nanotube Adjacent Arrays for Photoelectrochemical Applications*. *Langmuir*, 2010. **26**(13): p. 11226-11232.
403. Shi, J., et al., *Three-Dimensional High-Density Hierarchical Nanowire Architecture for High-Performance Photoelectrochemical Electrodes*. *Nano Letters*, 2011. **11**(8): p. 3413-3419.
404. Bae, S., et al., *Enzymatic hydrogen production by light-sensitized anodized tubular TiO₂ photoanode*. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 2008. **92**(4): p. 402-409.
405. D. Debabrata, et al., *Role of Fe-hydrogenase in biological hydrogen production*. *Current Sci., Review Articles*, 2006. **90**: p. 1627-1637.
406. Yoon, J. and H. Joo, *Photobiocatalytic hydrogen production in a photoelectrochemical cell*. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 2007. **24**(5): p. 742-748.
407. Joo, H., et al., *Hydrogen evolution in enzymatic photoelectrochemical cell using modified seawater electrolytes produced by membrane desalination process*. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 2009. **93**(9): p. 1555-1561.
408. Fan, F.-R.F., B. Reichman, and A.J. Bard, *Semiconductor electrodes. 27. The p- and n-gallium arsenide-N,N'-dimethyl-4,4'-bipyridinium system. Enhancement of hydrogen evolution on p-gallium arsenide and stabilization of n-gallium arsenide electrodes*. *Journal of the American Chemical Society*, 1980. **102**(5): p. 1488-1492.
409. Landrum, H.L., R.T. Salmon, and F.M. Hawkrige, *A surface-modified gold minigrad electrode which heterogeneously reduces spinach ferredoxin*. *Journal of the American Chemical Society*, 1977. **99**(9): p. 3154-3158.
410. Ren, Y., et al., *A simplified method for assay of hydrogenase activities of H₂ evolution and uptake in Enterobacter aerogenes*. *Biotechnology Letters*, 2005. **27**(14): p. 1029-1033.
411. Chatzitakis, A., et al., *Hydrogen production using a photoelectrocatalytic-enzymatic hybrid system*. *Catalysis Today*, 2013. **209**(0): p. 60-65.
412. Chatzitakis, A., et al., *Hydrogen production using an algae photoelectrochemical cell*. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2013. **142-143**(0): p. 161-168.
413. Kaneko, M., et al., *UV light-activated decomposition/cleaning of concentrated biomass wastes involving also solid suspensions with remarkably high quantum efficiency*. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2009. **91**(1-2): p. 254-261.
414. Ueno, H., et al., *Photoelectrochemical reaction of biomass-related compounds in a biophotochemical cell comprising a nanoporous TiO₂ film photoanode and an O₂-reducing cathode*. *Journal of Applied Electrochemistry*, 2009. **39**(10): p. 1897-1905.
415. Youngblood, W.J., et al., *Visible Light Water Splitting Using Dye-Sensitized Oxide Semiconductors*. *Accounts of Chemical Research*, 2009. **42**(12): p. 1966-1973.
416. Kovács, K.L. and A. Dér, *Hydrogen evolution from dithionite and H₂ photoproduction by hydrogenase incorporated into various hydrophobic matrices*. *Biochimie*, 1986. **68**(1): p. 211-215.
-

-
417. Krasna, A.I., *Hydrogenase: Properties and applications*. Enzyme and Microbial Technology, 1979. **1**(3): p. 165-172.
418. Abdul-Ghani, A.J. and S. Abdul-Kareem, *Effect of temperature on the photosensitized reduction of methyl viologen and hydrogen production by a mixture of zinc phthalocyanine and ruthenium tris-bipyridyl complexes*. International Journal of Hydrogen Energy, 1989. **14**(5): p. 313-317.
419. Gurunathan, K. and P. Maruthamuthu, *Photogeneration of hydrogen using visible light with undoped/doped α -Fe₂O₃ in the presence of methyl viologen*. International Journal of Hydrogen Energy, 1995. **20**(4): p. 287-295.
420. Amao, Y. and I. Okura, *Photoinduced hydrogen production with the system containing water-soluble viologen-linked porphyrins and hydrogenase*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2002. **17**(1): p. 9-21.
421. Okura, I., et al., *Kinetics and mechanism of methyl viologen reduction and hydrogen generation by visible light with tris (2,2'-bipyridine) ruthenium dication*. Journal of Molecular Catalysis, 1979. **6**(4): p. 261-267.
422. Oh, Y.-K., et al., *Bioelectrocatalytic hydrogen production using Thiocapsa roseopersicina hydrogenase in two-compartment fuel cells*. International Journal of Hydrogen Energy, 2008. **33**(19): p. 5218-5223.
423. Sueoka, N., *MITOTIC REPLICATION OF DEOXYRIBONUCLEIC ACID IN CHLAMYDOMONAS REINHARDI*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1960. **46**(1): p. 83-91.
424. Gorman, D.S. and R.P. Levine, *Cytochrome f and plastocyanin: their sequence in the photosynthetic electron transport chain of Chlamydomonas reinhardi*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1965. **54**(6): p. 1665-1669.
425. Braun A.M., Maurette M.T., and Oliveros E., *Photochemical technology*. Vol. 2. 1991, West Essex, England: Wiley & Sons Ltd.
426. Crutchfield, A., K. Diller, and J. Brand, *Cryopreservation of Chlamydomonas reinhardtii (Chlorophyta)*. European Journal of Phycology, 1999. **34**(1): p. 43-52.
427. Zhang, J., et al., *Optimization of parameters on photocatalytic degradation of chloramphenicol using TiO₂ as photocatalyst by response surface methodology*. Journal of Environmental Sciences, 2010. **22**(8): p. 1281-1289.
428. Sarmah, A.K., M.T. Meyer, and A.B.A. Boxall, *A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment*. Chemosphere, 2006. **65**(5): p. 725-759.
429. Woodward, K.N., *Pesticide, Veterinary and Other Residues in Food*, ed. D.H.E. In: Watson. 2004, Cambridge: Woodhead Publisher Limited.
430. Malato, S., et al., *Degradation of Imidacloprid in Water by Photo-Fenton and TiO₂ Photocatalysis at a Solar Pilot Plant: A Comparative Study*. Environmental Science & Technology, 2001. **35**(21): p. 4359-4366.
-

-
431. Doull, J., C.D. Klassen, and M.O. Amdur, *Cassarett and Doull's Toxicology - The Basic Science of Poisons*. Fourth ed. 1991, Elmsford, NY: Pergamon Press.
432. Calvert J. G. and Pitts J. N., *Photochemistry*. 1966, New York: Wiley.
433. Murov S.L., *Handbook of Photochemistry*. 1973, New York: Dekker.
434. Rabeck J. F., *Experimental Methods in Photochemistry and Photophysics*. Vol. 2. 1982, New York: Wiley.
435. Kuhn H. J., Braslavsky S. E., and Schmidt R., *Chemical actinometry (IUPAC Technical Report)*. Pure and Applied Chemistry, 2004. **79**(12): p. 2105-2146.
436. Hatchard, C.G. and C.A. Parker, *A New Sensitive Chemical Actinometer. II. Potassium Ferrioxalate as a Standard Chemical Actinometer*. Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences, 1956. **235**(1203): p. 518-536.
437. Memming R., *Semiconductor Electrochemistry 2001*: Wiley -VCH.
438. Muneer, M. and D. Bahnemann, *Semiconductor-mediated photocatalyzed degradation of two selected pesticide derivatives, terbacil and 2,4,5-tribromoimidazole, in aqueous suspension*. Applied Catalysis B: Environmental, 2002. **36**(2): p. 95-111.
439. Bird, C.L. and A.T. Kuhn, *Electrochemistry of the viologens*. Chemical Society Reviews, 1981. **10**(1): p. 49-82.
440. Christensen, P.A. and A. Hamnett, *An in-situ FTIR study into the nature of completely reduced MV²⁺*. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 1989. **263**(1): p. 49-68.
441. Mackay, R.A., S.A. Myers, and A. Brajter-Toth, *Interpreting diffusion coefficients of electrochemical probes in oil-in-water microemulsions*. Electroanalysis, 1996. **8**(8-9): p. 759-764.
442. Chatzitakis, A., et al., *Photocatalytic degradation and drug activity reduction of Chloramphenicol*. Water Research, 2008. **42**(1-2): p. 386-394.
443. Philippidis, N., et al., *Photoelectrocatalytic degradation of the insecticide imidacloprid using TiO₂/Ti electrodes*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2009. **204**(2-3): p. 129-136.
444. Φιλίππιδης, Ν.Ι., *Φωτοηλεκτροκαταλυτική Αδρανοποίηση Ρύπων σε Υδατικά Διαλύματα*, in *Τμήμα Χημείας 2008*, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης: Θεσσαλονίκη.
445. He, C., et al., *Comparison of catalytic activity of two platinised TiO₂ films towards the oxidation of organic pollutants*. Chemosphere, 2006. **63**(2): p. 183-191.
446. Li, X.Z. and F.B. Li, *Surface characterization and photocatalytic reactivity of innovative Ti/TiO₂ and Ti/Pt-TiO₂ mesh photoelectrodes*. Journal of Applied Electrochemistry, 2002. **32**(2): p. 203-210.
447. RoyMorrison, S., *Electrochemistry at Semiconductors and Oxidized Metal Electrodes*. 1980, New York: Plenum Press.
-

-
448. Kim, J., et al., *Influence of anatase-rutile phase transformation on dielectric properties of sol-gel derived TiO₂ thin films*. Journal of Electroceramics, 2006. **16**(4): p. 447-451.
449. Finklea, H.O., *Semiconductor Electrodes*. 1988, New York: Elsevier.
450. Hayden, B.E., D.V. Malevich, and D. Pletcher, *Electrode coatings from sprayed titanium dioxide nanoparticles – behaviour in NaOH solutions*. Electrochemistry Communications, 2001. **3**(8): p. 390-394.
451. Mintsouli, I., et al., *Photoelectrochemical characterisation of thermal and particulate titanium dioxide electrodes*. Journal of Applied Electrochemistry, 2006. **36**(4): p. 463-474.
452. Parkinson, B., et al., *The reduction of molecular oxygen at single crystal rutile electrodes*. Electrochimica Acta, 1980. **25**(5): p. 521-525.
453. Ulmann, M., N.R. De Tacconi, and J. Augustynski, *Behavior of surface peroxo species in the photoreactions at titanium dioxide*. The Journal of Physical Chemistry, 1986. **90**(24): p. 6523-6530.
454. Bahnemann D., et al., *Photocatalytic Treatment of Waters*, in *Aquatic and Surface Photochemistry* 1991, Lewis Publs., CRC Press.
455. Hufschmidt, D., et al., *Enhancement of the photocatalytic activity of various TiO₂ materials by platinisation*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2002. **148**(1-3): p. 223-231.
456. Candal, R.J., W.A. Zeltner, and M.A. Anderson, *Effects of pH and Applied Potential on Photocurrent and Oxidation Rate of Saline Solutions of Formic Acid in a Photoelectrocatalytic Reactor*. Environmental Science & Technology, 2000. **34**(16): p. 3443-3451.
457. Kesselman, J.M., N.S. Lewis, and M.R. Hoffmann, *Photoelectrochemical Degradation of 4-Chlorocatechol at TiO₂ Electrodes: Comparison between Sorption and Photoreactivity*. Environmental Science & Technology, 1997. **31**(8): p. 2298-2302.
458. Tunesi, S. and M. Anderson, *Influence of chemisorption on the photodecomposition of salicylic acid and related compounds using suspended titania ceramic membranes*. The Journal of Physical Chemistry, 1991. **95**(8): p. 3399-3405.
459. D'Oliveira, J.C., G. Al-Sayyed, and P. Pichat, *Photodegradation of 2- and 3-chlorophenol in titanium dioxide aqueous suspensions*. Environmental Science & Technology, 1990. **24**(7): p. 990-996.
460. Bizani, E., et al., *Photocatalytic decolorization and degradation of dye solutions and wastewaters in the presence of titanium dioxide*. Journal of Hazardous Materials, 2006. **136**(1): p. 85-94.
461. de Sucre, V.S. and A.P. Watkinson, *Anodic oxidation of phenol for waste water treatment*. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 1981. **59**(1): p. 52-59.
462. Azzam, M.O., M. Al-Tarazi, and Y. Tahboub, *Anodic destruction of 4-chlorophenol solution*. Journal of Hazardous Materials, 2000. **75**(1): p. 99-113.
-

-
463. Kositzi, M., et al., *Photocatalytic oxidation of Cibacron Yellow LS-R*. Journal of Hazardous Materials, 2007. **146**(3): p. 680-685.
464. Georgieva, J., et al., *Preparation and photoelectrochemical characterisation of electrosynthesised titanium dioxide deposits on stainless steel substrates*. Electrochimica Acta, 2006. **51**(10): p. 2076-2087.
465. Tamburic, B., et al., *Parameters affecting the growth and hydrogen production of the green alga Chlamydomonas reinhardtii*. International Journal of Hydrogen Energy, 2011. **36**(13): p. 7872-7876.
466. Krýsa, J. and J. Jirkovský, *Electrochemically assisted photocatalytic degradation of oxalic acid on particulate TiO₂ film in a batch mode plate photoreactor*. Journal of Applied Electrochemistry, 2002. **32**(6): p. 591-596.
467. Lawlor, D.W., *The chemistry of photosynthesis*, in *Photosynthesis*. 2001, BIOS Scientific Publishers Limited: U.K. p. 160-162.
468. Gurunathan, K., *Photobiocatalytic production of hydrogen using sensitized TiO₂-MV²⁺ system coupled Rhodospseudomonas capsulata*. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2000. **156**(1-2): p. 59-67.
469. Tran, P.D., V. Artero, and M. Fontecave, *Water electrolysis and photoelectrolysis on electrodes engineered using biological and bio-inspired molecular systems*. Energy & Environmental Science, 2010. **3**(6): p. 727-747.

7. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ, ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ-ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ, ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

7.1 Δημοσιεύσεις

- Hydrogen production using an algae photoelectrochemical cell, Chatzitakis A., Nikolakaki E., Sotiropoulos S., Poullos I., Applied Catalysis B: Environmental, 143 (2013) 161-168
- Hydrogen production using a photoelectrocatalytic-enzymatic hybrid system, Chatzitakis A., Nikolakaki E., Sotiropoulos S., Poullos I., Catalysis Today, 209 (2013) 60-65

7.2 Ανακοινώσεις σε συνέδρια-Διακρίσεις

- Hydrogen production and organic pollutants reduction in an algae photoelectrochemical cell, Chatzitakis A., Nikolakaki E., Sotiropoulos S., Poullos I., Fourth International Conference on Semiconductor Photochemistry (SP4), 23-27 Ιουνίου 2013, Πράγα, Τσεχία. Επιλέγειν από την επιστημονική επιτροπή του συνεδρίου, μεταξύ των 3 καλύτερων εργασιών και παρουσιάσεων του συνεδρίου
- Hydrogen production from a novel photocatalytic-photosynthetic hybrid system, Chatzitakis A., Nikolakaki E., Sotiropoulos S., Poullos I., 7th European Meeting on Solar Chemistry and Photocatalysis: Environmental Applications, 17-20 Ιουνίου 2012, Πόρτο, Πορτογαλία
- Αναπτύξη καινοτόμου φωτοκαταλυτικού-φωτοσυνθετικού υβριδικού συστήματος παραγωγής υδρογόνου, Χατζητάκης Α., Νικολακάκη Ε., Σωτηρόπουλος Σ., Πούλιος Ι., 4^ο Περιβαλλοντικό Συνέδριο Μακεδονίας, Μάρτιος 2011, Θεσσαλονίκη
- Διάκριση (κατάταξη στις 40 καλύτερες προτάσεις από ένα σύνολο 250 προτάσεων) στον Ευρωπαϊκό διαγωνισμό καινοτομίας Innovact Campus Awards 17th edition που διεξήχθη στη Reims της Γαλλίας στις 26 και 27 Μαρτίου 2013. Τίτλος βραβευθείσας πρότασης «Hydrogen production as a future fuel using an Algae Photoelectrochemical Solar Cell», Χατζητάκης Α., Νικολακάκη Ε., Σωτηρόπουλος Σ., Πούλιος Ι., Φιλιππίδης Ν., Κίτσιου Β., Μπερμπερίδου Χ., Μάρτιος 2013

7.3 Υποτροφίες

- Υπότροφος του Ι.Κ.Υ. από 01-11-2010 έως 30-04-2011
- Υπότροφος του προγράμματος «Ενίσχυση του ανθρώπινου ερευνητικού δυναμικού μέσω της υλοποίησης διδακτορικής έρευνας – ΗΡΑΚΛΕΙΤΟΣ II» από 01-05-2011 έως 31-08-2013

-
- Υπότροφος του ιδρύματος Ωνάση για την παρακολούθηση σεμιναρίων με τίτλο «Nanoscience and Nanotechnology», Ηράκλειο Κρήτης, 15-19 Ιουλίου 2013



Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος II. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.