

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie



PŘÍPRAVA ELEKTROD ZE SVAZKŮ UHLÍKOVÝCH VLÁKEN A JEJICH ANALYTICKÉ VYUŽITÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor práce:

Radek Jerga

Vedoucí práce:

RNDr. Jana Skopalová, Ph.D

Studijní program:

B1407 Chemie

Studijní obor:

Aplikovaná chemie

Forma studia:

Prezenční

Olomouc 2018

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně. Veškerá literatura a ostatní zdroje informací, které jsem v této práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

V Olomouci dne

Chtěl bych poděkovat vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Janě Skopalové, Ph.D. za všechnu pomoc, odborné rady a předané zkušenosti. Velké poděkování patří také Veronice Müllerové za veškerou pomoc při práci v laboratoři, její trpělivost a podporu během studia. Také bych chtěl poděkovat doc. RNDr. Petru Bartákovi, Ph.D. za pomoc při konstruování měrné cely a RNDr. Tomáši Pluháčkovi, Ph.D. za pomoc při úpravě vláken laserovou ablací. A v neposlední řadě děkuji své rodině za veškerou podporu během celého studia.

Bibliografická identifikace

Autor	Radek Jerga
Název práce	Příprava elektrod ze svazků uhlíkových vláken a jejich analytické využití
Typ práce	Bakalářská
Pracoviště	Katedra analytické chemie
Vedoucí práce	RNDr. Jana Skopalová, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2018
Abstrakt	<p>Bakalářská práce se zabývá výrobou elektrod ze svazků uhlíkových vláken a jejich vhodnou předúpravou pro zvýšení proudové odezvy. Dále je popsáno využití připravených elektrod pro amperometrické sledování průchodu dopaminu přes membránu pokrytou vrstvou fosfolipidů. Pomocí cyklické voltametrie a amperometrie bylo zjištěno, že nejvhodnější formou předúpravy je žihání vláken při 500 °C, následované elektrochemickou aktivací. Dále byla prokázána schopnost dopaminu interagovat s asolectinovými fosfolipidy a difundovat skrz jejich vrstvu.</p>
Klíčová slova	Uhlíková vlákna, předúprava elektrod, dopamin, asolectin
Počet stran	46
Jazyk	Český

Bibliographic identification

Author	Radek Jerga
Title	Preparation of the carbon fibre brush electrodes and their analytical application
Type of thesis	Bachelor
Department	Department of Analytical Chemistry
Supervisor	RNDr. Jana Skopalová, Ph.D.
The year of presentation	2018
Abstract	<p>Bachelor thesis deals with the preparation of carbon fibre brush electrodes and their appropriate pretreatment to increase their current response. The electrode applications for the amperometric monitoring of the dopamine diffusion through a membrane covered with a layer of phospholipids are described. Using the cyclic voltammetry and amperometry it was proven, that annealing at 500 °C followed by electrochemical pretreatment, is the most suitable pretreatment. It was also proved that dopamine interacts with the asolectin phospholipids and diffuses across the phospholipid layer.</p>
Keywords	Carbon fibres, electrode pretreatment, dopamine, asolectin
Number of pages	46
Language	Czech

OBSAH

Úvod.....	8
2 Teoretická část	9
2.1 Uhlíková vlákna	9
2.1.1 Uhlíková vlákna z polyakrylonitrilu	9
2.1.2 Uhlíková vlákna z dehtu	11
2.1.3 Uhlíková vlákna z viskózy	12
2.1.4 Elektrické vlastnosti uhlíkových vláken	12
2.2 Využití uhlíkových vláken v chemii	12
2.2.1 Uhlíková vlákna pro voltametrii a amperometrii	13
2.2.2 Bioanalytické aplikace	13
2.2.3 Mikroelektrody v elektrochemických detektorech pro HPLC	14
2.2.4 Elektrody z uhlíkových vláken v hmotnostní spektrometrii	15
2.2.5 Další využití	16
2.3 Předúprava uhlíkových vláken	16
2.3.1 Žihání uhlíkových vláken.....	16
2.3.2 Oxidace uhlíkových vláken.....	17
2.3.3 Elektrochemická aktivace	17
2.3.4 Laserová ablace.....	18
2.4 Studovaná látka	18
2.4.1 Dopamin.....	18
2.5 Použité elektrochemické metody	20
2.5.1 Cyklická voltametrie	20
2.5.2 Elektrochemická impedanční spektroskopie.....	21
3 Experimentální část.....	22
3.1 Použité chemikálie	22
3.2 Příprava roztoků	22
3.3 Používané přístroje.....	23

3.4 Pracovní postupy	23
3.4.1 Výroba elektrod z uhlíkových vláken	23
3.4.2 Předúprava elektrod	24
3.4.3 Elektrochemická aktivace:	25
3.4.4 Čištění elektrod	25
3.4.5 Příprava měrné cely	26
3.4.6 Pokrývání PC membrány vrstvou fosfolipidu.....	27
3.5 Elektrochemická měření.....	27
3.5.1 Cyklická voltametrie	27
3.5.2 Testování pokrytí PC membrány fosfolipidy pomocí EIS.....	27
3.5.3 Amperometrické sledování průchodu dopaminu přes PC membránu	28
4 Výsledky a diskuze	29
4.1 Konstrukce elektrod	29
4.1.1 Elektrody lepené epoxidem.....	30
4.1.2 Elektrody tmelené	30
4.2 Předúprava elektrod	30
4.2.1 Oxidace v kyselině sírové a peroxodisíranu amonném.....	31
4.2.2 Žihání elektrody při teplotě 450 °C.....	32
4.2.3 Kombinace oxidace a žihání elektrody	33
4.2.4 Výběr vhodné teploty pro žihání uhlíkových vláken.....	34
4.2.5 Laserová ablace.....	35
4.3 Amperometrické sledování průchodu dopaminu	35
4.3.1 Difúze dopaminu přes nepokrytou polykarbonátovou membránu.....	36
4.3.2 Testování pokrytí PC membrány vrstvou fosfolipidů.....	38
4.3.3 Difúze dopaminu přes pokrytou polykarbonátovou membránu.....	39
5 Závěr	42
6 Summary	43
Seznam použité literatury	44

ÚVOD

Uhlíková vlákna jsou perspektivním materiálem využívaným v nejrůznějších průmyslových a vědecko-výzkumných oborech, jako je automobilový průmysl, letectví a kosmonautika, nebo vojenský průmysl. Ačkoliv se jedná o tenká vlákna s průměrem několika mikrometrů, vykazují velkou pevnost a pružnost a dobrou tepelnou vodivost. Pro využití v elektrochemii jsou však nejdůležitější jejich výborné elektrické vlastnosti, přičemž elektrická vodivost některých typů vláken se blíží vodivosti kovů.

Existuje velké množství aplikací uhlíkových vláken v chemii, například jejich využití ve voltametii a amperometrii. Zde jsou výhodou malé rozměry vláken, které slouží jako mikroelektrody. Velké uplatnění tyto elektrody našly v bioanalytice, například pro sledování katecholaminů, ale i dalších biologicky aktivních látek. Výhodou je také možnost aplikace elektrod z uhlíkových vláken *in vivo*, protože nejsou toxická a nijak nenarušují procesy v organismech. Mezi další aplikace patří nejrůznější elektrochemické detektory využívané v HPLC, hmotností spektrometrii, atd.

Elektrické vlastnosti uhlíkových vláken je možné zlepšit vhodnou předúpravou vláken. Mezi nejčastější metody patří elektrochemická aktivace. Dále je možné využít oxidaci vláken, jejich žíhání, případně laserovou ablací.

Jedním z důležitých katecholaminů v organismu je dopamin. Jedná se o neurotransmiter odpovědný za správné fungování motoriky, podílí se na emocionálním chování a jeho nedostatek souvisí s Parkinsonovou chorobou, schizofrenií a dalšími duševními poruchami. Proto jsou velmi důležité metody umožňující jeho sledování, aby bylo možné včas zaznamenat jeho nedostatek a případně předejít souvisejícím potížím.

Cílem této práce bylo nalézt vhodnou metodu úpravy uhlíkových vláken pro přípravu elektrod z jejich svazků tak, aby tyto elektrody poskytovaly co nejvyšší voltametrický proudový signál modelových elektroaktivních látek. Připravené elektrody s malým geometrickým rozměrem a velkým elektroaktivním povrchem by mohly být využívány k detekci dopaminu v nízkoobjemové elektrochemické cele zkonstruované pro studium difúze dopaminu a dalších biologicky významných látek přes modelovou fosfolipidovou membránu.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Uhlíková vlákna

Jedná se o vlákna o průměru několika mikrometrů, která jsou tvořena alespoň z 92 % uhlíkem (pokud obsahují 99 % a více uhlíku, jedná se o vlákna grafitová) [1,2]. Jednotlivé atomy uhlíku jsou uspořádány v hexagonálních kruzích, respektive mikroskopických krystalech, které vytvářejí dlouhé řetězce uspořádané paralelně k ose vlákna. To je důvod, proč jsou uhlíková vlákna velice pevná navzdory své nepatrné tloušťce. Například jejich pevnost a pružnost v tahu je mnohonásobně vyšší než u oceli [3].

Historicky první uměle vyrobená uhlíková vlákna jsou připisována Thomasu Edisonovi, který v roce 1879 při svých pokusech vyrobit žárovku, vytvořil uhlíková vlákna žhavením bavlněných vláken a bambusových proužků. Různé druhy uhlíkových vláken se objevovaly i následně, ovšem žádné z nich neměly dobré mechanické vlastnosti. Až ke konci padesátých let dokázal americký vědec Roger Bacon vytvořit grafitová vlákna, která měla vlastnosti moderních uhlíkových vláken, ovšem jejich výroba byla velmi nákladná [3,4].

Moderní uhlíková vlákna jsou vyráběna ve velkých množstvích (např. předpokládaná poptávka pro rok 2018 je více než 80 tisíc tun uhlíkových vláken) a náklady na jejich výrobu se neustále snižují [2]. Komerční výroba je založena na pyrolýze, při níž jsou využívány 3 druhy prekurzorů, a to polyakrylonitril (PAN), viskóza nebo dehet, přičemž 96 % světové produkce tvoří PAN [2,3]. Kvůli svému malému průměru jsou vlákna vyráběna ve svazcích, které jsou tvořeny tisíci jednotlivými vlákny (jedná se o svazky obsahující 1000–24000 vláken), přičemž svazky s nižším počtem vláken mají obecně lepší vlastnosti než ty s vyšším počtem vláken [2].

2.1.1 Uhlíková vlákna z polyakrylonitrilu

Polyakrylonitril je polymerní látka obsahující asi 68 % uhlíku, přičemž atomy uhlíku jsou vázány v řetězci. Tato látka je tvrdá, relativně nerozpustná a má vysoký bod tání [5]. Vyrábí se polymerizací akrylonitrilu s využitím běžných iniciací peroxidy nebo azosloučeninami a to v roztoku nebo v suspenzi [6].

Jak již bylo řečeno, uhlíková vlákna z tohoto prekurzoru dnes tvoří 96 % celkové výroby. Je to dáno jednak nízkými náklady na výrobu, jednak vlastnostmi vzniklých uhlíkových vláken, která jsou pevnější, než vlákna z viskózy a dehtu [5]. Tato vlákna se také dělí do několika skupin v závislosti na různých vlastnostech, např. podle modulu pružnosti v tahu. Jedná se o vlákna s ultra vysokou pružností (>500 GPa), vysokou pružností (>300 GPa), střední pružností (>200 GPa) a nízkou pružností (100 GPa). Dále pak mohou být vlákna označována jako vysoce pevná (High Strength, >4 GPa). Existuje také klasifikace 3 druhů PAN uhlíkových vláken v závislosti na teplotě při konečném zpracování, viz Tab. I. Do skupiny PAN II většinou patří zmíněná vysoce pevná vlákna, do skupiny PAN I patří většina vláken s vysokým modulem pružnosti [6].

Tab. I - Druhy polyakrylonitrilových vláken v závislosti na teplotě konečné úpravy

Typ vlákna	Teplota úpravy
PAN I	2000 °C
PAN II	1500 °C
PAN III	1000 °C

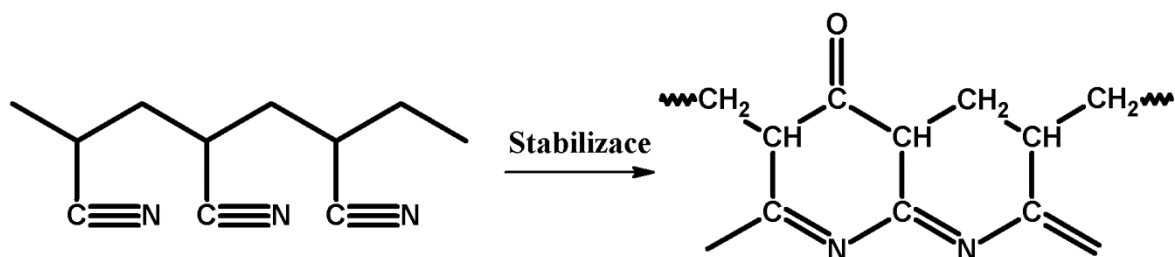
Samotná výroba PAN uhlíkových vláken sestává z několika kroků, které detailně ve své bakalářské práci popisuje Riman [7], zde je uveden pouze obecný přehled jednotlivých kroků:

Zvláknění

Slouží k úpravě polymeru do podoby vláken. Existuje několik typů provedení, např. zvláknění z taveniny, za sucha, za mokra nebo gelové zvláknění [4,7].

Stabilizace

Provádí se při teplotách 200–300 °C v oxidační atmosféře (vzduch), přičemž vlákna jsou napnutá. Dochází k navázání atomů kyslíku a celkově ke změně struktury polyakrylonitrilu, kdy dochází k zacyklení a vzniká tepelně stabilní polymer tzv. žebříkovité struktury (Obr. 1) [4,5].



Obr. 1 – Stabilizace polyakrylonitrilu a vznik PAN žebříkové struktury [5]

Karbonizace

Probíhá při teplotách od 1000 °C do 3000 °C a slouží ke zvýšení obsahu uhlíku v materiálu uvolňováním ostatních prvků z polymeru. Proces probíhá v inertní atmosféře, aby bylo zabráněno vzplanutí vláken [4,5].

Grafitizace

Provádí se pouze pokud potřebujeme vlákna s lepšími vlastnostmi. V principu se jedná o pokračování karbonizace při teplotě 3000 °C a jde o zvýšení obsahu uhlíku alespoň na 99 % [5].

Úprava povrchu

Vzniklá uhlíková vlákna nejsou vhodná k použití v kompozitních materiálech, proto se vlákno upravuje mírnou oxidací [7].

2.1.2 Uhlíková vlákna z dehtu

Dehet je látka vznikající přírodně i synteticky. Přírodní dehet je produktem zpracování ropy a karbonizace uhlí, syntetický dehet se vyrábí pyrolýzou syntetických polymerů. Ačkoliv uhelný dehet obsahuje více aromatických látek než ropný dehet, obsahuje také velké množství pevných částic z uhlí, které při výrobě vláken způsobují problémy, proto se prakticky využívá hlavně ropný dehet. Současně je také výhodnější používat syntetický dehet, který má vyšší čistotu a jeho stabilizace probíhá rychleji. Oproti uhlíkovým vláknům z PAN má také několik výhod, zejména prekurzor je mnohem levnější, vzniklá vlákna mají lepší pružnost a tepelnou a elektrickou vodivost, ovšem obrovskou nevýhodou je nákladnost výroby těchto vláken, která probíhá obdobně jako u vláken z PAN [6].

2.1.3 Uhlíková vlákna z viskózy

Viskóza je jedním z mnoha materiálů obsahujících celulózu, která je základním prekurzorem viskózových uhlíkových vláken. Vyrábí se zvláknováním v roztoku z nejlevnější dostupné suroviny – dřevěných třísek. Proto je v komerční výrobě využívána právě viskóza oproti např. bavlně, lnu a dalším materiálům. Viskóza je ovšem nevýhodná kvůli nízkému výtěžku uhlíku (20–30 %), nákladné výrobě a omezeným mechanickým vlastnostem [6].

2.1.4 Elektrické vlastnosti uhlíkových vláken

Dobré elektrické vlastnosti uhlíkových vláken jsou dány vysokým obsahem delokalizovaných π elektronů a samotnou strukturou vlákna. Obecně mají lepší elektrickou vodivost vlákna z dehtu oproti PAN vláknům, přičemž elektrická vodivost grafitových vláken (10^4 – 10^5 S m⁻¹) se blíží elektrické vodivosti kovů [4,6]. Elektrická vodivost uhlíkových vláken také přímo úměrně souvisí s teplotou v konečné fázi výroby vláken, kdy vlákna s větší hodnotou modulu pružnosti v tahu mají dokonalejší krystalickou strukturu, která umožňuje jednodušší pohyb elektronů ve vlákne. Poruchy v krystalové struktuře lokálně snižují elektrickou vodivost [4].

Pro svou vysokou elektrickou vodivost, chemickou odolnost, mechanické vlastnosti a nízkou cenu se uhlíková vlákna stala materiálem využívaným ke konstrukci elektrod, které našly uplatnění v elektrochemických reaktorech, biopalivových článcích a také v elektrochemické analýze.

2.2 Využití uhlíkových vláken v chemii

Uhlíková vlákna mají díky svým mechanickým vlastnostem širokou oblast využití, ať již v automobilovém průmyslu, letectví a kosmonautice, vojenství a dalších průmyslových odvětvích [2,3]. Jejich elektrické vlastnosti jsou však ideální k použití uhlíkových vláken jakožto elektrodového materiálu a tyto elektrody nacházejí uplatnění v nejrůznějších chemických aplikacích.

2.2.1 Uhlíková vlákna pro voltametrii a amperometrii

Důvodem, proč se uhlíková vlákna používají jako elektrody ve voltametrii a amperometrii, jsou hlavně jejich malé rozměry, řadí tyto elektrody k tzv. mikroelektrodám (jejich charakteristický rozměr je v řádu desítek až desetin mikrometrů [8]). To umožňuje provádět rychlé voltametrické skeny (rychlosti vyšší než 100 V s^{-1}). Voltametrie s rychlým skenováním umožňuje měření látek s rychlým transportem elektronů (rychlostní konstanta $> 0,1 \text{ cm s}^{-1}$). Ačkoli obecně je vnitřní odpor uhlíkových vláken zanedbatelný, u experimentů s vysokými rychlostmi skenu může být odpor problémem zejména kvůli nízkým analytickým proudům, které elektroda generuje. Z tohoto důvodu je třeba při měřeních s elektrodami z uhlíkových vláken dbát na snížení elektrického šumu a šumu prostředí, např. umístěním elektrochemického článku ve Faradayově kleci. Samotný odpor se pak také zvyšuje s obsahem nečistot na povrchu elektrody, proto je dobré před měřením tyto nečistoty odstraňovat elektrochemickou aktivací, případně leštěním elektrody pokud máme diskovou elektrodu z uhlíkových vláken [1].

2.2.2 Bioanalytické aplikace

Měření nejrůznějších biologicky aktivních látek či látek, které se účastní různých fyziologických procesů, je důležité nejen pro využití v medicíně a při výzkumu funkcí a vlastností těchto látek, ale také je třeba vyvíjet metody pro sledování cizorodých toxických látek v prostředí.

Elektrochemické metody jsou vhodné pro bioanalytické aplikace zejména proto, že většina biologicky aktivních látek je také elektroaktivní. A právě elektrody z uhlíkových vláken se díky vysoké citlivosti ukázaly být vhodné pro různá stanovení. Příkladem může být stanovení parabenů v léčivech metodou diferenční pulzní voltametrie. Parabeny se používají jako konzervanty v kosmetice, farmaceutickém a potravinářském průmyslu. Jejich vyšší koncentrace mohou být rizikové pro lidské zdraví. Proto je sledování obsahu těchto látek důležité v kontrole kvality výrobků, zejména pro ochranu zdraví spotřebitelů. Voltametrie ve spojení s diskovými elektrodami z uhlíkových vláken představuje rychlou, jednoduchou a citlivou metodu pro jejich stanovení bez nutnosti oddělovat je od matrice [9].

Kawagoe a spol. [10] popsali amperometrické stanovení katecholaminů vylučovaných izolovanými biologickými buňkami. Využity přitom byly dva typy mikroelektrod: elektroda z uhlíkového vlákna zataveného ve skleněné kapiláře (disková elektroda s průměrem disku 5,2–10 μm) a elektroda z uhlíkového vlákna vyčnívajícího z kapiláry ze skleněného vlákna z měkkého skla. Vyčnívající konec uhlíkového vlákna byl naleptán elektrochemicky střídavým proudem sinusového průběhu (frekvence 60 Hz, amplituda střídavého napětí 6–15 V) v roztoku $K_2Cr_2O_7$ a H_2SO_4 . Měření prokázala stejné výsledky obou elektrod v nejtěsnější blízkosti buněk (do 1 μm). Výhodou elektrody z leptaného vlákna jsou její celkově menší rozměry umožňující lépe nastavit pozici pro snímání signálu u malých objektů, u nichž může existovat chemická nehomogenita.

Jednou z dalších popsaných aplikací je sledování oxidu dusnatého, který mohou produkovat buňky savců, a který může sloužit jako mediátor v různých antimikrobiálních a protinádorových procesech nebo jako neurotransmitter [11]. Samotné měření obsahu oxidu dusnatého je možné provádět např. elektrodou z uhlíkových vláken, která je pokryta několika vrstvami ftalocyanintetrasulfonátu nikelnatého a polyamidoaminového dendrimeru využitím elektrostatických sil [12]. Podobně lze uhlíkové vlákno pomocí elektrodepozice pokrýt vrstvou mědi a použít k měření sacharidů [13].

2.2.3 Mikroelektrody v elektrochemických detektorech pro HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) je separační analytická metoda, v níž jsou vedle jiných způsobů detekce separovaných látek využívány elektrochemické metody [8]. Nejběžnější elektrochemickou (EC) detekční metodou v HPLC je amperometrie, v níž se používají pracovní elektrody z různých uhlíkových materiálů. Perspektivní se v této oblasti jeví mikroelektrody z uhlíkových vláken, jejichž vhodnou předúpravou lze zvýšit jejich proudovou odezvu, což umožňuje jejich využití k citlivé detekci v HPLC [14].

Bartošová a spol. [15] se zabývali využitím mikroelektrod z uhlíkových vláken v HPLC a vyvinuli jednoduchou, rychlou a citlivou metodu pro stanovení bromfenolů a tetrabrombisfenolu A ve vodě. Tyto látky se využívají hlavně jako zpomalovače hoření a fungicidy, ale mají negativní účinky na endokrinní soustavu. Proto je potřeba kontrolovat jejich výskyt ve vodách. Mikroelektrody z uhlíkových vláken, které byly před měřením elektroaktivovány v 1% roztoku NaCl, se ukázaly jako výborný EC detektor s nízkými šumy a limitem detekce daných látek v rozsahu 1,8–56,6 ng ml⁻¹.

Další možný způsob detekce látek pro HPLC je voltametrický detektor z vláken ze skelného uhlíku. Jedná se o svazek vláken umístěný v plastové trubici, která je umístěna v detektorovém prostoru obsahujícím elektrolyt (mobilní fázi), referentní elektrodu a pomocnou elektrodu. Samotná trubice je napojená na chromatografickou kolonu a délka pracovní elektrody odpovídá délce vláknům od konce kolony k otvoru v plastové trubici, kterým se eluát dostává do kontaktu s elektrolytem. Tento otvor je poté od další části vláken oddělen těsněním, kterým eluát neprojde. Detektor lze využít k měření nízkých koncentrací látek s vysokou citlivostí [16].

2.2.4 Elektrody z uhlíkových vláken v hmotnostní spektrometrii

Elektroda ze svazku uhlíkových vláken našla využití pro stanovení látek, které se na vlákních naadsorbují při elektrolyze. Detekci těchto látek lze provést ihned po elektrolyze metodou hmotnostní spektrometrie, využívající principu tzv. Atmospheric Solids Analysis Probe (ASAP-MS). Principem této metody je vkládání vzorku na vhodném substrátu (nejčastěji se používá skleněná kapilára zatavená na obou koncích) do iontového zdroje hmotnostního spektrometru, v němž je vzorek odpařen proudem horkého dusíku a jeho složky jsou ionizovány korónovým výbojem. Vzniklé ionty jsou následně separovány a detekovány v hmotnostním spektrometru. Například při stanovení produktů elektrochemické oxidace bromfenolů lze vzniklé oxidační produkty přímo desorbovat a ionizovat z povrchu elektrody ze svazků uhlíkových vláken, která slouží jako substrát pro ASAP. Výhodou této elektrody je její velký specifický povrch, který umožňuje zachycení dostatečného množství adsorbovaných produktů pro jejich spolehlivou detekci, případně i semikvantifikaci. Pomocí této metody bylo detekováno 11 nových oligomerních produktů oxidace pentabromfenolu a 2,4,6-tribromfenolu, které v předchozích experimentech s GC/MS a LC/MS nalezeny nebyly [17].

2.2.5 Další využití

Existují nejrůznější aplikace elektrod z uhlíkových vláken. Yang a kol. [18] popisují využití elektrod z uhlíkových vláken pokrytých ionofory k selektivnímu stanovení měďnatých iontů v komplexních vzorcích. Uhlíková vlákna jako pracovní a pomocná elektroda pak mohou být použity v kombinaci NMR a elektrochemie, jak uvádí Klodová a spol. [19]. Kombinace těchto metod umožňuje měření strukturálních změn redoxních látek v systému, jako příklad je uváděna redukce *p*-benzochinonu v roztocích o různém pH.

Perspektivní je také využití elektrod z uhlíkových vláken v mikrobiálních palivových článcích. Ty slouží ke generování elektrické energie využitím bakterií [20]. Uhlíková a grafitová vlákna jsou k tomuto účelu vhodná zejména díky jejich velkému specifickému povrchu, na kterém elektroaktivní bakterie snadněji vytvářejí kolonie. Elektrodu pokrytou elektroaktivními bakteriemi pak lze využít např. při zpracování odpadní vody. Bakterie se živí biomasou a při zpracování živin produkují také elektrickou energii, kterou odvádíme pomocí elektrody [21].

2.3 Předúprava uhlíkových vláken

Předúprava (pretreatment) vláken je důležitým krokem přípravy elektrod, jelikož zásadně ovlivňuje povrch a další vlastnosti elektrody. Během předúpravy dochází k vyčistění povrchu vlákna, k narušení jeho struktury, případně ke vzniku pórů, čímž se povrch zvětší [22]. Způsobů předúpravy je velké množství, např. elektrochemická aktivace, tepelná úprava, oxidace, laserová ablace, atd.

2.3.1 Žihání uhlíkových vláken

Tato předúprava využívá vyšší teploty ke změně struktury vláken. Feng a spol. [22] popisují žihání vlákna v muflové peci při 450 °C po dobu 30 minut. Podle jejich zjištění vznikají ve struktuře vláken praskliny a dochází ke změně obsahu prvků. Jelikož se samotná vlákna vyrábějí za vysokých teplot, dochází při této úpravě k nárůstu obsahu uhlíku. Při žihání v atmosféře amoniaku současně narůstá i obsah dusíku, hlavně protonizovaného. Kladně nabitý povrch takto upravené anody je důvodem lepší produkce elektřiny v mikrobiálních palivových článcích.

Pokud je žihání prováděno v bezkyslíkaté atmosféře, např. v proudu vodíku při 950 °C, dochází k desorpci či rozkladu skupin obsahujících kyslík a ke zvýšení množství nepolárních, hydrofobních míst na vlákne, která zabraňují adsorpci kyslíku. I za těchto podmínek však některé kyslíkaté (zejména fenolové a chinonové) skupiny v malém množství na vlákne zůstávají [23]. Elektrody z takovýchto vláken by pak mohly být použity při elektrochemické analýze nepolárních látek.

2.3.2 Oxidace uhlíkových vláken

Oxidace může mít různý vliv na uhlíkové vlákno v závislosti na použitém oxidačním činidle. Basová a kol. [23] popisují dvě činidla. Kyselina dusičná způsobuje zvětšení povrchu. Naopak použití peroxodisíranu amonného velikost povrchu neovlivňuje, ale má značný vliv na upevnění navázaných, silně kyselých skupin (hydroxylových, karbonylových a karboxylových) na vlákne. Ty zlepšují elektrochemické interakce mezi uhlíkovým vláknem a elektrolytem, a mezi vláknem a elektroaktivní látkou, např. kyslíkem rozpuštěným v roztoku elektrolytu.

Peroxodisíran amonný lze ovšem použít v kombinaci se silnou kyselinou, např. kyselinou sírovou. Oxidace vláken v roztoku těchto látek způsobuje zvětšení povrchu a generování větších proudů. Nejlepší možností je pak kombinovat tuto oxidaci se žiháním [22].

2.3.3 Elektrochemická aktivace

Tato metoda předúpravy spočívá ve využití elektrického signálu (napětí nebo proudu) přivedeného na elektrodu, která je ponořena do roztoku kyseliny, pufru, apod. Dochází přitom k vyčištění povrchu za vzniku vrstvy oxidů, při vysokých potenciálech může docházet také k narušování struktury vlákna [24]. Nejčastěji se aktivace provádí anodickou polarizací při různém rozsahu potenciálů. Velmi důležitá je také volba prostředí – složení a pH roztoku – které se volí v závislosti na zamýšleném použití elektrod [7].

Gonon a spol. [25] popisují dvou krokovou elektroaktivaci elektrod z uhlíkových vláken ve směsném roztoku KCl, NaCl a MgCl₂ ve fosfátovém pufru. V prvním kroku byla elektroda polarizována cyklením v daném roztoku při potenciálech 0 až +3 V, frekvencí 70 Hz, po dobu 20 sekund. V druhém kroku byla elektroda polarizována při konstantním potenciálu +1,5 V proti referentní elektrodě (Ag/AgCl) po dobu 20 sekund. Tyto elektrody pak byly využity pro měření kyseliny askorbové a dopaminu diferenční pulzní voltametrií. Neupravenou elektrodou byl ve smíšeném roztoku dopaminu a kyseliny askorbové naměřen jeden pík, protože samotné látky měly pík při +550 mV (dopamin) a +600 mV (kyselina askorbová). Stanovení těchto dvou látek vedle sebe je proto obtížné. Po elektrochemické aktivaci došlo k posunu píků obou látek do negativnější oblasti potenciálu. Kyselina askorbová měla naměřené maximum při -80 mV a dopamin při +70 mV, což umožnilo separaci těchto dvou píků a stanovení obou látek vedle sebe.

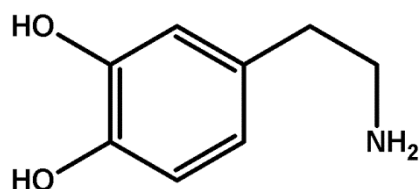
2.3.4 Laserová ablace

Další z možností předúpravy uhlíkových vláken je použití laserové ablace, kdy dochází k odstranění nečistot z povrchu vlákna, případně k narušení jeho struktury a zvětšení povrchu. U této metody jsou výsledný povrch elektrody a jí generované proudy závislé na výkonu laseru. Například při použití 30 wattového laseru je optimální použití 80 % výkonu, protože při 100 % je již narušení struktury příliš destruktivní a dochází ke zmenšení povrchu elektrody [26].

2.4 Studovaná látka

2.4.1 Dopamin

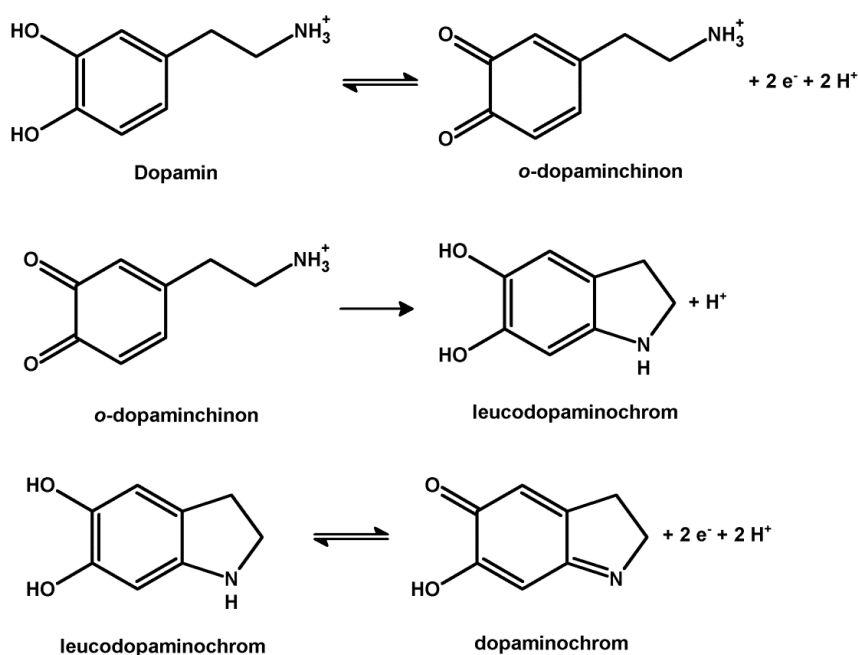
Systematicky 4-(2-aminoethyl)benzen-1,2-diol, je jeden z hlavních neurotransmiterů vznikajících v mozku, který patří do skupiny katecholaminů. Dopamin (Obr. 2) je součástí čtyř důležitých mozkových cest a je mimo jiné důležitý pro správné fungování motoriky, zprostředkovává emocionální a kognitivní chování, přičemž nedostatečná produkce dopaminu souvisí s Parkinsonovou chorobou, schizofrenií, může za poruchy nálad a další duševní poruchy [27].



Obr. 2 – Dopamin

Dopamin, jakožto neurotransmitter podílející se na mnoha funkcích mozku, je předmětem důkladného studia. Zásadní je jeho sledování v reálném čase přímo v organismu, k čemuž je vhodné využití elektrochemických metod [28]. Elektrochemické stanovení dopaminu je možné díky jeho snadné oxidaci, přičemž vznikající produkty jsou závislé na pH. Na Obr. 3 lze vidět schéma oxidace dopaminu. Vznikající *o*-dopaminchinon je stabilní pouze při pH nižším než 2, při vyšším pH dochází k zacyklení a vzniká leucodopaminochrom. Ten se snadno oxiduje na finální formu – dopaminochrom [29].

Ke sledování dopaminu lze využít např. cyklickou voltametrii nebo chronoamperometrii, které poskytují velmi rychlou detekci (v řádu milisekund). K těmto metodám, zejména k cyklické voltametrii, je vhodné využít elektrody z uhlíkových vláken, protože díky jejich malým rozměrům a netoxickým vlastnostem je lze použít přímo v organismu. Citlivost těchto elektrod při měření dopaminu je však omezená, ovšem lze ji zvýšit např. pokrytím uhlíkových vláken poly(3,4-ethylendioxythiofen)/grafen oxidem [28].



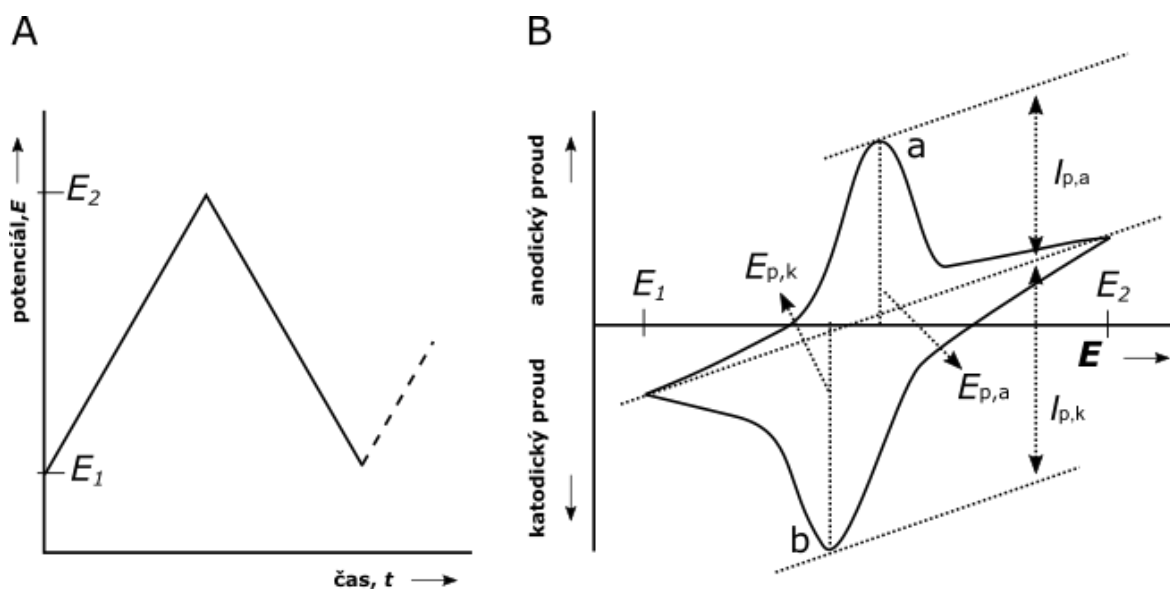
Obr. 3 – Schéma postupné oxidace dopaminu [29]

Dopamin je také studován v souvislosti s jeho interakcemi s lipidovými dvojvrstvami, což slouží k lepšímu pochopení přenosu vzruchů dopaminem v mozku. Bylo dokázáno, že dopamin, který se v organismu při normálním pH 7,4 vyskytuje ve formě kationtu, reaguje se záporně nabitými lipidovými membránami. Takovéto membrány se vyskytují na mozkových neuronech a možný metabolismus dopaminu interagujícího s neuronovou membránou může mít vliv na vznik neurologických poruch [30].

2.5 Použité elektrochemické metody

2.5.1 Cyklická voltametrie

Tato metoda je vhodná ke studiu elektrochemických reakcí látek. Principem je vkládání potenciálu trojúhelníkového průběhu (Obr. 4A) na stacionární elektrodu v nemíchaném roztoku. Potenciál se od počátečního potenciálu E_1 lineárně mění až do tzv. přepínacího potenciálu E_2 , a poté zpět na počáteční potenciál. Získané křivky mají tvar píků, které odpovídají oxidaci či redukci elektroaktivní látky v roztoku (Obr. 4B). Velikost proudu píku závisí na rychlosti změny potenciálu (rychlost polarizace). Je-li polarizace dostatečně rychlá, produkty elektrodové reakce nestačí oddifundovat od elektrody a za vhodných podmínek je lze detekovat při opačném směru změny potenciálu [8].



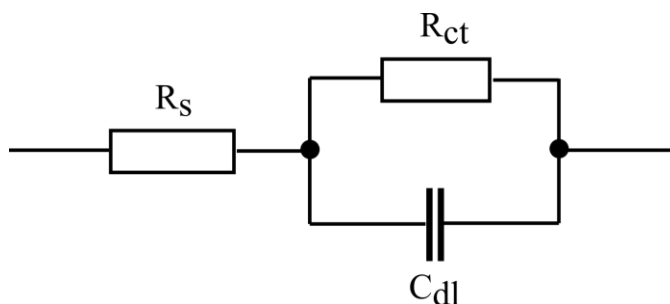
Obr. 4 – Cyklická voltametrie. A) Potenciálový program: E_1 - počáteční potenciál, E_2 - přepínací potenciál. B) Cyklický voltamogram – pík *a* odpovídá oxidaci elektroaktivní látky, pík *b* odpovídá redukci vzniklé látky, $E_{p,a/k}$ - potenciál anodického/katodického píku. $I_{p,a/k}$ - proud anodického/katodického píku [8]

2.5.2 Elektrochemická impedanční spektroskopie

EIS je metoda, kdy je na elektrodu vkládán konstantní potenciál se superponovaným střídavým napětím s měnící se frekvencí (používají se frekvence od 1 MHz do 0,1 mHz) a je měřena střídavá složka proudové odezvy. Podle Ohmova zákona je tímto způsobem měřen odpor systému, který je frekvenčně závislý a označuje se jako impedance, která má dvě složky – reálnou a imaginární, přičemž reálná složka je frekvenčně nezávislá, imaginární složka je frekvenčně závislá [31].

Velikost impedance při elektrochemické reakci je dána nejen elektrodou, ale také procesy, které se v měřící cele odehrávají. Při průchodu elektrického proudu článkem dochází k polarizačním jevům, které průchod omezují. Tyto jevy jsou dány procesy, které probíhají mezi elektrodou a roztokem. Jsou to např. transport látek z roztoku k elektrodě a naopak, přenos náboje, odpor v roztoku elektrolytu. Příspěvky jednotlivých jevů lze popsat určitými elektrickými veličinami (odpor, kapacita, indukce, apod.) a jejich vzájemnou kombinací. To umožňuje sestavit náhradní elektrický (tzv. ekvivalentní) obvod, který obsahuje prvky podobné reálným elektrotechnickým prvkům, jako jsou rezistor, kapacitor a induktor, ale i čistě elektrochemické prvky, jako jsou Warburgova a Gerisherova impedance [8,31]. Nejjednodušší je Randlesův ekvivalentní obvod, Obr. 5 [8].

Experimentálně změřená impedanční data (impedanční spektra) se zobrazují nejčastěji Nyquistovým diagramem, což je graf závislosti imaginární složky impedance na reálné složce při různých frekvencích. Nyquistův diagram dovoluje navrhnout vhodný ekvivalentní obvod a následně aproximovat experimentální data vhodnou funkcí popisující navržený náhradní obvod. Tento postup vyhodnocení impedančních spekter umožňuje interpretovat jednotlivé části zkoumaného elektrochemického článku či poločlánku (tj. elektrody a okolního prostředí) a kvantifikovat jejich elektrické vlastnosti [31].



Obr. 5 – Schématické znázornění Randlesova ekvivalentního obvodu, R_s - odpor roztoku, R_{ct} - odpor k přenosu náboje, C_{dl} - kapacita elektrické dvojvrstvy [31]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

Jako studovaná látka byl využíván dopamin hydrochlorid p.a. (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo).

Pro přípravu elektrod z uhlíkových vláken byla využívána vlákna z grafitové tkaniny KTC-03 (Karbotechnik spol. s.r.o., Plzeň, Česká republika), epoxidové lepidlo Epoxiceys (AC Marca Czech Republic s.r.o., Český Brod, Česká republika), tmel Lukopren[®] N1522 (Lučební závody Kolín, Kolín, Česká republika).

Pro experimentální měření ve dvoukomorové cele byly využívány agar bakteriologické čistoty (Acros Organics, Geel, Belgie), asolectin ze sojových bobů s obsahem fosfatidylcholinu $\approx 25\%$. (Fluka, Buchs, Švýcarsko).

Další používané chemikálie – peroxidisíran amonný p.a., ferrokyanid draselný p.a., ferrikyanid draselný p.a., chlorid draselný p.a. (vše Lachema, Brno, Česká republika), kyselina sírová 96% p.a., kyselina orthofosforečná 85% p.a., kyselina chlorovodíková 35% p.a., methylalkohol p.a. (vše Penta, Praha, Česka republika), aceton p.a., hexan p.a., chlorid sodný p.a. (vše Lach-Ner, Neratovice, Česká republika).

3.2 Příprava roztoků

Roztok dopaminu o koncentraci 1 mmol l^{-1} byl připraven rozpuštěním odpovídajícího množství dopaminu v deionizované vodě (Millipore, $18,2 \text{ M}\Omega$).

Fosfátový pufr o pH 6,5 byl připraven z kyseliny fosforečné o koncentraci $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ úpravou pH pomocí 50% roztoku hydroxidu sodného.

Agarový elektrolyt byl připraven rozpuštěním 0,5 g agaru v 10 ml nasyceného roztoku chloridu draselného a následným zahříváním k varu za stálého míchání.

Roztok asolectinu o koncentraci 20 mg ml^{-1} byl připraven rozpuštěním vhodného množství asolectinu v hexanu.

Ostatní roztoky byly připraveny rozpuštěním vypočítaného množství látky v destilované vodě.

3.3 Používané přístroje

Pro elektrochemická měření byl využíván potenciostat/galvanostat Autolab PGSTAT128N (Metrohm Autolab, Utrecht, Nizozemsko) řízený softwarem Nova 1.11 (Metrohm Autolab, Utrecht, Nizozemsko).

Dále byla využívána muflová pec LE 15/11 (LAC, Hrušovany u Brna, Česká republika), laserový ablační systém Analyte G2 (Teledyne Photon Machines, Omaha, Nebraska, Spojené Státy Americké) s argonfluoridovým excimerovým laserem ($\lambda = 193 \text{ nm}$) a délkou pulsu $< 4 \text{ ns}$, pH metr inoLab 720 s elektrodou SenTix 41 (WTW, Weilheim, Německo), ultrazvuková čistička Sonorex Digitec (Bandelin, Berlín, Německo), magnetická míchačka s ohřevem MR Hei-Standard (Heidolph, Schwabach, Německo), analytické váhy ABS 220-4 (KERN, Balingen, Německo).

3.4 Pracovní postupy

3.4.1 Výroba elektrod z uhlíkových vláken

Elektrody (štetíčkové elektrody z uhlíkových vláken, CFBE z anglického Carbon Fibre Brush Electrode, Obr. 6) byly připraveny navázáním zvoleného počtu svazků uhlíkových vláken (1–6 svazků) na měděný drátek – elektrický kontakt, který byl poté vtažen do skleněné kapiláry (Open Capillary Tubes Stuart[®], Cole-Parmer, Stone, Staffordshire, Spojené království). Délka uhlíkových vláken v kapiláře byla 3 cm, vně kapiláry v rozmezí 0,8–1,5 cm. Elektrody byly poté fixovány v kapiláře a utěsněny epoxidem nebo tmelem, aby nedocházelo ke vzlínání měřených roztoků po uhlíkových vláknech dovnitř kapiláry a aby bylo zabráněno naleptávání měděného drátku některými používanými chemikáliemi.

Při lepení epoxidem bylo malé množství epoxidu nanášeno na krátký úsek svazku uhlíkových vláken u ústí kapiláry a tato část svazku byla poté vtažena do kapiláry, aby došlo k jejímu utěsnění. Kapka epoxidu pak byla nanášena k ústí kapiláry z vnějšku pro dokonalejší utěsnění vláken.

Při lepení tmelem Lukopren[®] byla kapilára vyplněna tmelem pomocí injekční stříkačky.



Obr. 6 - Elektrody z uhlíkových vláken. Zleva doprava – elektroda nelepená, elektroda utěsněná epoxidem, tmelená elektroda

3.4.2 Předúprava elektrod

Pro zvýšení povrchu elektrod byly využívány tyto metody:

a) Oxidace v roztoku kyseliny sírové a peroxodisíranu amonného:

Byl připraven roztok peroxodisíranu amonného o koncentraci 200 g l^{-1} a koncentrované kyseliny sírové v poměru 9:1. Do tohoto roztoku byla elektroda ponořena na 15 minut.

b) Žihání:

Samotná uhlíková vlákna ve svazcích byla před výrobou elektrody žihána v muflové peci po dobu 30 minut. Teplota žihání byla $500 \text{ }^\circ\text{C}$, pro některé experimenty v rozmezí $200\text{--}500 \text{ }^\circ\text{C}$.

c) Kombinace oxidace a žhání:

Elektroda byla vyrobena z neupravených uhlíkových vláken, poté byla oxidována za podmínek uvedených v bodě a) a následně žhána 30 minut v muflové peci při teplotě 450 °C.

d) Laserová ablace:

Elektrody byly vyrobeny z nevyžháných vláken a byly upraveny laserovou ablací s těmito parametry laseru:

- Výkon laseru: 10 %
- Intenzita: 1,06 J cm⁻²
- Opakovací frekvence: 20
- Velikost bodu: 110 μm kruh
- Rychlost skenování: 150 μm s⁻¹
- Mezera: 120 μm

3.4.3 Elektrochemická aktivace:

Elektroda byla ponořena do roztoku kyseliny sírové o koncentraci 0,1 mol l⁻¹ a připojena k potenciostatu jako pracovní elektroda v tříelektrodovém zapojení s referentní argentchloridovou elektrodou Ag|AgCl|3M-KCl a pomocnou platinovou elektrodou. Poté byla provedena cyklická voltametrie v rozsahu potenciálů -1,0 V až +1,5 V, s rychlostí scanu 0,5 V s⁻¹ a to v 50 opakovaných cyklech.

3.4.4 Čištění elektrod

Před vlastním experimentem byla vždy každá elektroda čištěna 15 minutovou sonifikací postupně ve čtyřech rozpouštědlech: aceton, hexan, methanol, destilovaná voda.

3.4.5 Příprava měrné cely

Do dna vialky (Obr. 7) byl vyvrtán otvor, kterým byla vsunuta kapilára sloužící jako prostor pro referentní elektrodu. Zboku vialky byly vyvrtány dva otvory sloužící pro vložení měrných a pomocných elektrod. Dvě tyto vialky pak spojením tvořily dvoukomorovou měrnou celu (Obr. 8). Jednotlivé komory od sebe byly odděleny polykarbonátovou (PC) pórovitou membránou Nuclepore Track-Etched Membranes o průměru 25 mm a velikostí pórů 50 nm (Whatman, New Jersey, USA).



Obr. 7 - Upravená vialka tvořící jednu z komor měrné cely

Pro tvorbu referentní elektrody byla skleněná kapilára uvnitř vialky naplněna připraveným agarovým elektrolytem, do kterého byl poté zasunut stříbrný drátek. Ten byl předem upraven cyklením a polarizací v kyselině chlorovodíkové o koncentraci 1 mol l^{-1} . Bylo provedeno 10 cyklů s rychlostí scanu 10 mV s^{-1} v rozmezí potenciálů $-0,34 \text{ V}$ až $+0,26 \text{ V}$, v tříelektrodevém zapojení s referentní kalomelovou elektrodou a pomocnou platinovou elektrodou. Následně byla provedena polarizace stříbrného drátku po dobu 120 sekund při $-0,14 \text{ V}$ a 600 sekund při $+0,06 \text{ V}$.



Obr. 8 – Dvoukomorová měrná cela složená ze dvou vialek. Uvnitř každé vialky se nachází kapilára s referentní argentchloridovou elektrodou

3.4.6 Pokrývání PC membrány vrstvou fosfolipidu

Na čistou polykarbonátovou membránu bylo nanášeno 25 μl roztoku asolectinu v hexanu, po odpaření hexanu bylo znovu nanášeno 25 μl asolectinu v hexanu. Nanášení bylo provedeno celkem 5 \times . Po posledním nanášení a odpaření byla s membránou sestavena měřicí cela a obě komory byly naplněny roztokem chloridu sodného o koncentraci 9 g l^{-1} na 30 minut, kvůli zformování a stabilizaci fosfolipidové dvojvrstvy.

3.5 Elektrochemická měření

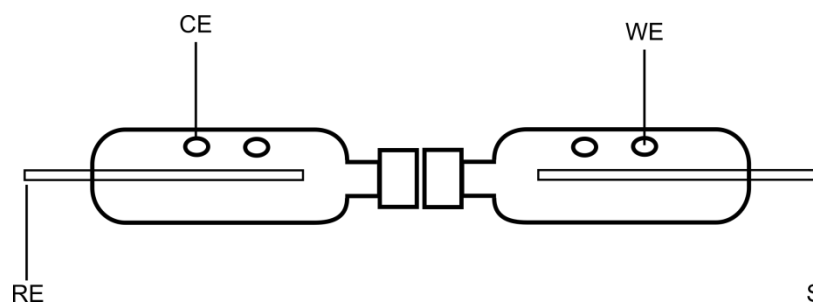
Všechna měření byla prováděna na přístroji Autolab PGSTAT128N v tříelektrodovém zapojení, pokud není uvedeno jinak. Pracovní elektrodou byla CFBE, jako referentní elektroda byla použita argentchloridová elektroda Ag|AgCl|1M-KCl , jako pomocná elektroda byla použita platinová elektroda.

3.5.1 Cyklická voltametrie

Měření cyklickou voltametrií bylo používáno pro zjištění velikosti elektroaktivní plochy elektrod. Pro měření byl využíván směsný roztok ferrokyanidu draselného o koncentraci 5 mmol l^{-1} a ferrikyanidu draselného o koncentraci 5 mmol l^{-1} v chloridu draselném o koncentraci 1 mol l^{-1} . Počáteční potenciál měření byl 0 V, potenciálový rozsah byl -0,3 V až +0,7 V. Rychlost skenu se postupně snižovala z 30 mV s^{-1} po 5 mV s^{-1} až do 5 mV s^{-1} . Při každé rychlosti byly zaznamenány vždy 2 cykly.

3.5.2 Testování pokrytí PC membrány fosfolipidy pomocí EIS

Impedance polykarbonátové membrány pokryté vrstvou fosfolipidů umístěné ve dvoukomorové cele, byla měřena metodou EIS ve čtyřelektrodovém zapojení (Obr. 9). V levé komoře byla argentchloridová elektroda zapojena jako referentní elektroda, současně zde byl platinový drátek ponořený v roztoku zapojený jako pomocná elektroda. V pravé komoře byla argentchloridová elektroda zapojena jako senzor a platinový drátek ponořený v roztoku sloužil jako pracovní elektroda. Jako elektrolyt sloužil roztok chloridu sodného o koncentraci 9 g l^{-1} nacházející se v obou komorách.



Obr. 9 – Čtyřelektrodové zapojení při měření impedance ve dvoukomorové cely.
RE - referentní elektroda, CE - pomocná elektroda, WE - pracovní elektroda, S - senzor

Parametry měření: počáteční potenciál 0 V, rozsah 60 frekvencí mezi 500 kHz až 1 Hz, s amplitudou 10 mV.

3.5.3 Amperometrické sledování průchodu dopaminu přes PC membránu

Měření bylo situováno v levé komoře dvoukomorové cely. Jako pracovní elektroda byla použita CFBE z jednoho svazku vláken, jako referentní posloužila argentchloridová elektroda umístěná v kapiláře uvnitř komory, jako pomocná elektroda byl využit platinový drátek. Jako elektrolyt byl použit fosfátový pufr o pH 6,5, kterým byla naplněná levá komora s elektrodami. Pravá komora byla naplněna roztokem dopaminu o koncentraci 1 mmol l^{-1} ve fosfátovém pufru. Komory byly odděleny polykarbonátovou membránou buď čistou, nebo pokrytou vrstvou fosfolipidů.

Na začátku a na konci experimentu byly změřeny cyklické voltamogramy při počátečním potenciálu -0,4 V, v rozsahu potenciálů -0,5 V až +0,6 V (případně -0,65 V až +1 V), s rychlostí scanu 20 mV s^{-1} .

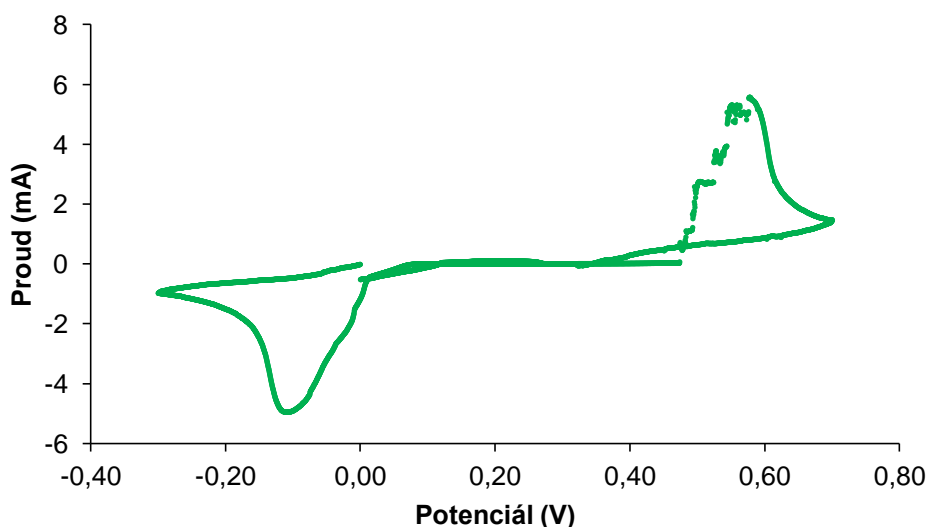
Při amperometrickém měření byl proud zaznamenáván za konstantního potenciálu +0,3 V každých 5 minut.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Konstrukce elektrod

Jedním z cílů práce bylo zjistit, která metoda konstrukce elektrod je nejvhodnější k tomu, aby byla získána dostatečná proudová odezva a aby bylo možné používat elektrodu opakovaně. Prvním krokem bylo vybrat vhodný počet svazků uhlíkových vláken na výrobu elektrody. Jako optimální byly nakonec vybrány dva svazky, ačkoli podle potřeby lze použít i více svazků v závislosti na vnitřním průměru skleněné kapiláry, která slouží jako elektrodové pouzdro, maximálně však šest. Již při použití šesti svazků vláken totiž dochází při vtahování do kapiláry o vnitřním průměru 1,3 mm k mechanickému poškození vláken. Pokud je naopak elektroda vyráběna z jednoho svazku vláken, je nutno použít užší kapiláru, aby se zabránilo volnému pohybu vláken.

První používané elektrody byly tvořeny pouze z kapiláry, drátku a vláken, nebyly zalepeny. Objevil se však problém s opakovatelným použitím elektrod. Při měření mohlo docházet ke vzlínání roztoku po vláknech (častěji docházelo ke vzlínání vody při čištění elektrody v ultrazvuku), který se dostal až k měděnému drátku a způsoboval jeho naleptávání a anodickou oxidaci při voltametrických experimentech. Elektrody pak začaly vykazovat špatný a nestabilní signál (Obr. 10). Proto byly vyzkoušeny dvě metody utěsnění elektrod.



Obr. 10 - Příklad špatného signálu při měření cyklického voltamogramu roztoku ferrokyanidu draselného + ferrikyanidu draselného (5 mmol l^{-1}) v KCl (1 mol l^{-1})

4.1.1 Elektrody lepené epoxidem

Tyto elektrody vykazovaly stejné chování jako elektrody nelepené (proudová odezva, opakovaná použitelnost elektrod). Při dlouhodobém sledování bylo potvrzeno utěsnění kapiláry a měřené roztoky se již nedostávaly k drátku. Stejně tak nedocházelo k rozpouštění epoxidu při čištění elektrod v acetonu, hexanu a methanolu. Epoxid se tak ukázal jako vhodný způsob utěsnění elektrody.

4.1.2 Elektrody tmelené

Tmelené elektrody prokazovaly stejné chování jako nelepené i epoxidované elektrody. Problém nastal, pokud tmel u ústí kapiláry nedosahoval konce kapiláry. V kapiláře tak vznikl malý prostor, ve kterém následně mohla vzniknout vzduchová bublina, která působila jako izolant a měření bylo znemožněno. Tento problém je možné eliminovat opatrnou manipulací s elektrodou při ponoření do roztoku tak, aby nedošlo k uzavření vzduchu v daném prostoru.

4.2 Předúprava elektrod

Bylo vyzkoušeno několik způsobů předúpravy elektrod, aby bylo dosaženo zvětšení elektroaktivního povrchu elektrody, a tedy vyšší proudové odezvy při oxidaci/redukci elektroaktivních látek. Nejprve byly vyzkoušeny chemická oxidace, žihání a jejich kombinace, vycházející z literatury [22]. Poté byla zkoušena laserová ablace.

Předúprava pomocí elektrochemické aktivace je běžně využívanou metodou k odstranění nečistot z povrchu elektrody a zvýšení proudové odezvy, kterou lze využívat opakovaně, např. vždy před samotným experimentálním měřením. Vzhledem k tomu, že se jedná o často používanou a osvědčenou metodu, nebylo nutné provádět samotné experimentální testování tohoto způsobu předúpravy.

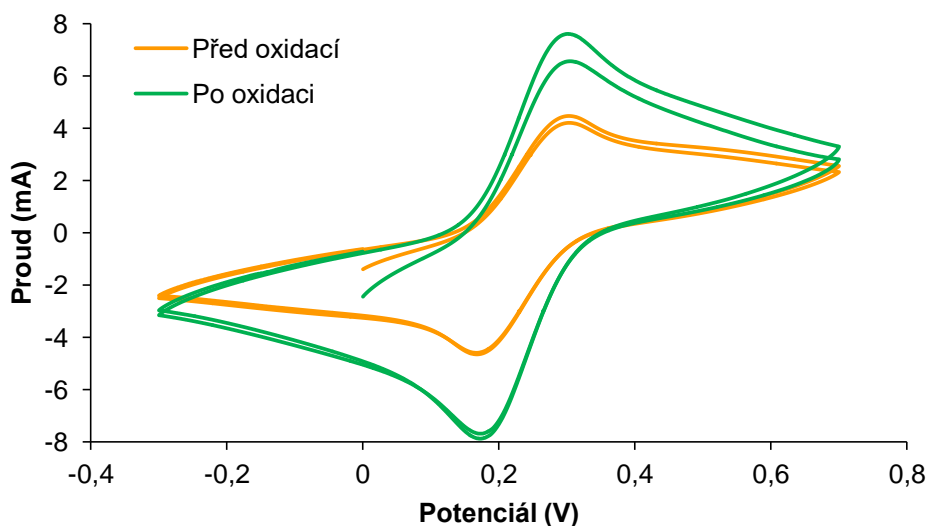
Pro první tři zmíněné způsoby předúpravy byly využity elektrody neutěsněné, pro laserovou ablaci již byly využity tmelené elektrody.

Velikost povrchu elektrod byla vypočítána z proudu píků získaných cyklickou voltametrií v roztoku $K_3[Fe(CN)_6] / K_4[Fe(CN)_6]$ ($c = 5 \text{ mmol l}^{-1}$) v KCl (1 mol l^{-1}), pomocí Randles-Ševčíkovy rovnice (1), kde I_p je proud píku v ampérech, n je počet vyměňovaných elektronů, A je plocha elektrody v cm^2 , D je difúzní koeficient (pro daný systém je $D_{ox} = 7,17 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, $D_{red} = 6,56 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), c je koncentrace sledované látky v mol cm^{-3} , v je rychlost scanu ve V s^{-1} .

$$I_p = 268468 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot c \cdot v^{1/2} \quad (1)$$

4.2.1 Oxidace v kyselině sírové a peroxodisíranu amonném

Plocha elektrody využitá pro testování této metody byla před úpravou $7,83 \text{ cm}^2$. Po oxidaci se plocha zvýšila na $12,16 \text{ cm}^2$, což představuje nárůst o 55 %. Zvýšení proudové odezvy lze vidět na Obr. 11, ze kterého je patrné, že poloha píků zůstala stejná. Vzdálenost maxima píku oxidace ferrokyanidu draselného (potenciál $+0,303 \text{ V}$) od maxima píku redukce ferrikyanidu draselného (potenciál $+0,175 \text{ V}$) je $0,128 \text{ V}$, a to jak u elektrody před úpravou, tak po úpravě.

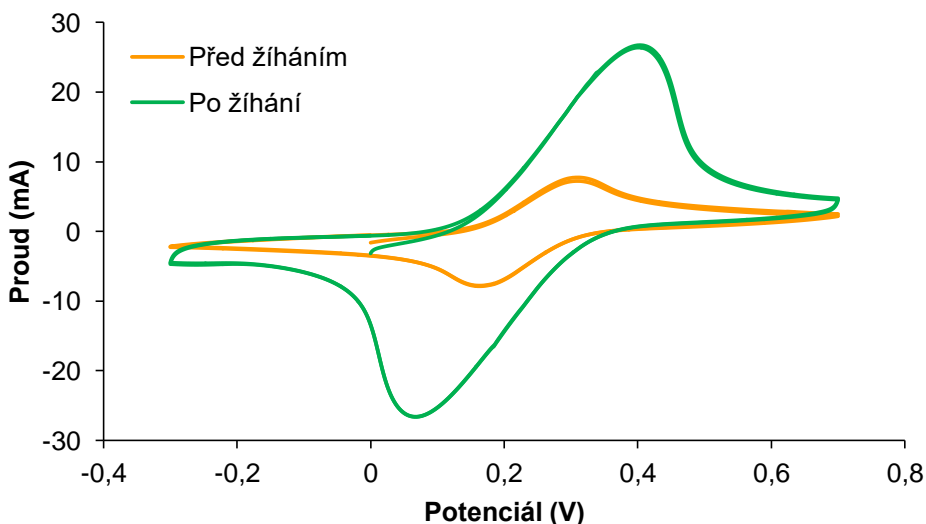


Obr. 11 - Cyklické voltamogramy před a po oxidaci elektrody v kyselině sírové a peroxodisíranu amonném. Pro ukázkou byly vybrány voltamogramy pořízené při nejvyšší rychlosti scanu, tj. 30 mV s^{-1}

4.2.2 Žihání elektrody při teplotě 450 °C

Při tomto experimentu byla neutěsněná elektroda vyrobena z nevyžíhaných vláken a žihání bylo provedeno až s hotovou elektrodou. Postup popisovaný v kapitole 3.4.2 b) byl využit až pro další experimenty.

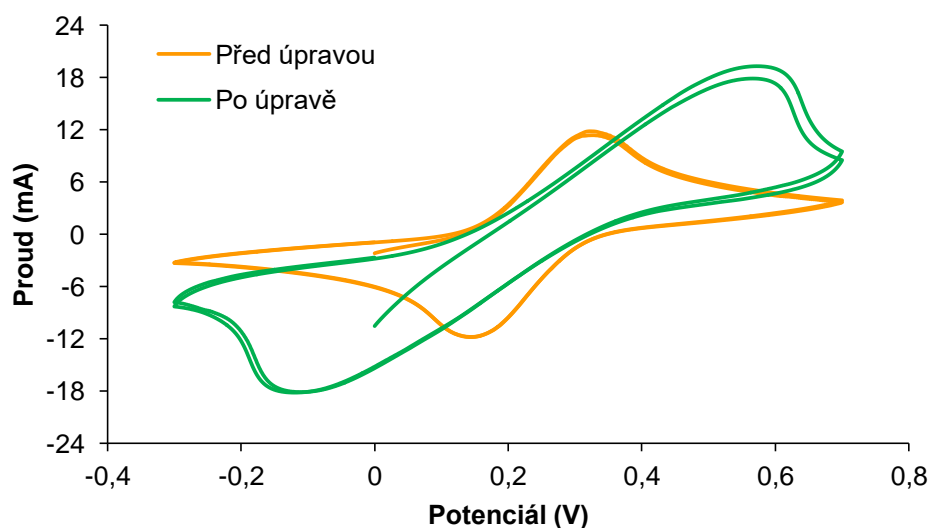
Využitím této metody předúpravy došlo k nárůstu plochy elektrody o 259 % ze 14,17 cm² na 50,84 cm². Došlo však k posunu maxim píků (rozdíl maxim oxidace a redukce je 0,15 V před žiháním a 0,33 V po žihání), jak je vidět na Obr. 12, což souvisí se zhoršením přenosu elektronů při vyšších rychlostech scanu. Takovéto zpomalení přenosu elektronů (zhoršení reverzibility elektrodové reakce) bylo popsáno při zvětšení povrchu pracovních elektrod a s tím spojeným větším ohmickým úbytkem napětí [1]. Elektroda upravená tímto způsobem se chová jako makroelektroda, jejíž velký povrch je výhodný pro použití např. v coulometrii a dalších elektrochemických technikách založených na kvantitativní přeměně analytu. Samotné zvětšení povrchu nemusí souviset pouze se zvětšením pórovitosti vláken, ale vlivem vysoké teploty mohly být odstraněny nečistoty z povrchu vláken.



Obr. 12 - Cyklické voltamogramy před a po žihání elektrody. Pro ukázkou byly vybrány voltamogramy pořízené při nejvyšší rychlosti scanu, tj. 30 mV s⁻¹

4.2.3 Kombinace oxidace a žihání elektrody

Při této metodě došlo k nárůstu plochy z 21,95 cm² na 31,08 cm², což představuje zvětšení pouze necelých 42 %. Jak lze vidět z cyklického voltamogramu (Obr. 13), došlo po provedení předúpravy k velkému zhoršení reverzibility přenosu elektronů. Po prozkoumání elektrody bylo zjištěno, že předúprava způsobila nevratné poškození elektrody, kdy se uhlíková vlákna začala trhat a odpadávat.



Obr. 13 - Cyklické voltamogramy před a po kombinované předúpravě elektrody. Pro ukázkou byly vybrány voltamogramy pořízené při nejvyšší rychlosti scanu, tj. 30 mV s⁻¹

V Tab. II jsou uvedeny jednotlivé metody a jimi dosažené zvětšení plochy elektrody. Jak lze vidět, nejlepší výsledky byly dosaženy žiháním. Proto bylo žihání vybráno jako základní forma předúpravy pro další experimenty.

Tab. II - Zjištěný nárůst plochy jednotlivých elektrod podle využití metody předúpravy

Předúprava	Plocha před úpravou (cm ²)	Plocha po úpravě (cm ²)	Nárůst plochy (%)
Oxidace	7,84	12,16	55
Žihání	14,17	50,84	259
Oxidace + Žihání	21,95	31,08	42

4.2.4 Výběr vhodné teploty pro žihání uhlíkových vláken

V dalších experimentech byla testována reprodukovatelnost výsledků získaných při prvním experimentálním měření, společně s teplotní závislostí zvětšení povrchu elektrod. Bylo připraveno 12 elektrod, které byly zalepeny epoxidem a poté byly žihány vždy 3 při stejné teplotě, přičemž teploty byly v rozsahu 200–500 °C.

Tab. III - Experimentálně zjištěné plochy elektrod před a po úpravě žiháním při různých teplotách

Teplota žihání (°C)	Elektroda	Plocha před žiháním (cm ²)	Plocha po žihání (cm ²)	Nárůst (%)
200	1	5,63	15,79	170
	2	5,66	12,28	110
	3	2,98	4,38	47
300	4	1,87	8,86	409
	5	-	-	-
	6	2,56	8,71	199
400	7	7,31	20,95	181
	8	7,89	8,94	22
	9	4,33	9,04	88
500	10	8,57	8,67	9
	11	7,04	14,16	105
	12	4,22	13,10	314

Na základě dat uvedených v Tab. III bylo zjištěno, že nárůst plochy nezávisí na teplotě, ale je ovlivněn více faktory. Některá vlákna mohla být znečištěna, v peci mohlo docházet k oxidacím a vzniklé látky se nepodařilo odstranit. Např. elektroda číslo 5, žihaná při 300 °C, dávala po žihání špatný signál a nebylo možné získat zpracovatelná data. Při bližším prohlédnutí bylo zjištěno, že epoxid byl žárem v peci narušen (jeho teplotní odolnost je 160–180 °C) a při následném čištění elektrody před měřením došlo ke kontaminaci vnitřku kapiláry rozpouštědly a byl poškozen měděný kontakt.

Vzhledem ke skutečnosti, že změna plochy nezávisí na teplotě žihání, byla pro další předúpravu všech elektrod zvolena teplota 500 °C. Pro další experimenty byla také zvolena nová výroba elektrod, kdy byla vlákna žihána před konstrukcí elektrody.

4.2.5 Laserová ablace

Pro testování laserové ablace jako možné metody předúpravy byly vyrobeny tři elektrody z nevyžíhaných vláken určené pro laserovou ablaci a tři elektrody z vláken vyžíhaných při 500 °C jako srovnávací elektrody. Všechny tyto elektrody byly vyrobeny z jednoho svazku vláken a jejich počáteční povrch byl průměrně $1 \text{ cm}^2 \pm 0,1 \text{ cm}^2$. Ablatování laserem pak bylo provedeno po celé ploše elektrody.

Tab. IV - Získané plochy elektrod po provedení laserové ablace nebo žihání uhlíkových vláken při 500 °C

Elektroda	Plocha po laserové ablaci (cm ²)	Plocha po žihání (cm ²)
1	4,17	4,14
2	1,97	2,88
3	4,36	3,56

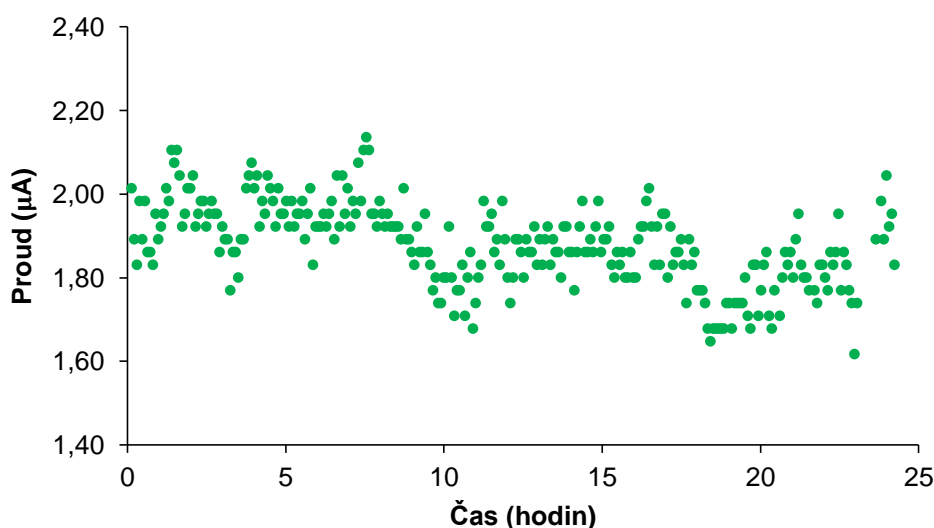
Ze získaných dat (Tab. IV) je zřejmé, že laserová ablace a žihání uhlíkových vláken způsobuje přibližně stejný nárůst plochy. Průměrná plocha všech tří ablatovaných elektrod byla 3,50 cm², žíhaných elektrod pak 3,53 cm². Žihání bylo na základě časové náročnosti (laserová ablace jedné strany elektrody trvá asi 90 minut, žihání pouze 30 minut) a levnější instrumentace vybráno jako vhodnější metoda předúpravy. Nejdůležitější je však množství vyrobených elektrod – jedním laserem dokážeme současně ablatovat vždy jen vlákna jedné elektrody, kdežto v muflové peci je možné žihat i stovky svazků uhlíkových vláken o různé délce současně.

4.3 Amperometrické sledování průchodu dopaminu

V tomto experimentu bylo testováno využití elektrod z uhlíkových vláken (respektive tmelené elektrody z jednoho svazku uhlíkových vláken) pro amperometrické aplikace. Jako modelová látka byl vybrán dopamin, přičemž byla sledována jeho schopnost difundovat z pravé komory měrné cely do levé skrz polykarbonátovou membránu s póry o velikosti 50 nm. Nejprve byla testována difúze přes čistou membránu, poté difúze přes membránu pokrytou vrstvou fosfolipidů, sloužící jako bariéra omezující prostupnost.

4.3.1 Difúze dopaminu přes nepokrytou polykarbonátovou membránu

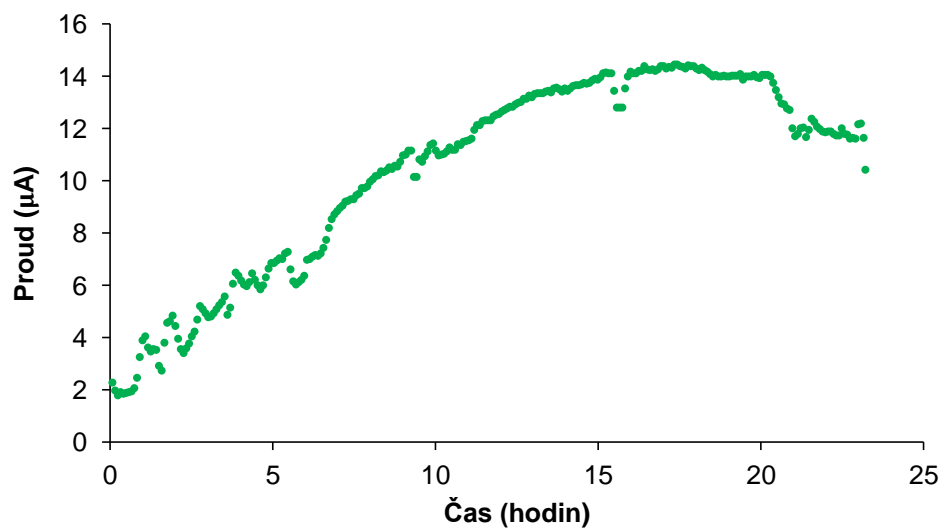
Nejprve bylo nutné ověřit časovou stabilitu amperometrické odezvy v samotném fosfátovém pufru o pH 6,5. K tomu byl využit 24 hodinový experiment, kdy byly obě komory měrné cely naplněny čistým elektrolytem. Z výsledků (Obr. 14) je vidět, že zaznamenané proudové odezvy jsou nízké a pohybují se konstantně kolem $1,9 \mu\text{A}$ s odchylkou maximálně $\pm 0,9 \mu\text{A}$. Bylo tedy potvrzeno, že amperometrický signál v samotném elektrolytu je v průběhu 24 hodin stabilní.



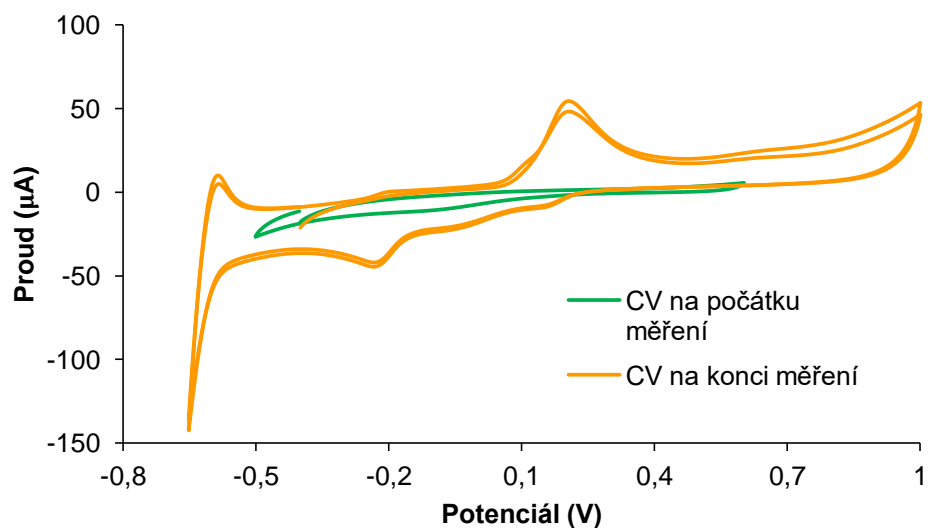
Obr. 14 – Amperometrický záznam sledování čistého elektrolytu (fosfátový pufr pH 6,5) v cele s nepokrytou PC membránou po dobu 24 hodin

Výsledky 24 hodinového sledování dopaminu jsou na Obr. 15. Narůstající proud je důkazem difúze elektroaktivní látky, v tomto případě dopaminu, do prostoru levé komory. Pokles zaznamenaných proudů v čase od cca 20 hodin souvisí s problémem odpařování roztoku z komory. Tento problém je možné částečně eliminovat průběžným doplňováním elektrolytu, ovšem dochází ke snižování koncentrace dopaminu. Při experimentu byly také otvory v jednotlivých vialkách utěsněny parafilmem, k odpařování roztoku však stále docházelo.

Na základě experimentu byla potvrzena difúze dopaminu přes polykarbonátovou membránu, což je dále dokázáno v cyklickém voltamogramu (Obr. 16) zaznamenaném na počátku a na konci měření, kde je vidět nárůst píku oxidace dopaminu (potenciál $+0,2 \text{ V}$).



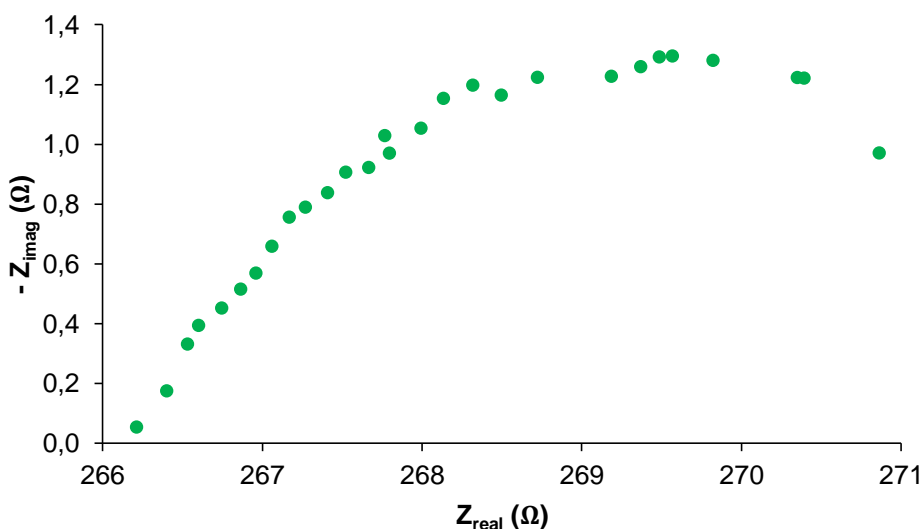
Obr. 15 – Amperometrický záznam sledování difúze dopaminu přes čistou polykarbonátovou membránu po dobu 24 hodin



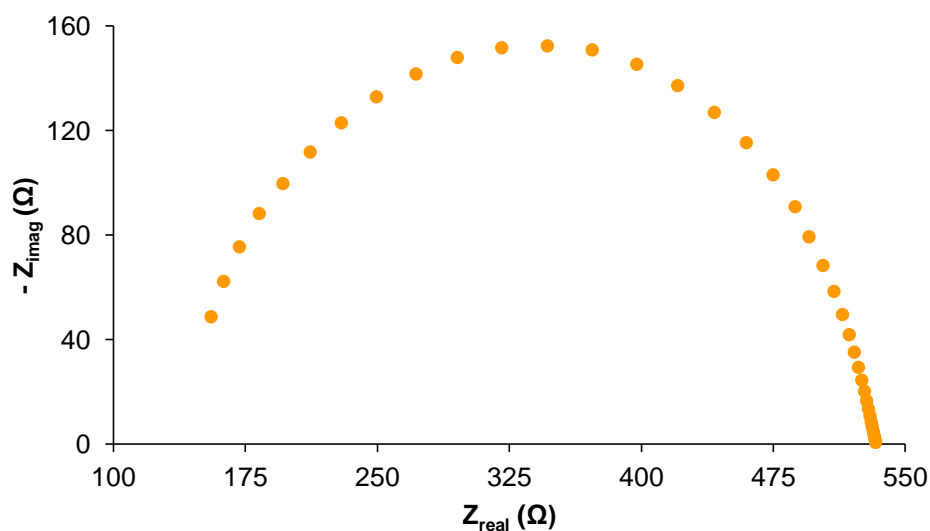
Obr. 16 – Cyklické voltamogramy zaznamenané na počátku a na konci 24 hodinového sledování průchodu dopaminu přes nepokrytou PC membránu

4.3.2 Testování pokrytí PC membrány vrstvou fosfolipidů

Před sledováním průchodu dopaminu přes pokrytou membránu bylo třeba ověřit její pokrytí fosfolipidovou vrstvou. To bylo testováno pomocí EIS ve čtyřelektrodovém zapojení. U nepokryté PC membrány (Obr. 17) jsou roztoky elektrolytu v obou komorách v kontaktu prostřednictvím pórů v membráně a nic nebrání průchodu elektrického proudu. Jelikož jsou hodnoty $Z_{\text{imaginární}}$ blízké 0, není v systému prakticky žádný kondenzátor s dielektrikem. Hodnota $Z_{\text{reálné}}$ odpovídá odporu mezi elektrodami cca 266–271 Ω (odpor elektrolytu + odpor PC membrány). U pokryté PC membrány představuje fosfolipidová vrstva nevodivou izolaci, dochází k omezení průchodu elektrického proudu a zvyšuje se impedance. Celkový systém představuje Randlesův obvod (viz kapitola 2.5.2), který se v Nyquistově grafu projevuje jako polokružnice (Obr. 18).



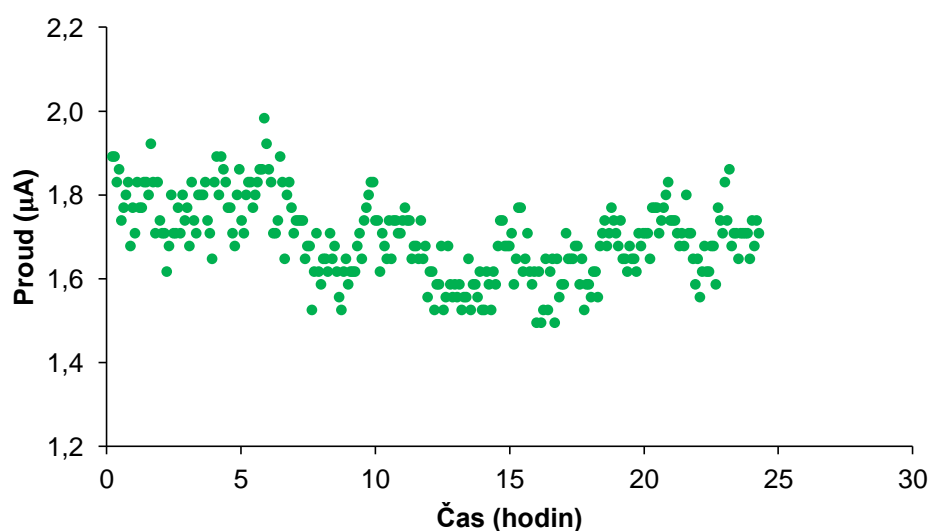
Obr. 17 - Nyquistův graf nepokryté polykarbonátové membrány ve dvoukomorové měrné cele. Měřeno ve čtyřelektrodovém uspořádání



Obr. 18 – Nyquistův graf polykarbonátové membrány pokryté vrstvou fosfolipidů ve dvoukomorové měrné cele. Měřeno ve čtyřelektrodovém zapojení

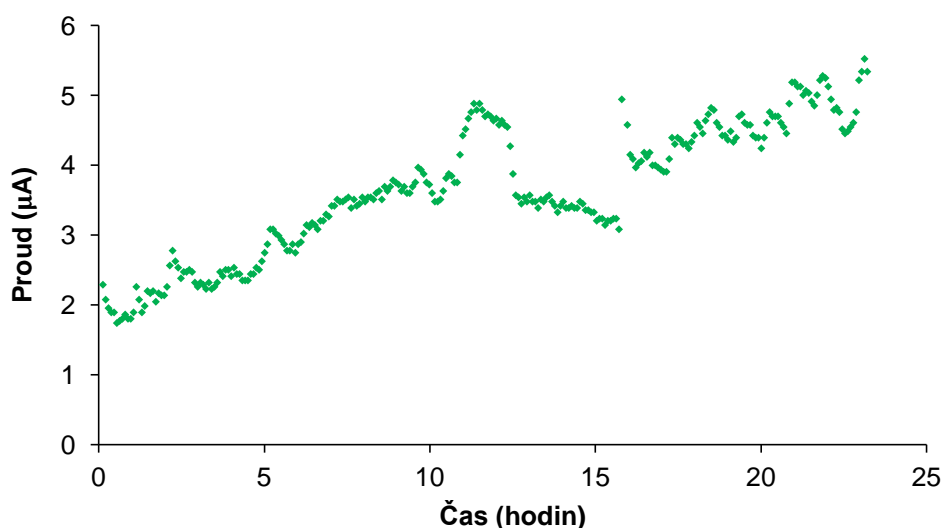
4.3.3 Difúze dopaminu přes pokrytou polykarbonátovou membránu

Stejně jako u sledování difúze dopaminu přes nepokrytou membránu bylo nejprve nutné amperometricky sledovat čistý roztok elektrolytu. Podobně jako při experimentu s nepokrytou membránou se naměřené proudy (Obr. 19) pohybovaly okolo hodnoty $1,7 \mu\text{A} \pm 0,9 \mu\text{A}$ (u nepokryté membrány $1,9 \mu\text{A} \pm 0,9 \mu\text{A}$). Bylo tedy potvrzeno, že fosfolipidová vrstva na polykarbonátové membráně nebude mít vliv na sledování dopaminu a amperometrický signál není přítomností fosfolipidů na membráně ovlivněn.

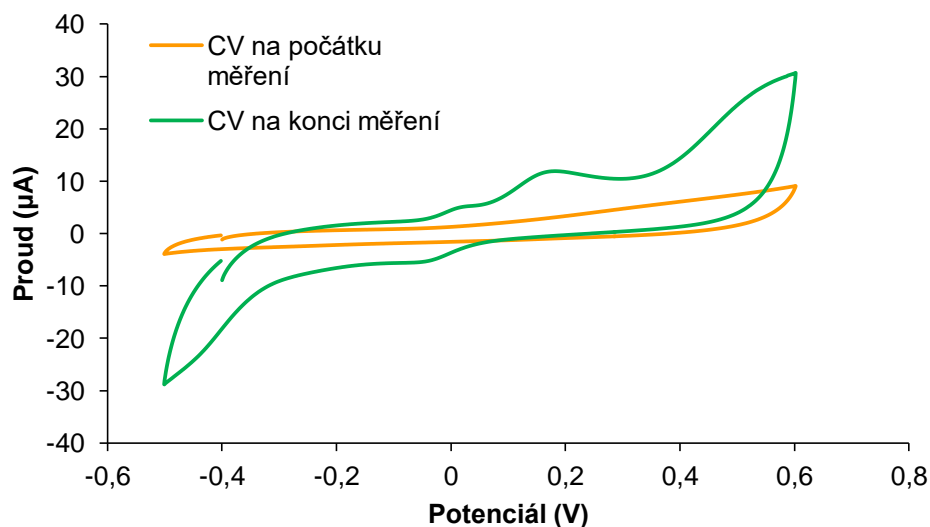


Obr. 19 – Amperometrický záznam sledování čistého elektrolytu (fosfátový pufr pH 6,5) v cele s pokrytou PC membránou po dobu 24 hodin

Z výsledků sledování difúze dopaminu skrz polykarbonátovou membránu pokrytou fosfolipidy (Obr. 20) je zřejmé, že stejně jako u nepokryté membrány dopamin difunduje z jedné komory do druhé. Difúze je možná díky tomu, že aminoskupina dopaminu je při pH 6,5 protonizována a interaguje se záporně nabitou fosfátovou hlavičkou fosfolipidu (fosfolipid jako takový je složen z hydrofobního uhlovodíkového řetězce, který je orientován směrem k PC membráně, a hydrofilní fosfátové hlavičky, která je orientována do roztoku). To umožňuje průchod dopaminu skrz fosfolipidovou vrstvu a PC membránu. Vrstva však stále do jisté míry průchodu brání a difúze není tak rychlá jako u nepokryté membrány, proto je také nárůst proudu nižší. Stejně jako u nepokryté PC membrány byl i zde zaznamenán cyklický voltamogram na počátku měření a na konci (Obr. 21) ve kterém je vidět nárůst píku oxidace dopaminu.

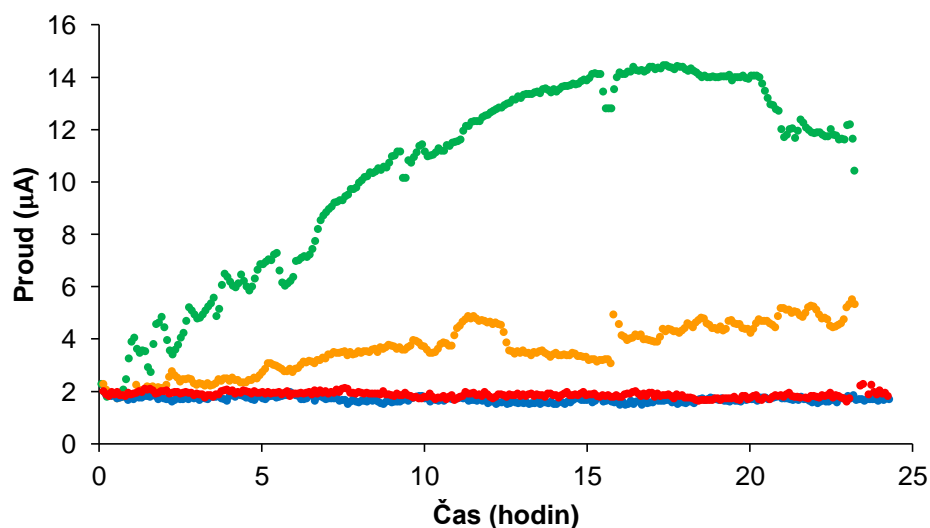


Obr. 20 - Amperometrický záznam sledování difúze dopaminu přes pokrytou polykarbonátovou membránu po dobu 24 hodin



Obr. 21 - Cyklické voltamogramy zaznamenané na počátku a na konci 24 hodinového sledování difúze dopaminu přes polykarbonátovou membránu pokrytou vrstvou fosfolipidů

Na Obr. 22 jsou všechny amperometrické záznamy. Jsou patrné konstantní proudy při měření základního elektrolytu jak u pokryté, tak nepokryté PC membrány. Dále je viditelný rozdíl v rychlosti difúze dopaminu, v závislosti na pokrytí membrány. Pokud je PC membrána nepokrytá, difunduje dopamin rychleji. U pokryté PC membrány je nárůst proudu pozvolný a nízký, dopamin tak difunduje pomaleji.



Obr. 22 – Amperometrické záznamy sledování difúze dopaminu přes polykarbonátovou membránu po dobu 24 hodin. Červená – samotný elektrolyt, nepokrytá PC membrána; Modrá – samotný elektrolyt, pokrytá PC membrána; Zelená – dopamin, nepokrytá PC membrána; Oranžová – dopamin, pokrytá PC membrána

5 ZÁVĚR

Cílem této práce byla výroba elektrod z uhlíkových vláken určených pro elektrochemické aplikace a jejich vhodná předúprava. Aby bylo zabráněno narušení kontaktu mezi uhlíkovými vlákny a měděným drátkem vzlínáním měřených roztoků, byly elektrody utěsněny použitím buď epoxidu, nebo silikonového tmelu.

Pro zvětšení povrchu, a tím i proudové odezvy elektrod, byly experimentálně vyzkoušeny čtyři způsoby předúpravy – chemická oxidace, žihání, kombinace oxidace a žihání, laserová ablace. Jako nejvhodnější metoda bylo vybráno žihání elektrody. Experimentálně bylo také prokázáno, že zvětšení povrchu není příliš ovlivněno teplotou žihání, ale závisí na více faktorech. Proto byla pro předúpravu elektrod zvolena teplota žihání 500 °C. Pro zlepšení elektrochemických vlastností elektrody a současně její čištění, je potřeba doplnit žihání elektrochemickou aktivací v kyselině sírové.

Vhodně upravené elektrody z uhlíkových vláken byly aplikovány v amperometrických experimentech pro sledování difúze dopaminu skrz polykarbonátovou membránu ve dvoukomorové cele. Byla prokázána schopnost dopaminu difundovat skrz membránu. Ta byla následně pokryta vrstvou fosfolipidů, do jisté míry simulující buněčnou membránu, která brání průchodu některých látek. Dopamin patří mezi biologicky aktivní látky schopné prostupovat přes buněčné membrány. To bylo také prokázáno při amperometrickém měření, kdy dopamin difundoval skrz pokrytou polykarbonátovou membránu, ovšem v menší míře a pomaleji, než přes membránu nepokrytou.

6 SUMMARY

The aim of this thesis was the preparation of carbon fibre electrodes for electrochemical applications and their appropriate pretreatment. The electrodes were sealed using an epoxide or a silicone sealant to avoid disruption of the electrical contact between the carbon fibres and the copper wire due to reactions with cleaning or measuring solutions.

Four methods of pretreatment were tested to increase the surface area and consequently current response of the electrodes – chemical oxidation, annealing, combination of oxidation and annealing, laser ablation. Annealing was chosen as the most suitable method. Experiments carried proved, that the surface increase is mostly independent of the temperature, but is affected by more factors. For this reason the annealing temperature of 500 °C was chosen as the most suitable pretreatment. To better increase the current response and simultaneously clean the electrodes, it is recommended to supplement annealing with the electrochemical activation in sulphuric acid just before the measurement.

Appropriately pretreated carbon fibre electrodes were used in the amperometric monitoring of the dopamine diffusion across the polycarbonate membrane in a two-compartment measuring cell. It was proved that dopamine can diffuse through the membrane. In next experiment, the polycarbonate membrane was covered with a layer of phospholipids, which allowed us to some extent simulate the biological cell membrane. As in experiment with the clean membrane, dopamine diffused from one compartment to another, but in less amount and slower.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] P. T. Kissinger, W. R. Heineman: Laboratory techniques in electroanalytical chemistry, 2nd ed., MARCEL DEKKER, INC., New York, 1996.
- [2] S. Das, J. Warren, D. West, S. M. Schexnayder: Global carbon fiber composites supply chain competitiveness analysis, Technical report. NREL, Colorado, 2016.
- [3] American Chemical Society National Historic Chemical Landmarks. High performance carbon fibers.
<http://www.acs.org/content/acs/en/education/whatischemistry/landmarks/carbonfibers.html>
staženo 18. října 2017.
- [4] B. A. Newcomb: Processing, structure, and properties of carbon fibers. *Composites: Part A* 91 (2016) 262–282.
- [5] M. S. A. Rahaman, A. F. Ismail, A. Mustafa: A review of heat treatment on polyacrylonitrile fiber. *Polymer Degradation and Stability* 92 (2007) 1421–1432.
- [6] X. Huang: Fabrication and Properties of Carbon Fibers. *Materials* 2 (2009) 2369–2403
- [7] D. Riman: Studium elektrochemických metod úprav povrchu uhlíkových vláken. Bakalářská práce, Univerzita Palackého, Olomouc, 2011.
- [8] J. Barek, F. Opekar, K. Štulík: Elektroanalytická chemie, Karolinum, Praha 2005.
- [9] S. Michalkiewicz, M. Jakubczyk, A. Skorupa: Voltammetric Determination of Total Content of Parabens at a Carbon Fiber Microelectrode in Pharmaceutical Preparations. *Int. J. Electrochem. Sci.* 11 (2016) 1661–1675.
- [10] K. T. Kawagoe, J. A. Jankowski, R. M. Wightman: Etched Carbon-Fiber Electrodes as Amperometric Detectors of Catecholamine Secretion from Isolated Biological Cells. *Anal. Chem.* 63 (1991) 1589–1594.
- [11] F. Bedioui, N. Villeneuve: Electrochemical Nitric Oxide Sensors for Biological Samples – Principle, Selected Examples and Applications. *Electroanalysis* 15 (2003) 15–18.
- [12] J. Cancino, S. Borgmann, S. A. S. Machado, V. Zucolotto, W. Schuhmann, J. Masa: Electrochemical sensor for nitric oxide using layered films composed of a polycationic dendrimer and nickel(II) phthalocyaninetetrasulfonate deposited on a carbon fiber electrode. *Microchimica Acta* 182 (2015) 1079–1087.

- [13] D. Riman, Z. Bartošová, V. Halouzka, J. Vacek, D. Jirovský, J. Hrbáč: Facile preparation of nanostructured copper-coated carbon microelectrodes for amperometric sensing of carbohydrates. *RSC Adv.* 5 (2015) 31425–31429.
- [14] Z. Bartošová, D. Riman, P. Jakubec, V. Halouzka, J. Hrbáč, D. Jirovsky: Electrochemically Pretreated Carbon Microfiber Electrodes as Sensitive HPLC—EC Detectors. *The Scientific World Journal* 2012 (2012) 6 pages.
- [15] Z. Bartošová, D. Jirovsky, D. Riman, V. Halouzka, M. Švidrnoch, J. Hrbáč: HPLC—ED of low—molecular weight brominated phenols and tetrabromobisphenol A using pretreated carbon fiber microelectrode. *Talanta* 122 (2014) 115–121.
- [16] K. Štulík, V. Pacáková, M. Podolák: Carbon Fibre Electrochemical detector for High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography* 298 (1984) 225–230.
- [17] J. Skopalová, P. Barták, P. Bednář, H. Tomková, T. Ingr, I. Lorencová, P. Kučerová, R. Papoušek, L. Borovcová, K. Lemr: Carbon fiber brush electrode as a novel substrate for atmospheric solids analysis probe (ASAP) mass spectrometry: Electrochemical oxidation of brominated phenols. *Analytica Chimica Acta* 999 (2017) 60–68.
- [18] Y. Yang, A. A. Ibrahim, P. Hashemi, J. L. Stockdill: Real-Time, Selective Detection of Copper(II) Using Ionophore-Grafted Carbon-Fiber Microelectrodes. *Anal. Chem.* 88 (2016) 6962–6966.
- [19] S. Klod, F. Ziegls, L. Dunsch: In Situ NMR Spectroelectrochemistry of Higher Sensitivity by Large Scale Electrodes. *Anal. Chem.* 81 (2009) 10262–10267.
- [20] B. Logan, S. Cheng, V. Watson, G. Estadt: Graphite Fiber Brush Anodes for Increased Power Production in Air-Cathode Microbial Fuel Cells. *Environ. Sci. Technol.* 41 (2007) 3341–3346.
- [21] C. Liu, J. Li, X. Zhu, L. Zhang, D. Ye, R. K. Brown, Q. Liao: Effects of brush lengths and fiber loadings on the performance of microbial fuel cells using graphite fiber brush anodes. *International Journal of Hydrogen Energy* 38 (2013) 15646–15652.
- [22] Y. Feng, Q. Yang, X. Wang, B. E. Logan: Treatment of carbon fiber brush anodes for improving power generation in air-cathode microbial fuel cells. *Journal fo Power Sources* 195 (2010) 1841–1844.

- [23] Y. V. Basova, H. Hatori, Y. Yamada, K. Miyashita: Effect of oxidation–reduction surface treatment on the electrochemical behavior of PAN-based carbon fibers. *Electrochemistry Communications* 1 (1999) 540–544.
- [24] P. C. Farrell, P. R. Kinley, D. J. Weiss, T. G. Strein: Using Ferrocenes to Assist in Voltammetric Characterization of Carbon Fiber Microelectrodes after Electrochemical and Laser Activation. *Electroanalysis* 15 (2003) 813–820.
- [25] F. G. Gonon, C. M. Fombarlet, M. J. Buda, J. F. Pujol: Electrochemical Treatment of Pyrolytic Carbon Fiber Electrodes. *Anal. Chem.* 53 (1981) 1386–1389.
- [26] H. B. Ezekiel, D. Sharp, M. M. Villalba, J. Davis: Laser-anodised carbon fibre: Coupled activation and patterning of sensor substrates. *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 69 (2008) 2932–2935.
- [27] G. Ayano: Dopamine: Receptors, Functions, Synthesis, Pathways, Locations and Mental Disorders: Review of Literatures. *J Ment Disord Treat* 2:2 (2016) 1–4.
- [28] I. M. Taylor, E. M. Robbins, K. A. Catt, P. A. Cody, C. L. Happe, X. T. Cui: Enhanced dopamine detection sensitivity by PEDOT/graphene oxide coating on in vivo carbon fiber electrodes. *Biosensors and Bioelectronics* 89 (2017) 400–410.
- [29] D. Yuan, X. Yuan, S. Zhou, W. Zou, T. Zhou: N-Doped carbon nanorods as ultrasensitive electrochemical sensors for the determination of dopamine. *RSC Advances* 2 (2012) 8157–8163.
- [30] K. Jodko-Piorecka, G. Litwinienko: First Experimental Evidence of Dopamine Interactions with Negatively Charged Model Biomembranes. *ACS Chem. Neurosci.* 4 (2013) 1114–1122.
- [31] M. Tatarkovič, G. Broncová, M. Krondák: Elektroimpedanční spektroskopie a její využití v chemické analýze. *Chemické Listy* 106 (2012) 1067–1074.