

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI  
Fakulta přírodovědecká  
Katedra fyzikální chemie



Studium elektrochemických metod úprav povrchu  
uhlíkových vláken

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2011

Vypracoval:	Daniel Riman
Obor:	Aplikovaná chemie
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Jan Hrbáč, Ph.D.

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou v seznamu použité literatury. Souhlasím s tím, že práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry fyzikální chemie, Přírodovědecké Fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne .....

.....

Vlastnoruční podpis

#### Poděkování:

Děkuji svému vedoucímu doc. RNDr. Janu Hrbáčovi, Ph.D. za odborné vedení při práci a pomoc poskytnutou při vypracovávání. Dále bych chtěl poděkovat Mgr. Vladimíru Halouzkovi a Mgr. Petru Jakubcovi za jejich pomoc a přijetí do kolektivu a RNDr. Davidu Jirovskému za odbornou pomoc při HPLC experimentech. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat svým rodičům a přátelům za podporu během celého studia.

## **Bibliografická identifikace:**

Jméno a příjmení autora: Daniel Riman

Název práce: Studium elektrochemických metod úprav povrchu uhlíkových vláken

Typ práce: Bakalářská

Pracoviště: Katedra fyzikální chemie

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Jan Hrbáč, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2011

Abstrakt: Cílem práce bylo zjistit vliv podmínek (doba elektrochemické aktivace, druh elektrolytu) při aktivaci mikroelektrody na elektrochemické vlastnosti uhlíkového vlákna a aplikovat získané elektrody pro amperometrická měření, včetně amperometrické detekce v HPLC a mikrodialýze.

Klíčová slova: Uhlíkové vlákno, mikroelektroda, aktivace elektrody, pretreatment, HPLC-EC, mikrodialýza

Počet stran: 57

Jazyk: čeština

### **Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Daniel Riman

Title: Electrochemical methods of carbon microfibers' surface treatment

Department: Department of Physical Chemistry

Type of thesis: Bachelor

Supervisor: Doc. RNDr. Jan Hrbáč, Ph.D.

The year of presentation: 2011

Abstract: The aim of this work is to evaluate the impact of conditions (time of the pretreatment, electrolyte) during the electrode activation process on the electrochemical properties of carbon fiber and to apply the obtained knowledge in amperometric measurements, including amperometric HPLC detection and microdialysis.

Keywords: Carbon fiber, microelectrode, electrode activation, pretreatment, HPLC-EC, mikrodialysis

Number of pages: 57

Language: Czech

# Obsah

1. Úvod.....	7
2. Teoretická část .....	8
2.1. Uhlíková vlákna .....	8
2.1.1. Historie.....	8
2.1.2. Vlastnosti uhlíkových vláken .....	9
2.1.3. Typy uhlíkových vláken.....	10
2.1.3.1. Polyakrylonitrilová vlákna .....	11
2.1.3.2. Dehtová vlákna.....	17
2.1.3.3. Vlákná z umělého hedvábí .....	18
2.1.3.4. Vlákná vyrobená napařováním uhlíku (vapor - grown carbon fibers).....	19
2.2. Uhlíkové mikroelektrody .....	20
2.2.1. Uhlíková vlákna jako elektrodový materiál .....	20
2.2.2. Pretreatment (úprava povrchu elektrod).....	21
2.2.2.1. Mechanické leštění.....	22
2.2.2.2. Čištění organickým rozpouštědlem.....	23
2.2.2.3. Tepelná úprava .....	23
2.2.2.4. Laserová aktivace.....	23
2.2.2.5. Chemická úprava.....	24
2.2.2.6. Elektrochemický pretreatment .....	24
3. Experimentální část.....	27
3.1. Přístrojové vybavení.....	27
3.2. Chemikálie .....	28
4. Výsledky a diskuze .....	30
4.1. Konstrukce mikrosenzoru .....	30
4.2. Pretreatment .....	30
4.3. Testování elektrod.....	33
4.4. Aplikace mikroelektrod z uhlíkových vláken.....	48
5. Závěr .....	53
6. Summary .....	54

## 1. Úvod

Uhlíková vlákna jsou konstrukční materiál, jenž díky svým výborným vlastnostem nachází uplatnění již několik desetiletí ve všech lidských činnostech, kde je potřeba lehké a zároveň pevné materiály. V průkopnických dobách jejich cena zužovala oblast využití pouze na špičkové technologie, například v kosmonautice, ovšem potřeba zaměnit těžkou ocel a jiné kovové materiály za podobně pevný, ale lehký materiál způsobila jejich masovou výrobu, což vedlo ke snížení cen.

Jednou z praktických aplikací uhlíkových vláken je jejich využití jako elektrodový materiál. Uhlíková vlákna jsou používána při konstrukci elektrochemických senzorů a biosenzorů. Díky svým velmi malým rozměrům dosahují vysokých proudových hustot a nízké úrovně šumu. V neaktivované podobě však nevykazují příliš dobré elektrochemické vlastnosti (pomalá elektrodová kinetika pro většinu elektroaktivních látek), a proto musejí být před použitím upravena. A právě způsob aktivace a podmínky jsou rozhodujícím krokem pro získání kvalitního mikrosenzoru poskytujícího citlivá, reprodukovatelná a správná měření.

Cílem práce bylo zjistit vliv podmínek (doba elektrochemické aktivace, druh elektrolytu) při aktivaci mikroelektrody na elektrochemické vlastnosti uhlíkového vlákna a aplikovat získané elektrody pro amperometrická měření, včetně amperometrické detekce v HPLC a mikrodialýze.

## 2. Teoretická část

### 2.1. Uhlíková vlákna

Uhlíková vlákna jsou velmi lehký a pevný vláknitý materiál obsahující minimálně 92% uhlíku získávaný pyrolýzou různých materiálů [1]. Vlákna mohou být krystalická nebo amorfní, popřípadě částečně krystalická. V případě krystalického uspořádání se jedná o strukturu grafitu. Uhlíkové atomy v grafitické struktuře mívají hybridizaci  $sp^2$ , jejich strukturní uspořádání připomíná plástve medu. Uhlíkové atomy jsou mezi sebou vázány v mikroskopických krystalech, které jsou víceméně srovnány paralelně s podélnou osou vláken. Právě orientace krystalů způsobuje vysokou pevnost uhlíkových vláken. Uhlíková vlákna jsou používána jako konstrukční materiál - součástky vyrobené z uhlíkových vláken našly uplatnění jako konstrukční prvky letadel a kosmických lodí, závodních automobilů, v lékařství jako umělé kosti, šlachy, protetika, sportovního náčiní jako části golfových holí, rámy jízdních kol, rybářské pruty, výztuhy hokejek, stožáry a některé konstrukční prvky lodí, korozivzdorné nádoby a tanky v chemickém průmyslu a mnoho dalších oblastí, kde je potřeba použít lehké a pevné materiály. Pro komerční účely je spleteno několik tisíc vláken dohromady do tkaniny, která může být použita bez úpravy nebo může být spolu s epoxidovými pryskyřicemi zformována do různých tvarů.

#### 2.1.1. Historie

Přítomnost uhlíkových vláken v přírodě byla potvrzena v některých ložiscích grafitu. Za otce uhlíkových vláken lze považovat amerického vynálezce Edisona [2]. Edisonova vlákna byla připravována karbonizací bambusových vláken a využívána jako vlákno v prvních žárovkách. Dalším mezníkem je příprava uhlíkových vláken rozkladem metanu, propanu a etylenu při  $1200^{\circ}\text{C}$  na křemíkových podložkách ve čtyřicátých letech 20. století [3], přibližně ve stejné době byla nacházena vlákna o velmi krátkých délkách na vyzdívce vysokých pecích na výrobu železa. Současně byly prováděny pokusy o pyrolýzu viskózních vláken. V šedesátých letech se daří používat další suroviny ke karbonizaci uhlíkových vláken, jako nejlepší prekurzor se jeví polyakrylonitril (PAN). Během sedmdesátých let nastupují vlákna z isotropaních dehtů, dále jsou rozvíjeny metody výroby uhlíkových vláken z PAN a objevuje



se využití mesofázových smol. Vývoj tohoto materiálu poté pokračoval a stále pokračuje s cílem zlepšit mechanické vlastnosti a použitelnost vláken.

### 2.1.2. Vlastnosti uhlíkových vláken

Vlastnosti uhlíkových vláken silně závisí na struktuře a chemickém složení, které je ovlivněno druhem suroviny, ze které jsou vlákna vyráběna (např. relativně vysoký obsah dusíku je indikací toho, že prekurzorem byl akrylonitril). Hlavními fyzikálními vlastnostmi jsou pevnost v tahu, modul pružnosti, elektrická a tepelná vodivost. Základními strukturními parametry jsou stupeň krystalinity, vzdálenost vrstev, velikosti krystalitů kolmo a rovnoběžně s uhlíkovými vrstvami, orientace uhlíkových vrstev, struktura domén a objem, orientace a tvar dutinek ve struktuře. Například vysoký stupeň krystalinity, malé vzdálenosti mezi vrstvami, velké rozměry krystalitů, pevná textura paralelní k ose vlákna a malé množství defektů ve struktuře vedou k vysoké pružnosti v tahu, nízkému elektrickému odporu a vysoké tepelné vodivosti.

#### *Mechanické vlastnosti uhlíkových vláken:*

- Vysoká pevnost v tahu (tensile strength) – je to maximální napětí, které je materiál schopen přestát bez významné změny průměru.
- Vysoký modul pružnosti v tahu (tensile modulus) – pružnost materiálu
- Útlum vibrací
- Odolnost proti únavě – materiál je schopný odolávat poškození způsobeném neustálým používáním
- Nízký koeficient tření
- Nulová plastická deformace při namáhání

#### *Tepelné vlastnosti uhlíkových vláken*

- Nízký koeficient tepelné roztažnosti
- Široké rozpětí koeficientu tepelné vodivosti
- Odolnost proti tepelným rázům, vysokým i nízkým teplotám.

#### *Elektrické a elektromagnetické vlastnosti uhlíkových vláken*

- Elektrická vodivost
- Vysoká propustnost RTG záření

### *Chemické vlastnosti*

- Odolnost vůči kyselinám, zásadám a rozpouštědlům
- Chemická inertnost
- Biologická snášenlivost

### 2.1.3. Typy uhlíkových vláken

Uhlíková vlákna se vyrábějí ze tří hlavních prekurzorů – z dehtu (tzv. pitch-based), z polymerních vláken, hlavně polyakrylonitrilu (PAN-based) popř. viskózy (rayon) a z plyných uhlovodíků (vapor-grown). První dva typy jsou komerčně hojně používané, třetí nalézá spíše speciálních použití. Důvodem je délka vyráběných vláken, kdy u vláken vyrobených z polymerů a z dehtu je dosahováno v podstatě libovolných délek, u vláken z plyných uhlovodíků je dosažena délka pouze několika centimetrů.

Z hlediska mechanických vlastností lze uhlíková vlákna rozdělit na několik kategorií:

-uhlíková vlákna nižších parametrů: tato vlákna mají pevnost v tahu do 1000 MPa, modul pružnosti v tahu do 100 GPa. Do této kategorie patří vlákna vyrobená z celulózy popř. z izotropního dehtu. Bývají obvykle připravována ve formě textilních tkanin apod.

-uhlíková vlákna s vysokými mechanickými parametry: pevnost v tahu přes 3,5 GPa, modul pružnosti v tahu od 230 až 930 GPa. Tato kategorii lze rozdělit podle konkrétních vlastností na:

- a) vysocepevná vlákna (HT carbon fibers – high tensile c.f.)
- b) vysokomodulová vlákna (HM carbon fibers – high modulus c.f.)
- c) středně modulová vlákna (IM carbon fibers – intermediate c.f.)
- d) vlákna se supervysokým modulem (UHM carbon fibers – ultrahigh modulus c.f.)

Typ vláken	Modul pružnosti (GPa)	Pevnost v tahu (GPa)
PAN vysokomodulární	345-520	1,86-2,75
PAN střední modul pružnosti	230-300	3,1-4,4
PAN vysocepevná	235-300	4,14-5,7
Mesofázová vlákna	140-820 (značně závislá na typu)	1,4-2,2

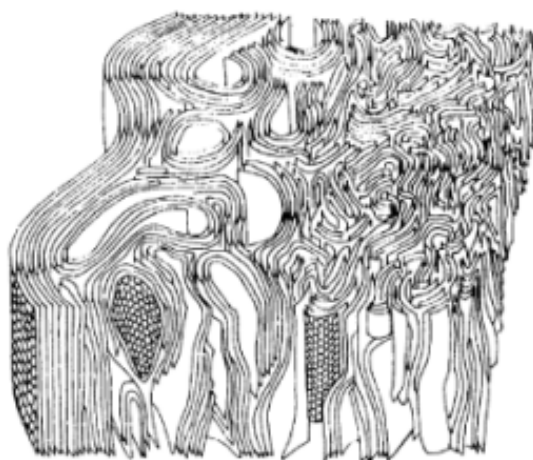
**Obr. 1:** Tabulka vybraných mechanických vlastností uhlíkových vláken. Data uvedená v tabulce jsou přibližné vlastnosti, jež značně závisí na výrobci.

Obecně platí, že polyakrylonitrilová vlákna mají lepší mechanické vlastnosti a dehtová vlákna respektive ta, která jsou vyráběna napařováním, mají lepší tepelnou a elektrickou vodivost. Z tohoto důvodu je asi 90% všech vyrobených uhlíkových vláken z polyakrylonitrilu (PAN). Zbýlých 10% je vyráběno z umělého hedvábí nebo z dehtu (vznikajícího při zpracování ropy nebo karbonizací uhlí), uhlíková vlákna vyrobená napařováním tvoří pouze velmi malou část celkového množství.

Další srovnání je z pohledu ekonomického, nejlevnější jsou suroviny pro výrobu z dehtu respektive z plynných uhlovodíků.

### 2.1.3.1. Polyakrylonitrilová vlákna

Nejpoužívanějším typem vláken jsou vlákna polyakrylonitrilová. Ta jsou vyráběna z akrylonitrilu polymerací a následnou pyrolýzou. Uhlíková vlákna založená na polyakrylonitrilu se vyrábějí ve dvou základních typech (PAN I a PAN II), které se liší vnitřním uspořádáním. V řezu u PAN I vláken je patrné rozdělení vlákna na tzv. jádro a slupku (obr.1).



**Obr. 2:** Struktura uhlíkového vlákna typu PAN I v řezu [1].

Zatímco jádro má značně neuspořádanou strukturu (tzv. turbostatická struktura), slupka vlákna je orientována paralelně s vnějším obvodem [6]. Struktura slupky je výsledkem procesů formování vrstev, které probíhají za působení zvýšené teploty. Právě rozdíl teploty a rozdílné napětí jádra a slupky jsou příčinou takovéto struktury. Tloušťka slupky je závislá na teplotě při karbonizaci, čím vyšší je teplota, tím je uspořádanější. U PAN II dochází k vytvoření zcela odlišné struktury. Povrchová vrstva (slupka) zde není odlišná od jádra, navíc krystality jsou menší než u PAN I, což má za následek vyšší pevnost. U tohoto typu navíc

nejsou uhlíkové vrstvy paralelní s povrchem, namísto toho z něj vyčnívají, což má za následek lepší vlastnosti pro vázání se k pojivům při výrobě kompozitních materiálů. Výroba uhlíkových vláken z PAN se skládá z následujících operací:

### **Polymerace akrylonitrilu**

Polymerace akrylonitrilu [1] je prováděna v roztoku. Jako rozpouštědlo lze použít N,N-dimethylamid kyseliny mravenčí, dimethylsulfoxid, koncentrovaný vodný roztok chloridu zinečnatého nebo thiokyanatanu sodného. Tyto roztoky se vyznačují vysoce polárními molekulami, které se připojují k nitrilové skupině prekurzoru a zruší vazby dipól-dipól mezi molekulami akrylonitrilu. K zahájení polymerace se používají různé iniciátory, jako např. peroxidy, persírany a azosloučeniny. Při polymeraci není používán pouze akrylonitril, ale je využíván i tzv. komonomer. Obvykle to bývá nějaká objemná akrylová molekula snižující krystalinitu PAN. Jako komonomer je používána kyselina akrylová, metakrylová, akrylamid aj. Tyto látky zlepšují vlastnosti vláken (pevnost, stabilitu...).

### **Zvláknování (spinning)**

Po polymeraci akrylonitrilu je dalším krokem zvláknování. Existuje několik metod jak dosáhnout vláknité formy polyakrylonitrilu [4], všechny však využívají disku s velkým počtem otvorů (průměr těchto otvorů je přibližně dvojnásobek průměru vláken), přes který je protlačována tavenina nebo roztok polymeru ve vhodném rozpouštědle. Zvláknování z taveniny je za normálních podmínek neproveditelné, jelikož PAN se rozkládá za nižší teploty než je jeho teplota tání [1]. Proto musí být použito tzv. hydratační činidlo k rozdělení nitrilových vazeb. Tím je dosaženo snížení teploty tání. Jako vhodné hydratační činidlo lze použít vodu, další možností je polyetylenglykol (PEG). Jiný postup je použití těkavého organického rozpouštědla, ve kterém se PAN rozpouští. Roztok je pumpován přes děrovaný disk do vyhřátého prostoru, kde se těkavé rozpouštědlo odpaří a PAN ztuhne ve formě vláken (dry spinning [5]). Další možností je pumpování roztoku PAN v organickém nebo anorganickém rozpouštědle do koagulační kapaliny, která způsobí vysrážení vláken (wet spinning). Vláknina jsou poté omyta a natažena na požadovaný průměr. Právě natažení pomáhá sladit molekuly uvnitř vlákna a poskytnout základ pro vznik těsně vázaných uhlíkových krystalů po karbonizaci.

## **Stabilizace**

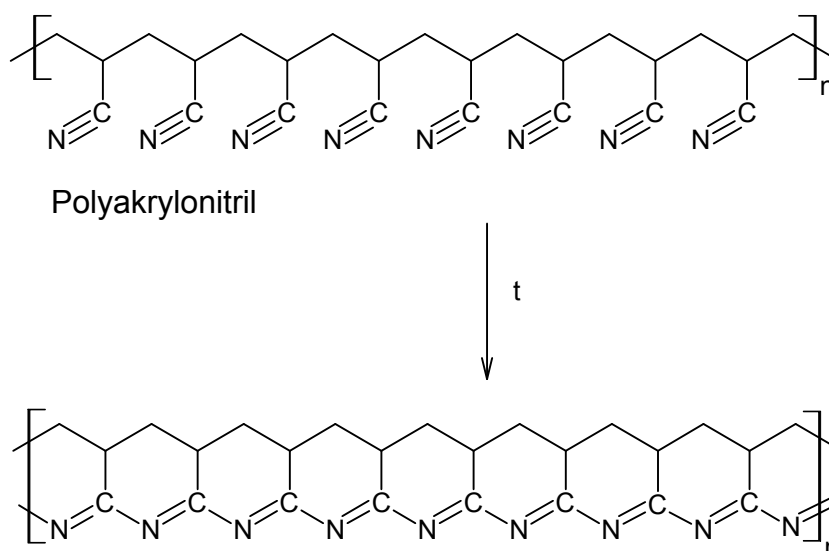
Před karbonizací vláken musí být vlákna chemicky změněna, aby bylo dosaženo změny jejich lineárního propojení atomů a vzniku termálně stabilnějšího žebříkového uspořádání. Toho je dosaženo zahříváním vláken na vzduchu na teplotu 200-300°C po dobu 30 až 120 minut. To způsobí, že vlákna získají molekuly kyslíku ze vzduchu a změni konfiguraci atomových vazeb. Tato stabilizační chemická reakce je komplexní proces zahrnující několik kroků, z nichž některé probíhají současně. Tyto reakce jsou exotermické, a proto se musí kontrolovat teplota, aby nedošlo k přehřátí vláken. Stabilizace bývá prováděna různými postupy a za použití různých zařízení. Jednou z možností je, že uhlíková vlákna procházejí přes několik vyhřívacích komor, jinou možností je tažení vláken přes horké válečky a přes vrstvu volného materiálu drženého ve vlnosku proudem horkého vzduchu. V některých případech je použita směs horkého vzduchu a určitých plynů, jež chemicky urychlují proces stabilizace.

## **Karbonizace**

Po dokončení stabilizace jsou vlákna zahřívána na teploty od 1000 do 3000°C v pecích, jež jsou vyplněny směsí plynů neobsahující kyslík. V peci je udržován přetlak kvůli udržení inertní atmosféry a místa, kde vstupují nebo vystupují vlákna z pece, jsou zapečetěna, aby zabránila kyslíku vniknout do pece a způsobit vzplanutí vláken. Jak jsou vlákna zahřívána, tak přicházejí o neuhlíkové atomy, které unikají ve formě vodní páry, amoniaku, dále se uvolňuje vodík a dusík a také část uhlíku jako oxidy uhličitý a uhelnatý. Jak se vlákna zbavují neuhlíkových atomů, tak dochází k těšnějšímu uspořádání krystalů uhlíku a ty jsou pak více méně sladěny s podélnou osou vláken. Při pyrolýze vedoucí k uhlíkovému vláknu probíhají následující procesy:

### *Cyklizace polyakrylonitrilových řetězců*

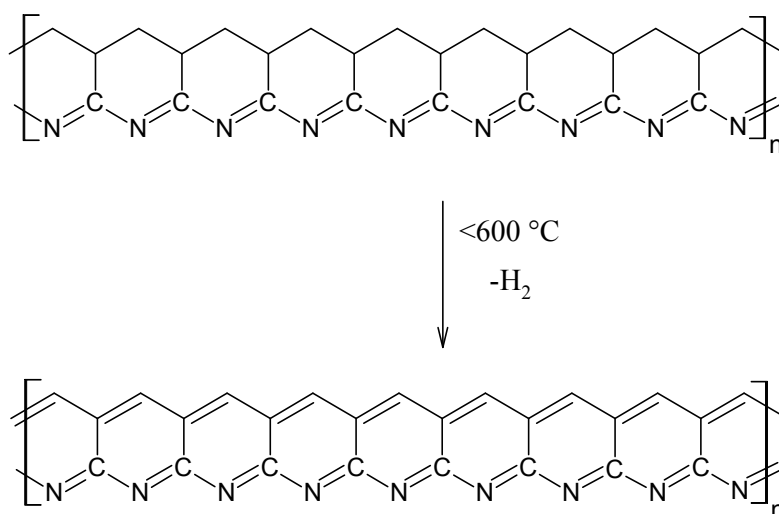
Zahříváním polyakrylonitrilu dochází k cyklizaci jednotlivých cyklů polyakrylonitrilu.



**Obr. 3:** reakční schéma cyklizace PAN

*Aromatizace cyklů*

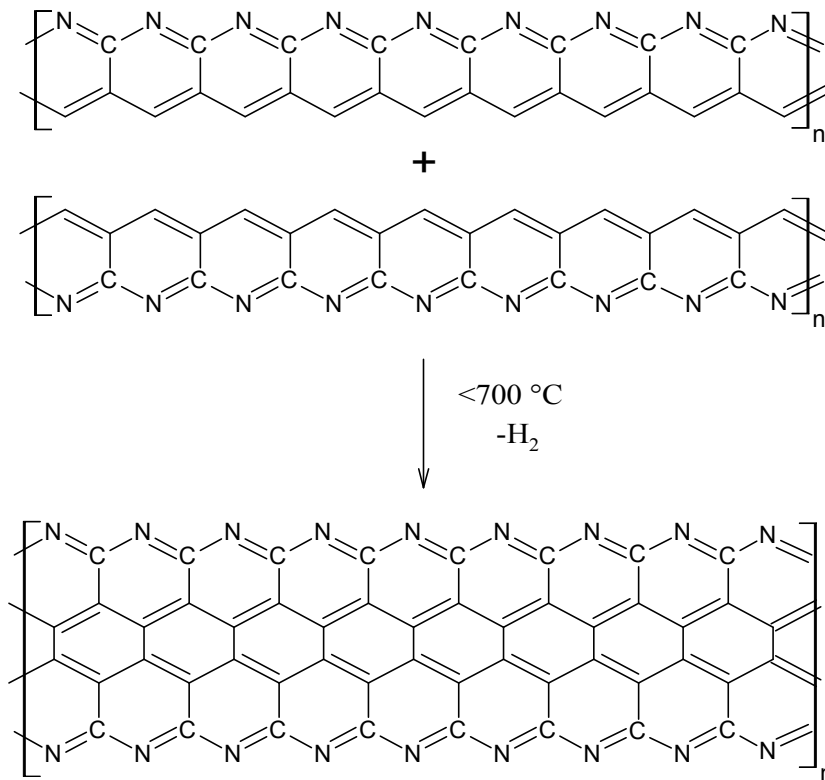
Dalším zahříváním na teplotu maximálně 600°C dochází k dehydrogenaci a aromatizaci cyklů.



**Obr. 4:** Reakční schéma aromatizace polymerních řetězců při výrobě PAN vláken

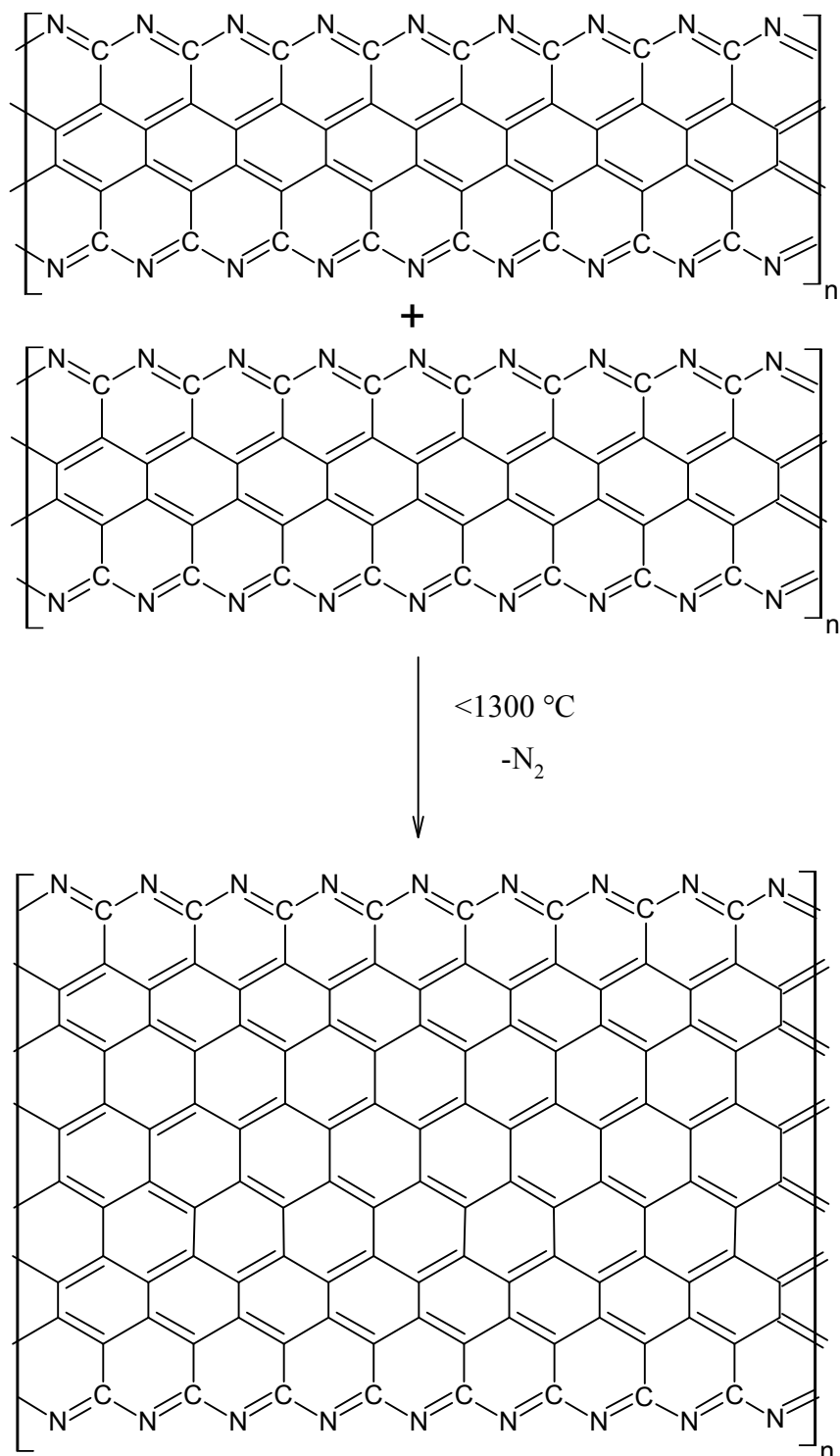
*Spojování polymerních řetězců*

Pomalé zahřívání polymerních řetězců na teplotu mezi 600-700°C způsobí jejich spojení (a dehydrogenaci).



**Obr. 5:** Reakční schéma spojování polymerních řetězců při výrobě PAN vláken

Zahřívání na teplotu mezi 700-1300°C způsobí další kondenzaci polymerů ve větší celky. Tato reakce způsobuje uvolnění plynného dusíku. Polymerní molekuly obsahují další atomy dusíku, které mohou působením tepla tvořit širší polymerní molekuly. Se zvyšujícím se polymeračním stupněm se snižuje obsah dusíku, tím se stává uhlík čistší a připomíná grafit.



**Obr. 6:** Reakční schéma dalšího spojování polymerních řetězců při výrobě PAN vláken

### *Úprava povrchu*

Po karbonizaci je povrch vláken nevhodný pro použití s epoxidovými pryskyřicemi a dalšími látkami používanými v kompozitních materiálech [4]. Pro zlepšení spojení vlákna s těmito přísadami je povrch vláken mírně oxidován. Přidáním kyslíkových atomů na povrch získají



vlákna lepší vlastnosti pro chemické spojení a oxidace způsobí naleptání a zdrsnění povrchu, jež zajistí lepší vlastnosti pro mechanické spojení s epoxidy. Oxidace bývá prováděna máčením v roztoku chlornanu sodného, v kyselině dusičné nebo probíhá v plynech, např. ve vzduchu, ozónu apod. Vlákna mohou být také upravena elektrolyticky. Proces úpravy povrchu musí být bedlivě sledován, aby se zabránilo vzniku defektů, které by způsobily selhání vláken.

#### *Pokryvání ochrannou vrstvou*

Nakonec jsou vlákna pokryta ochrannou vrstvou proti poškození při navíjení a tkaní. Krycí materiál je vybrán tak, aby byl vhodný k použití vláken s lepidly k výrobě kompozitních materiálů. Typickými materiály jsou epoxidové pryskyřice, polyester, nylon, uretan apod. Takto pokrytá vlákna jsou navinuta na bubny a jsou dále používány k výrobě kompozitů.

### 2.1.3.2. Dehtová vlákna

Jako prekurzor pro tato vlákna může být použit buď dehet, který je jedním z produktů zpracování uhlí (zplyňování, karbonizace černého uhlí), nebo asfaltová frakce při zpracování ropy (ropný dehet). Černouhelný dehet obsahuje několikanásobně více aromatických látek (zejména benzenu a benzo[b]pyridinu) než ropná frakce. Obsah těchto sloučenin způsobuje tvorbu koksu během karbonizace a tím zhoršení vlastností výsledných vláken [8]. Z tohoto důvodu je vhodnější pro výrobu uhlíkových vláken dehet ze zpracování ropy. Dehet je termoplast, což znamená, že jej lze roztavit zahříváním a jeho vlastnosti se po opakovaném zahřívání nemění. Takto roztavený materiál lze převést do formy vláken. Ta však musí projít karbonizací a přitom udržet svůj tvar. Proto se před vlastní karbonizací provádí stabilizace dehtových vláken mírnou oxidací na vzduchu při teplotách od 250-400°. Ta jsou poté vedena ke karbonizaci, která se provádí při teplotě přes 1000°C, tentokrát již bez přístupu vzduchu. Následně probíhá grafitizace za teplot blízkých 2500°C. Postup se mírně liší podle způsobu využití vláken (např. pro zvýšení pevnosti aj.).

Dehet používaný jako prekurzor bývá dvojího typu:

a) izotropní dehet – jedná se o strukturu, v níž jsou vlastnosti závislé na směru. Má nižší povrchové napětí, v roztaveném stavu má nižší viskozitu.

b) mesofázový dehet – struktura, v níž se nacházejí kapičky dehtu, část dehtu je izotropní. Tuto formu lze vyrobit z izotropního dehtu zahříváním na teploty 350-450°C po dobu několika hodin. Při tomto procesu dochází k polymeraci jednotlivých složek dehtu. Pro výrobu vláken je z důvodu vyšší viskozity potřeba použít vyšších teplot, navíc při roztavení dochází k sedimentaci těžší mesofázové frakce (tento problém se řeší probubláváním taveniny inertním plynem, např. N<sub>2</sub>). I přes tyto problémy jsou vlákna vyráběna z mesofázových smol a to z důvodu získání vláken s lepšími mechanickými vlastnostmi. Oproti izotropním vláknům mají vyšší modul pružnosti a vyšší pevnost v tahu. Navíc mesofázový dehet má vyšší teplotu měknutí, díky tomu snesou vlákna vyšší teploty pro oxidační stabilizaci, což značně urychluje proces výroby. [9]

### 2.1.3.3. Vlákna z umělého hedvábí

Prekurzorem těchto vláken je regenerovaná celulosová tkanina (viskóza, umělé hedvábí). Celulosa je prakticky amorfní a má polymerační stupeň okolo 350 (číslo je zjišťované z hodnot viskozity bazického roztoku bis-(ethylendiammin)měďnatého iontu vzorec Cu(C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>)<sub>2</sub> (OH)<sub>2</sub> používaného k rozpouštění celulosy). Průměrná šířka vláken bývá kolem 13 μm. Výroba sestává z následujících operací:

#### *Stabilizace*

Prvním krokem je stabilizace, což je oxidační proces rozdělený na tři fáze. V první fázi dochází k odstranění nechemicky vázané vody při teplotě 25-150°C. V dalším kroku dochází k dehydrataci celulosových jednotek v teplotním rozmezí od 150-240°C. Poté dochází za teplot do 400°C k aromatizaci za rozštěpení některých glykosidických a eterických vazeb.

#### *Karbonizace*

Při teplotě od 700 do 2700°C je karbonizovatelný zbytek převeden na grafitu podobnou vrstvu.

#### *Grafitizace*

Dalším působením vysokých teplot (700-2700°C) v inertní atmosféře dochází ke zvyšování obsahu uhlíku [10].

#### 2.1.3.4. Vlákna vyrobená napařováním uhlíku (vapor - grown carbon fibers)

Tato vlákna jsou vyráběna pyrolýzou plyných uhlovodíků, jako například benzen nebo metan, za přítomnosti vodíku při teplotách 950-1200°C. Napařování uhlíkových vláken je iniciováno kovovými katalyzátory (obvykle kobalt, železo nebo nikl), které jsou deponovány na substrátu nebo přímo injektovány do plynu [11].

## 2.2. Uhlíkové mikroelektrody

Mikroelektrody jsou definovány jako elektrody velmi malých geometrických rozměrů, řádově desítek až desetin mikrometru. Rozdíl mezi elektrodami normálních rozměrů a mikroelektrodami je však i v rozdílném času potřebném k transportu látky na elektrodu. Ve chvíli, kdy začne na elektrodě probíhat elektrodová reakce, probíhá na elektrodě tzv. lineární difúze depolarizátoru k elektrodě (tloušťka difúzní vrstvy je menší než plocha elektrody, tzv. edge effect se prakticky neuplatňuje). V průběhu elektrochemického experimentu dochází ke zvětšení tzv. difúzní vrstvy okolo elektrody na rozměry převyšující plochu elektrody, elektroda se chová jako sferická (podíl lineární difúze už není tak velký, více se uplatňuje edge effect). A právě rozměr elektrody je rozhodujícím faktorem určujícím dobu ustálení sferické difúzní vrstvy. Z uvedeného plyne, že mikroelektroda je jakákoli elektroda, jejíž charakteristický rozměr je za aktuálních experimentálních podmínek menší než tloušťka difúzní vrstvy [14]. Problémem u mikroelektrod je velikost jejich odezvy, která je v řádu nanoampérů nebo pikoampérů, a proto potřebujeme velmi citlivé přístroje na měření takto malých proudů s nízkým šumem.

Uhlík je jedním z nejpoužívanějších materiálů k výrobě pevných elektrod. K dispozici existuje mnoho různých druhů uhlíku lišících se svými elektrochemickými vlastnostmi jako např. grafit, skelný uhlík, uhlíková vlákna, nanotrubičky, uhlíková pasta a diamant. Právě rozdílná struktura uhlíkových materiálů umožňuje připravit elektrody s různými elektrochemickými vlastnostmi. Miniaturizace elektrod z většiny výše uvedených uhlíkových materiálů je obtížná. Pro použití uhlíku k výrobě mikroelektrod jsou nejvhodnější uhlíková vlákna.

### 2.2.1. Uhlíková vlákna jako elektrodový materiál

Uhlíková vlákna jsou klasifikována jako mikroelektrody kvůli svým malým rozměrům (od 1 do 40  $\mu\text{m}$ ). Jako u ostatních typů uhlíkových elektrod, i u uhlíkových vláken závisí základní elektrochemické vlastnosti na jejich mikrostruktuře a chemickém složení. U uhlíkových vláken je důležité provést elektrochemickou předúpravu vlákna - tzv. pretreatment, u elektrod s nepretreatmentovaným vláknem je u většiny depolarizátorů zajímavých z analytického

hlediska velmi nízká rychlost přenosu elektronů. Použitá metoda a podmínky pretreatmentu zásadně ovlivňují budoucí chování mikrosenzoru.

Velikost a vlastnosti mikroelektrod z uhlíkových vláken předurčují tento typ senzoru pro detekci elektroaktivních látek *in vivo*. Velmi časté je stanovení tzv. neurotransmiterů jako např. dopamin [16], katechol [18] a jeho deriváty (např. norepinefrin [19] čili katecholamin). Mikroelektrodami z uhlíkových vláken lze stanovit cizorodé látky nacházející se v živých organismech, jako příklad uveďme testy polutantů v žábích vejcích [20], kdy byly pomocí uhlíkových vláken stanoveny koncentrace zinku, kadmia, rtuti a jiných kovů. Dále lze uvést např. stanovení antibiotik v kravském mléce [21]. Mezi velmi důležitá stanovení patří také stanovení peroxidu vodíku [22] nebo oxidu dusnatého [15], jedné z nejmenších biologicky aktivních molekul, jenž v organismech savců zastává několik funkcí. Lze též stanovit velké biomolekuly obsahující elektrochemicky aktivní skupiny (př. adenosin [23], redoxní enzymy [18] jako např. peroxidasy [24] ap.).

### 2.2.2.Pretreatment (úprava povrchu elektrod)

Aby pevný materiál mohl sloužit jako elektroda, musí mít následující vlastnosti: elektrickou vodivost, chemickou a elektrochemickou stabilitu za různých podmínek, rychlý přenos elektronů pro různé druhy redoxních systémů a reprodukovatelné elektrické, mikrostrukturní a chemické vlastnosti [25]. Problémem pro zajištění kvalitního analytického měření bývá zajištění stálých fyzikálně-chemických vlastností elektrody jako je nízký šum a vysoká rychlost přenosu elektronů pro cílový analyt. Elektrody s takovými vlastnostmi se nazývají aktivované. Aktivace je prováděna procesem zvaným pretreatment, který zahrnuje uzpůsobování morfologie povrchu, mikrostruktury a chemie tak, aby se snížila úroveň šumu a zvýšila rychlost reakce přenosu náboje pro daný analyt.

Elektrodové reakce jsou reakce heterogenních systémů, tzn. elektrodová kinetika je ovlivněna vlastnostmi rozhraní elektroda-elektrolyt a koncentrací analytu v dosahu tohoto rozhraní. Právě proto jsou fyzikální, chemické a elektrické vlastnosti elektrodového povrchu velmi významné. Kinetiku přenosu elektronu redoxního systému ovlivňuje několik faktorů:

- a) typ elektrodového materiálu
- b) čistota povrchu
- c) mikrostruktura povrchu

- d) chemické složení povrchu
- e) elektrické vlastnosti (tzn. mobilita a koncentrace nosičů náboje).

S výjimkou elektrických vlastností, všechny ostatní faktory ovlivňují rychlost elektrochemické reakce v závislosti na konkrétním redoxním systému. Efektivita pretreatmentu také závisí na elektrodovém materiálu (např. jeden typ pretreatmentu použitý pro dva elektrodové materiály způsobí obvykle rozdílnou aktivaci povrchu pro určitý redoxní systém). Čistota povrchu elektrody je však kritická pro všechny typy elektrodových materiálů i druhy redoxních systémů. Zejména pro elektrody vyrobené z uhlíku je důležité očistit jejich povrch, jelikož dochází k adsorpci kontaminantů ze vzduchu a ty pak blokují aktivní místa pro přenos elektronů. Také vzdušná oxidace může způsobit chemické změny povrchu, ovlivnit smáčivost a mikrostrukturu. Navíc každá elektroda má svou historii, která může silně ovlivnit její výkonnost. Pretreatment tedy aktivuje elektrodu kombinací čištění povrchu, změnou povrchové mikrostruktury a chemického složení (např. vznik kyslíkatých funkčních skupin jako  $-\text{COOH}$ ,  $\text{C}=\text{O}$ ,  $\text{C}-\text{OH}$  apod.).

Pro elektrody založené na bázi uhlíku je pro většinu analytů důležitá právě fáze oxidace povrchu. Kyslík obsažený na povrchu elektrody způsobuje její vyšší polaritu, povrch elektrody se stává více hydrofilní, stává se také přístupnější adsorpci polárních molekul. V případě, že se produkty nebo meziprodukty reakce naadsorbují na aktivní místa na povrchu, tak může dojít k zablokování těchto aktivních míst. Molekulární adsorpce je příčinou jevu zvaného historie elektrody a pokud není její povrch dostatečně vyčištěn, tak může dojít k ovlivnění výsledků následujících měření.

### 2.2.2.1. Mechanické leštění

Uhlíková vlákna jsou pro mechanické leštění příliš křehká. Použití leštění je možné pouze u diskových elektrod. V některých pracech je možno najít použití leštění povrchů elektrod před elektrochemickou aktivací. Například Kholoud [22] uvádí ve své práci pojednávající o stanovení adenosinu použití mechanického leštění elektrod z uhlíkových vláken na leštícím kotouči. Takto upravené elektrody byly dále pretreatmentovány elektrochemicky ve fosfátovém pufru.

#### 2.2.2.2. Čištění organickým rozpouštědlem

Máčení vlákna elektrody v organickém rozpouštědle způsobí rozpuštění a desorpci zachycených látek z povrchu. Pro čištění rozpouštědlem lze použít několik typů rozpouštědel. Pro vlákna je vhodný acetonitril, isopropanol, dichlormetan a toluen. Pro použití rozpouštědla je možno provést přečištění destilací (nečistoty by mohly způsobit deaktivaci povrchu elektrody). Jako příklad lze uvést použití mikroelektrod pro stanovení dopaminu ze studie L. Michaela [16], který prováděl čištění v 2-propanolu v den použití senzoru. Rozpouštědlo bylo přečištěno aktivním uhlím.

#### 2.2.2.3. Tepelná úprava

Dobrou metodou čištění bez významného poškození mikrostruktury je tepelná úprava za vysokého vakua. Zahřívání povrchu za vysokého vakua ( $1,3 \cdot 10^{-6}$  Pa) na teplotu okolo  $1000^{\circ}\text{C}$  na 30 minut způsobí desorpci nečistot a rozklad kyslíkatých skupin na povrchu. Tepelně upravené vlákna mají na povrchu méně kyslíkatých skupin (rozkládají se při teplotách mezi  $500\text{--}900^{\circ}\text{C}$ ). Avšak ztráta povrchového kyslíku způsobí vznik reaktivních míst, která na vzduchu rychle reagují, když se dostanou mimo evakuovanou nádobu. Z tohoto důvodu by měla být elektrochemická měření provedena co nejdříve po vyjmutí z evakuované nádoby. Další alternativou je provedení úpravy v křemenné trubici profukované dusíkem nebo argonem při teplotě  $400\text{--}800^{\circ}\text{C}$  po dobu 30 minut. Avšak odstranění kyslíku z trubice je příliš náročné a jen stopy kyslíku způsobí oxidaci uhlíkového povrchu nebo vznik plynných oxidů.

#### 2.2.2.4. Laserová aktivace

Laserová aktivace je vhodná pro čištění a aktivaci uhlíkových vláken bez změn mikrostruktury a chemického složení povrchu, obzvláště v případě, že úprava je prováděna za mírných podmínek (tzn. nízká intenzita laseru). Stejně jako u tepelné aktivace dochází i zde k desorpci kontaminantů a vzniku nových aktivních míst. Při této metodě bývá používán  $\text{N}_2$  laser pracující při  $\lambda = 337$  nm. Příkladem je práce Farrella [26], který provedl srovnání elektrochemického pretreatmentu a laserové aktivace uhlíkových vláken pro stanovení ferrocenu. Obě aktivace byly provedeny přímo v roztoku analytu. Elektrochemický pretreatment byl proveden použitím trouhelníkového tvaru vln při potenciálech

od 0 do 2 V proti kalomelové elektrodě po dobu 15 sekund. Laserová aktivace byla provedena pulzním dusíkovým laserem. Umístění uhlíkového vlákna v laserovém paprsku bylo kontrolováno osciloskopem, k posunu elektrody byl použit X-Y-Z mikropozicionér. Výsledkem bylo zjištění, že laserová aktivace způsobila vyšší adsorpci ferocenu. Z toho plyne, že laserová aktivace způsobila za daných podmínek větší změny na povrchu vláken než elektrochemická.

#### 2.2.2.5. Chemická úprava

U této metody se dosahuje aktivace povrchu máčením v roztoku s oxidujícími vlastnostmi. V práci [18] autoři uvádějí, že byl prováděn pretreatment máčením uhlíkových elektrod ve směsi 15%  $\text{KClO}_4$  a 30%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  při  $85^\circ\text{C}$  po dobu 45 minut. Jiný postup volí Yanhe [27], který provádí pretreatment máčením ve vroucím 5% roztoku  $\text{HCl}$  na 1 hodinu, poté 1 hodinu v  $\text{NaOH}$  a poté ještě 1 hodinu ve vařící deionizované vodě. Použití peroxodisíranu amonného  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  jako roztoku pro oxidaci uhlíkového vlákna popsal Basova [28]. Prováděl srovnání oxidovaného povrchu uhlíkových vláken s povrchy, které prošly jednak neoxidující úpravou tzn. zahříváním v proudu argonu na  $500^\circ\text{C}$ , jednak redukující úpravou v proudu vodíku při  $950^\circ\text{C}$ . Výsledkem byl podstatně vyšší obsah kyslíkatých funkčních skupin po provedení úpravy v peroxodisíranu, což vedlo ke zvýšení smáčivosti a zlepšení přenosu elektronů, naopak zahřívání v proudu argonu vedlo k rozkladu funkčních skupin. Redukující treatment měl na vlákna podobný účinek. Rozklad různých funkčních skupin měl vliv na smáčivost vláken, ta se stala silně hydrofobní.

#### 2.2.2.6. Elektrochemický pretreatment

Elektrochemický pretreatment je nejpoužívanější metodou aktivace uhlíkových vláken. V literatuře je popsáno mnoho elektrochemických metod. Nejčastěji zahrnuje elektrochemický pretreatment anodickou polarizaci v kyselém, neutrálním nebo bazickém prostředí s různým rozsahem potenciálu, s různou délkou procedury. Právě složení roztoku, ve kterém je pretreatment prováděn, bývá kritickým parametrem. Polarizace může být provedena potenciostaticky, potenciodynamicky nebo galvanostaticky. Typ funkčních skupin vznikajících na povrchu vláken a jejich množství závisí na typu elektrolytu, jeho koncentraci, pretreatmentovacího času a vloženého napětí [26]. Navíc dochází ke zmenšení průměru vláken jako důsledek oxidace.



Mírná polarizace v kyselém prostředí (do 1,5 V) může být použita k aktivaci vláken s více rozrušeným povrchem, u kterých je požadována pouze minimální oxidace a čištění. Agresivnější polarizace (nad 1,5 V) může být použita k aktivaci vláken s málo porušeným povrchem k vytvoření nových poruch - hran (edge sites) na uhlíkové rovině v grafitové struktuře. Jako důsledek vzniku hran se zvýší voltametrický proud pozadí, zvýší se obsah kyslíku v povrchu vlákna a adsorpce molekul.

Kholoud [23] uvádí použití elektrochemického pretreatmentu ve fosfátovém pufru při cyklování potenciálu od -1 do 1,5 V proti SCE po 30 minut. Tento postup byl publikován pro stanovení adenosinu. Yi-Feng Tu ve své práci [18] uvádí zlepšení vlastností senzoru na katechol při použití elektrolyzování při 1,5 V v roztoku kyseliny sírové o koncentraci 0,5 mol/l na pět minut následované elektrolyzováním při 1,5 V ve směsi 15% KClO<sub>4</sub> a 30% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na pět minut a k dokončení pretreatmentu ještě 30 cyklů v rozpětí 0-1,5 V. Xu uvádí [29] provedení pretreatmentu 20 minutovou anodickou oxidací uhlíkových vláken v roztoku H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> proudem 0,2 A při dvouelektrodovém zapojení (platinová katoda).

Velmi zajímavá je z pohledu změn v chemickém složení na povrchu vláken práce Gulyáse [30]. V jeho práci byl pretreatment prováděn v roztoku (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> při 0,5 V, dále pak NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> při stejných podmínkách. Takto provedená procedura měla za následek relativně malé změny, hlavní je změna karboxylových skupin na amid (-COOH na -CONH<sub>2</sub>), dále pak podle výsledků z infračervené spektroskopie lze usuzovat přítomnost dusičnanových aniontů (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). K pretreatmentu použil také roztok HNO<sub>3</sub> o různých koncentracích (až 20% hm), což mělo za následek vznik NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, jejichž množství záviselo značně na koncentraci použitého roztoku. Dále však vznikala celá řada dalších funkčních skupin především hydroxylová, chinonická a nitritová (-ONO). V roztoku kyseliny dusičné prováděl autor pretreatment jak elektrochemický tak i oxidací v roztoku. Dalším roztokem byl hydroxid sodný, v němž prováděná elektrooxidace měla za následek vznik fenolátové skupiny (došlo k reakci hydroxylové skupiny s NaOH za vzniku -ONa skupiny). Největších chemických změn bylo však pozorováno při použití H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Zde autor využívá až 20% hm. roztoků H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a potenciálů až 5 V. Výsledkem byl vznik různých funkčních skupin jako např. sulfonových (R-SO<sub>2</sub>-OR'), za vyšších koncentrací i sulfokyselin (R-SO<sub>3</sub>H), navíc také jako u předchozích postupů byla pozorována přítomnost hydroxylových, chinonických a karboxylových skupin. Pretreatment, který je často používán pro použití v neurofyziologii (stanovení dopaminu v přítomnosti askorbové kyseliny) a při konstrukci NO senzorů [15], je prováděn ve třech fázích, v prvním kroku je na elektrodu vkládán proměnný potenciál se sinusovým průběhem (frekvence 50 Hz) od 0 do 2,9 V po dobu 20 s, dále je 5 s elektroredukce při konstantním

potenciálu - 0,8 V a poté ještě 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V. Tento protokol byl modifikován v rámci experimentální části práce.

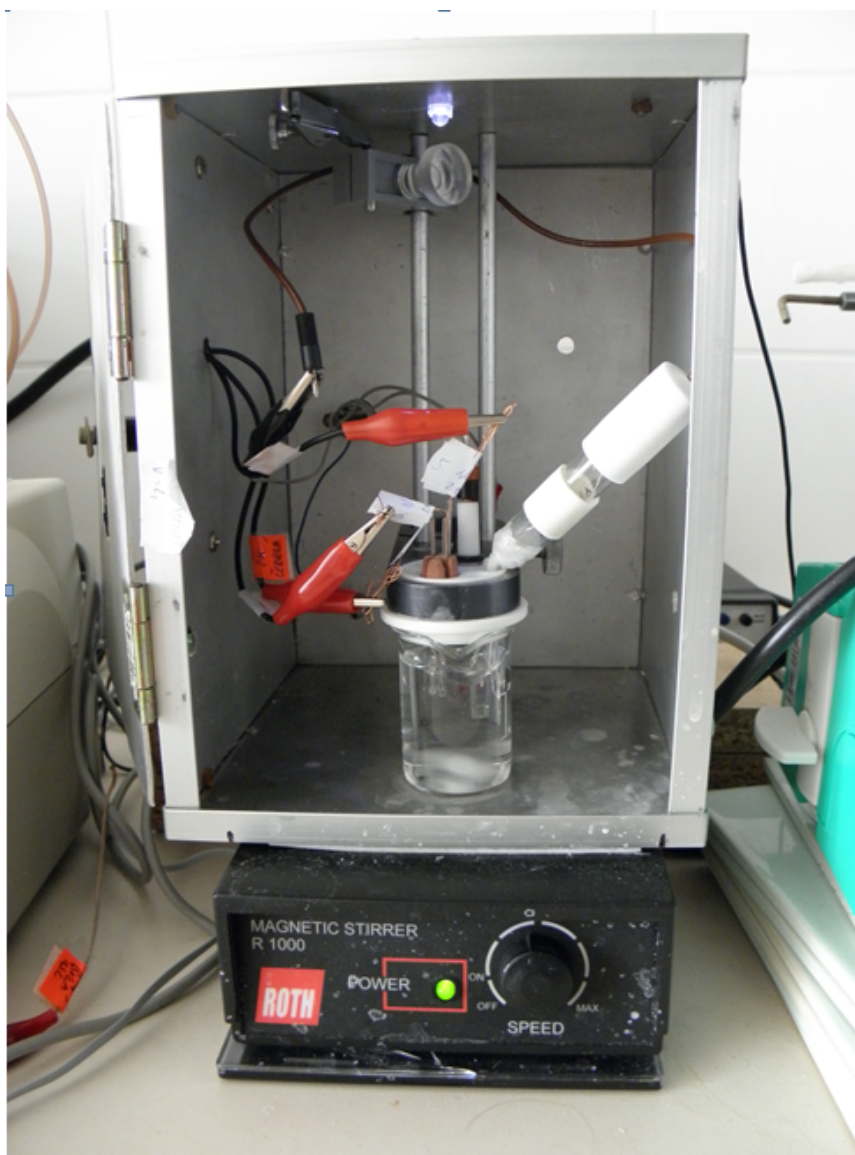
### 3. Experimentální část

Cílem práce bylo otestování různých postupů pretreatmentu mikroelektrod z uhlíkového vlákna a následné měření jejich citlivosti vůči různým typům látek, jež jsou reprezentovány oxidem dusnatým (malé neutrální molekuly), askorbátem (velké záporně nabitě molekuly), dopaminem (velká molekula kladným nábojem) a dusitanovým aniontem (malá záporně nabitá molekuly). Jako výchozí postup byl zvolen pretreatment, který je často používán pro použití v neurofyziologii a při konstrukci NO senzorů [15]. Zde je pretreatment prováděn ve třech fázích, v prvním kroku je na elektrodu vkládán proměnný potenciál se sinusovým průběhem (frekvence 50 Hz) od 0 do 2,9 V po dobu 20 s, dále je 5 s elektroredukce při konstantním potenciálu - 0,8 V a poté ještě 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V. V práci byl zaprvé zkoumán časový průběh pretreatmentu elektrod prováděný tímto postupem v roztoku NaCl. Dále byla provedena serie experimentů, kdy byl aplikován stejný postup, ovšem místo NaCl byly použity jiné elektrolyty. Studovány byly chloridy – NaCl a NH<sub>4</sub>Cl, dále KBr, NaF, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> a (COONa)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O.

#### 3.1. Přístrojové vybavení

Měření byla prováděna pomocí multipotenciostatu vyvinutého v naší laboratoři, řízení multipotenciostatu zajišťuje multifunkční karta (National Instruments PCI-6251E). Softwarovým vybavením byly programy napsané v jazyce LabView<sup>TM</sup>. Nejprve byl proveden pretreatment, poté byly elektrody testovány pomocí amperometrie v míchaném roztoku.

Přístroj umožňuje otestování čtyř pracovních elektrod najednou, jako referentní elektroda byla používána Ag/AgCl, pomocná elektroda byl platinový drátek. Všechna měření byla prováděna ve 25 ml fosfátového pufru (PBS) o pH 7,4 míchaném magnetickým míchadlem s otáčkami okolo 300 za minutu.



**Obr. 7:** Fotografie uspořádání při amperometrickém měření

### 3.2. Chemikálie

- Chlorid sodný, p.a., NaCl (Lachema), M = 58,44 g/mol
- Bromid draselný, p.a., KBr (Lachema), M = 119 g/mol
- Fluorid sodný, p.a., NaF (Lachema), M = 42 g/mol
- Chlorid amonný, p.a. NH<sub>4</sub>Cl (Lachema) M = 53,49 g/mol
- Thiosíran sodný pentahydrát , p.a.  
 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Penta) M = 248,18 g/mol
- Hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát, p.a.  
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  (Lach – Ner) M = 358,14 g/mol

- Dihydrogenfosforečnan draselný, p.a.  
 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Lachema)  $M = 136,09 \text{ g/mol}$
- Hydroxid sodný, p.a., NaOH (Lach-ner)  $M = 40 \text{ g/mol}$
- Kyselina askorbová, p.a.,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$  (Sigma Aldrich)  $M = 176,1 \text{ g/mol}$
- Dusitan sodný, p.a.  
 $\text{NaNO}_2$  (Lachema)  $M = 69 \text{ g/mol}$
- Dichlormetan, p.a.,  $\text{CCl}_2\text{H}_2$  (Lach-ner)  $M = 84,93 \text{ g/mol}$
- Dopamin (3-hydroxytyramin)  
 $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_2$   $M = 153,18 \text{ g/mol}$
- Vodný roztok nasycený oxidem dusnatým ( $c = 2 \text{ mmol.l}^{-1}$ , Biofyzikální ústav AV  
 ČR, Brno)

## 4. Výsledky a diskuze

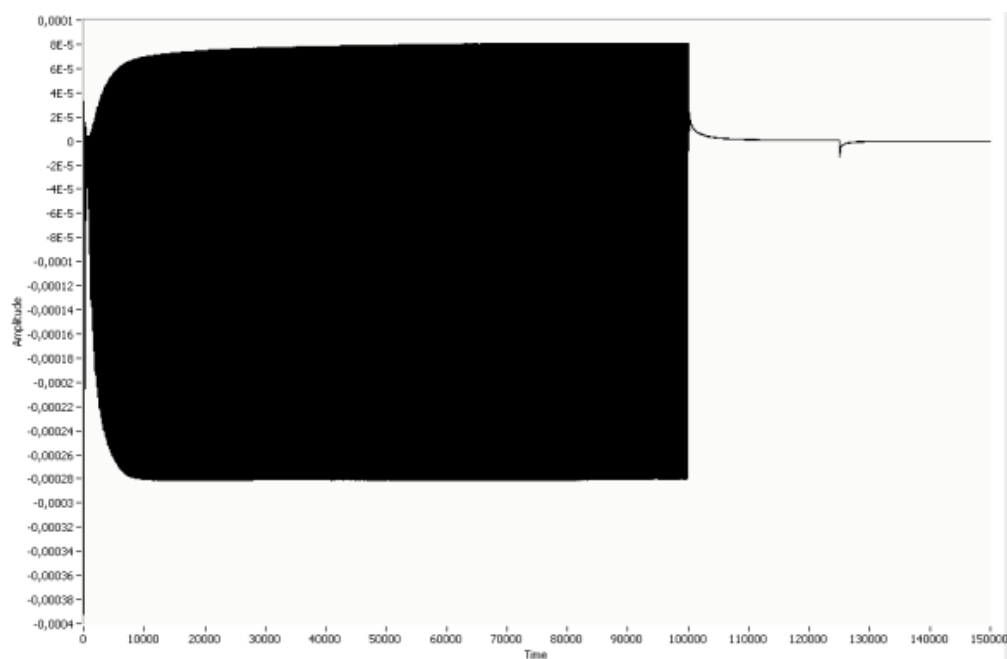
### 4.1. Konstrukce mikrosenzoru

Mikrosenzor je zhotoven z uhlíkového vlákna, které je pomocí vodivého lepidla nalepeno na měděný vodič, to vše je ve skleněné kapiláře zalito z obou stran epoxidovou pryskyřicí. Při vlastním konstruování je prvním krokem očištění měděného drátku. Ten je nahříván nad lihovým kahanem, poté je žhavý drátek ponořen do ethanolu. Tím dojde k redukci oxidů mědi na měď, čímž získáme velmi dobře vodivý povrch. Na takto očištěný drát je pomocí dvojsložkového vodivého stříbrného lepidla (Epotek H20E, EpoxyTechnology, Inc., U.S.A.) přilepeno uhlíkové vlákno (Pro Systems, Havel Composites, Přeaslavice, ČR) o délce mezi 0,5 až 1 cm. Pro zatvrdnutí je potřeba umístit drát s vláknem do sušárny na asi 20 až 30 minut při teplotě 120°C. Po vychladnutí je drátek umístěn do skleněné kapiláry s jedním zúženým koncem. Z tohoto zúženého konce vyčnívá část (cca 5 mm) uhlíkového vlákna. Oba konce kapiláry jsou zalepeny epoxidovou pryskyřicí, zvláště spodní strana s vláknem musí být zalepena opatrně, aby nedošlo k pokrytí vlákna epoxidem (tím by došlo ke znehodnocení elektroaktivní plochy). Pro další použití je potřeba uhlíkové vlákno zkrátit na délku asi 1 mm.

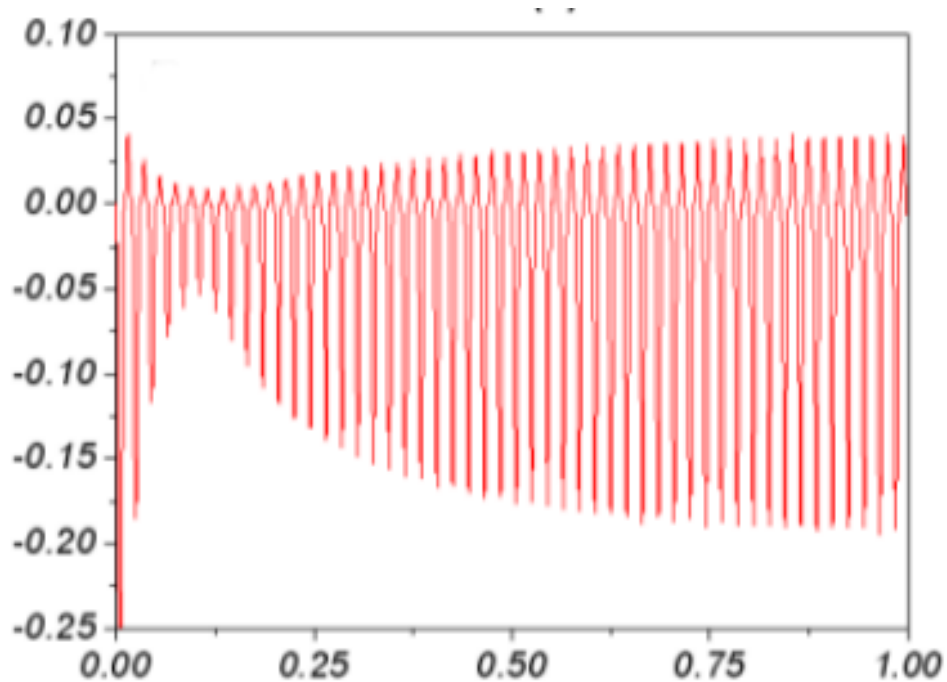
### 4.2. Pretreatment

Mikroelektroda se zkráceným uhlíkovým vláknem je nejprve očištěna přibližně půlminutovou sonifikací v dichlormetanu. Po očištění je potřeba zlepšit vodivost povrchu měděného drátku vyčnívajícího z horního konce kapiláry. Čištění probíhá mechanicky odškrábnutím povrchové vrstvy pomocí skalpelu. Testovanou elektrodu poté ponoříme do pretreatmentovacího roztoku (elektrolytu). Jako elektrolyt sloužil 1% roztok NaCl. Proces probíhá v tříelektrodovém zapojení, mikroelektroda z uhlíkového vlákna slouží jako pracovní. Jako referentní elektroda je při tomto procesu Ag/AgCl, pomocná je platinový drátek. Elektroda je máčena v roztoku elektrolytu po dobu asi pět minut, až nakonec je pracovní elektroda připojena (z důvodu zmírnění polarizace). Pretreatment poté probíhá ve třech krocích, v první fázi je na elektrodu vkládán proměnný potenciál se sinusovým průběhem (frekvence 50 Hz) od 0 do 2,9 V po dobu 20 s, druhá fáze je 5 s elektroredukce při konstantním potenciálu - 0,8 V a poté ještě 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V. Tento postup pretreatmentu byl použit ke srovnání, jeho použití je publikováno v literatuře a byl modifikován jednak zkrácením doby pretreatmentu

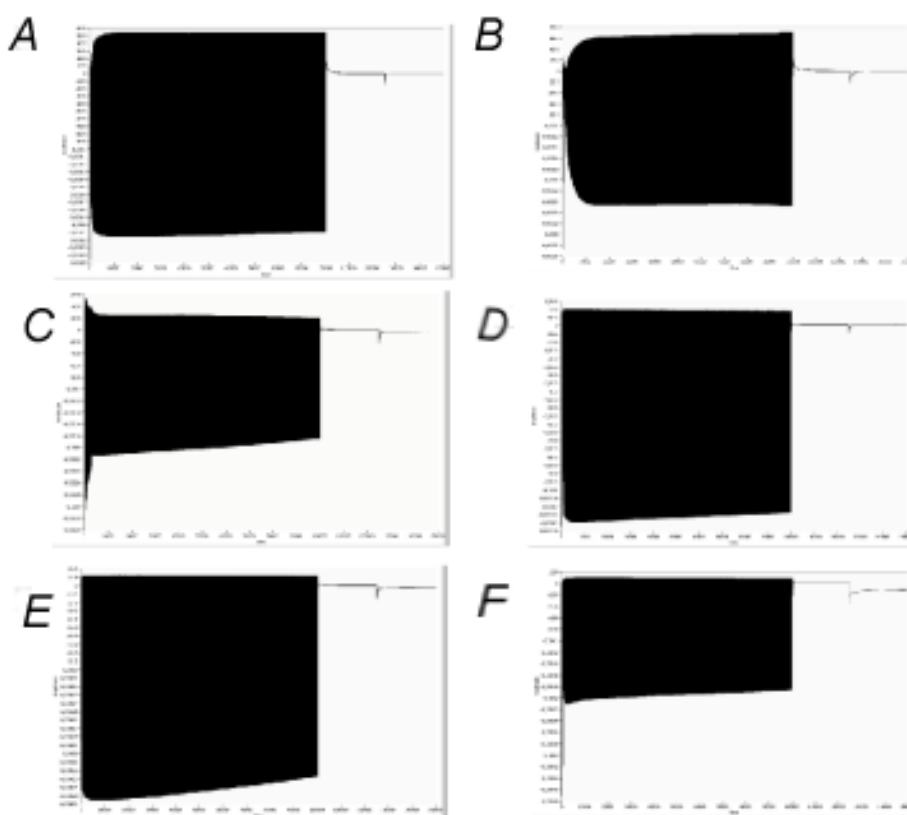
(od 0,02 s, což znamenalo jedinou sinusovou vlnu, až po 30 s) a jednak změnou pretreatmentovacího roztoku. Záznam pretreatmentu napoví, jestli je mikrosenzor v pořádku. Po skončení procedury je potřeba odpojit elektrodu od zdroje, jinak by docházelo k jejímu polarizování. Elektroda je po skončení pretreatmentu opláchnuta destilovanou vodou. Na obr. 8 můžeme vidět záznam pretreatmentu mikroelektrody v NaCl. Jedná se o velmi hustý záznam, kvůli tomu se jednotlivé křivky slily dohromady. Během pretreatmentu je elektroda vystavena vysokému anodickému potenciálu, při kterém dochází k elektrolyze vody či aniontu soli. Zároveň dochází k odstranění povrchu vlákna, což vede ke změnám v elektrochemické aktivitě povrchu. Povrch nepretreatmentovaného vlákna je vlivem vzdušného kyslíku částečně oxidován. Během první fáze je tato vrstva rychle odstraňována, což se projevuje zúžením na záznamu (detail zúžené části záznamu na obr.9), které odpovídá době pretreatmentu přibližně 0,1 s. Poté je již oxidována odolnější část vlákna (tzv. jádro) a nárůst proudu je již podstatně pomalejší a odpovídá úbytkům vlákna v důsledku oxidace. Na obr. 10 vidíme záznamy v dalších elektrolytech, pro  $\text{NH}_4\text{Cl}$  je tvar záznamu stejný jako u NaCl, ostatní soli mají tvar odlišný.



**Obr. 8:** Záznam pretreatmentu v NaCl, podmínky při pretreatmentu 20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V



**Obr. 9:** Detailní pohled na první fázi pretreatmentu v NaCl, v oblasti okolo 0,1 s je vidět zúžení záznamu.



**Obr. 10:** Záznam pretreatmentu v elektrolytu: A – NaCl/NaOH (pH = 12), B – NH<sub>4</sub>Cl,



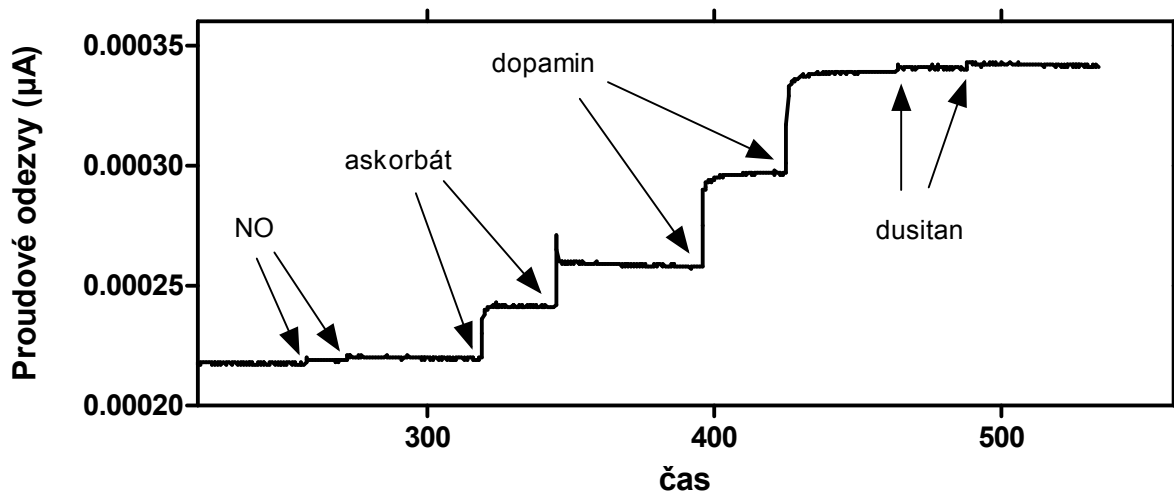
C – KBr, E – NaF, F - Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, G - (COONa)<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, podmínky při pretreatmentu 0 - 20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V

### 4.3. Testování elektrod

Pretreatmentované elektrody byly testovány buď v den provedení, nebo několik dní poté. Testování byla prováděna na čtyřech elektrodách najednou. Čtyři elektrody z uhlíkového vlákna byly použity jako pracovní, jako referentní Ag/AgCl (CHI-111, CH Instruments, U.S.A.), pomocná elektroda byl platinový drátek. Vše bylo ponořeno ve 25 ml fosfátového pufru (PBS) o pH 7,4, který byl míchán magnetickým míchadlem. Vlastní testování probíhalo amperometrickým měřením při 830 mV, kdy do pufru byly zaváděny nástřiky hamiltonovými mikrostríkačkami oxidu dusnatého (dvakrát 10 µl, koncentrace 2 mmol/l), čímž bylo dosaženo koncentrace 1,6 µmol/l, askorbátu (dvakrát 5 µl, koncentrace 5 mmol/l), výsledná koncentrace askorbátu byla 2 µmol/l, dopaminu (dvakrát 5 µl, koncentrace 5 mmol/l), výsledná koncentrace dopaminu byla 2 µmol/l a dusitanu (dvakrát 5 µl, koncentrace 50 mmol/l), čímž byla dosažena koncentrace 20 µmol/l. Před nástřiky bylo potřeba vyčkat asi 10 až 20 minut kvůli stabilizaci tzv. baseline při měření. Na výsledcích v tab. 1 je patrné, že nepretreatmentované elektrody vykazují velmi nízké odezvy na testované analyty. Nízká citlivost je způsobená neaktivovaným povrchem vláken. Obr. 11 je záznamem typického měření s neaktivovanou neaktivovanou elektrodou.

**Tab. 1:** Výsledky měření s elektrodami, které neprošly elektrochemickou aktivací, byla u nich provedena pouze sonifikace v dichlormethanu jako čištění povrchu. Výsledné koncentrace oxidu dusnatého 1,6 µmol/l (po dvou nástřicích), askorbátu a dopaminu 2 µmol/l (po dvou nástřicích), dusitanu 20 µmol/l (po dvou nástřicích)

Doba pretreatmentu	1. nástřik NO (A)	2. nástřik NO (A)	1. nástřik askorbátu (A)	2. nástřik askorbátu (A)	1. nástřik dopaminu (A)	2. nástřik dopaminu (A)	1. nástřik dusitanu (A)	2. nástřik dusitanu (A)
x	1,8e-10	1,9e-10	5e-11	8e-11	1,85e-9	1,38e-9	8e-11	11e-11
x	1,2e-11	1,4e-11	4,5e-11	3,5e-11	1,05e-10	1,15e-11	0	0
x	2,2e-11	2,3e-11	7e-11	5,75e-11	1,85e-10	2,2e-10	1,5e-11	1,4e-11
x	0	0	10,5e-11	8,25e-11	2,5e-10	2,7e-10	1e-11	0,8e-11
x	2,2e-11	1,8e-11	6,2e-11	4,5e-11	1,1e-10	1,05e-10	0	1e-11
x	2,25e-11	2,1e-11	6,8e-11	4,75e-11	1,3e-10	1,28e-10	1,5e-11	1e-11
x	2,5e-11	2e-11	6,25e-11	4,05e-11	1,1e-10	1,075e-10	8e-12	9e-12



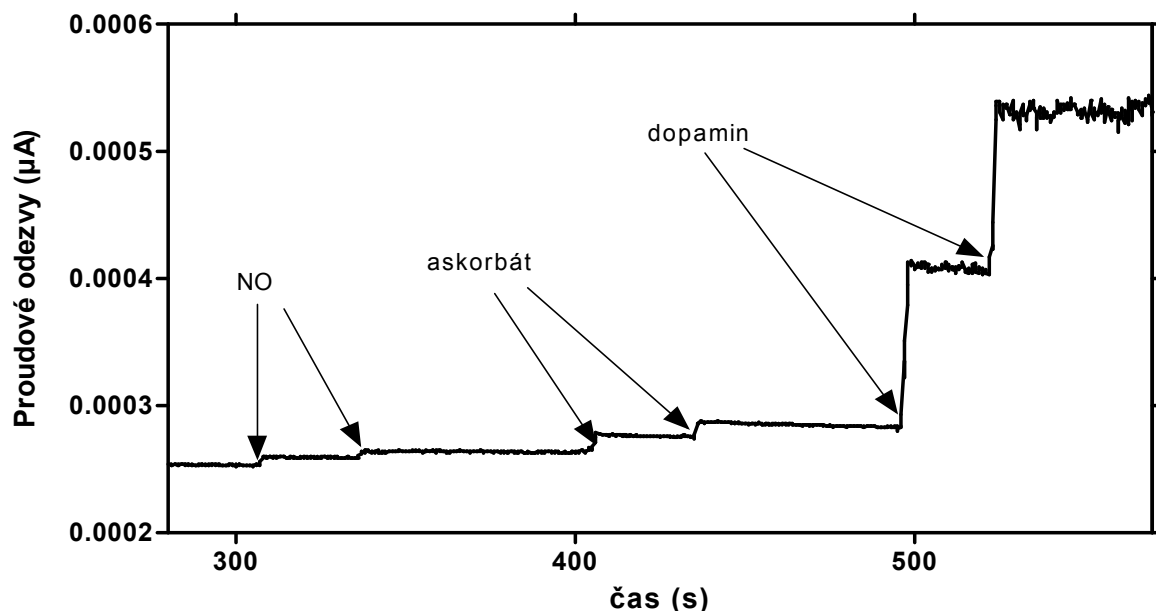
**Obr. 11:** Záznam měření s elektrodou, na níž neproběhl elektrochemický pretreatment, měření proběhlo v míchaném rotroku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl, nástřiky vodného roztoku oxidu dusnatého, askorbátu, dopaminu a dusitanu, výsledné koncentrace oxidu dusnatého 1,6  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích), askorbátu a dopaminu 2  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích), dusitanu 20  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích)

U pretreatmentu v NaCl byl sledován vliv doby pretreatmentu na elektrochemických vlastnostech senzoru. Byly otestovány elektrody s jedinou periodou sinusové vlny při (0,02 s), dále byly testovány doby pretreatmentu odpovídající fázím před zúžením záznamu (pod 0,1 s), oblast zúžení (přibližně 0,1 s), část za zúžením (nad 0,1 s do 30 s). Výsledky jednotlivých měření jsou uvedeny v tab. 2.

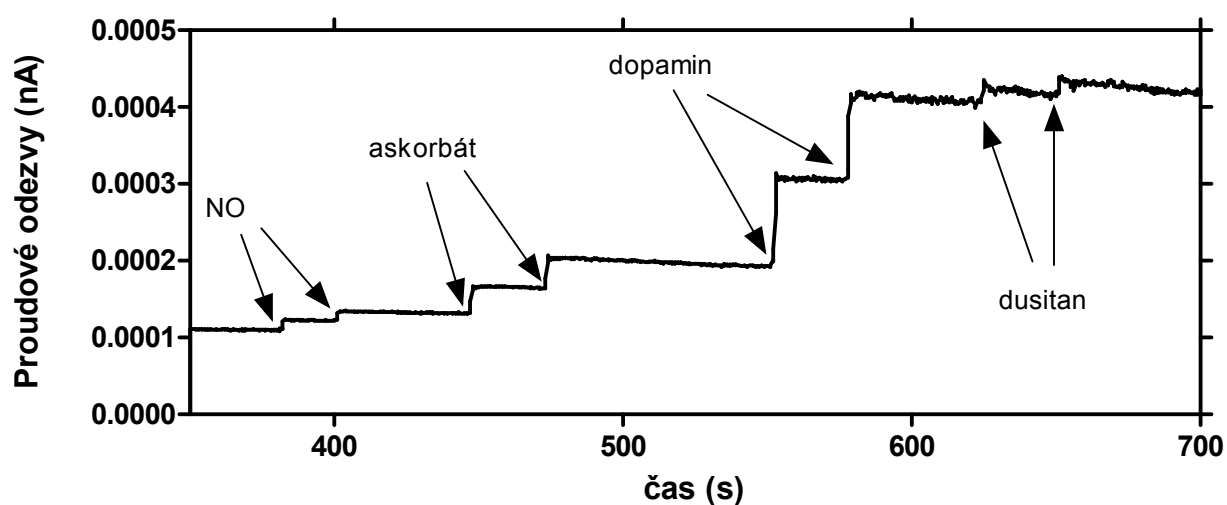
**Tab. 2:** Výsledky měření elektrodami, u nichž pretreatment proběhl v NaCl při následujících podmínkách: 0-20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V

Doba pretreatmentu	1. nástřik NO (A)	2. nástřik NO (A)	1. nástřik askorbátu (A)	2. nástřik askorbátu (A)	1. nástřik dopaminu (A)	2. nástřik dopaminu (A)	1. nástřik dusitanu (A)	2. nástřik dusitanu (A)
0,02 s	1,25e-11	1,1e-11	0	0	x	x	0	0
0,02 s	1,5e-11	1,05e-11	0	0	x	x	0	0
0,04 s	9e-11	8,5e-11	7,2e-11	6e-11	9,5e-10	8,7e-10	5e-11	3e-11
0,04 s	9e-11	11e-11	7,5e-11	11e-11	1,235e-9	1,05e-9	3e-11	3e-11
0,05 s	8,9e-11	8e-11	2,4e-11	0,8e-11	3,5e-10	3,7e-10	7,5e-12	4e-12
0,05	1,075e-10	0,85e-10	0	0	1,226e-10	1,55e-10	9e-12	9e-12
0,06 s	9e-11	9e-11	7,3e-11	6,5e-11	9,45e-10	8,95e-10	5e-11	3e-11
0,06 s	9e-11	10,5e-11	7,25e-11	6,5e-11	1,232e-9	1,05e-9	2e-11	3e-11
0,1 s	2,44e-11	2e-11	2,4e-11	1,9e-11	x	x	2e-11	2e-11
0,1 s	1,75e-11	1,05e-11	0	0	x	x	0	0
0,1s	5,5e-11	5e-11	1,4e-10	1,2e-10	1,275e-9	1,275e-9	nevyhodn.	nevyhodn.
0,1s	5,25e-11	5,5e-11	1,1e-10	6,5e-11	1,24e-9	1,25e-9	n	n
0,1s	5,5e-11	4,25e-11	1,1e-10	5e-11	1,2e-9	1,175e-9	7e-11	7,5e-11
0,1s	7e-11	5e-11	1,05e-10	7,5e-11	1,225e-9	1,2e-9	n	n
0,1 s	1,8e-11	1,8e-11	3,7e-11	2,2e-11	6,975e-10	10e-10	0	0
0,1 s	3,45e-11	3,2e-11	4,1e-11	2,5e-11	10,1e-10	10,2e-10	0	0
0,15s	6,25e-11	7,5e-11	5,25e-11	3,45e-11	7,25e-10	7,35e-10	4e-11	5e-11
0,15s	3,5e-11	4,75e-11	5,25e-11	3e-11	9e-10	8,7e-10	0	4e-11
0,15s	8e-11	9,75e-11	6,5e-11	4,5e-11	9,5e-10	9,2e-10	6,5e-11	8e-11
0,15s	3,8e-11	4,5e-11	7e-11	4,5e-11	9,75e-10	9,5e-10	0	0
0,15s	1,5e-11	1,45e-11	2,75e-11	2e-11	6e-10	5,75e-10	0	0
0,2 s	1,1e-10	0,85e-10	2,35e-11	2e-11	2,7e-9	1,65e-9	0	0
0,2 s	3,12e-11	3e-11	1,4e-11	1,12e-11	1,05e-9	0,915e-9	2,7e-10	2,3e-10
0,2 s	1,25e-10	1,2e-10	1,6e-11	1,1e-11	4,4e-10	4,1e-10	3,45e-11	2,6e-11
0,2 s	1,15e-10	1,4e-10	3e-11	2,5e-11	8,2e-10	7,38e-10	2,8e-11	1,8e-11
0,2 s	1,2e-10	1e-10	5e-11	5,5e-11	3,8e-10	3,4e-10	4e-11	9e-11
0,2 s	1,35e-10	1,15e-10	1,25e-10	1,35e-10	7,2e-10	6e-10	1,55e-10	1,4e-10
0,3 s	1,18e-10	1e-10	9,8e-11	10,5e-11	3,85e-10	3,6e-10	9,5e-11	6,75e-11
0,3 s	4e-11	4,2e-11	5e-11	6e-11	5,12e-10	4,9e-10	3e-11	2,6e-11
0,4 s	1,4e-10	1,05e-10	(4e-12)	(5e-12)	1,41e-9	0,875e-9	0	0
0,4 s	1,25e-10	1,1e-10	6e-10	5e-10	6,9e-10	6e-10	3,5e-11	2,87e-11
0,6 s	1,9e-10	1,4e-10	2,5e-11	2,5e-11	3,2e-9	2,2e-9	0	0
0,6 s	1,75e-10	1,5e-10	1e-11	0	2,3e-10	2,1e-10	2,8e-11	3e-11
5 s	1,3e-10	1,25e-10	7,05e-10	7,7e-10	1,5e-9	1,4e-10	8e-11	8e-11
5 s	1,2e-10	1,1e-10	6,5e-10	7,25e-10	1,4e-9	1,3e-9	0	0
5 s	1,2e-10	1,05e-10	6,86e-10	7,55e-10	1,495e-9	1,365e-9	2e-11	6e-11
5 s	9e-11	8,5e-11	5,15e-10	5,81e-10	1,05e-9	9,25e-10	0	0
10 s	1,2e-10	1e-10	4,25e-10	4,5e-10	6,5e-10	6,5e-10	1,75e-10	1,25e-10
10 s	1,8e-10	1,7e-10	8,4e-10	8,6e-10	1,26e-9	1,2e-9	3e-10	2,4e-10
10 s	1,5e-10	1,4e-10	6,8e-10	6,8e-10	1,02e-9	1e-9	2e-10	2e-10
15 s	1,1e-10	1,05e-10	2,4e-10	2,6e-10	7,9e-10	7,7e-10	2,4e-10	1,8e-10
15 s	1,35e-10	1,15e-10	3,5e-10	3,85e-10	1,145e-9	1,1e-9	1,6e-10	1,9e-10
15 s	8,6e-11	8e-11	3e-10	3,3e-10	9,96e-10	9,25e-10	1,2e-10	1,2e-10
15 s	9e-11	8,5e-11	3,3e-10	3,45e-10	9,45e-10	9,5e-10	1,5e-10	1,25e-10
30 s	1,5e-10	1,2e-10	4e-11	4,5e-11	3,6e-10	3,8e-10	1e-10	0,95e-10
30 s	1,2e-10	1,3e-10	1,1e-10	1,2e-10	6,8e-10	6,5e-10	8,5e-11	7e-11

Na obr.12 a 13 jsou záznamy měření elektrodami pretreatmentovanými po dobu 0,1 s resp. 15 s. Měření proběhla v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl.



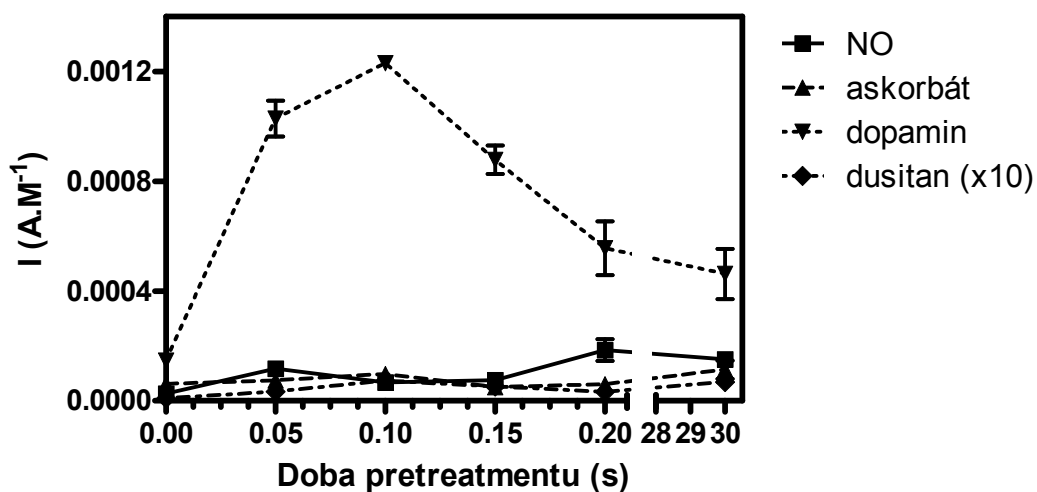
**Obr. 12:** Záznam typického amperometrického měření, elektroda s dobou pretreatmentu 0,1 s, měření proběhlo v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl, nástřiky vodného roztoku oxidu dusnatého, askorbátu, dopaminu a dusitanu, výsledné koncentrace oxidu dusnatého 1,6 μmol/l (po dvou nástřicích), askorbátu a dopaminu 2 μmol/l (po dvou nástřicích), dusitanu 20 μmol/l (po dvou nástřicích)



**Obr. 13:** Záznam typického amperometrického měření, elektroda s dobou pretreatmentu 15 s, měření proběhlo v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl, nástřiky vodného

roztoku oxidu dusnatého, askorbátu, dopaminu a dusitanu, výsledné koncentrace oxidu dusnatého 1,6  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích), askorbátu a dopaminu 2  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích), dusitanu 20  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích)

Na obr.14 vidíme graf srovnávající odezvy jednotlivých senzorů při udaných dobách pretreatmentu. Elektrody pretreatmentované po dobu 0,1 s vykazují nejvyšší citlivost na dopamin, jejich citlivost vůči ostatním interferentům je zanedbatelná. Tento fakt je způsoben vznikem kompaktní vrstvy tzv. grafitického oxidu nesoucího záporný náboj. Vrstva grafitického oxidu působí jako kationtový iontoměnič a dochází k reakci s dopaminem, záporný náboj navíc odpuzuje záporně nabitý dusitan a askorbát, čímž je ještě více snížena citlivost elektrod proti těmto látkám. Delším působením oxidace povrchu vláken dochází k narušování vrstvy grafitického oxidu. Tím vznikají nová aktivní místa, což vede k nárůstu citlivosti vůči NO, askorbátu a dusitanu. Narušení grafitické vrstvy oxidu vede ke snížení citlivosti na dopamin. Tím se senzor stává univerzálnější pro použití ke stanovení snadno oxidovatelných kationických, neutrálních i anionických analytů.

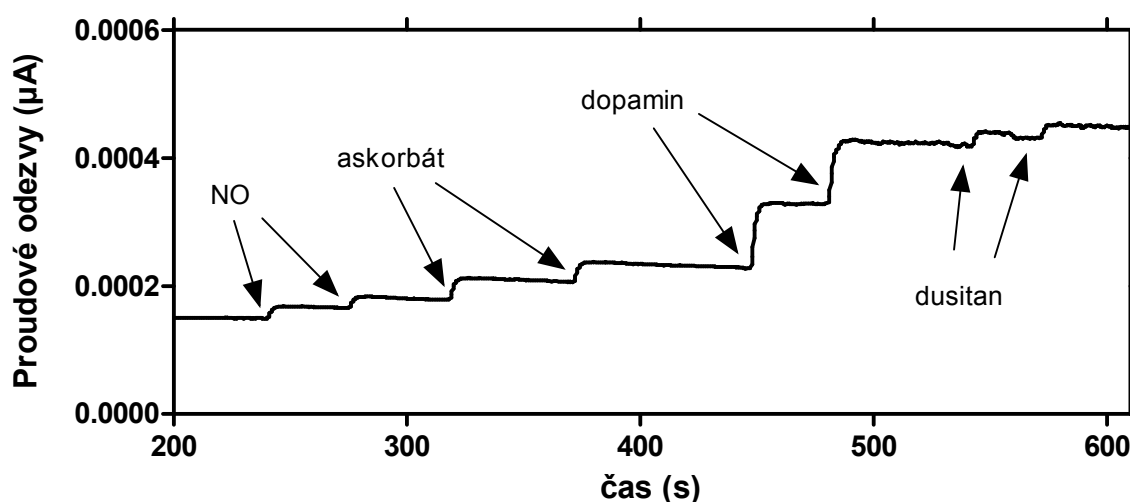


**Obr. 14:** Graf závislosti proudové odezvy oxidace oxidu dusnatého, askorbátu, dopaminu a dusitanu na době pretreatmentu v roztoku NaCl, měření provedeno při 830 mV. (0-20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V)

Pretreatment v NaCl byl modifikován přidavkem NaOH do elektrolytu na pH 12. Byl použit následující pretreatmentovací protokol: 20 s potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, následně 5 s při konstantním potenciálu - 0,8 V a dále 5 s 1,5 V. U těchto elektrod lze předpokládat vznik sodných solí (-COONa, -ONa...), což způsobuje vyšší hydrofilnost povrchu. Také lze předpokládat při daném pH vznik solí kyslíkatých kyselin chloru (chlornany, chlorečnany), které způsobí vyšší oxidaci povrchu. Tyto elektrody vykazují v porovnání s elektrodami pretreatmentovanými v samotném NaCl výrazné zvýšení citlivosti na dusitan a askorbát, u dopaminu a NO jen mírné zvýšení. Tab. 3 ukazuje výsledky naměřených hodnot s elektrodami pretreatmentovanými ve směsi NaCl/NaOH při pH 12.

**Tab. 3:** Výsledky měření elektrodami, na nichž proběhl pretreatment v NaCl/NaOH při pH 12,7, 20 s potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, následně 5 s při konstantním potenciálu - 0,8 V a dále 5 s 1,5 V

Doba pretreatmentu	1. nástřik NO (A)	2. nástřik NO (A)	1. nástřik askorbátu (A)	2. nástřik askorbátu (A)	1. nástřik dopaminu (A)	2. nástřik dopaminu (A)	1. nástřik dusitanu (A)	2. nástřik dusitanu (A)
30 s	1,93e-10	1,87e-10	3,48e-10	3,15e-10	9,41e-10	9,22e-10	2,77e-10	2,54e-10
30 s	1,89e-10	1,72e-10	3,34e-10	3,06e-10	1,01e-9	9,87e-10	2,07e-10	2e-10
30 s	1,43e-10	1,42e-10	2,86e-10	2,46e-10	1,227e-9	1,134e-10	1,43e-10	1,372e-10
30 s	1,02e-10	9,7e-11	1,61e-10	1,49e-10	5,01e-10	4,78e-10	1e-10	1,12e-10

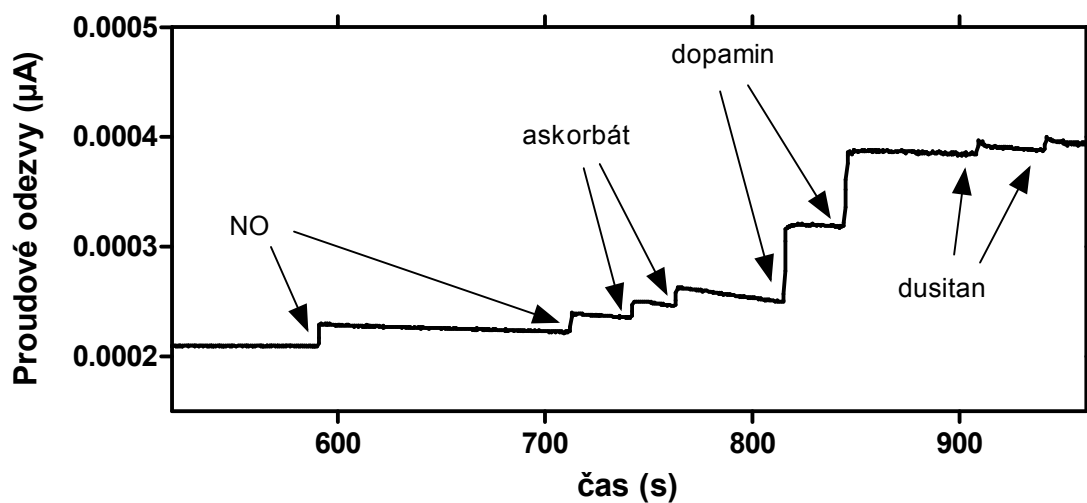


**Obr. 15:** Záznam typického amperometrického měření s elektrodou pretreatmentovanou v NaCl/NaOH při pH 12,7, měření proběhlo v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl, nástřiky vodného roztoku oxidu dusnatého, askorbátu, dopaminu a dusitanu, výsledné koncentrace oxidu dusnatého 1,6 µmol/l (po dvou nástřicích), askorbátu a dopaminu 2 µmol/l (po dvou nástřicích), dusitanu 20 µmol/l (po dvou nástřicích)

U elektrod pretreatmentovaných v 1%  $\text{NH}_4\text{Cl}$  lze předpokládat přítomnost vyššího množství dusíku na povrchu (amidické, nitro aj. skupiny), jejich pretreatmentovací protokol zahrnoval 20 s oxidací proměnným potenciálem se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, následně 5 s při konstantním potenciálu - 0,8 V a dále 5 s 1,5 V. Měření probíhala v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl. V tab. 4 vidíme výsledky měření s elektrodami upravenými v  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Obr. 16 je záznam typického měření s těmito elektrodami.

**Tab. 4:** Výsledky měření elektrodami, na nichž proběhl pretreatment v  $\text{NH}_4\text{Cl}$  za následujících podmínek: 20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V

Doba pretreatmentu	1. nástřik NO (A)	2. nástřik NO (A)	1. nástřik askorbátu (A)	2. nástřik askorbátu (A)	1. nástřik dopaminu (A)	2. nástřik dopaminu (A)	1. nástřik dusitanu (A)	2. nástřik dusitanu (A)
30 s	1,95e-10	1,6e-10	1,41e-10	1,64e-10	6,99e-10	6,85e-10	9,1e-11	1,01e-10
30 s	2,36e-10	1,87e-10	3,98e-10	4,03e-10	1,75e-9	1,69e-9	6,4e-11	6,2e-11
30 s	3,21e-10	3,17e-10	5,6e-10	5,99e-10	2,05e-9	1,98e-9	1,71e-10	9,5e-11
30 s	1,99e-10	1,95e-10	4,17e-10	4,3e-10	1,48e-9	1,46e-9	0	0
30 s	2,15e-10	2,04e-10	4,54e-10	4,68e-10	1,28e-9	1,30e-9	4,5e-11	2,8e-11



**Obr. 16:** Záznam typického amperometrického měření s elektrodou pretreatmentovanou v  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , měření proběhlo v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl, nástřiky vodného roztoku oxidu dusnatého, askorbátu, dopaminu a dusitanu, výsledné koncentrace oxidu dusnatého 1,6  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích), askorbátu a dopaminu 2  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích), dusitanu 20  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích)

Pretreatment v 1% KBr (probíhající za podmínek 20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V) nezpůsobil tak silnou oxidaci povrchu. V tab. 5 jsou výsledky měření provedených na elektrodách pretreatmentovaných v KBr. Měření probíhala v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl.

**Tab.5:** Výsledky měření provedených na elektrodách, u nichž pretreatment proběhl v KBr za následujících podmínek: 20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V

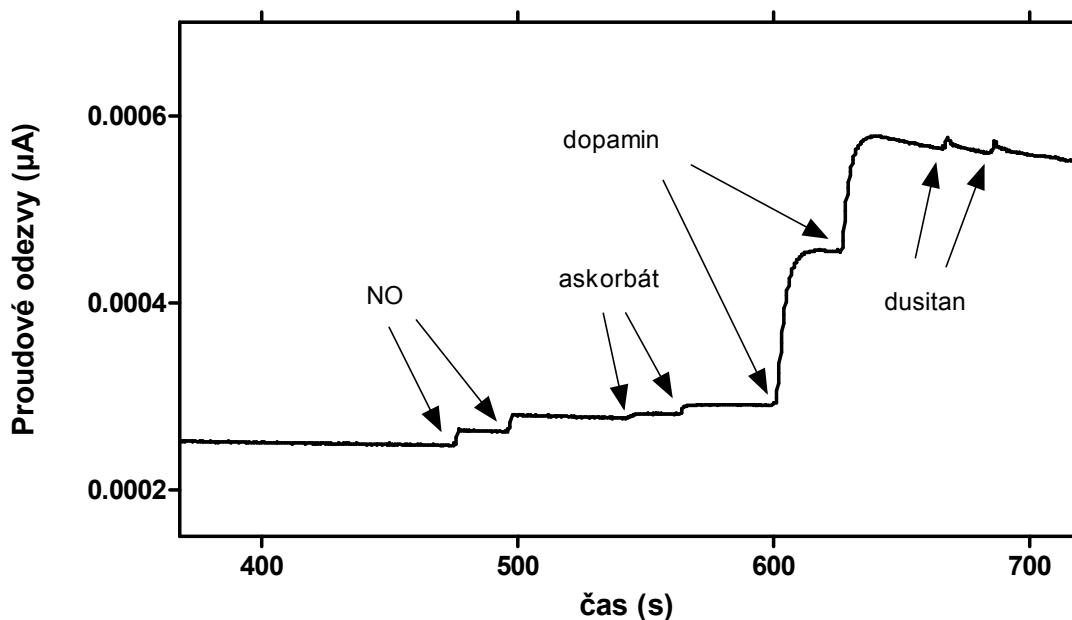
Doba pretreatmentu	1. nástřik NO (A)	2. nástřik NO (A)	1. nástřik askorbátu (A)	2. nástřik askorbátu (A)	1. nástřik dopaminu (A)	2. nástřik dopaminu (A)	1. nástřik dusitanu (A)	2. nástřik dusitanu (A)
<b>30 s</b>	0,15e-9	0,15e-9	0	0	1,1e-9	2,2e-9	15e-11	8,5e-11
<b>(po měsíci)</b>	0,15e-9	0,115e-9	0	0	1,3e-9	1,5e-9	0,04e-9	0,055*e-9
<b>30 s</b>	1,3e-10	1,3e-10	0,05e-10	0	0,7e-9	2,3e-9	8e-11	6e-11
<b>(po měsíci)</b>	0,8e-10	0,9e-10	0	0	1,05e-9	1,6e-9	3e-11	4e-11
<b>30 s</b>	1e-10	1e-10	0	0	3e-10	1e-10	9e-11	11e-11
<b>(po měsíci)</b>	1,2e-10	0,6e-10	0	0	0,675e-9	0,75e-9	3e-11	6e-11
<b>30 s</b>	0,145e-9	0,155e-9	4e-12	1,09e-11	1,82e-9	0,725e-9	5,5e-11	4,15e-11
	0,625e-10	0,9e-10	0	0	0,825e-9	0,7e-9	7,5e-11	11,7e-11
<b>0,32 s</b>	9,5e-11	10,5e-11	0	0	0	0	3e-11	2e-11
<b>0,32 s</b>	5,575e-11	8e-11	0	0	0	0	2,5e-12	1,8e-12
<b>0,32 s</b>	3,12e-11	4e-11	0	0	0	0	0	1,8e-11
<b>0,36 s</b>	0,475e-10	0,575e-10	0	0	0	0	1e-11	1e-11

Pretreatment v 1% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> probíhal za následujících: podmínek 20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V. Tab. 6 ukazuje výsledky měření s těmito elektrodami v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl, obr. 17 je záznamem typického měření s elektrodou pretreatmentovanou v Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.



**Tab. 6:** Výsledky měření provedených na elektrodách, u nichž pretreatment proběhl v  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  za následujících podmínek: 20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V

Doba pretreatmentu	1. nástřik NO (A)	2. nástřik NO (A)	1. nástřik askorbátu (A)	2. nástřik askorbátu (A)	1. nástřik dopaminu (A)	2. nástřik dopaminu (A)	1. nástřik dusitanu (A)	2. nástřik dusitanu (A)
30 s	2,5e-10	2,5e-10	2,2e-10	4,3e-10	4,1e-9	3,48e-9	6e-11	0
30s	1,8e-10	1,9e-10	3,5e-11	9e-11	1,87e-9	1,36e-9	1,55e-10	1,6e-10
30s	1,6e-10	1,6e-10	7e-11	1,25e-10	1,55e-9	1,29e-9	1,55e-10	9,5e-11
30s	1,6e-10	1,7e-10	4,5e-11	10e-11	1,66e-9	1,23e-9	1,15e-10	1,15e-10
30s	2,05e-10	2,1e-10	7,8e-11	18e-11	2,66e-9	1,83e-9	1,2e-10	1,5e-10

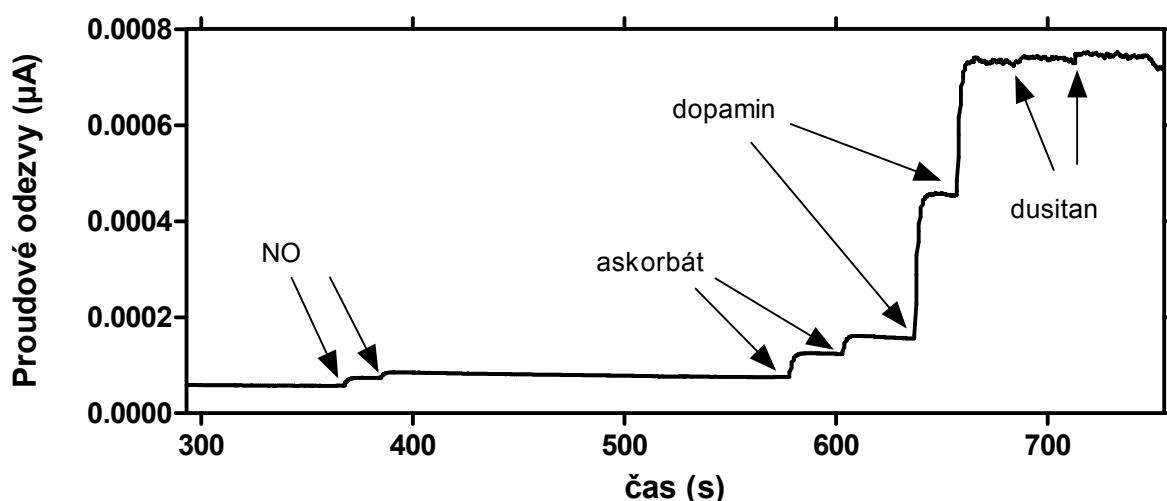


**Obr. 17:** Záznam amperometrického měření na elektrodě pretreatmentované v thiosíranu sodném, měření proběhlo v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl, nástřiky vodného roztoku oxidu dusnatého, askorbátu, dopaminu a dusitanu, výsledné koncentrace oxidu dusnatého 1,6  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích), askorbátu a dopaminu 2  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích), dusitanu 20  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích)

Při pretreatmentu v 1% NaF nelze předpokládat za použití podmínek jako u předchozích solí (20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V) oxidaci fluoridového aniontu, proto byla provedena modifikace uvedeného postupu. V první fázi byla elektroda oxidována po dobu 1 s proměnným potenciálem 0 – 5 V se sinusovou vlnou, následovaly 5 s elektroredukce při konstantním potenciálu – 0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V. Tab. 7 ukazuje výsledky měření (v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl) elektrodami pretreatmentovanými v NaF při nemodifikovaném postupu (20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V), obr. 18 je záznamem typického měření s těmito elektrodami. Tab. 8 ukazuje výsledky měření (v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl) elektrodami upravenými modifikovanou metodou (1 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 5 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V). Úprava při potenciálu se sinusovou vlnou 0 – 5 V musela být zkrácena na délku 1 s proto, aby nedošlo k destrukci vlákna. Obr. 19 je záznamem typického měření s těmito elektrodami.

**Tab. 7:** Výsledky měření provedených na elektrodách, u nichž pretreatment proběhl v NaF za následujících podmínek: 20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V

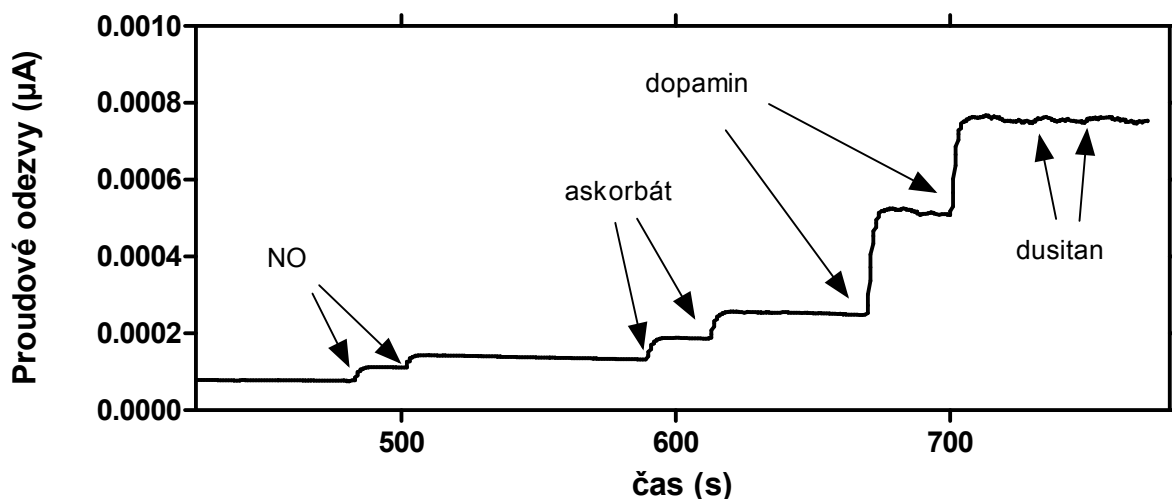
Doba pretreatmentu	1. nástřik NO (A)	2. nástřik NO (A)	1. nástřik askorbátu (A)	2. nástřik askorbátu (A)	1. nástřik dopaminu (A)	2. nástřik dopaminu (A)	1. nástřik dusitanu (A)	2. nástřik dusitanu (A)
30s	1,4e-10	1,05e-10	3,1e-10	2,6e-10	1,96e-9	1,8e-9	1e-10	1,4e-10
30s	1,65e-10	1,2e-10	5,1e-10	4e-10	3,4e-9	3,07e-9	2e-10	1,7e-10
30s	1,7e-10	1,1e-10	4,95e-10	3,65e-10	3,01e-9	2,79e-9	1,1e-10	1,2e-10
30s	1,6e-10	1,15e-10	4,8e-10	3,8e-10	2,2e-9	2e-9	1e-10	3e-10



**Obr. 18:** Záznam měření elektrody pretreatmentované v NaF (0-2,9 V), měření proběhlo v míchaném rotroku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl, nástřiky vodného roztoku oxidu dusnatého, askorbátu, dopaminu a dusitanu, výsledné koncentrace oxidu dusnatého 1,6  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřících), askorbátu a dopaminu 2  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřících), dusitanu 20  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřících)

**Tab. 8:** Výsledky měření provedených na elektrodách, u nichž pretreatment proběhl v NaF za následujících podmínek: 1 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 5 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V

Doba pretreatmentu	1. nástřik NO (A)	2. nástřik NO (A)	1. nástřik askorbátu (A)	2. nástřik askorbátu (A)	1. nástřik dopaminu (A)	2. nástřik dopaminu (A)	1. nástřik dusitanu (A)	2. nástřik dusitanu (A)
5V 1s +	2,7e-10	2,6e-10	3,4e-10	4,3e-10	2e-9	1,8e-9	1,2e-10	1,2e-10
5V 1s +	3,9e-10	3,7e-10	4,9e-10	6,2e-10	2,32e-9	1,9e-9	1,8e-10	1,4e-10
5V 1s +	3,5e-10	3,25e-10	5,6e-10	6,9e-10	2,75e-9	2,55e-9	1,5e-10	1e-10
5V 1s +	2,7e-10	2,5e-10	2,35e-10	3,1e-10	1,65e-9	1,35e-9	1,1e-10	0,8e-10

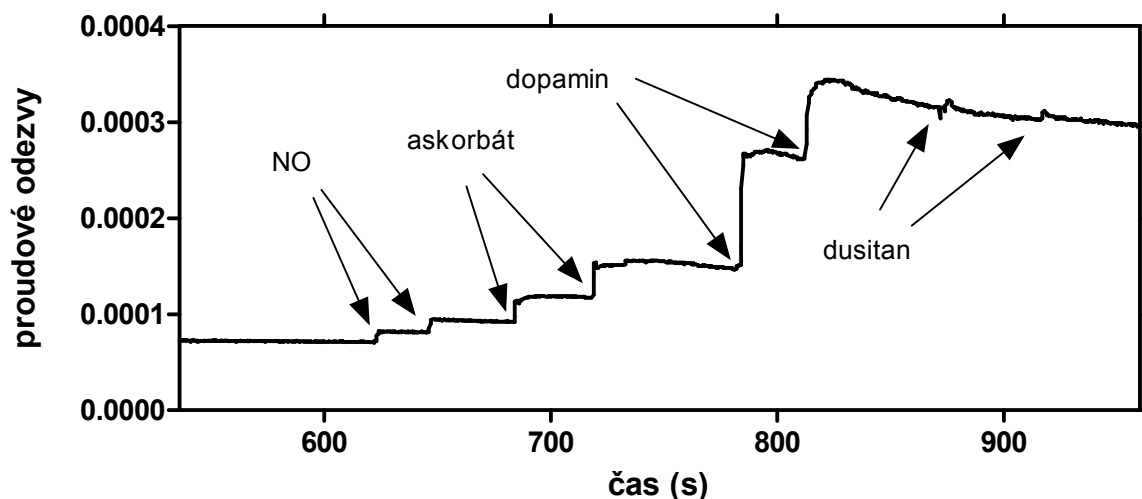


**Obr. 19:** Záznam typického měření elektrody pretreatmentované v NaF při 5 V, měření proběhlo v míchaném rotroku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl, nástřiky vodného roztoku oxidu dusnatého, askorbátu, dopaminu a dusitanu, výsledné koncentrace oxidu dusnatého 1,6  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřících), askorbátu a dopaminu 2  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřících), dusitanu 20  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřících)

Elektrochemická aktivace v  $(\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  byla provedena 20 s oxidací za proměnného potenciálu se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s konstantním potenciálem - 0,8 V a 5 s konstantním potenciálem 1,5 V. Tab. 9 ukazuje výsledky měření v míchaném rotroku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl těmito elektrodami, obr. 20 je typickým záznamem tohoto měření.

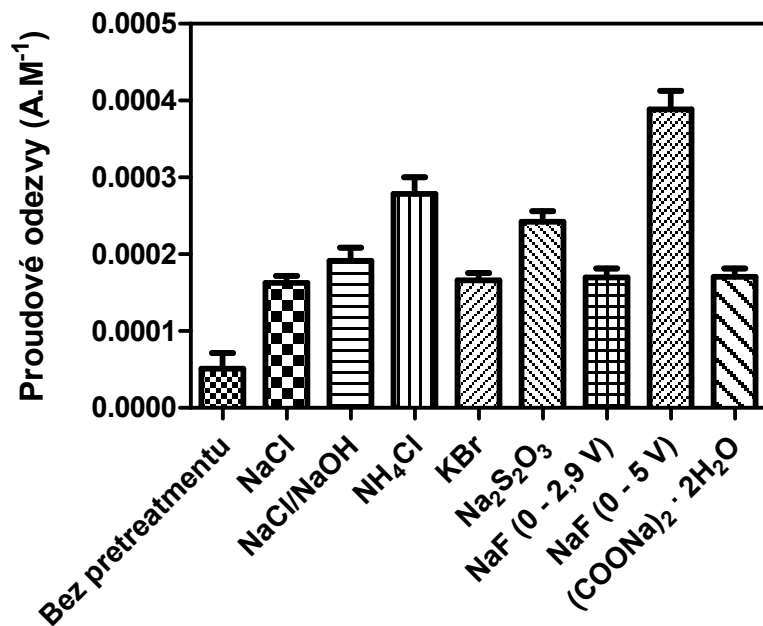
**Tab. 9:** Výsledky měření provedených na elektrodách, u nichž pretreatment proběhl v  $(\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  za následujících podmínek: 1 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 5 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V

Doba pretreatmentu	1. nástřik NO (A)	2. nástřik NO (A)	1. nástřik askorbátu (A)	2. nástřik askorbátu (A)	1. nástřik dopaminu (A)	2. nástřik dopaminu (A)	1. nástřik dusitanu (A)	2. nástřik dusitanu (A)
30 s	1,83e-10	1,64e-10	7,97e-10	8,15e-10	2,11e-9	1,59e-9	2,4e-10	6,7e-11
30 s	1,45e-10	1,3e-10	4,86e-10	4,47e-10	1,93e-9	1,89e-9	0	0
30 s	1,83e-10	1,7e-10	5,7e-10	6,74e-10	1,95e-9	1,44e-9	0	0
30 s	1,13e-10	1,38e-10	1,87e-10	2,4e-10	1,68e-9	1,01e-9	1,84e-11	3,38e-11
30	7,37e-11	9,48e-11	2,43e-10	2,72e-10	1,03e-9	5,9e-10	4,25e-11	4,45e-11
30 s	1,2e-10	1,5e-10	5,35e-10	5,56e-10	1,29e-9	9,74e-10	0	4,19e-11
30 s	1,08e-10	1,35e-10	2,65e-10	3,34e-10	1,22e-9	8,18e-10	6,92e-11	8,7e-11

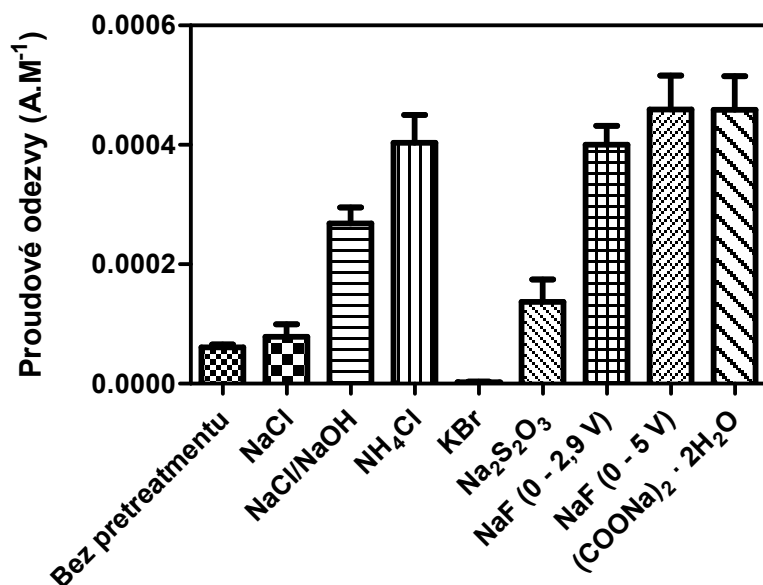


**Obr. 20:** Záznam měření elektrody pretreatmentované ve šřavelanu sodném, měření proběhlo v míchaném roztoku PBS při 830 mV proti Ag/AgCl, nástřiky vodného roztoku oxidu dusnatého, askorbátu, dopaminu a dusitanu, výsledné koncentrace oxidu dusnatého 1,6  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích), askorbátu a dopaminu 2  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích), dusitanu 20  $\mu\text{mol/l}$  (po dvou nástřicích)

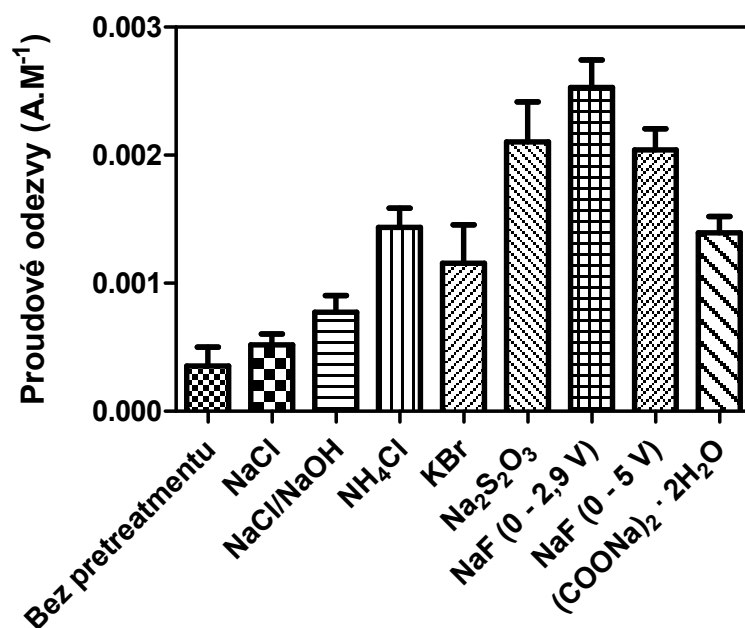
Obr. 21 nabízí možnost porovnání citlivosti elektrod pretreatmentovaných v různých roztocích. Je viditelné, že elektrody bez pretreatmentu vykazují velice špatné vlastnosti vůči oxidaci NO. Dále lze usoudit z grafu to, že agresivní pretreatment v NaF při 5 V vede k vysoké aktivaci uhlíkového vlákna vůči oxidu dusnatému. Na obr. 22 vidíme obdobné srovnání citlivosti elektrod pretreatmentovaných v uvedených roztocích vůči askorbátu. Nejvyšší proudové odezvy vykazují vlákna pretreatmentovaná ve šřavelanu sodném a fluoridu, což indikuje velmi narušenou strukturu takto upravených vláken. Zajímavá je prakticky nulová odezva elektrod pretreatmentovaných v KBr vůči askorbátu. Tento jev by naznačoval relativně mírné působení tohoto typu aktivace na povrch mikroelektrod z uhlíkových vláken. Obr. 23 ukazuje citlivost senzorů na dopamin. U elektrod se všemi typy pretreatmentu byla odezva na dopamin nejvyšší, což je způsobeno silně oxidovaným povrchem uhlíkových vláken. Oxidací povrchu vzniká velké množství záporně nabitých funkčních skupin, které způsobují snadnou adsorpci dopaminu (fungují jako tzv. kationtově výměnná vrstva – katex) a následnou oxidaci. Obr. 24 dokumentuje citlivost elektrod vůči dusitanu. Záporně nabitý povrch uhlíkových vláken působí proti difúzi dusitanu k elektrodám, z čehož plyne velmi malá citlivost na dusitan. Nejvyšší citlivost vykazují vlákna pretreatmentovaná ve směsi NaCl/NaOH.



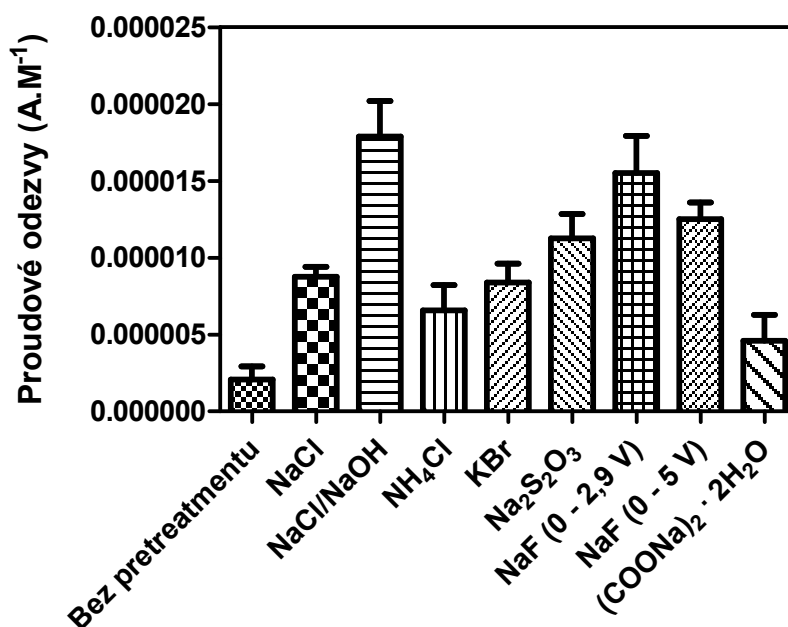
**Obr. 21:** Graf závislosti proudové odezvy oxidace oxidu dusnatého na druhu elektrolytu při pretreatmentu, měření provedeno při 830 mV proti Ag/AgCl v míchaném roztoku PBS (pretreatment: 20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V, v případě NaF (0 – 5 V) 1 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 - 5 V, frekvence 50 Hz , 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V )



**Obr. 22:** Graf závislosti proudové odezvy oxidace askorbátu na druhu elektrolytu při pretreatmentu, měření provedeno při 830 mV proti Ag/AgCl v míchaném roztoku PBS. Protokol použitý pro pretreatment je uveden na Obr. 21.



**Obr. 23:** Graf závislosti proudové odezvy oxidace dopaminu na druhu elektrolytu při pretreatmentu, měření provedeno při 830 mV proti Ag/AgCl v míchaném roztoku PBS. Protokol použitý pro pretreatment je uveden na Obr. 21.

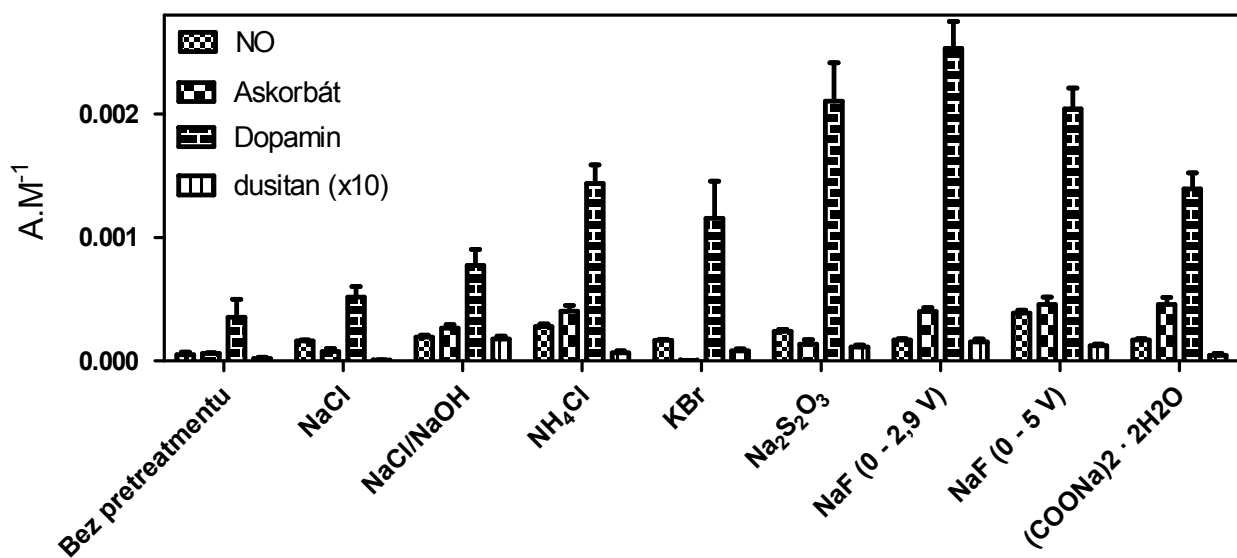


**Obr. 24:** Graf závislosti proudové odezvy oxidace dusitanu na druhu elektrolytu při pretreatmentu, měření provedeno při 830 mV proti Ag/AgCl v míchaném roztoku PBS. Protokol použitý pro pretreatment je uveden na Obr. 21.

#### 4.4. Aplikace mikroelektrod z uhlíkových vláken

##### *Elektrody z uhlíkového vlákna jako amperometrické senzory*

Mikroelektrody z uhlíkových vláken lze využít jako senzory pro stanovení lehce oxidovatelných látek. Pro testování byly vybrány modelové látky, kterými byly oxid dusnatý (malá neutrální molekula), askorbát (velká záporně nabitá molekula), dopamin (velká kladně nabitá molekula) a dusitan (malá záporně nabitá molekula). Na obr. 25 vidíme srovnání citlivosti elektrod z uhlíkových vláken vůči testovaným látkám. Patrná je velmi vysoká odezva na dopamin.

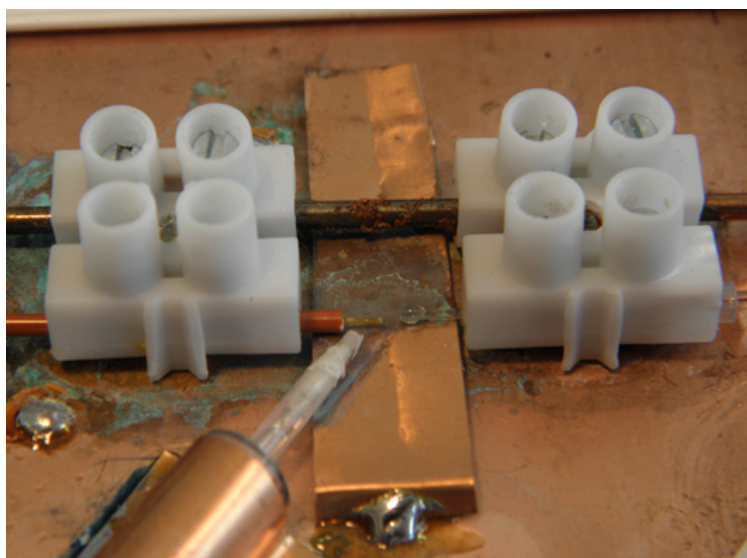
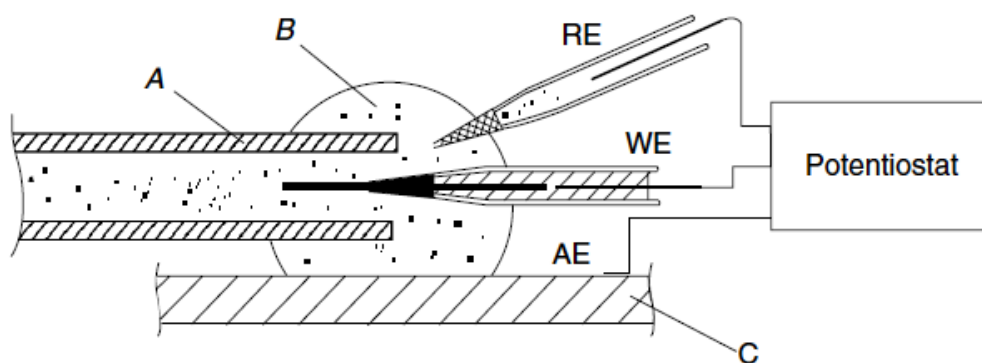


**Obr. 25:** Graf závislosti proudové odezvy oxidace NO, askorbátu, dopaminu a dusitanu na druhu elektrolytu při pretreatmentu, měření provedeno při 830 mV proti Ag/AgCl v míchaném roztoku PBS (pretreatment: 20 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 2,9 V, frekvence 50 Hz, poté 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V, v případě NaF (0 – 5 V) 1 s proměnný potenciál se sinusovou vlnou 0 – 5 V, frekvence 50 Hz, 5 s při konstantním potenciálu -0,8 V a 5 s při konstantním potenciálu 1,5 V)



### *Elektrody z uhlíkového vlákna jako HPLC-EC detektor*

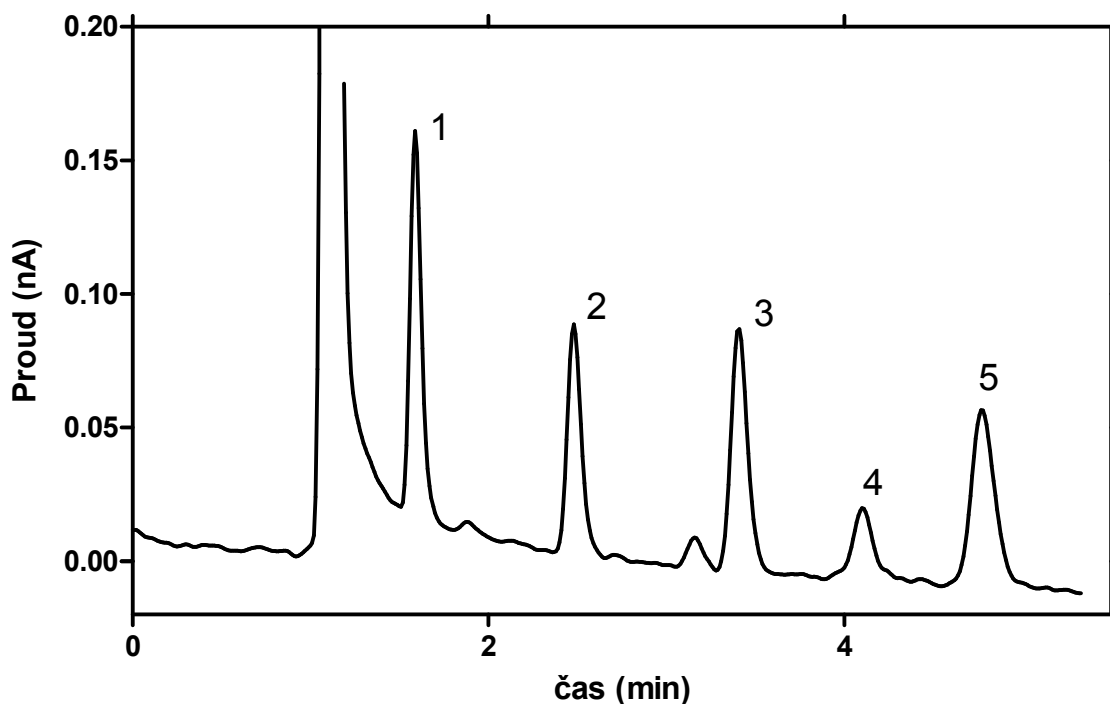
Mikroelektrody s uhlíkovým vláknem vykazují velmi dobré vlastnosti jako detektor v HPLC. Výhodou těchto senzorů je stabilita signálu, vysoký poměr signál/šum. Navíc jsou tyto elektrody schopny vydržet i opakovaná měření při relativně vysokých potenciálech. Další výhodou je velikost senzoru, jelikož nezvyšuje (narozdíl od UV detektorů) tzv. mrtvý objem chromatografické kolony. Na Obr. 25 je uvedeno schéma technického provedení HPLC detekce pomocí vláknové elektrody a fotografie praktické realizace detektoru.



**Obr. 26:** Nákres a praktické provedení uspořádání HPLC senzoru, A – vyústění z HPLC kolony, B – eluát z HPLC kolony WE – pracovní elektroda, RE – referentní elektroda, AE – pomocná elektroda. Převzato z [31]

Při testování byla použita směs fenolických kyselin (gallová, protokatechová, gentisová, 4 – hydroxybenzoová a kávová). Navzdory velmi nízké koncentrace byl signál stabilní a měl vysoký poměr signál/šum. I přes použití relativně vysokého potenciálu (1200 mV vs

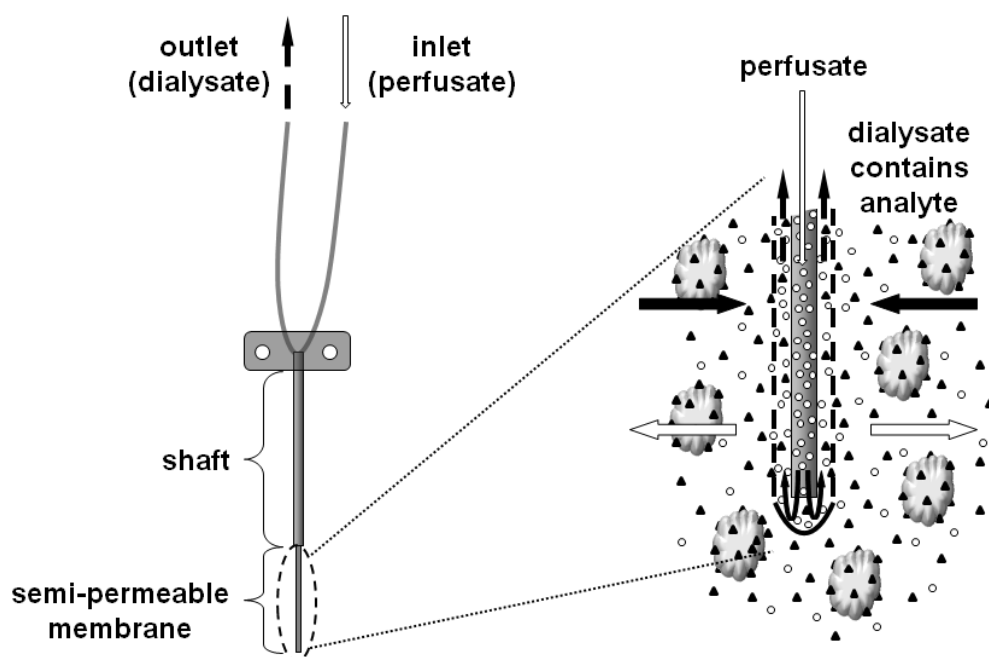
Ag/AgCl) byl šum na nízké úrovni. Chromatogram z měření na obr. 28, podmínky při měření: ACN/50mmol/l fosforečnan sodný + 20 mmol/l chloristan sodný, 20/80, pH = 3, průtoková rychlost 200  $\mu\text{l}/\text{min}$ , kolona C18 150x3mm, 3  $\mu\text{m}$ , vnitřní průměr 2.1  $\mu\text{m}$ , detekce amperometrická při 1200 mV (proti Ag/AgCl), rozsah 5 nA/V, nástřik vzorku 2,5  $\mu\text{l}$ , výsledná koncentrace byla  $1 \cdot 10^{-7}$  mol/l.



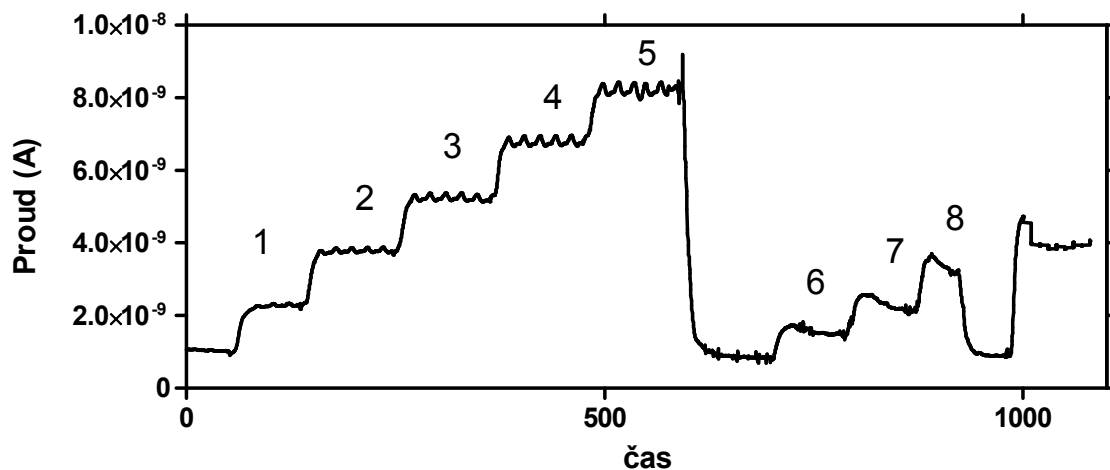
**Obr. 27:** Chromatogram standardní směsi fenolických kyselin senzorem. Podmínky: ACN/50mmol/l fosforečnan sodný + 20 mmol/l chloristan sodný, 20/80, pH = 3, průtoková rychlost 200  $\mu\text{l}/\text{min}$ , kolona C18 150x3mm, 3  $\mu\text{m}$ , vnitřní průměr 2.1  $\mu\text{m}$ , detekce amperometrická při 1200 mV (proti Ag/AgCl), rozsah 5 nA/V, nástřik vzorku 2,5  $\mu\text{l}$ , výsledná koncentrace  $1 \cdot 10^{-7}$  mol/l. Na záznamu je vidět 5 píků patřících kyselině gallové (1), protokatechové (2), gentisové (3), 4-hydroxybenzoové (4) a kávové (5).

### *Senzor pro mikrodialýzu*

Mikrodialýza je miniinvazivní metoda s širokým spektrem aplikací v klinickém výzkumu a praxi. Základem techniky je dialyzační sonda tvořená dialyzační membránou umístěnou na konci speciálního mikrodialyzačního katetru (Obr.28). Chemické látky ze zkoumaného prostředí (např. intersticiální tekutina) difundují přes membránu sondy do perfusního roztoku, kterým je katetr promýván. Nízkomolekulární chemické látky obsažené v tekutině mimo sondu difundují přes membránu do perfusního roztoku v katetru. Využití této metody je jednak v lékařství (včasné odhalení příznaků ischemie a buněčného rozpadu) a zároveň při automatizaci amperometrických měření. V mikrodialýze lze mikrosenzor z uhlíkových vláken používat např. k detekci dopaminu při měřeních *in vivo*, nabízí se vývoj senzoru na měření NO. Experimentální uspořádání je podobné jako u HPLC–EC detektoru (Obr. 26). Příklad *in vitro* experimentu měření dopaminu v dialyzátu pomocí elektrody z uhlíkového mikrovlákná je uveden na Obr. 29.



**Obr. 28:** Uspořádání mikrodialyzačního senzoru. Převzato z [32]



**Obr. 29:** Záznam měření mikrodialyzační sondou. Měřený analyt byl dopamin, 1 – 8 jsou přídavky dopaminu, které způsobily zvýšení koncentrace o  $5 \cdot 10^{-7}$  mol/l, v případě 1 – 5 byl roztok míchán, 6 – 8 bez míchání

Z Obr. 29 je zřejmé, že bylo dosaženo zajímavých výsledků. Mikrodialyzační sonda snese vyjmutí z měřeného roztoku, což se projevilo návratem proudu na výchozí linii po nástřiku č. 5 a 8, je zřejmá i poměrně dobrá odezva měření v nemíchaném roztoku (6-8).

## 5. Závěr

1. Byla zvládnuta konstrukce mikrosenzoru z uhlíkového vlákna.
2. Na vybraných analytech byl testován vliv elektrochemické aktivace. Jako modelové analyty byly vybrány oxid dusnatý, askorbát, dopamin a dusitan. Testován byl:
  - a) vliv doby pretreatmentu (0-2,9 V, sinus 50 Hz) v NaCl v rozmezí 0,02 s až 30 s. Z výsledků měření je patrné výrazné zvýšení citlivosti vůči oxidaci dopaminu při aktivaci trvající 0,1 s.
  - b) vliv druhu elektrolytu, ve kterém byl pretreatment prováděn.

Elektrody bez elektrochemické aktivace vykazují velmi nízké odezvy vůči všem testovaným analytům, naopak aktivované elektrody poskytovaly výrazné zvýšení citlivosti vůči těmto analytům, zejména dopaminu. Poměr změny citlivosti mikroelektrody z uhlíkového vlákna na testované analyty se lišily podle soli použité při pretreatmentu., např. pretreatment v KBr poskytoval senzor s velmi nízkou proudovou odezvou na askorbát.

Vyrobené elektrody byly s úspěchem otestovány jako:

- a) HPLC amperometrický detektor
- b) jako amperometrický detektor při experimentu s mikrodialýzou

## 6. Summary

Carbon fibers are construction materials, which owing to their properties find applications in many fields of technology. Among mechanical properties carbon fibers are characteristic for their tensile strength, tensile modulus, low weight, resistance against action of chemicals, biocompatibility, electric and heat conductivity. Carbon fibers can be divided according to mechanical properties onto high tensile strength carbon fibers, high modulus, ultra high modulus and intermediate modulus carbon fibers. From the point of view of precursors used for manufacturing the fibers can be divided into pitch – based, polyacrylonitrile or rayon – based, newly developed products are vapor - grown carbon fibers. In this work, carbon fibers have been used as a material for microelectrode fabrication. In as-prepared form, however, their properties (sensitivity, selectivity) for sensing most of the easily oxidisable analytes are not very good. Therefore it is necessary to activate the surface of carbon fiber microelectrode by a process denoted as pretreatment. During this procedure, microelectrode is subjected to high (2.9 V vs. Ag/AgCl) and rapidly changing (50 Hz) potential. The influence of pretreatment time and also the type of the electrolyte, in which the pretreatment was carried out was extensively evaluated in this work. The most notable result is that the electrode reaches very high sensitivity to dopamine when the pretreatment time is 0.1 s. The pretreated carbon fiber microelectrodes were tested for their sensitivity to dopamine, ascorbate, nitric oxide and nitrite by amperometry and applied as HPLC –EC detector and as sensor coupled with microdialysis.

## Seznam použité literatury:

- [1] , D. L. Chung: Carbon fiber composites. Newton, MA : Butterworth-Heinemann, 1994. 215 s. ISBN 0-7506-9167-7.
- [2] J. Grégr: Povrchové vlastnosti uhlíkových vláken, Výzkumné centrum „Textil“. LN00B090, katedra chemie FP, TU v Liberci říjen 2004.
- [3] R. Iley, H. L. Iley: The deposition of carbon on vitreous silica, J. of the Chem. Soc. (1948), str. 1362-1366.
- [4] Www.zoltek.com [online]. 2011 [cit. 2011-02-22]. Zoltek carbon fiber. Dostupné z WWW: <<http://www.zoltek.com/carbonfiber/>>.
- [5] A. K. Gupta, D. K. Paliwal, P. Bajaj: J. Macromol. Sci., Macromol. Chem. Phys. C31(1), 1-89 (1991).
- [6] D.J. Johnson: Chemistry and Industry 18, str. 692-698 (1982).
- [7] F. Watanabe, S. Ishidaa, Y. Koraia, I. Mochidaa, I. Katob, Y. Sakaic, M. Kamatsucet: Pitch-based carbon fibers of high compressive strenght prepared from synthetic isotropic pitch containing mesophase spheres, Carbon 37 (6) (1999), str. 961-967.
- [8] A. Hussain, L. Kakakhela: Preparation and characterization of pitch-based carbon fibers, New carbon materials 24 (1) (2009), str. 83-88.
- [9] J. B. Donnet, R. C. Bansal: International Fiber Science and Technology, 10 (Carbon fibers), 2. Vydání, Marcel Dekker, New York, 1990, kap. 1.
- [10] R. P. Plaisantin, , A. Guettea, G. Daudéb, M. Pétraudc, B. Barbec, M. Birotd, J. P. Pillotd, P. Olrye: Conversion of cellulosic fibers into carbon fibers: study of the mechanical properties and correlation with chemical structure, Compos. Sci. Technol. 61 (14) (2001), 2063-2068.
- [11] W. Brandl, G. Margine, V. Chirila, W. Warschewskic: Production and characterisation of vapour grown carbon fiber/polypropylene composites, Carbon 42 (1) (2004), str. 5-9.
- [12] M. Jayasankar, R. Chand, S. K. Gupta, D. Kunzru: Vapor grown carbon fibers from benzene pyrolysis, Carbon 33 (3) (1995), str. 253-258.
- [13] J. Liu, Y. Tian, Y. Chen, J. Liang: Interfacial and mechanical properties of carbon fibers modified by oxidation in  $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3/(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  aqueous compound solution, Appl. Surf. Sci. 256 (21) (2010), str. 6199-6204.
- [14] J. Barek, F. Opekar, K. Šťulík: Elektroanalytická chemie. Univerzita Karlova v Praze : Karolinum, 2005. Mikroelektrody, str. 102-106.

- [15] J. Hrbáč, Č. Gregor, M. Machová, J. Králová, T. Bystroň, M. Číž, A. Lojek: Nitric oxide sensor based on carbon fiber covered with nickel porphyrin layer deposited using optimized electropolymerization procedure, *Bioelectrochemistry* 71(1) (2007), str. 46-53.
- [16] M. L. Heien, P. E. M. Phillips, G. D. Stuber, A. T. Seipel, R. M. Wightman: Overoxidation of carbon-fiber microelectrodes enhances dopamine adsorption and increases sensitivity, *Analyst* 128 (2003), str. 1413-1419.
- [17] B. D. Bath, D. J. Michael, B. J. Trafton, J. D. Joseph, P. L. Runnels, R. M. Wightman: Subsecond adsorption and desorption of dopamine at carbon-fiber microelectrodes, *Anal. Chem.* 72 (2000), str. 5994-6002.
- [18] Y. Tu, J. Xu, P. Xu, H. Chen: Studies on the development of microelectrodes and miniaturized biosensors with a novel material: petroleum pitch-based carbon fiber, *Electroanalysis* 17 (13) (2001), str. 1394-1398.
- [19] Y. Baoxian, X. Ping, L. Lin: Determination of the neurotransmitter-norepinephrine in the presence of ascorbic acid using carbon fiber microelectrodes activated by potentiostat, *Microchem. J.* 64 (2) (2000), str. 125-130.
- [20] Y. S. Fung, J. L. L. Mak: Application of carbon fiber ultramicroelectrode for studying the impact of environmental pollutants on frogs egg, *Electrochim. Acta* 44 (21-22) (1999), str. 3855-3864.
- [21] L. Agüí, A. Guzmán, P. Yáñez-Sedeño, J. M. Pingarrón: Voltametric determination of chloramphenicol in milk at electrochemically activated carbon fiber microelectrodes, *Anal. Chim. Acta* 461 (1) (2002), str. 65-73.
- [22] V. Halouzka, P. Jakubec, Č. Gregor, D. Jančík, K. Papadopoulos, T. Triantis, J. Hrbáč: Silver-nafion coated cylindrical carbon fiber microelectrode for amperometric monitoring of hydrogen peroxide heterogeneous catalytic decomposition, *Chem. Eng. J.* 165 (3) (2010), str. 813-818.
- [23] Kholoud Abou El-Nour, A. Brajter-Toth: Sensitivity of electrochemically nanostructured carbon fiber microelectrodes in the determination of adenosine, *Electroanal.* 12 (11) (2000), str. 805-810.
- [24] E. Csoregi, L. Gorton, G. Marko-Varga: Carbon fibres as electrode materials for the construction of peroxidase-modified amperometric biosensors, *Anal. Chim. Acta* 273 (1993), str. 59-70.
- [25] C. G. Zoski: *Handbook of electrochemistry*. The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford OX5 1GB, UK : Elsevier, 2007. 934 s. ISBN 978-0-444-51958-0.



- [26] P. C. Farrell, P. R. Kinley, D. J. Weiss, T. G. Strein: Using Ferrocenes to assist in voltametric characterization of carbon fiber microelectrodes after electrochemical and laser activation, *Electroanal.* 15 (2003), str. 813-820.
- [27] Yanhe Han, Xie Quan, Shuo Chen, Huimin Zhao, Chunyue Cui, Yazhi Zhao: Electrochemically enhanced adsorption of aniline on activated carbon fibers, *J. Colloid Interf. Sci.* 299 (2) (2006), str. 766-771.
- [28] Yu. V. Basova, H. Hatori, Y. Yamada, K. Miyashita: Effect of oxidation-reduction surface treatment on the electrochemical behavior of PAN-based carbon fibers, *Electrochem. Commun.* 1 (11) (1999), str. 540-544.
- [29] X. S. Hai, Z. Feng-ying, L. Shao-huan, H. Dong-mei, Q. Cai: Catalytic oxidation of Mo-B-doped PAN-based carbon fibers, *J. Cent. South Univ. Technol.* 17 (2010), str. 703-707.
- [30] J. Gulyás, E. Földes, A. Lázár, B. Pukánszky: Electrochemical oxidation of carbon fibers, *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* 32 (3-4) (2001), str. 353-360.
- [31] J. Wang: *Analytical electrochemistry*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2006. ISBN-13 978-0-471-67879-3.
- [32] *Wikipedia, the free encyclopedia* [online]. 2010 [cit. 2011-05-10]. Microdialysis. Dostupné z WWW: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Microdialysis>>.